



2-D Gaschromatographie von Speiseölen

Band I

*Projektarbeit zum
Staatlich geprüften Chemietechniker*

*„Ach, da kommt der Meister. Herr, die Not ist groß;
die ich rief die Geister, werd ich nun nicht los.“*

Johann Wolfgang von Goethe, Der Zauberlehrling

(1749 – 1832)

Inhaltsverzeichnis

I.	Abbildungen	1
II.	Tabellenverzeichnis	4
III.	Abkürzungen.....	5
1.	Einleitung	6
•	Ausgangssituation.....	6
•	Motivation	6
•	Zielsetzung	8
2.	Theoretischer Hintergrund.....	9
•	Speiseöle.....	9
I.	Aufbau und Struktur.....	9
II.	Wichtige Speiseöle	11
III.	Eigenschaften.....	11
IV.	Vorkommen	12
V.	Herkömmliche Analytik	12
•	Verwendete Analysenmethoden.....	14
I.	Refraktometrie	14
II.	Dichtebestimmung.....	17
III.	Alkalimetrie	18
IV.	Acidimetrie	19
V.	Iodometrie	20
VI.	Infrarot-Spektroskopie	21
VII.	Chromatographie.....	25
VIII.	Gaschromatographie	33
IX.	Gaschromatographie-Massenspektroskopie	41
X.	2-D Gaschromatographie	42

3. Ergebnisse und Diskussion	50
• Übersicht Probenergebnisse (alle Methoden)	50
I. Tabellen mit physikalischen Daten	50
II. Tabellen der nasschemischen Daten	52
III. Ergebnisse der Infrarotspektroskopie	53
IV. Ergebnisse der eindimensionalen Gaschromatographie	54
V. Ergebnisse der zweidimensionalen Gaschromatographie	55
• Auswertung Öl-Mischungen	56
• Erfassung der Peaks in den Proben	59
• Auswertung der Standards	60
• Verschiebung der RT an den Säulen	62
• Vor- und Nachteile der Messsysteme	63
a. Zusammenfassung	64
b. Ausblick	65
4. Experimenteller Teil	66
• Gerätetypen	66
• Versuchsvorschriften	67
I. Iodometrie	67
II. Alkalimetrie	72
III. Acidimetrie	76
• Ansetzen der Standards und Proben für die Chromatographie	81
• Auswahl der GC Methoden instrumentell	82
• Optimierung der GC Methode	84
• Herstellung von selbstgepressten Sonnenblumenöl	86
5. Literaturverzeichnisse	87
6. Anhang	89

I. Abbildungen

Abb. 1	Zeitungsartikel Rheinische Post vom 19.01.2015	Seite 6
Abb. 2	chemischer Aufbau eines Triglycerides	Seite 9
Abb. 3	chemischer Aufbau von Ölsäure	Seite 10
Abb. 4	chemischer Aufbau von Linolensäure	Seite 10
Abb. 5	Skizze zur Berechnung des Winkels der Totalreflektion	Seite 14
Abb. 6	Snellius'sches Gesetz	Seite 14
Abb. 7	Umformung des Snelliuschen Gesetzes	Seite 15
Abb. 8	Aufbau eines Refraktometers	Seite 16
Abb. 9	Fadenkreuz zur Ermittlung der Grenzfläche	Seite 16
Abb. 10	Aufbau eines Biegeschwinger Glasrohres	Seite 17
Abb. 11	Verseifung der an Glycerin gebundenen Fettsäuren	Seite 19
Abb. 12	Verseifung der freien Fettsäuren	Seite 19
Abb. 13	Aufbau eines helixförmigen Iod-Stärke-Komplexes	Seite 20
Abb. 14	Darstellung von Schwingungsarten in einem Molekül	Seite 21
Abb. 15	schematischer Aufbau eines FT-IR-Spektrometers	Seite 22
Abb. 16	schematischer Aufbau ATR 1	Seite 22
Abb. 17	schematischer Aufbau ATR 2	Seite 23
Abb. 18	Schwingungsbereiche in einem Infrarotspektrum	Seite 24
Abb. 19	Übersicht der Chromatographiearten	Seite 27
Abb. 20	Drei Fotos der Papierchromatographie	Seite 27
Abb. 21	schematischer Aufbau der Dünnschichtchromatographie	Seite 28
Abb. 22	schematische Darstellung der Eddy-Diffusion	Seite 30
Abb. 23	schematische Darstellung der Längen-Diffusion	Seite 30
Abb. 24	Van Deemter Graph	Seite 31
Abb. 25	schematische Funktion einer Ausschlusschromatographie	Seite 32
Abb. 26	schematische Funktion einer Adoptionschromatographie	Seite 32

Abb. 27	schematische Funktion einer Verteilungschromatographie	Seite 32
Abb. 28	schematischer Aufbau eines Gaschromatographen	Seite 33
Abb. 29	Aufbau und Erläuterung eines Chromatogramms	Seite 33
Abb. 30	schematischer Aufbau eines Injektors mit Splitfunktion	Seite 34
Abb. 31	Darstellung, Unterteilung von Typischen GC-Säulen	Seite 36
Abb. 32	Querschnitt einer gepackten Säule	Seite 36
Abb. 33	Querschnitt von Kapillarsäulentypen	Seite 37
Abb. 34	schematischer Aufbau eines Flammenionisationsdetektors	Seite 38
Abb. 35	schematischer Aufbau eines Electron-Capture-Detektors	Seite 39
Abb. 36	schematischer Aufbau eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors und einer Wheatstonesche Messbrücke	Seite 40
Abb. 37	schematischer Aufbau eines Quadrupols	Seite 41
Abb. 38	schematischer Aufbau eines 2-D Gaschromatographen	Seite 42
Abb. 39	Foto und Darstellung eines Loop-Modulators	Seite 43
Abb. 40	zwei Fotos eines druckbasierten Modulators	Seite 43
Abb. 41	schematische Funktion einer Fraktionierung in dem druckbasierten Modulator [1]	Seite 44
Abb. 42	schematische Funktion einer Fraktionierung in dem druckbasierten Modulator [2]	Seite 44
Abb. 43	klassische Ansicht eines zweidimensionalen Chromatogramms	Seite 45
Abb. 44	vergrößerter Bereich der klassischen Ansicht eines Chromatogramms	Seite 45
Abb. 45	Entstehung der 3-D Ansicht	Seite 46
Abb. 46	Top-Shot-Perspektive Chromatogramm 1	Seite 47
Abb. 47	Top-Shot-Perspektive Chromatogramm 2	Seite 47
Abb. 48	3-D Ansicht eines Chromatogramms	Seite 48
Abb. 49	3-D Ansicht von zwei vergrößerten Bereichen	Seite 49
Abb. 50	IR-Spektrum einer unbekannten Probe	Seite 54
Abb. 51	3-D Ansicht eines Chromatogramms 15-119 (Olivenöl)	Seite 56
Abb. 52	3-D Ansicht von zwei vergrößerten Bereichen aus zwei verschiedenen Olivenölen	Seite 57

Abb. 53	3-D Ansicht von zwei vergrößerten Bereichen aus zwei verschiedenen Sonnenblumenölen	Seite 57
Abb. 54	Chromatogrammvergleich von reinem Olivenöl und 10 %iger Mischung mit Sonnenblumenöl	Seite 58
Abb. 55	Chromatogrammvergleich von 5%iger Mischung und 10%iger Mischung von Sonnenblumenöl in Olivenöl	Seite 58
Abb. 56	Verseifung der an Glycerin gebundenen Fettsäuren	Seite 79
Abb. 57	Verseifung der freien Fettsäuren	Seite 79
Abb. 58	schematischer Aufbau einer Ein-Hals-Kolbenrührapparatur	Seite 80
Abb. 59	Funktionelle Gruppen einer Optima 17-MS Kapillarsäule	Seite 83

II. Tabellenverzeichnis

1	Vergleich der Bestandteile von Sonnenblumen- und Olivenöl	Seite 12
2	Ergebnisse der physikalischen Kenngrößen der Proben	Seite 50
3	Ergebnisse der Säurezahlen	Seite 52
4	Ergebnisse der Verseifungszahlen	Seite 52
5	Ergebnisse der Iodzahlen	Seite 53
6	Aufzählung Peaknummern und Retentionszeiten	Seite 59
7	Aufzählung der Standardsubstanzen und Retentionszeiten [1]	Seite 60
8	Aufzählung der Standardsubstanzen und Retentionszeiten [2]	Seite 61
9	Auswertung der Verschiebung der Retentionszeiten	Seite 62
10	Aufzählung der Vor- und Nachteile der Analysenmethoden	Seite 63

III. Abkürzungen

GC	Gaschromatographie
GCxGC	zweidimensionalen Gaschromatographie
FID	Flammenionisationsdetektor
WLD	Wärmeleitfähigkeitsdetektor
FAME	Fatty Acid Methyl Ester (Fettsäuremethylester)
n	Brechungsindex
c	Lichtgeschwindigkeit im Vakuum
c_{PH}	Phasengeschwindigkeit des Lichts im Medium
ρ	Dichte
R	Periodendauer
VZ	Verseifungszahl
IZ	Iodzahl
SZ	Säurezahl
IR	Infrarotspektrometer
FT-IR	Fourier-Transform-Infrarotspektrometer
ATR	Attenuated Total Reflection (abgeschwächte Totalreflexion)
DC	Dünnschichtchromatographie
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
LC	Liquid Chromatography
RP	Reversed Phase
IC	Ionenchromatographie
GPC	Gel-Permeations-Chromatographie
TG	Triglyceride
MZ	Massenzahl

Einleitung

Ausgangssituation

Der durchschnittliche pro-Kopf Verbrauch an Olivenöl in Deutschland beträgt 850 ml im Jahr. Andere europäische Länder wie Griechenland, Spanien und Italien kommen auf einen deutlich höheren Wert. Die Europäische Union ist nicht nur der größte Olivenölkonsument, sondern gleichzeitig auch der größte Produzent.

Ein hochwertiges Olivenöl kostet zwischen 20 und 60 Euro pro Liter. Dagegen ist Sonnenblumenöl schon für 1 Euro pro Liter deutlich günstiger erhältlich. Es ist nicht verwunderlich, dass Olivenöl häufig mit anderen, günstigeren Ölen gestreckt wird. Um gleichbleibende Qualität zu garantieren, ist daher eine Qualitätskontrolle innerhalb der EU unausweichlich. Die Schwierigkeit liegt darin, dass sich beide Öle chemisch sehr stark ähneln. Die chemische Untersuchung von Speiseölen ist mit einigen Problemen behaftet, da sich die in diesen natürlichen Produkten vorkommenden Fettsäuren und Triglyceride aufgrund ihrer Ähnlichkeit nur schwer trennen und analysieren lassen. Normalerweise werden die Triglyceride in Fettsäuremethylester (FAME) überführt und dann chromatographisch analysiert.

Motivation

Wir wurden über einen Zeitungsartikel in der Rheinischen Post vom 19.01.2015 auf die schlechte Olivenölernte im letzten Jahr aufmerksam. Weitere Recherchen ergaben interessante Ansatzpunkte für diese Projektarbeit.



Abbildung 1 [Zeitungsartikel Rheinische Post vom 19.01.2015]

„Giancarlo Bernardi ist 77 Jahre alt. Aber so etwas hat er noch nicht erlebt. Ein Desaster sei die Olivenernte dieses Jahr gewesen, sagt Bernardi, der einen kleinen Hof in Vinci, 40 Kilometer westlich von Florenz in der Toskana betreibt. Auch der Weinbau lief schlecht in diesem Jahr, aber Oliven konnte er so gut wie keine zur Presse bringen. "Vielleicht bekomme ich so viel Öl, dass meine Familie für kommendes Jahr abgedeckt ist, vielleicht aber auch nicht", sagt Bernardi. Normalerweise erzielt er mit seinem zwei Hektar großen Olivenhain um die 1000 Liter Öl. Frisch gepresstes Öl aus diesem Jahr zum Verkauf? "Habe ich nicht", sagt Bernardi.

Die Olivenernte 2014 wird als die schlechteste seit 1950 in die Geschichte der italienischen Landwirtschaft eingehen. Insgesamt ging die Ernte in Italien um 35 Prozent zurück, in Ligurien, Umbrien und der Toskana um bis zu 50 Prozent. Italien gilt als Land, in dem qualitativ besonders hochwertiges Olivenöl, das sogenannte "olio extra vergine" (aus erster Pressung ohne Temperaturerhöhung) produziert wird. Dieser Mythos hat wegen Betrügereien in den vergangenen Jahren bereits gelitten. Nach der schlechten Ernte in dieser Saison ist der Nimbus zusätzlich gefährdet. Experten befürchten, dass der italienische Markt von minderwertigem, importiertem Olivenöl überschwemmt wird. In Deutschland sind die ersten Auswirkungen spürbar: Die Verbraucher müssen bereits höhere Preise zahlen - und das für geringere Qualität.

Wegen der schlechten Ernte haben die Oliven an Wert gewonnen. Der Preis für ein Kilo ist von gut vier auf sieben Euro gestiegen. Italien ist nach Spanien der weltweit zweitgrößte Olivenproduzent. Statt 464 000 Tonnen Olivenöl wie 2013 wurden 2014 nur rund 300 000 Tonnen gepresst. Bereits in der Vergangenheit importierten Firmen in Italien so viel Olivenöl wie keine andere Nation, um es unter dem bei Kunden so beliebten italienischen Etikett zu verkaufen. Nun wird der Import noch einmal steigen. Statt einer Einfuhr von rund 480 000 Tonnen wie 2013 könnten es dieses Jahr um die 700 000 Tonnen sein. Die Folgen sind noch nicht absehbar.

Drei Faktoren haben dieses Szenario verursacht. "Es war viel zu feucht dieses Jahr", berichtet Bernardi. Die Ölfruchtfliege, die tropisches Klima zur Fortpflanzung bevorzugt, habe ihre Eier in die Früchte gelegt und dabei zerstört. Von Ligurien bis Apulien hat die Ölfruchtfliege den Großteil des Ernterückgangs zu verantworten. Extreme Hitzeperioden und wochenlange Regengüsse erschwerten den Pflanzen zusätzlich das Wachstum. "Entweder regnet es gar nicht, oder es hört nicht mehr auf zu gießen", sagt Bernardi. Der Klimawandel mache den Olivenbauern zu schaffen. Ein weiterer Faktor sei der Diebstahl von Oliven.

Nach Angaben des Bauernverbandes Coldiretti wird das in diesem Jahr erwirtschaftete Olivenöl den Bedarf der knapp 60 Millionen Italiener nur für sechs Monate abdecken. Der Rest muss importiert werden, vor allem aus Griechenland und Tunesien. Auch die Preise vieler Produkte könnten steigen. Coldiretti nannte einen Preisaufschlag von 40 Prozent als möglich. Allerdings können es sich nicht alle Hersteller mit Blick auf die Konkurrenz leisten, die Preise zu erhöhen. "Ich habe Angst dann Kunden zu verlieren", sagt der Kleinbauer Giancarlo Bernardi - einige Firmen lassen ihre bescheidene Ernte bereits bewachen.

Was sich hinter Etiketten auf italienisch daherkommenden Flaschen in deutschen Supermärkten mit dem oft sehr klein gedruckten Hinweis "Mischung aus Olivenölen aus der Gemeinschaft" verbirgt, könnte weniger italienisch denn je sein. Zwei von drei in Italien abgefüllten Flaschen enthielten nicht-italienisches Olivenöl, heißt es bei Coldiretti. Verbraucher sollten die Etiketten besonders sorgfältig lesen, mahnt der Landwirtschaftsverband. "Mit dem Einbruch bei der Ernte steigt das Risiko, dass billige Auslandsprodukte unter dem Deckmantel des Made in Italy verkauft werden", warnte Coldiretti-Präsident Roberto Moncalvo.“

Zitat [Zeitungsartikel Rheinische Post vom 19.01.2015]

Laut Gourmet Globe ist Olivenöl das am häufigsten gefälschte Lebensmittel der Welt.

Das liegt unter anderem daran, dass einerseits die Gewinne hoch sind und der Nachweis von gepanschem Öl schwierig ist. Laut dem Europäischen Amt für Betrugsbekämpfung (OLAF) sollen die Gewinne beim Handel mit gefälschtem Olivenöl ähnlich hoch sein, wie die beim Handel mit Kokain. Bei einer Jahresproduktion von 2,8 Milliarden Litern verwundert das nicht.

Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit ist es Olivenöl und Sonnenblumenöl mittels zweidimensionaler Gaschromatografie zu analysieren und voneinander zu unterscheiden. Dazu soll eine Methode erstellt werden, die in der Lage ist die Bestandteile der Öle möglichst sauber zu trennen und Unterschiede erkennbar zu machen. Idealerweise lässt sich mit dieser Methode Olivenöl in Sonnenblumenöl und Sonnenblumenöl in Olivenöl qualitativ nachweisen. Des Weiteren werden auch andere Analysenmethoden zum Vergleich erstellt und getestet.

Es soll eine Methode entwickelt werden, die mit einem geringeren Proben-vorbereitungsaufwand verbunden ist, als die herkömmliche FAME-Methode.

Theoretischer Hintergrund

Speiseöle

Aufbau und Struktur

Öle sind keine offiziell definierte chemische Stoffklasse, sondern ein Überbegriff für viskose Flüssigkeiten, die sich kaum mit Wasser mischen lassen.

Unter anderem werden Öle unterschieden nach Mineralöle, Fette Öle, Ätherische Öle und Silicon Öle. Für unseren Themenbereich waren davon nur die Fette Öle interessant, weshalb im Folgenden, wenn von Ölen die Rede ist, Fette Öle gemeint sind.

Öle bestehen aus Triglyceriden. Als Triglyceride bezeichnet man mit ungesättigten Fettsäuren dreifach verestertes Glycerin. Die Art der Fettsäuren, aus denen diese Triglyceride gebildet wurden bestimmt die Art, sowie die chemischen und physikalischen Eigenschaften des Öls.

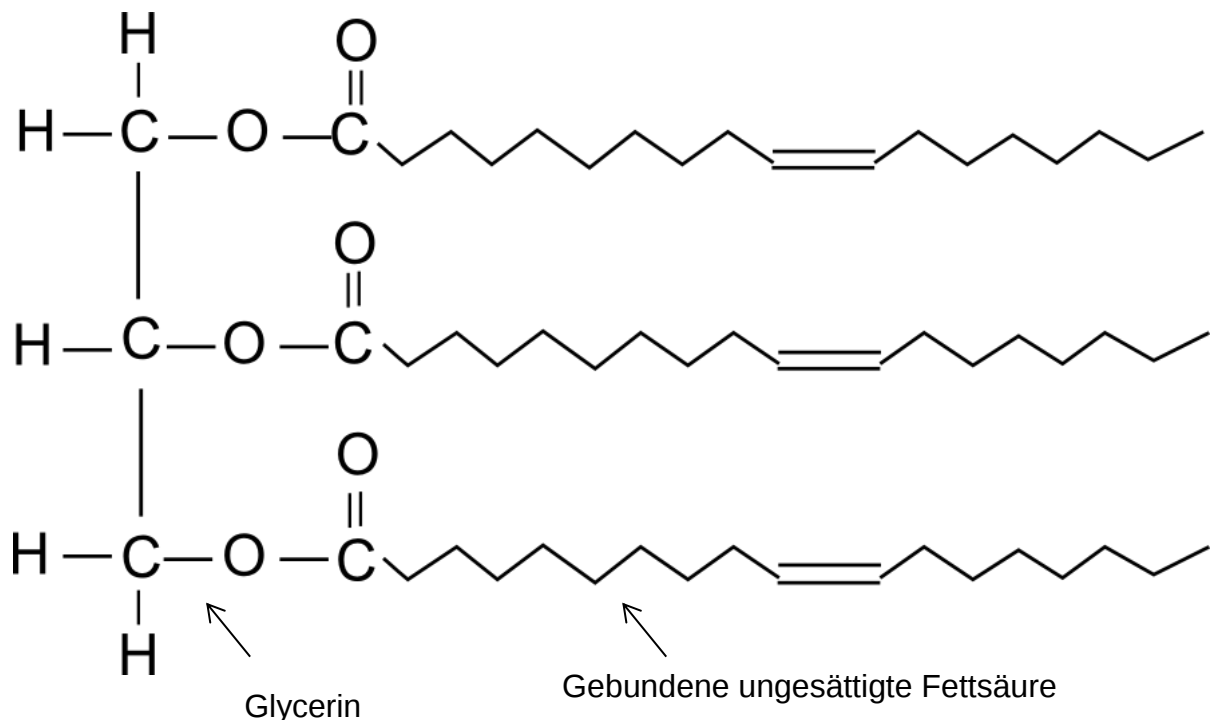


Abbildung 2 [chemischer Aufbau eines Triglycerides]

Man unterscheidet gesättigte und ungesättigte Fettsäuren, wobei die ungesättigten mindestens eine Doppelbindung enthalten. Fettsäuren unterscheiden sich durch die Länge ihrer Kohlenstoffkette und gegebenenfalls durch die Anzahl und die Lage der Doppelbindungen.

Die Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäuren liegen meist in der cis-Konfiguration vor, wodurch in der Kohlenstoffkette ein „Knick“ entsteht. Dies ist bei der Ölsäure in Abb. 3 zu erkennen.

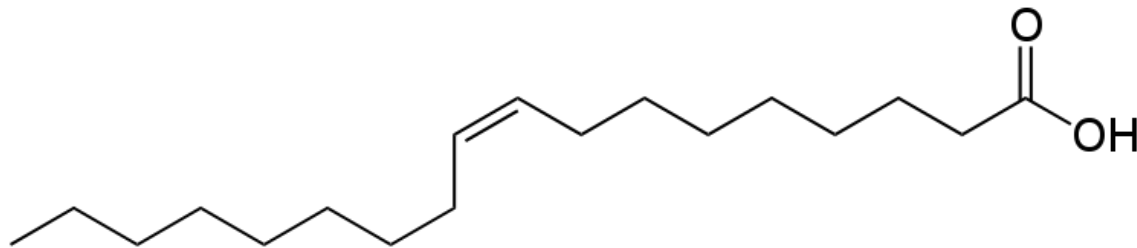


Abbildung 3 [chemischer Aufbau von Ölsäure]

Dieser „Knick“ führt dazu, dass die ungesättigten Fettsäuren, bzw. ihre Triglyceride, weniger starke Van-der-Waals-Wechselwirkungen ausbilden und so ihr Schmelzpunkt verringert wird. Damit erklärt sich auch, warum beispielsweise Olivenöl, das viele ungesättigte Fettsäuren enthält, bei Raumtemperatur flüssig ist und Palmfett fest ist.

Erwähnenswert sind, aufgrund ihrer Bedeutung für die menschliche Ernährung, auch die sogenannten Omega-3-Fettsäuren. Als Omega-3-Fettsäuren werden alle mehrfach ungesättigten Fettsäuren bezeichnet, bei denen die letzte Doppelbindung zwischen den dritt- und viertletzten C-Atomen liegt. Ein Beispiel für so eine Fettsäure ist Linolensäure, die in Abbildung 4 zu sehen ist.

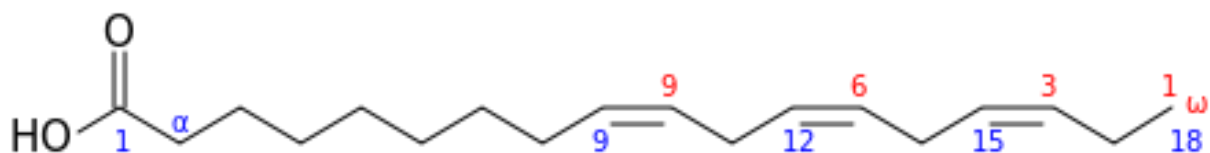


Abbildung 4 [chemischer Aufbau von Linolensäure]

Größere Mengen an Omega-3-Fettsäuren sind vor allem in Leinöl enthalten.

Wichtige Speiseöle

Man unterscheidet zwischen tierischen, pflanzlichen, festen Speisefetten und tierischen oder pflanzlichen, flüssigen Speiseölen. Bei unseren Proben handelte es sich ausnahmslos um pflanzliche Speiseöle.

Wichtige Vertreter dieser Gruppe sind:

- Haselnussöl
- Kürbiskernöl
- Leinöl
- Maiskeimöl
- Mandelöl
- Mohnöl
- Olivenöl
- Palmöl
- Rapsöl
- Sesamöl
- Sojaöl
- Sonnenblumenöl
- Traubenkernöl
- Walnussöl

Eigenschaften

Pflanzliche Speiseöle sind, bei einer Temperatur von 20°C, viskose Flüssigkeiten, die meist klar, leicht gelblich oder grünlich gefärbt sind. Die weiteren Eigenschaften sind nicht für alle pflanzlichen Speiseöle gleich, sondern unterscheiden sich je nach Art. Man unterscheidet außerdem zwischen trocknenden und nicht trocknenden Ölen. Der Begriff Trocknung bezieht sich hierbei nicht auf das Verdunsten, sondern auf das Verdicken oder Verharzen des Öls, eine Polymerisation der Doppelbindungen. Sonnenblumenöl ist ein trocknendes Öl, während Olivenöl ein nicht trocknendes ist. Alle Öle haben die Gemeinsamkeit, dass ihre Dichte kleiner als 1 g/ml ist, das heißt sie schwimmen auf Wasser. Die Dichte der meisten Öle liegt im Bereich um 0,9 g/ml. Die Polarität einer Fettsäure steigt mit der Anzahl ihrer Doppelbindungen. Obwohl alle Fettsäuren eher polar sind, ist also die Stearinsäure, die keine Doppelbindungen besitzt, eine der unpolarsten unter ihnen. Außerdem sind freie Säuregruppen polarer als Fettsäureester.

cis-Isomere bilden durch den addierenden Dipol-Effekt der Substituenten eine höhere Polarität auf als trans-Isomere.

In der folgenden Tabelle werden die Literaturwerte, von der Zusammensetzung der gebundenen Fettsäuren im Sonnenblumen und Olivenöl gegenüber gestellt.

	Olivenöl	Sonnenblumenöl
Palmitinsäure	11,5 %	6,5 %
Stearinsäure	2,5 %	5 %
Ölsäure	75,5 %	23 %
Linolsäure	7,5 %	63 %
Linolensäure	1,0 %	<0,5 %

Tabelle 1 [Vergleich der Bestandteile von Sonnenblumen- und Olivenöl]

Vorkommen

Pflanzenöle werden aus ölhaltigen Früchten und Kernen hergestellt. Dabei gibt meist der Name des Öls auch seinen Ursprung an, zum Beispiel Olivenöl.

Unterschieden werden diese Öle nach der Art der Ölpflanzen. Bei den einen wird die Frucht der Ölpflanze genutzt und bei den anderen der Samen oder die Kerne. Ein typisches Beispiel für ein aus der Frucht gewonnenes Öl ist Olivenöl, bei dem ein Öl-Wassergemisch direkt aus den Früchten gepresst wird. Sonnenblumenöl dagegen wird aus den Kernen der Sonnenblume gepresst.

Pflanzliche Öle sind vielseitig verwendbar, die wichtigsten Anwendungszwecke sind:

- Nahrungsmittel
- Rohstoff für die chemische Industrie
- Grundstoff zur Herstellung von Kosmetik
- Herstellung von Ölfarben
- Kraftstoff (zum Beispiel Biodiesel)
- Brennstoff (zum Beispiel in Öllampen)

Herkömmliche Analytik

Um ein Fett oder ein Öl zu analysieren finden Titrationsanalysen, wie Iodzahlbestimmung, Verseifungszahlbestimmung, Reichert-Meißl-Zahlbestimmung, Säurezahlbestimmung oder Peroxidzahlbestimmung Anwendung. Außerdem werden häufig Kennzahlen wie die Dichte, der Brechungsindex, die Viskosität, der Flammpunkt oder der Wassergehalt bestimmt.

An der Iodzahl lässt sich die Anzahl der ungesättigten Verbindungen erkennen. Die Säurezahl gibt Auskunft über den Anteil von freien Fettsäuren und somit auch über das Alter und die Verarbeitungstemperatur des Öls. Eine weitere Kennzahl um die Alterung von Öl zu erkennen ist die Peroxidzahl. Bei der Oxidation von ungesättigten Fettsäuren entstehen Hyperperoxide. Am häufigsten sind hiervon mehrfach

ungesättigte Fettsäuren betroffen, da sich besonders reaktive Methylengruppen zwischen zwei Doppelbindungen befinden. Die Reichert-Meissl-Zahl gibt den Gehalt an flüchtigen Fettsäuren an und die Verseifungszahl die in einem Gramm Fett gebundenen und frei vorkommenden Säuren. Die Verseifungszahl beschreibt, wie viel Kaliumhydroxid notwendig ist, um die im Fett enthaltenen Esterverbindungen zu spalten und die Fettsäuren zu neutralisieren.

Um ein Öl vollständig zu analysieren und verlässliche Informationen über die Qualität des Öls zu bekommen, ist es notwendig die Fettsäureverteilung zu bestimmen. Diese gibt sowohl über die Art des Öls, seine Verarbeitung und eventuelle Verunreinigungen Auskunft. Auch ein Öl, das mit anderen Ölen gestreckt wurde, wird erkannt.

Die Analyse der Triglyceride (TG) erfolgt normalerweise mittels Hochdruck-flüssigkeitschromatografie (HPLC) oder Gaschromatografie (GC). Welche der Methoden angewandt wird, hängt von der Fragestellung und natürlich von den Möglichkeiten ab.

„Die Zusammensetzung der TG lässt sich sowohl gaschromatographisch (GC) als auch mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) analysieren. Keines der beiden Verfahren erlaubt eine vollständige Trennung aller TG. Beide Verfahren unterscheiden sich grundsätzlich in der Selektivität ihrer Auftrennung und der thermischen Belastung der TG.“

Zitat [Deutsche Einheitsmethoden zur Untersuchung von Fetten, Fettprodukten, Tensiden und verwandten Stoffen April 2013]

Mit beiden Methoden sind allerdings eine Auftrennung von cis-trans-Isomeren, und damit ihre Analyse, nicht möglich.

Wird die Gaschromatographie genutzt, lassen sich die Triglyceride nicht direkt analysieren, sondern müssen vor der Analyse umgesetzt werden. Dafür werden die Esterverbindungen verseift, in die entsprechenden Fettsäuremethylester (FAME) überführt und diese durch eine Flüssig-Flüssig-Extraktion abgetrennt. Fettsäuremethylester sind weniger polar als ihre Fettsäuren und stärker flüchtig. Daher sind sie für die Gaschromatographie besser geeignet.

Verwendete Analysemethoden

Refraktometrie

Bei der Refraktometrie handelt es sich um eine optische Methode, bei der der Brechungsindex einer meist flüssigen Substanz bestimmt wird.

Der Brechungsindex kann zur Identifizierung einer Flüssigkeit oder zur Prüfung der Reinheit herangezogen werden. Berechnet wird der Brechungsindex nach dem Snellius'schen Gesetz. Es besagt, wenn monochromatisches Licht an der Grenzfläche zweier Medien gebrochen wird, so gilt:

Einfallswinkel gleich Reflexionswinkel. Dabei werden die Winkel zum Lot der Grenzfläche gemessen.

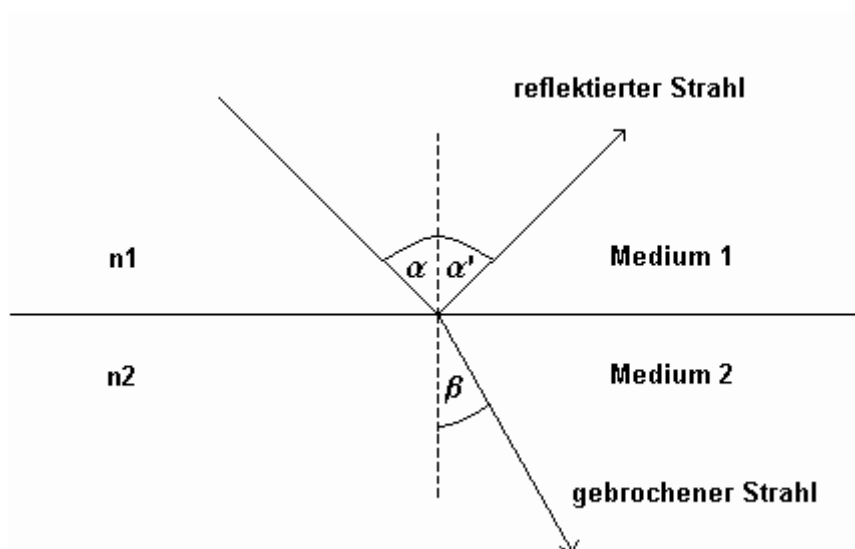


Abbildung 5 [Skizze zur Berechnung des Winkels der Totalreflektion]

Neben dem reflektierten Strahl entsteht immer dann auch ein gebrochener Strahl, wenn das Material der Grenzfläche transparent für das auftreffende Lichtspektrum ist. Für den entstandenen Brechungswinkel gilt:

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{n_2}{n_1}$$

Abbildung 6 [Snellius'sches Gesetz]

Hierbei setzen sich die Konstanten n_1 und n_2 (Brechungsindex) aus den optischen Materialeigenschaften der Medien zusammen.

$$n = \frac{c}{c_{Ph}},$$

c_{Ph} Phasengeschwindigkeit des Lichts im Medium

c Lichtgeschwindigkeit im Vakuum

Abbildung 7 [Umformung des Snellius'schen Gesetzes]

Von der Brechzahlen ist abhängig wie das Licht gebrochen wird. Es gilt:

- Beim Übergang vom optisch dichteren Medium ins optisch dünnere Medium wird der Lichtstrahl vom Lot weggebrochen und umgedreht.
- Bei der Messung wird der Winkel α so lange vergrößert, bis der Austrittswinkel α' seinen Maximalwert von 90° erreicht hat. Es ist zu einer Totalreflexion gekommen.
- Der gemessene Wert ist sowohl stark temperaturabhängig, als auch abhängig von der Wellenlänge des verwendeten Lichtes. Allgemein wird der Brechungsindex bei der Spektrallinie des gelben Natriumlichtes (D-Linie 589 nm) angegeben.
- Aus der Versuchstemperatur und der verwendeten Wellenlänge bzw. Spektrallinie ergibt sich die Bezeichnung für den gemessenen Wert: n_D^{20}

Das verwendete ABBE-Refraktometer benutzt als Messprinzip die Bestimmung des Grenzwinkels der Totalreflexion. Es ist so konstruiert, dass auch bei der Verwendung von z.B. Tageslicht der Brechungsindex der D-Linie gemessen wird.

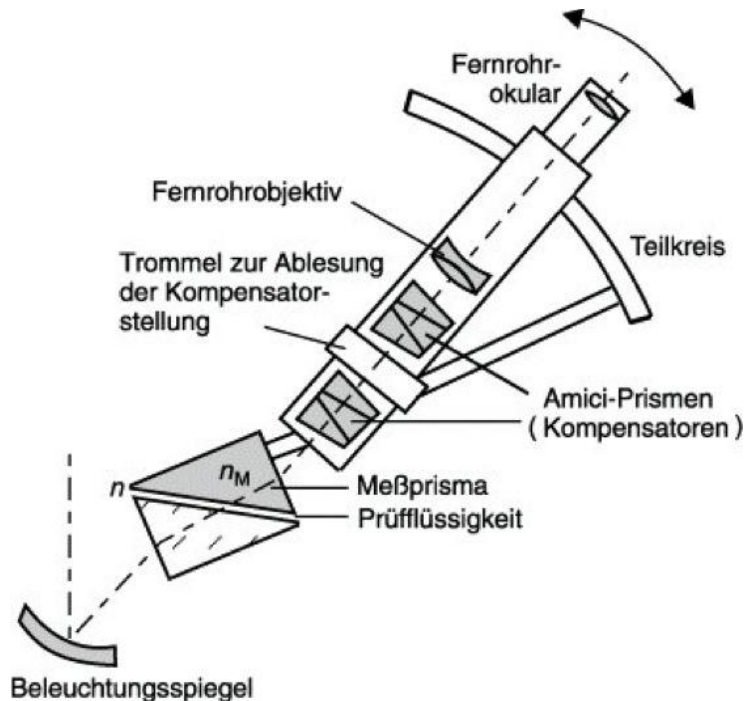


Abbildung 8 [Aufbau eines Refraktometers]

Für die Messung selber werden nur wenige Tropfen der Probe verwendet und sie ist nicht destruktiv. Außerdem ist bei Einhaltung der Messbedingungen eine Genauigkeit von ± 0.0001 zu erreichen.

Beim Messen stellt der Benutzer eine Licht und Schatten Grenzfläche so ein, dass sie genau mittig auf einem Fadenkreuz liegt.

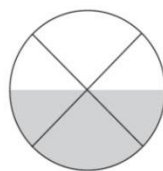


Abbildung 9 [Fadenkreuz zur Ermittlung der Grenzfläche]

Der n_D -Wert kann dann an einer Skala abgelesen werden, oder wird bei neueren Geräten digital angezeigt.

Dichtebestimmung

Mit dem Biegeschwinger kann die Dichte von Gasen und Flüssigkeiten bestimmt werden. Dabei basiert die Messung auf dem Prinzip des Feder-Masse-Schwingers. Das bedeutet, dass die Dichte aus der Eigenfrequenz des mit dem Medium gefüllten Biegeschwingers errechnet wird.

Bei der Messung wird die zu untersuchende Probe in ein U-förmiges Glasrohr eingefüllt. Die beiden Enden dieses Glasrohres bilden das Federerelement eines Biegeschwingers.

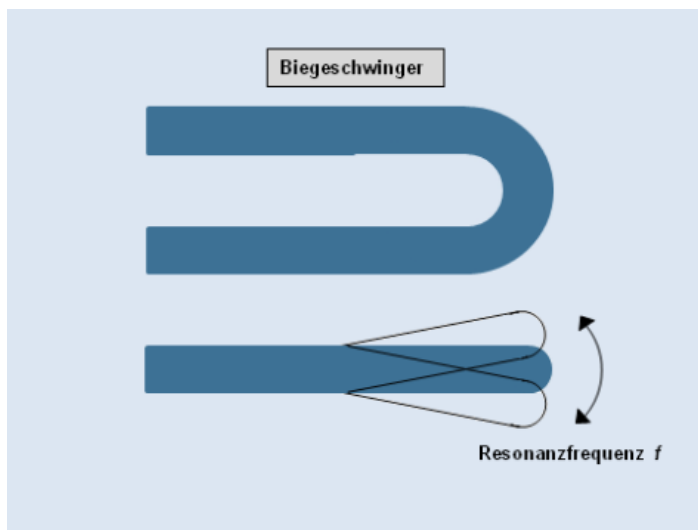


Abbildung 10 [Aufbau eines Biegeschwinger Glasrohres]

Das Prinzip der Schwingung ähnelt hierbei einer Stimmgabel. Das gefüllte U-Rohr wird bei der Messung zu einer ungedämpften Schwingung angeregt. Diese Schwingung sollte eine möglichst geringe Amplitude aufweisen, die dann in einem digitalen Dichtemessgerät in eine elektromagnetische Wechselspannung gleicher Frequenz umgewandelt wird. Die Periodendauer r ist so sehr genau messbar und ist leicht mit der Dichte des Mediums in Zusammenhang zu bringen.

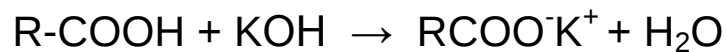
$$\rho = A * r^2 - B$$

Hierbei handelt es sich bei A und B um Gerätekonstanten, die mittels einer Kalibrierung an zwei Punkten bestimmt worden sind. Die Probe beeinflusst die Eigenfrequenz des Schwingers, wobei es sich immer um ein definiertes Probenvolumen handelt. Dieses ist durch die fest eingespannten Enden des U-Rohrs, welche nicht an der Schwingung teilnehmen können, immer gleich. Daher kann angenommen werden, dass die Masse der Probe proportional zu ihrer Dichte ist. Es wird also primär eine Masse bestimmt. Ein Überfüllen der Schwinggabel ist nicht möglich. Daher ist auch eine Messung eines Mediums welches das U-Rohr durchströmt denkbar.

Alkalimetrie

Die Alkalimetrie beschreibt ein maßanalytisches Verfahren, bei dem eine konzentrationsbekannte Lauge gegeben ist. Mit dieser Lauge wird eine konzentrationsunbekannte Säure titriert.

Die Säurezahl gibt die Menge an Kaliumhydroxid an, die für die Neutralisation von 1 g Fett verbraucht wird. Gelegentlich wird auch Natronlauge verwendet.



Dabei werden nur die freien Fettsäuren im Öl neutralisiert und nicht die gebundenen, wie bei der Verseifungszahl.

Acidimetrie

Die Acidimetrie beschreibt im Grunde eine Maßanalyse der Säure-Base-Titration, wobei hier mit der Säure als konzentrationsvorgebende Komponente gearbeitet wird.

Im Jahre 1813 hat Chevreuls die ersten Reaktionen zum Thema Verseifung durchgeführt. Hierbei fand er heraus, dass bei einer Verseifung immer Glycerin und eine Säure entstehen.

Die Verseifungszahl (VZ) gibt die Masse an Lauge (in mg KOH) an, die bei der Hydrolyse von 1 g Fett zur vollständigen Verseifung der Fettsäuren verbraucht wird. Die Verseifungszahl gibt Aufschluss über die mittlere Kettenlänge, der am Aufbau des Fettes beteiligten Fettsäuren. Je kürzer die gebundenen Fettsäuren am Glycerin sind, desto höher ist die Verseifungszahl. Die VZ beinhaltet sowohl die freien, als auch die gebundenen Säuren in einem Öl-Gemisch.

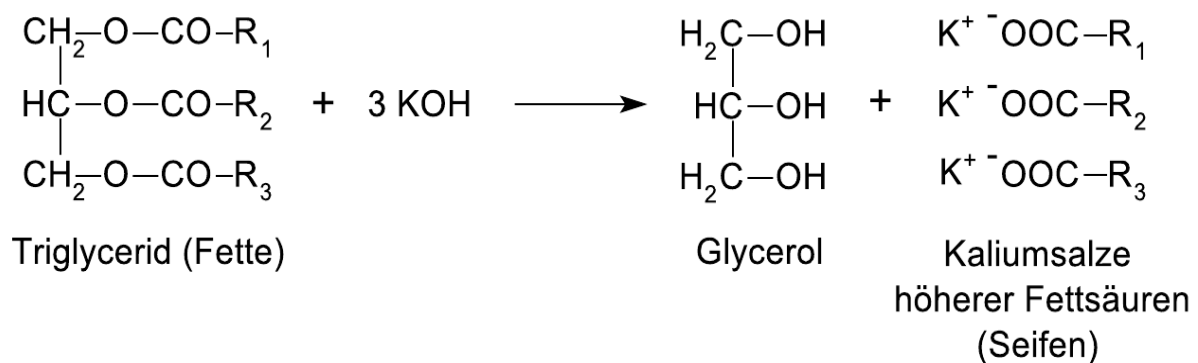


Abbildung 11 [Verseifung der an Glycerin gebundenen Fettssäuren]

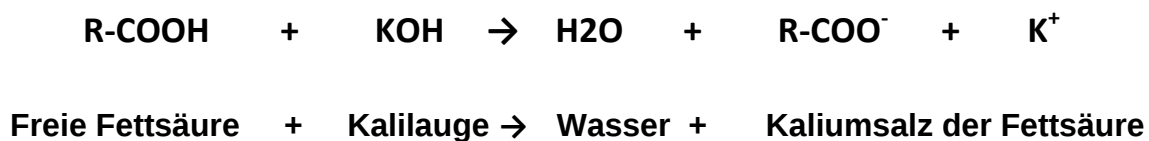
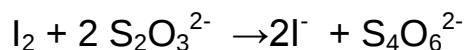


Abbildung 12 [Verseifung der ungebundenen Fettsäure]

Olivenerle liegen im Verseifungszahl-Bereich von 186 bis 196 und Sonnenblumenöle von 185 bis 195. Da diese Werte abweichen können, ist über die Verseifungszahl keine zuverlässige Unterscheidung oder Reinheitsbestimmung möglich.

Iodometrie

Im Jahre 1840 wurde die erste iodometrische Bestimmung von DuPasquier durchgeführt. Das Verfahren der Iodometrie wurde später durch Bunsen weiterentwickelt. Durch die Möglichkeiten die Iodometrie als direkte oder indirekte Oxidation/ Reduktion zu verwenden, ist sie bis heute eine wichtige Komponente der Redox-Maßanalysen. Heutzutage wird als Maßlösung hauptsächlich Natriumthiosulfat verwendet.



Kurz vor Ende der Titration werden der Lösung einige Tropfen einer Stärkelösung zugesetzt. Der Endpunkt der Titration kann so besser erkannt werden, weil das verbliebende Iod mit der Stärke einen blauen Farbkomplex bildet. Ist die blaue Färbung verschwunden, ist das Iod umgesetzt.

Dabei geht das Iod eine Verbindung mit der Amylose ein. Amylose ist ein Bestandteil der Stärke. Die Glucosekette, die nicht linear, sondern helixförmig aufgebaut ist, schließt die Polyiodidkette ein.

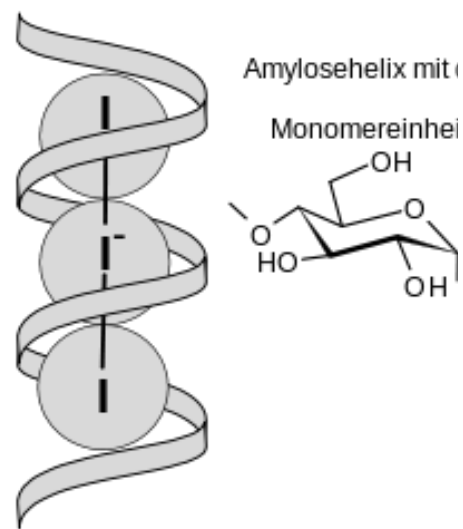


Abbildung 13 [Aufbau eines helixförmigen Iod-Stärke-Komplexes]

Die Iodzahl gibt an, wieviel Gramm Iod von 100 g Fett addiert werden. Sie ist also ein Maß für den Anteil an ungesättigten Fettsäuren im Fett.

Für Olivenöl liegt die Iodzahl zwischen 50 und 100. Sonnenblumenöl hat eine etwas höhere Iodzahl, nämlich zwischen 100 bis 130.

Infrarot-Spektroskopie

Die Infrarotspektroskopie ist eine Analysenmethode, bei der in einem Wellenlängenbereich zwischen 2.5 und 250 μm oder 4000 und 400 cm^{-1} gemessen wird. Es werden die Schwingungen der Bindungen und die Rotationen der zu untersuchenden Moleküle bestimmt. Hierdurch ist eine Strukturuntersuchung möglich.

Sobald chemische Verbindungen mit infraroter Strahlung wechselwirken, absorbieren sie dieses Licht. Dabei verändert sich die Energie des Moleküls. Die Energie des Lichtes wird zum Teil aufgenommen. In welchem Bereich des Lichtes es bei einem spezifischen Molekül zu einer Absorption kommt, kann durch die Aufnahme eines Absorptionsspektrums festgestellt werden. Dieses wird bei der Messung mit einem IR-Spektrometer aufgenommen. Über den Teil des absorbierten Lichtes, der im IR-Bereich liegt, kann im Anschluss ein Rückschluss auf die vorhandenen funktionellen Gruppen geschlossen werden. IR-Aktiv sind nur Schwingungen oder Rotationen, die zu Verschiebung des Dipols führen.

Im Allgemeinen teilt man die Molekülschwingungen in zwei Hauptgruppen ein. Zum einen in die Valenzschwingungen oder auch Streckschwingungen. Hierbei handelt es sich um Schwingungen entlang der Bindungsachse zweier Atome in einem Molekül. Diese wird durch eine Dehnung oder Stauchung der Bindung herbeigeführt. Und zum anderen die Deformationsschwingungen. In diesem Fall handelt es sich um Schwingungen unter der Deformation des Bindungswinkels durch entweder Biege/Beugebewegungen in der Ebene oder durch Dreh/Kippbewegungen außerhalb der Ebene.

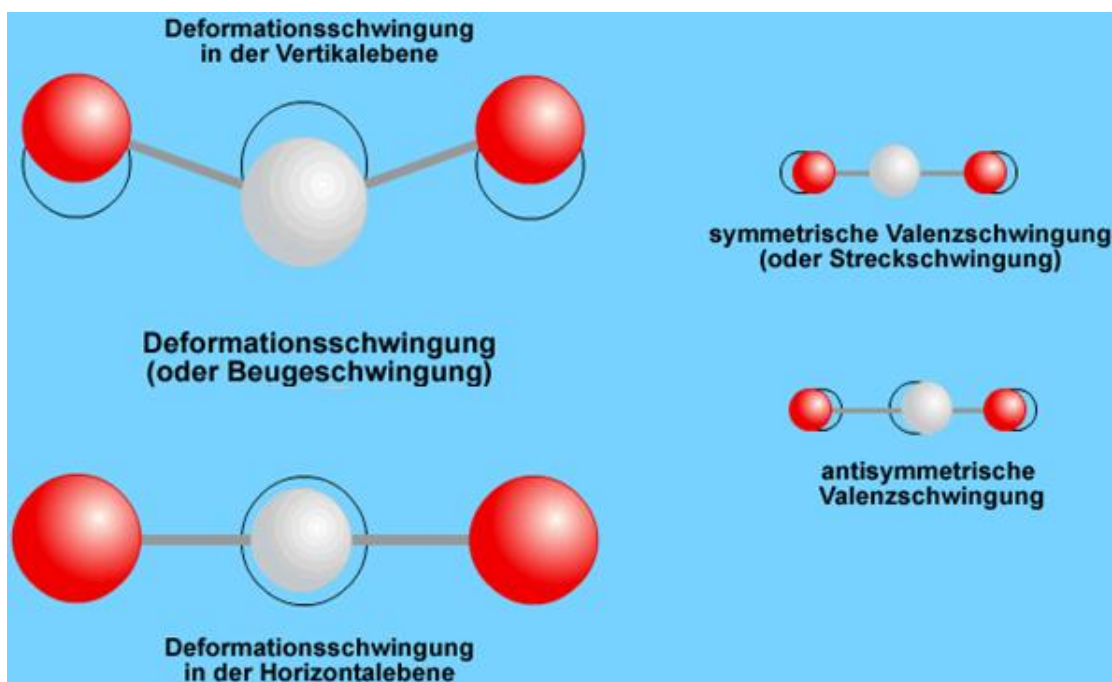


Abbildung 14 [Darstellung von Schwingungsarten in einem Molekül]

Ein FT-IR-Spektrometer kann generell in fünf Hauptbestandteile aufgeteilt werden.

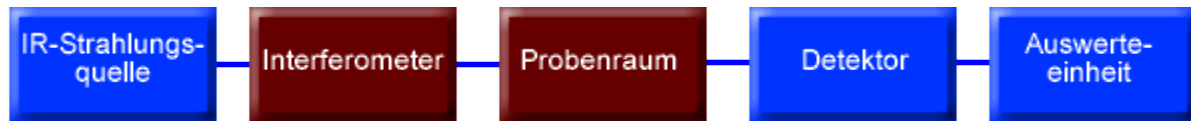


Abbildung 15 [schematischer Aufbau eines FT-Infrarotspektrometers]

Zum einen die Strahlungsquelle, welche Licht in dem benötigten Wellenlängenbereich abgibt. Danach folgt beim verwendeten FT-IR-Spektrometer das Michelson-Interferometer. Hier wird zunächst die polychromatische IR-Strahlung durch einen halbdurchlässigen Spiegel in zwei Strahlen zerlegt. Damit der eine Strahl eine feste Weglänge hat, wird er an einem ortsfesten Spiegel reflektiert. Die Weglänge des zweiten Strahls kann durch die Spiegelung an einem beweglichen Spiegel durchgängig variiert werden. Treffen diese Strahlen wieder aufeinander entsteht eine Interferenz. Sie liefert als Summe über alle Wellenlängen eine bestimmte Interferenzintensität. Diese wird ins Verhältnis zu der Zeit der Variierung der Weglänge des Teilstrahls gesetzt und gespeichert. Es ergibt sich ein Interferogramm. Ein solches Interferogramm enthält alle Informationen des gewünschten Spektrums in einer sogenannten Ortsdomäne. Diese wird dann in eine Frequenzdomäne umgerechnet. Die vereinten Strahlen treffen dann im dritten Schritt auf die Probe und werden am Ende detektiert und am PC dargestellt.

In unserer Projektarbeit wurde die Technik der Attenuated-Total-Reflexion Infrarotspektroskopie verwendet. Auf Deutsch bedeutet ATR so viel wie „abgeschwächte Totalreflexion“. Mit dieser Technik ist es möglich kleinste Probemengen nicht destruktiv zu untersuchen. Außerdem sind auch Oberflächenuntersuchungen von Proben möglich.

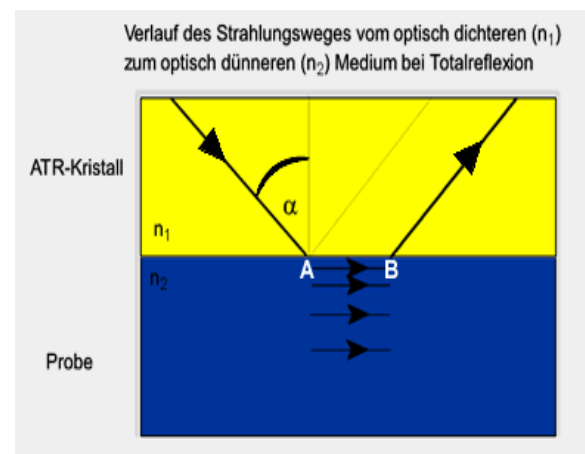


Abbildung 16 [schematischer Aufbau ATR 1]

Kernelement dieser speziellen Methode ist ein Lichtwellenleiter. In diesem wird Strahlung in eine Totalreflexion geführt. Dieser Lichtwellenleiter kann eine Faser ohne Mantel, ein Prisma oder auch ein spezieller ATR-Kristall sein. Bei der Totalreflektion dringt ein Lichtstrahl teilweise in das optisch dünnere Medium ein. Hierbei wird der Lichtstrahl seitlich um eine Wellenlänge verschoben und reflektiert. Wie in Abbildung 16 zu erkennen, ist das optisch dickere Medium bei dieser Technologie der Lichtwellenleiter. Das optisch dünnere Medium ist die Probe.

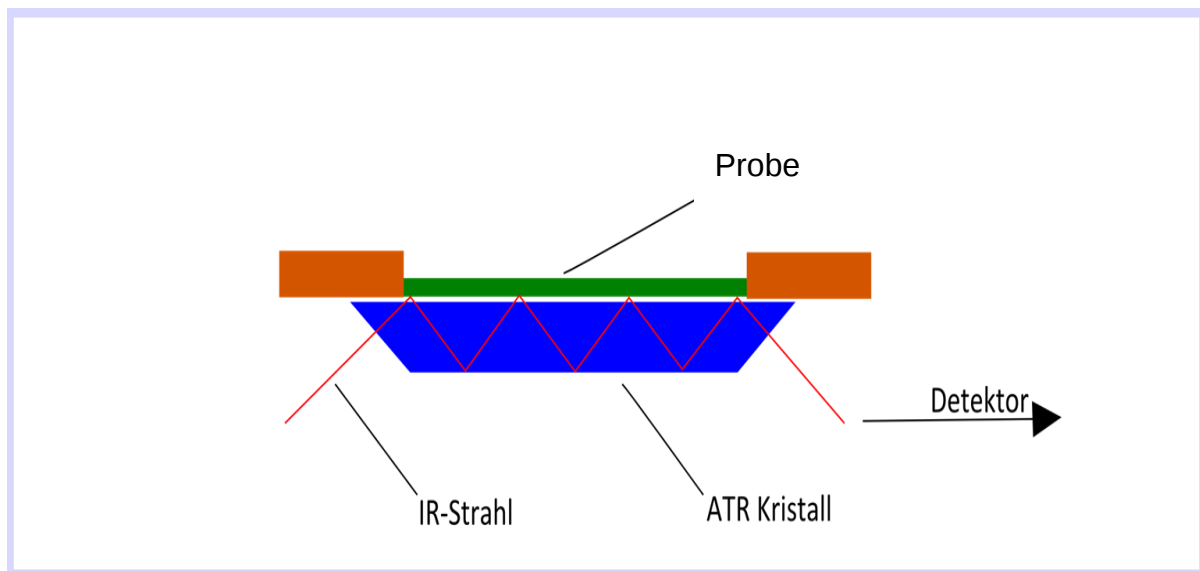


Abbildung 17 [schematischer Aufbau ATR 2]

Durch den Lichtwellenleiter wird der Lichtstrahl mehrfach reflektiert und dringt jedes Mal teilweise in die Probe ein. Dort wechselwirkt er mit dieser und wird abgeschwächt.

Das IR Spektrum wird in drei Bereiche aufgeteilt. Nahes, mittleres und fernes IR. Hierbei hat das nahe IR eine höhere Frequenz und somit Energie als das ferne IR. Im nahen und mittleren IR-Bereich ($\tilde{\nu} = 10.000 - 200 \text{ cm}^{-1}$) werden Molekülschwingungen angeregt, im fernen IR ($\tilde{\nu} = <200 \text{ cm}^{-1}$) hingegen Rotationen und Translationen.

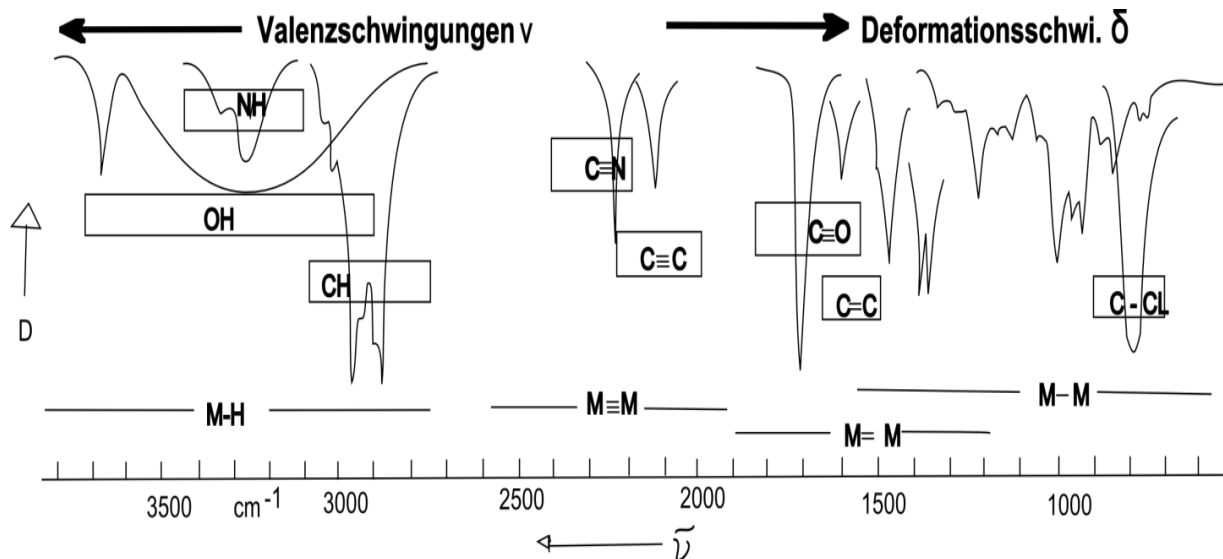


Abbildung 18 [Schwingungsbereiche in einem Infrarotspektrum]

Der Fingerprint-Bereich im Bereich von $<1600 \text{ cm}^{-1}$ hat eine sehr große Anzahl von Banden, deren Ursprung schwer zu identifizieren ist. Allerdings sind die Frequenzlage und Intensität stark charakteristisch für eine Substanz.

Chromatographie

Die Chromatographie ist eines der am meisten genutzten analytischen Verfahren, um eine Probe auf ihre Zusammensetzung zu prüfen. Dabei besagt die Definition, dass es sich bei einer Chromatographie um ein physikalisch-chemisches Trennverfahren handelt, bei dem eine Stofftrennung durch Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase stattfindet. Dazu wird die zu untersuchende Probe in einer mobilen Phase, welche eine Flüssigkeit oder ein Gas sein kann, gelöst. Die mobile Phase mit der darin enthaltenen Probe wird anschließend über die stationäre Phase geleitet. Diese besteht meist aus einem Feststoff, seltener aus einem Flüssigkeitsfilm. Hierbei findet eine kontinuierliche Wechselwirkung zwischen den beiden Phasen statt. Durch unterschiedliche Wechselwirkungen der gelösten Komponenten mit der stationären Phase, kommt es bei einer ausreichend lang gewählten Laufzeit zur Auftrennung eines Gemisches in seine Bestandteile. Je nachdem, ob als mobile Phase eine Flüssigkeit oder ein Gas verwendet wurde, unterscheidet man zwischen der Gaschromatographie und der Flüssigchromatographie. Der ganze Mechanismus basiert dabei darauf, dass eine kontinuierliche Adsorption und Desorption an der stationären Phase stattfindet. So trägt die mobile Phase die unterschiedlichen Bestandteile unterschiedlich schnell über die stationäre Phase. Dies liegt daran, dass im Idealfall die Stärke und Dauer der Absorption von Komponente zu Komponente unterschiedlich ist. Damit also eine chromatographische Auftrennung eines Substanzgemisches überhaupt möglich ist, müssen sich die gelösten Verbindungen durch unterschiedliche Affinitäten zur stationären Phase auszeichnen. Somit ist es essenziell wichtig die passenden Phasen für eine Probe zu wählen.

Geschichte

„Obwohl bereits zu Zeiten eines Aristoteles Verfahren zur Meerwasseraufbereitung beschrieben werden, bei denen die adsorptive Wirkung bestimmter Böden ausgenutzt wurden, beginnt die wissenschaftliche Entwicklung der Chromatographie erst Ende des 19. Jahrhunderts mit Arbeiten des deutschen Chemikers Ferdinand Friedlieb Runge (1794 – 1867). In seinem 1855 in Oranienburg erschienenem Buch „Der Bildungstrieb der Stoffe, veranschaulicht in selbständig gewachsenen Bildern“ beschreibt er Techniken, die der Papierchromatographie zuzuordnen sind. Aber selbst Runge sah seine Experimente mehr unter ästhetischen und spielerischen Gesichtspunkten, die keine analytische Anwendung fanden. Auch die Arbeiten von R. T. Day, der um die Jahrhundertwende Erdöle fraktionierte, indem er sie durch mit Kalk - und Lehm gefüllte Säulen filtrierte, sind eher als spezielle Filtrationstechnik denn als neues (chromatographisches) Verfahren erkannt worden.

Als eigentlicher Entdecker der Chromatographie als wissenschaftliches Trennverfahren muss der russische Botaniker Michael S. Tswett (1872 – 1919) angesehen werden. Im März 1903 hielt er vor der Biologischen Sektion der Warschauer Naturforschenden Gesellschaft einen Vortrag mit dem Titel : “Über eine neue Kategorie von Adsorptionserscheinungen und ihre Anwendung in der biochemischen Analyse“.[...]

„Wie die Lichtstrahlen im Spektrum, so werden in der Calciumkarbonatsäule die verschiedenen Komponenten eines Farbstoffgemisches gesetzmässig auseinandergelegt, und lassen sich darin qualitativ und auch quantitativ bestimmen. Ein solches Präparat nenne ich ein Chromatogramm und die entsprechende Methode, die chromatographische Methode.“

[...] Weltbekannt wurden dann 1941 die Arbeiten von A. J. P. Martin und R. L. M. Synge, die Gemische von Aminosäuren aus Wollhydrolysaten auf Säulen mit wassergesättigtem Kieselgel trennten. Dafür wurden sie 1952 mit der Verleihung des Nobelpreises geehrt. In dieser Arbeit wurde bereits erwähnt, dass theoretisch auch eine Gas – Liquid – Chromatographie möglich sein müsste. Deren Realisierung blieb Martin zusammen mit A. T. James vorbehalten. Sie veröffentlichten 1952 eine Arbeit zur schnellen qualitativen und quantitativen Analyse geringster Mengen eines Fettsäuregemisches. Dieser Termin wird allgemein als Geburtsstunde der GLC angesehen.“ Zitat [chemie-biologie.uni-siegen.de/chemiedidaktik/service/fundgrube/chrom2.html?lang=de]

Die zweidimensionale Gaschromatographie wurde in ihren Grundzügen erst sehr viel später um die Jahrtausendwende entwickelt. Heutzutage benutzt man die zweidimensionale Gaschromatographie zur Auftrennung von komplexen Stoffgemischen und in Verbindung mit einem Massenspektrometer zur Strukturaufklärung.

Die Chromatographie selbst unterteilt sich heute in viele kleinere Abschnitte, wie in folgendem Bild zu sehen ist.

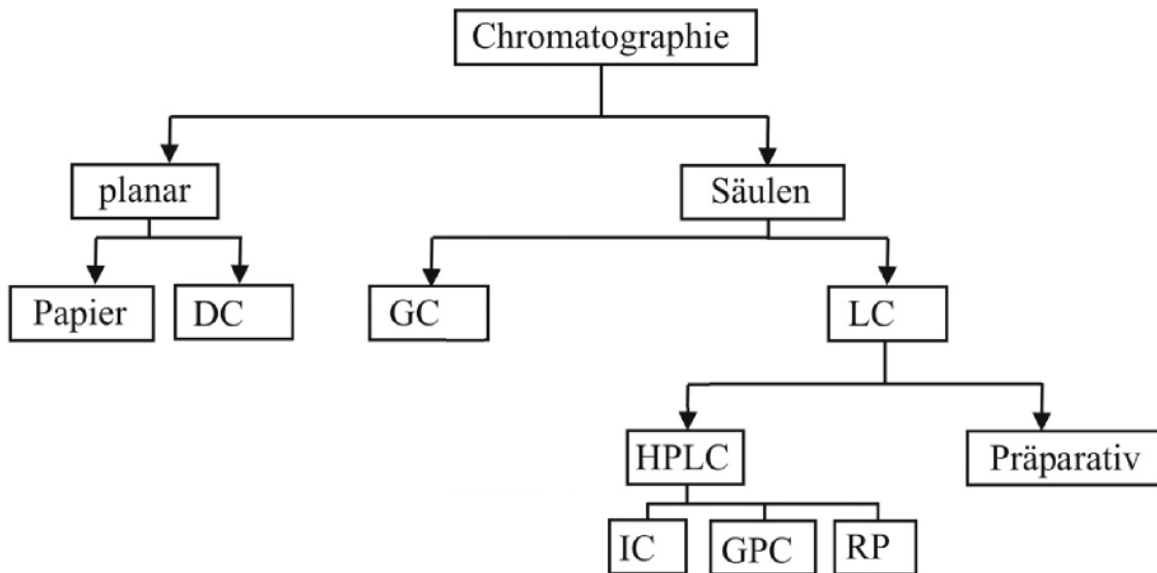


Abbildung 19 [Übersicht der Chromatographiearten]

Der wohl erste analytische Fall einer solchen chromatographischen Methode war die klassische Papier-Chromatographie. Hierbei handelt es sich neben der Dünnschichtchromatographie (DC) um eines der beiden planaren Verfahren. Dabei wird die gelöste Probe auf die stationäre Phase punktförmig aufgetragen. Die stationäre Phase besteht aus Cellulose und dem durch Luftfeuchtigkeit vorhandenen Wassermantel der Cellulose. Die mobile Phase, zum Beispiel Wasser, wird durch die Kapillarkwirkung nach oben gezogen. Es erfolgt dabei eine Auftrennung des Startpunkts in die verschiedenen Bestandteile des Substanzgemisches. Zwar wurde diese Entdeckung zuerst nicht als mögliches analytisches Verfahren betrachtet, sondern eher als ein faszinierender Zufall, jedoch wurde dieses Verfahren zur heutigen Chromatographie weiterentwickelt.



Abbildung 20 [Drei Fotos der Papierchromatographie]

Bei dem zweiten planaren Verfahren, der Dünnschicht-Chromatographie, wird nach demselben Prinzip gearbeitet. Allerdings wird bei diesem Verfahren kein Papier als stationäre Phase verwendet. Im Allgemeinen besteht die stationäre Phase hier aus einer dünnen Schicht, eines sehr feinkörnigen Materials wie Kieselgel oder Aluminiumoxid. Dieses wird sehr genau auf eine Trägerplatte aus z.B. Kunststoff aufgetragen. Hierbei handelt es sich um eine erste Weiterentwicklung der Papier-Chromatographie, da hier schon Rücksicht auf die Polarität genommen wurde. Man hat sich also erste Gedanken zur Affinität des Analyten zu den Phasen gemacht. Als Gegenstück zum meistens genutzten polaren Kieselgel wird bei der DC grundsätzlich ein unpolares organisches Lösemittel verwendet.

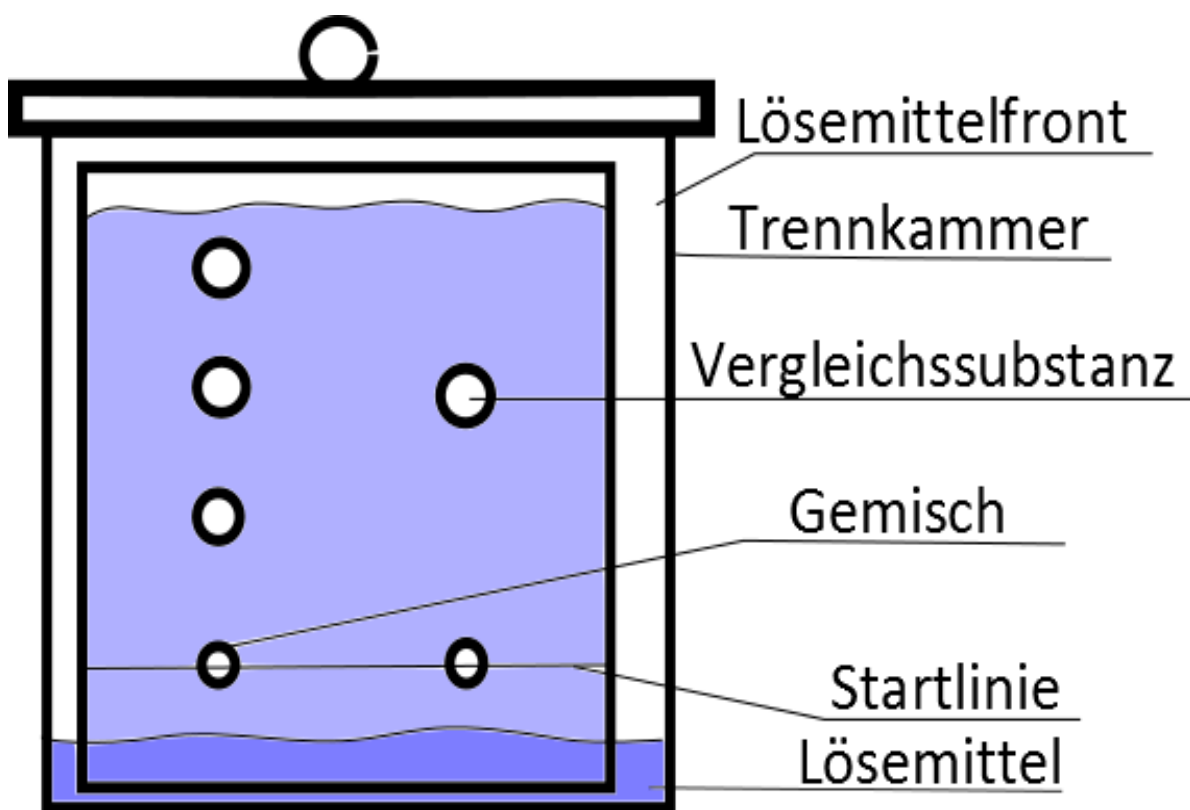


Abbildung 21 [schematischer Aufbau der Dünnschichtchromatographie]

Nach der Auftrennung nimmt jede enthaltene Substanz im Gemisch eine spezifische Stelle ein. Gibt man gleichzeitig eine Vergleichssubstanz mit auf die DC-Platte, so kann man anhand ihrer Position das Vorhandensein oder Fehlen dieser Substanz im Gemisch belegen. Um die Substanzen sichtbar zu machen, wird häufig ein Indikator benötigt.

Da man dieses Verfahren weiterentwickeln wollte und das Problem der schlechten Vergleichbarkeit verschiedener DC-Platten untereinander beheben wollte, wurden die ersten Trennsäulen entwickelt. Im Gegensatz zu den planaren Methoden befindet sich hier die stationäre Phase in einem zylindrischen Rohr, die sogenannte Trennsäule. Sie enthält das Packungsmaterial, welches den gesamten Hohlraum des Rohres ausfüllen kann, oder lediglich als dünne Schicht an der Innenfläche aufgebracht ist. Zum einen kann bei diesem Verfahren auch eine flüssige mobile Phase verwendet werden, zum anderen ist es so auch zum ersten Mal möglich, ein Gas als mobile Phase zu verwenden. So ist neben flüssigen Proben auch die Analyse gasförmiger Proben realisierbar. Außerdem ist die Chromatographie mit der Verwendung von Säulen und der Entwicklung der HPLC und der GC an einem Punkt angekommen, an dem für fast jede Probe, die aus mehreren Bestandteilen besteht, eine passende Auftrennmethode existiert. Allerdings wird in dieser Projektarbeit von den vielfältigen, chromatographischen Methoden nur die Gaschromatographie verwendet. Daher wird auch nur auf diese im folgenden Kapitel ab Seite 33 näher eingegangen.

An all diese Verfahren wird die Anforderung gestellt, eine möglichst gute Trennung in einer möglichst kurzen Zeit zu erreichen. Ist zum Beispiel die Flussgeschwindigkeit zu hoch, findet kaum noch eine Adsorption an der stationären Phase statt. Ist sie hingegen zu niedrig, bleibt der Analyt dauerhaft auf der Säule oder braucht zu lange für das Durchqueren. Um die Einflüsse auf die Trennung mathematisch darstellen zu können, wurde die Van-Deemter Gleichung entwickelt.

$$H = A + \frac{B}{u} + C * u$$

H = Bodenhöhe

A = Eddy-Diffusion

B = Längendiffusion

U = Fließgeschwindigkeit

C= Zeit für den Stoffaustausch

Mit ihr wird versucht, eine optimierte Nutzung der beiden Phasen zu erreichen.

Hierbei steht das H für die Bodenhöhe. Sie ergibt sich auch aus der Anzahl der theoretischen Böden N und der Länge L einer Säule ($H=N/L$)

Die Variable A steht für die Eddy Diffusion. Sie beschreibt den Einfluss des Säulenmaterials auf die Breite des entstehenden Peaks. Je nach Packung der Säule, müssen Analyten unterschiedlich lange Wege zurücklegen, um eine Säule zu durchqueren. Dies lässt sich durch die Unregelmäßigkeiten in der Körnergröße erklären, die für die Säule verwendet wurden. A ist dabei unabhängig vom Fluss der mobilen Phase.

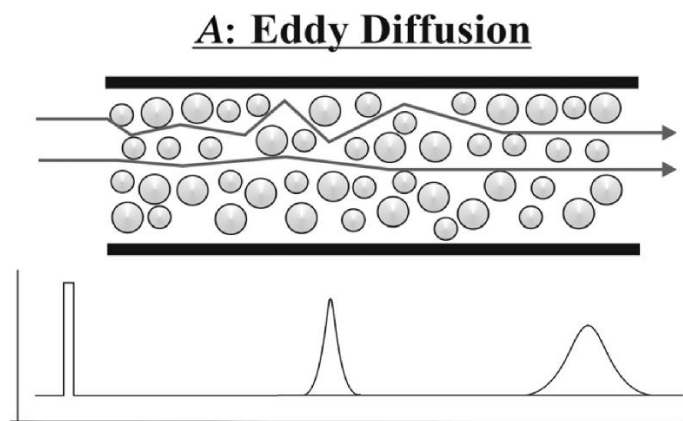


Abbildung 22 [schematische Darstellung der Eddy-Diffusion]

Eine weitere Störung bildet die Längendiffusion B. Je länger die Säule, desto breiter teilt sich ein Analyt im Eluenten auf. Dies liegt an der zufälligen Verteilung des Analyten entlang der Säulenachse.

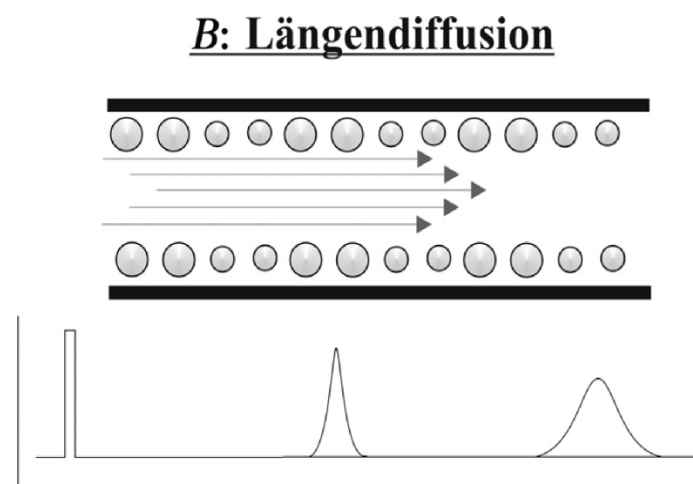


Abbildung 23 [schematische Darstellung der Längen-Diffusion]

Die Fließgeschwindigkeit der mobilen Phase wird mit u beschrieben.

C steht für die Zeit, die für den Stoffaustausch benötigt wird. Der Wechsel zwischen der mobilen und der stationären Phase findet nicht spontan statt. Es dauert einige Zeit, um von einer Phase in die andere zu wechseln. Eine langsame Fließgeschwindigkeit hilft dabei diesen Wert zu verbessern, verschlechtert aber aus anderen Gründen die Trennung.

Zusammenfassend beschreibt die Van-Deemter Gleichung, wann die idealen Parameter für eine optimale Trennung erreicht sind. Dabei werden alle obenstehenden Einflüsse berücksichtigt.

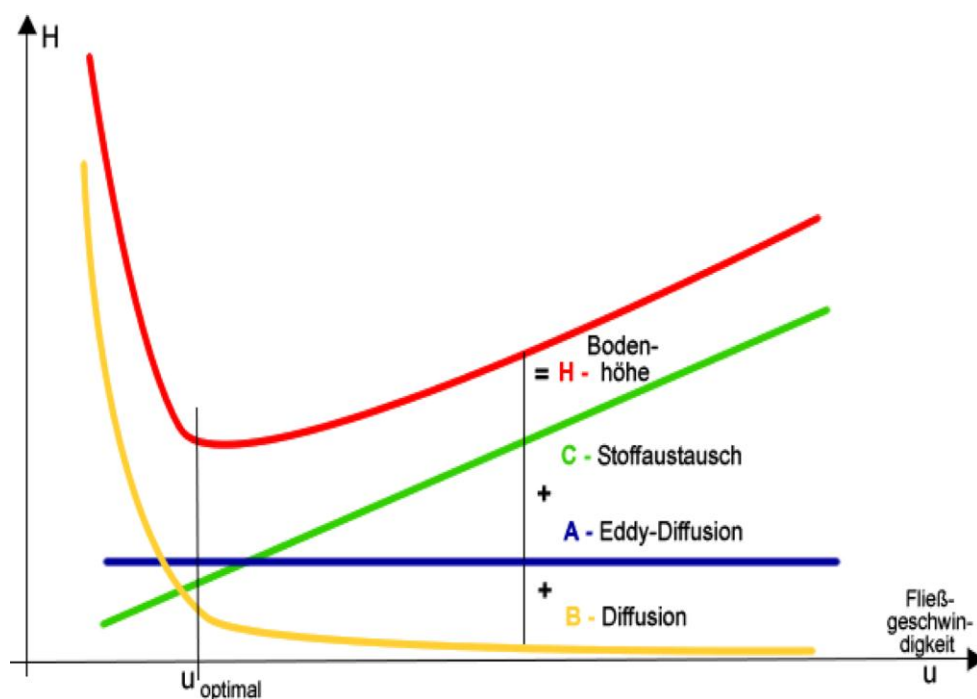


Abbildung 24 [Van Deemter Graph]

Des Weiteren können unterschiedliche Trennmechanismen verwendet werden, um eine gute Trennung zu erhalten, je nachdem um was für eine Probe es sich handelt. Auf die Relevantesten wird nun kurz eingegangen.

Molekülgröße:

Hierbei wird von dem Prinzip ausgegangen, dass kleinere Moleküle an porösen Oberflächen stärker zurückgehalten werden als große Moleküle. Auch die Form eines Moleküls kann hier eine starke Rolle spielen. So zeigt eine lange Kette ein anderes Verhalten, als ein gleich schweres Molekül mit sehr vielen Seitenketten. Man spricht von einer Ausschlusschromatographie.

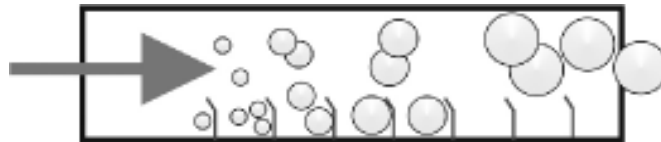


Abbildung 25 [schematische Funktion einer Ausschlusschromatographie]

Adsorption:

Wenn man von einer Adsorption spricht, spricht man von der Anlagerung eines Stoffes an einen anderen. Dabei entsteht keine chemische Bindung. Die Stärke der Affinität zur mobilen bzw. zur stationären Phase entscheidet darüber, wie sich die Aufteilung darstellt. Dieses Prinzip nutzt die Adsorptionschromatographie.

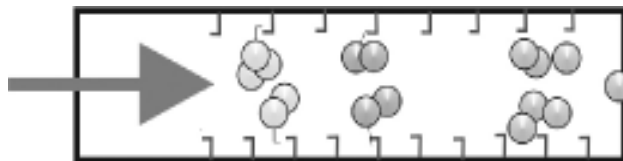


Abbildung 26 [schematische Funktion einer Adsorptionschromatographie]

Verteilung:

In diesem Fall ist die stationäre Phase nicht fest, sondern flüssig. Eine nicht mit der stationären Phase mischbare, mobile Phase, welche aus einem Gas oder einer Flüssigkeit besteht, findet hier Verwendung. Der in beiden Phasen lösliche Analyt wechselt während der Messung immer wieder zwischen den beiden Phasen und wird so zurückgehalten. Eine sogenannte Verteilungschromatographie wurde durchgeführt.



Abbildung 27 [schematische Funktion einer Verteilungschromatographie]

Gaschromatographie

Allgemeines

Als Gaschromatographie wird ein chromatographisches Verfahren bezeichnet, bei dem die mobile Phase gasförmig ist. Stoffgemische, die mit dieser Analysemethode untersucht werden sollen, müssen gasförmig sein, oder zersetzungsfrei in die Gasphase überführt werden können.

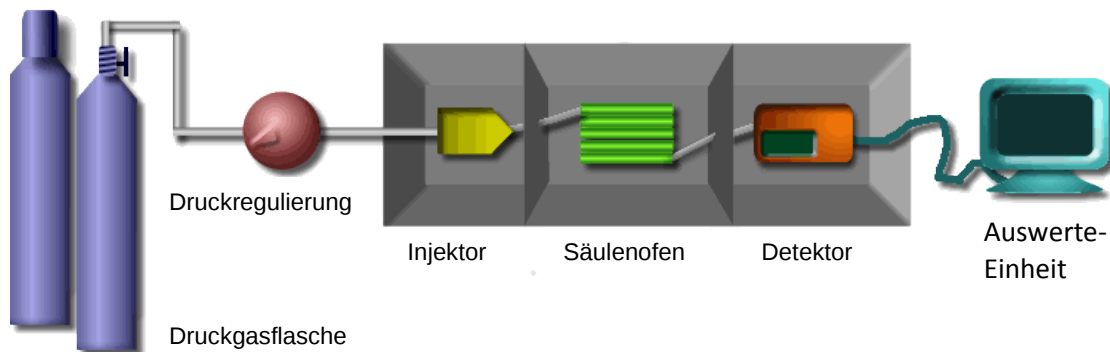


Abbildung 28 [schematischer Aufbau eines Gaschromatographen]

In den Gaschromatographen wird das Trägergas aus den Druckgasflaschen eingeleitet. Dieses durchquert zunächst eine Druckregulierung, um dann am Injektor mit der Probensubstanz versetzt zu werden. In der Säule, die im Bild grün dargestellt ist, werden die einzelnen Komponenten der Probe nach ihrer Polarität oder ihrem Siedepunkt getrennt. Haben sie die Säule passiert werden sie vom Detektor registriert. Dieser sendet dann ein elektrisches Signal an die Auswerteeinheit, die jedes eingehende Signal als Peak auf einem Chromatogramm gegen die Zeit aufträgt. Je größer die Konzentration, desto höher der Peak. So entsteht ein Chromatogramm, wie es in der untenstehenden Abbildung 29 zu sehen ist.

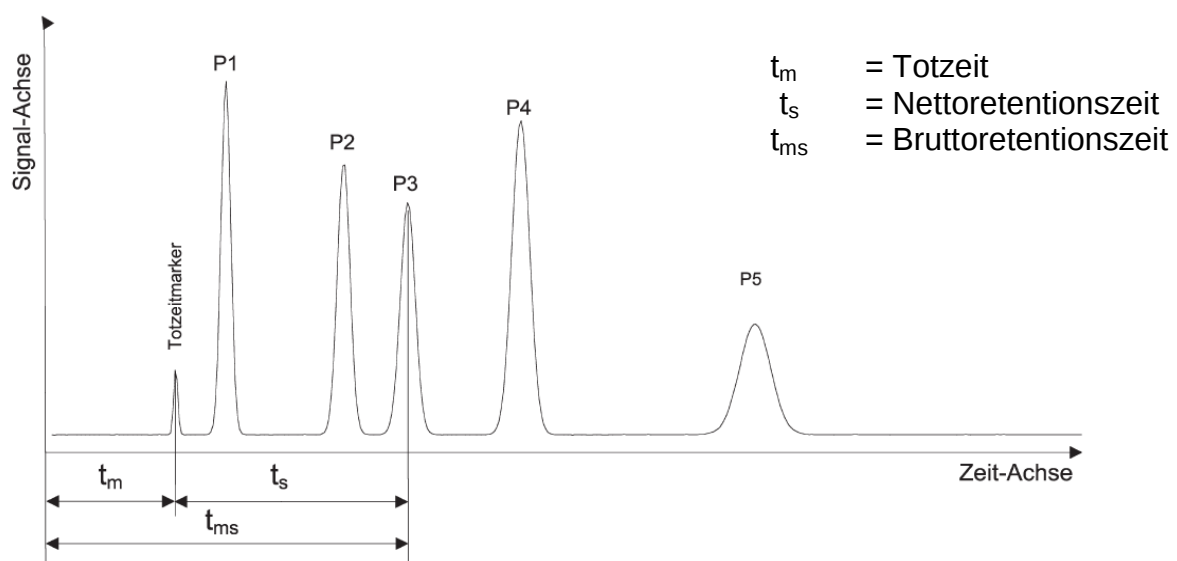


Abbildung 29 [Aufbau und Erläuterung eines Chromatogramms]

Der Injektor

Aufgrund der unterschiedlichen Anforderungen an das Probeaufgabesystem, gibt es unterschiedliche Injektoren. Die drei wichtigsten sind der Split/Splitless-Injektor, der On-Column-Injektor und das Kaltaufgabesystem.

Am häufigsten wird der Split/Splitless-Injektor verwendet, der in unten stehenden dem Bild zu sehen ist. Dieser Injektor ist ein Verdampfungsinjektor, der beheizt wird. Durch das Septum wird mit Hilfe einer Spritze und einer Kanüle die Probe im Lösemittel in den Injektor gebracht. Dort wird sie verdampft und vermischt sich mit dem Trägergas. Probe und Trägergas werden dann gemeinsam auf die Säule gedrückt. Der Split/Splitless-Injektor ist in der Lage sowohl mit Split, wie auch splitlos zu injizieren.

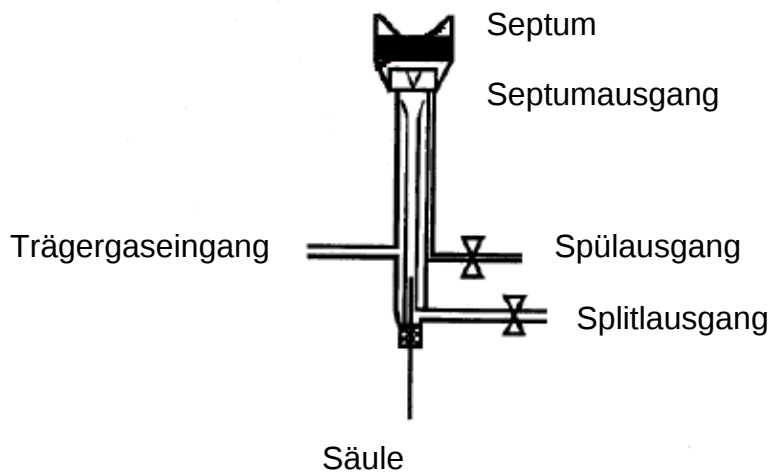


Abbildung 30 [schematischer Aufbau eines Injektors mit Splitfunktion]

Bei der splitlosen Injektion wird die gesamte Probe bei geschlossenem Ventil zunächst vollständig verdampft. Danach gelangt sie auf die Trennsäule, die in der Lage sein muss das ganze Probevolumen aufzunehmen. Diese Art der Injektion ist besonders geeignet, wenn der Analyt nur in Spuren in der Probe vorhanden ist. Die splitlose Injektion eignet sich nur für flüssige Proben.

Bei der Split-Injektion wird ein Teil der Probe nicht auf die Säule gegeben und so eine Überladung dieser verhindert. Die Probe gelangt bei geöffnetem Ventil auf die Säule, was dazu führt, dass der Probenauftrag schneller und die Auflösung verbessert wird. Als Splitverhältnis wird das Verhältnis zwischen dem Gasvolumen, das auf die Säule gebracht wird und dem abgeführten Volumen bezeichnet. Je nach Typ des Geräts sind Splitverhältnisse von 1:10 bis 1:300 möglich. Die Split-Injektion eignet sich für feste, flüssige oder gasförmige Probe, wenn diese nicht nur in Spuren in der Probe vorhanden sind.

Bei der On-Column-Injektion wird das Probematerial direkt auf die Säule gespritzt. Dabei kann die Öffnung mit einem Septum oder mit einer Schiebeeinrichtung

verschlossen sein, die nur für die Injektion geöffnet wird. Nachteilig ist bei einem Septum, dass Partikel aus dessen Material durch das Einspritzen auf die Säule gebracht werden können. Bei einem Schiebeverschluss besteht dagegen das Problem, dass ein solcher nur schwer vollständig abzudichten ist. So kann Luft auf die Säule gelangen, was dem System schaden und die Messung verfälschen kann. Der On-Column-Injektor hat einerseits den Vorteil, dass bei der Verwendung von Kapillarsäulen sehr scharfe Peaks entstehen. Andererseits kann es leicht passieren, dass die Säule aufgrund des fehlenden Splits überladen wird.

Das Kaltaufgabesystem (kurz KAS) ist ein Injektor der hauptsächlich für temperaturlabile Substanzen verwendet wird. In diesem ist es möglich diese Stoffe langsam und schonend zu verdampfen. Des Weiteren besteht die Möglichkeit den Injektor mit flüssigem Stickstoff zu kühlen.

Bei Analyten in einer komplizierten Probenmatrix, wird häufig die Headspace-Technologie verwendet. Hierbei wird die Probe vor der Injektion erhitzt und nur der Teil, der in die Dampfphase übergegangen ist, auf die Säule geleitet. So können zum Beispiel auch Stoffe analysiert werden, die verunreinigt sind und sonst den Injektor zusetzen würden.

Die mobile Phase

In der Gaschromatographie besteht die mobile Phase aus einem Trägergas, das die Probe durch die Säule transportiert. Es werden unter anderem N_2 , H_2 , He und Ar als Trägergase verwendet. Welches Trägergas geeignet ist hängt von der Anwendung, dem Gerät und dem Detektor ab. Zum Beispiel haben N_2 und H_2 eine hohe Empfindlichkeit, wenn ein Wärmeleitfähigkeitsdetektor verwendet wird. Der Einsatz von Stickstoff führt außerdem zu einer geringeren Diffusion und daher zu schmalere Peaks.

Besonders wichtig ist bei allen Trägergasen deren Reinheit. Einerseits könnte durch Fremdstoffe die Messung verfälscht werden. Andererseits können schon kleinste Sauerstoffmengen im Trägergas dazu führen, dass die stationäre Phase angegriffen wird. Es ist daher ein Sauerstoffgehalt von weniger als 0,01% zulässig.

Die Van-Deemter-Gleichung zeigt, wie groß der Einfluss der Flussgeschwindigkeit auf eine chromatographische Trennung ist. Aus diesem Grunde ist eine genaue Flussregulierung besonders wichtig. Mit der Flussgeschwindigkeit lässt sich das Elutionsverhalten des Stoffes genau steuern und so eine möglichst geringe theoretische Bodenhöhe erreichen. Die theoretische Bodenhöhe gibt an, wie viele Trennstufen auf der Säulenlänge möglich sind (siehe S. 29).

Außerdem sind reproduzierbare Flussraten natürlich wichtig, um vergleichbare Retentionszeiten zu erhalten.

Die stationäre Phase

Kernstück eines Gaschromatographen ist die Säule mit der stationären Phase, da hier die eigentliche Trennung stattfindet. Alle Säulen in der Gaschromatographie bilden im inneren Gleichgewichtsverhältnisse, in der die Probe zwischen der stationären und mobilen Phase wechselwirkt. Man unterscheidet zwischen gepackten Säulen und Kapillarsäulen.

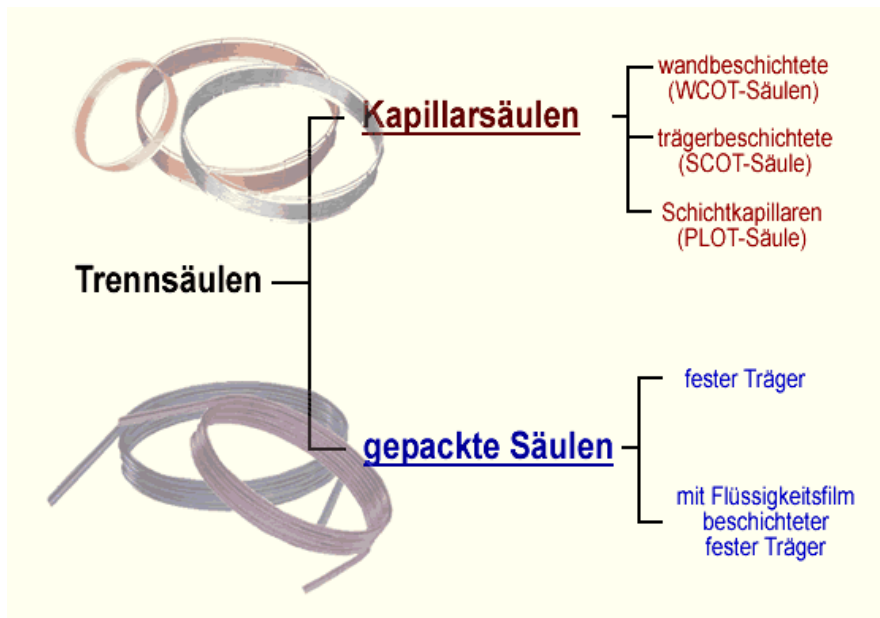


Abbildung 31 [Darstellung, Unterteilung von Typischen GC-Säulen]

In den ersten Gaschromatographen kamen ausschließlich gepackte Säulen zum Einsatz. Heute spielen sie nur noch eine untergeordnete Rolle. Eine gepackte Säule besteht aus einem Mantel aus Glas, Metall oder Teflon und ist mit der eigentlichen, stationären Phase gefüllt. Diese kann sowohl fest, als auch flüssig sein. Handelt es sich um eine flüssige Phase, ist sie immer auf ein Trägermaterial aufgebracht. Vorteilhaft ist bei den gepackten Säulen, dass sie auch größere Analytenmengen sauber auftrennen können und eine geringere Totzeit

erzeugen. Nachteilig ist allerdings, dass Stoffe mit hohen Siedepunkten zu lange auf der Säule verweilen.

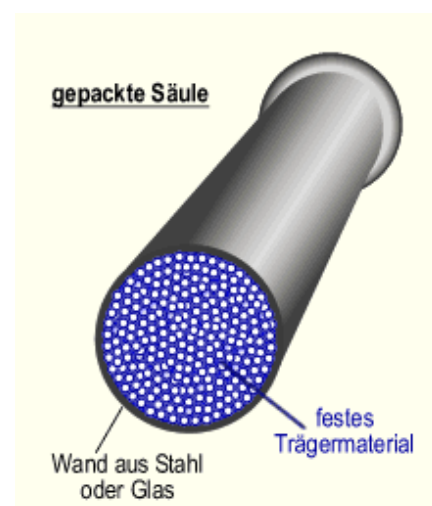


Abbildung 32 [Querschnitt einer gepackten Säule]

Bei den meisten heute verwendeten Säulen, handelt es sich um Kapillarsäulen. Diese können in PLOT-Säulen, in SCOT-Säulen und in WCOT-Säulen eingeteilt werden. Im Inneren der PLOT-Säulen befindet sich eine feste stationäre Phase. Bei SCOT-Säulen besteht die stationäre Phase aus einem Flüssigkeitsfilm, der auf einen festen Träger aufgebracht ist. An den Innenwänden der WCOT-Säulen befindet sich ein dünner Flüssigkeitsfilm, als stationäre Phase. Weil diese Art der Kapillarsäule die beste Auftrennung besitzt, wird sie häufig in der Spurenanalytik eingesetzt. In der Abbildung 33 lassen sich die Unterschiede der drei Kapillarsäulen gut erkennen.

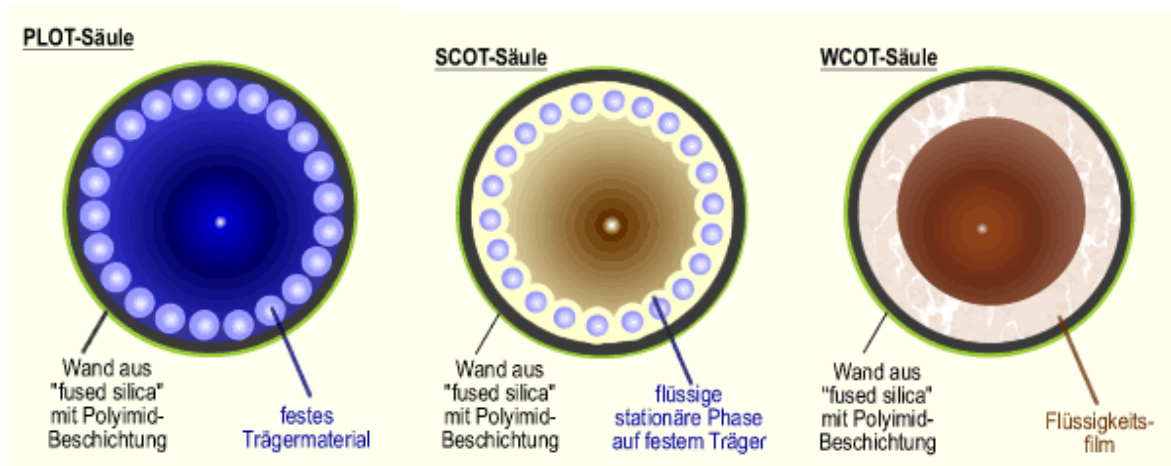


Abbildung 33 [Querschnitt von Kapillarsäulentypen]

Nachteilig ist bei Kapillarsäulen zu erwähnen, dass besonders polare Beschichtungen bei relativ hohen Temperaturen inneren Abrieb erzeugen. Dieses erhöhte Signal im Detektor nennt man Säulenbluten.

Der Säulenofen

Der Säulenofen muss kontinuierlich beheizbar und in der Lage sein eine Temperatur schnell zu erreichen und diese zuverlässig zu halten. Dabei sind keine Abweichungen von mehr als 0,1°C zu tolerieren. Das ist wichtig, da eine Änderung der Temperatur eine Verschiebung des Gleichgewichts zur mobilen oder stationären Phase bewirken würde, was wiederum die Analyse verfälscht.

Außerdem müssen sich am Säulenofen unterschiedliche Aufheizraten für ein Temperaturprogramm einstellen lassen. Ein Temperaturprogramm ist eine Einstellung, bei der durch unterschiedliche Aufheizraten die Trennung der Peaks verbessert und die Analysezeit verkürzt werden soll.

Von der isothermen Gaschromatographie spricht man, wenn kein Temperaturprogramm verwendet wird. Die Temperatur bleibt über die gesamte Analysezeit konstant, was den Vorteil hat, dass keine Abkühlzeit zwischen zwei Analysen nötig ist. Nachteilig sind die längeren Analysezeiten und die daraus resultierenden Peakverbreiterungen.

Der Detektor

In der Gaschromatographie werden für unterschiedliche Anwendungen verschiedene Detektoren eingesetzt. Besonders geeignet für die Detektion von organischen Substanzen sind Flammenionisationsdetektoren (FID).

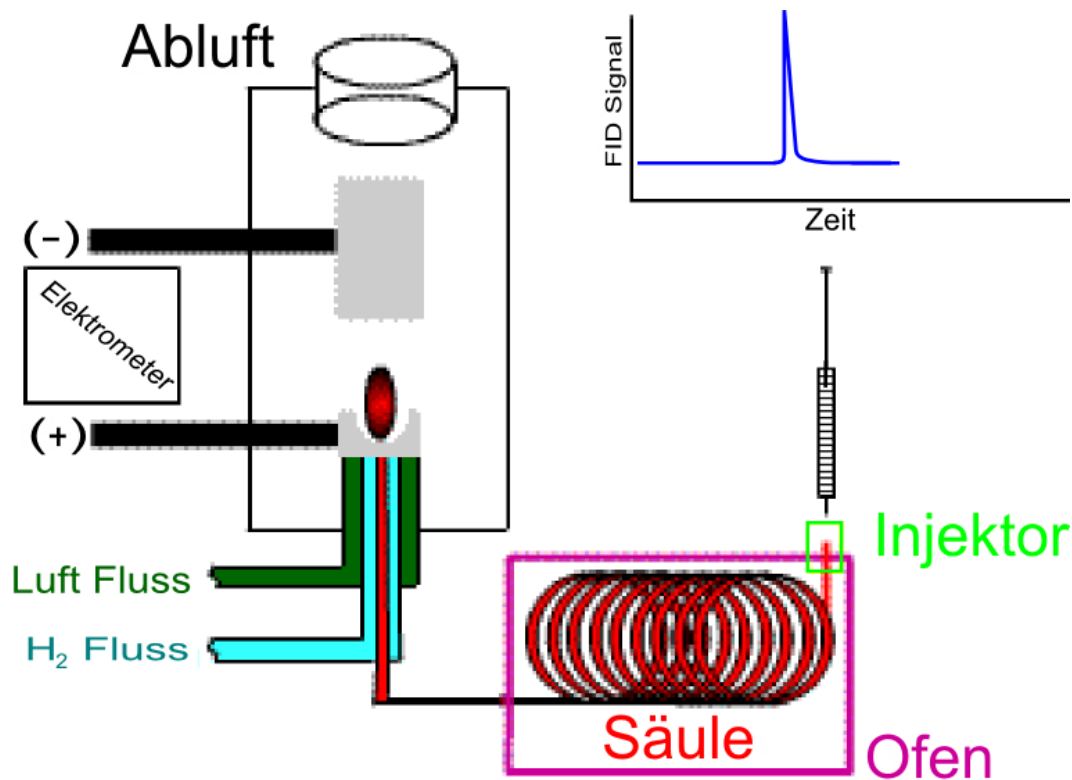


Abbildung 34 [schematischer Aufbau eines Flammenionisationsdetektors]

Bei den FIDs wird eine Wasserstoffflamme erzeugt, an der ein elektrisches Feld angelegt wird. Es wird ein konstanter Wasserstoffstrom mit einem konstanten Massenstrom des Trägergas/Probe-Gemisches gemischt und über eine Brennerdüse dem Detektor zugeführt. Da die Brennerdüse auf einem Negativpotential liegt, steigt der Ionenstrom proportional mit dem Kohlenstoffgehalt der Probe. Das Gas wird unter Zufuhr von synthetischer (kohlenwasserstofffreier) Luft verbrannt. Dadurch entstehen Ionen, die an der Gegenelektrode eingefangen und verstärkt werden. Das entstehende Signal wird zur Auswerteeinheit geleitet. Je mehr Kohlenstoff in der Probe enthalten ist, desto mehr Ionen entstehen und desto stärker ist das elektrische Signal. Die Stärke des Signals wird dann im Chromatogramm als Peakhöhe angezeigt.

Hauptsächlich zur Analyse von halogen- und stickstoffhaltigen Proben werden Electron-Capture-Detektoren (kurz ECD) eingesetzt. Dieser Elektroneinfangdetektor besteht aus einer Ionisationskammer mit einer Anode und einer Kathode. Wie in Abbildung 3 zu erkennen ist, verfügen sie außerdem über ein Ein- und Auslasssystem für den Gasstrom.

In der Ionisationskammer befinden sich dünne Metallfolien, die mit dem radioaktiven Nickelisotop $^{63}_{28}\text{Ni}$ beschichtet sind. Diese dienen als Beta-Strahler. Durch den Beta-Zerfall kommt es zur Emission von Primärelektronen, die dann mit den Ar-Elektronen des Trägergases kollidieren. Dadurch entstehen Sekundärelektronen und positiv geladene Moleküllionen. Die Sekundärelektronen bewegen sich zur Anode und erzeugen so einen Stromfluss. Sind in dem Trägergasstrom andere Moleküle mit hoher Elektronenaffinität enthalten, fangen diese einen Teil der Primärelektronen ab.

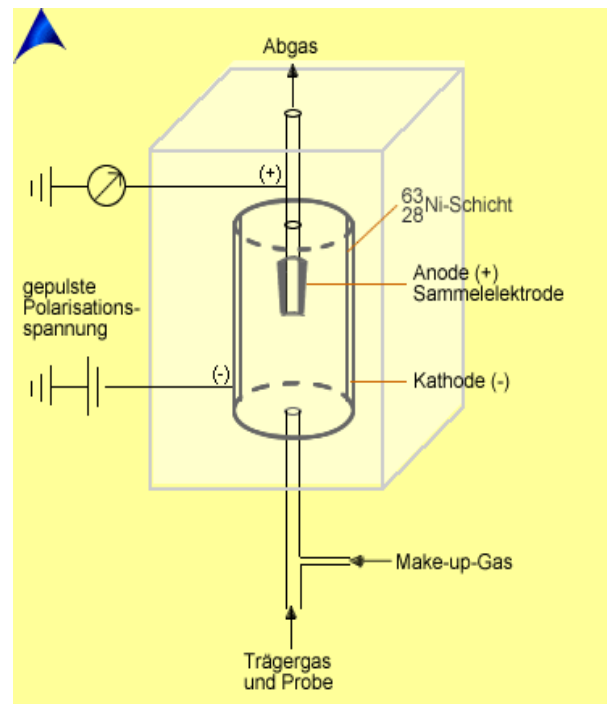


Abbildung 35 [schematischer Aufbau eines Electron-Capture-Detektors]

Es kommt also zu einer Verringerung des Stromflusses, die gemessen werden kann. Je mehr andere Moleküle die Primärelektronen abfangen, desto geringer ist der Stromfluss. Jede Verringerung des Stromflusses wird in der Auswertung als Peak angezeigt. EC-Detektoren sind in der Gaschromatographie vor allem wegen ihrer hohen Selektivität und weil sie zerstörungsfrei arbeiten interessant. So kann gegebenenfalls ein zweiter Detektor nachgeschaltet werden.

Der Wärmeleitfähigkeitsdetektor (kurz WLD) arbeitet ebenfalls zerstörungsfrei. Allerdings hat er eine weniger hohe Selektivität als der ECD oder der FID. Der WLD misst den Unterschied in der Leitfähigkeit eines Gasstromes. Dabei wird ein Heizelement vom Trägergas umströmt und so abgekühlt. Ist im Trägergas eine andere Substanz enthalten, ändert sich die Wärmemenge, die das Heizelement abgeben kann. Das wird von einem Thermofühler gemessen, der in eine Wheatstone'sche Messbrücke geschaltet ist und so ein Signal erzeugt. Dieses wird an die Auswerteeinheit weiter geleitet. In der Abbildung 36 sind der Aufbau eines WLDs und einer Wheatstone'schen Brücke zu sehen

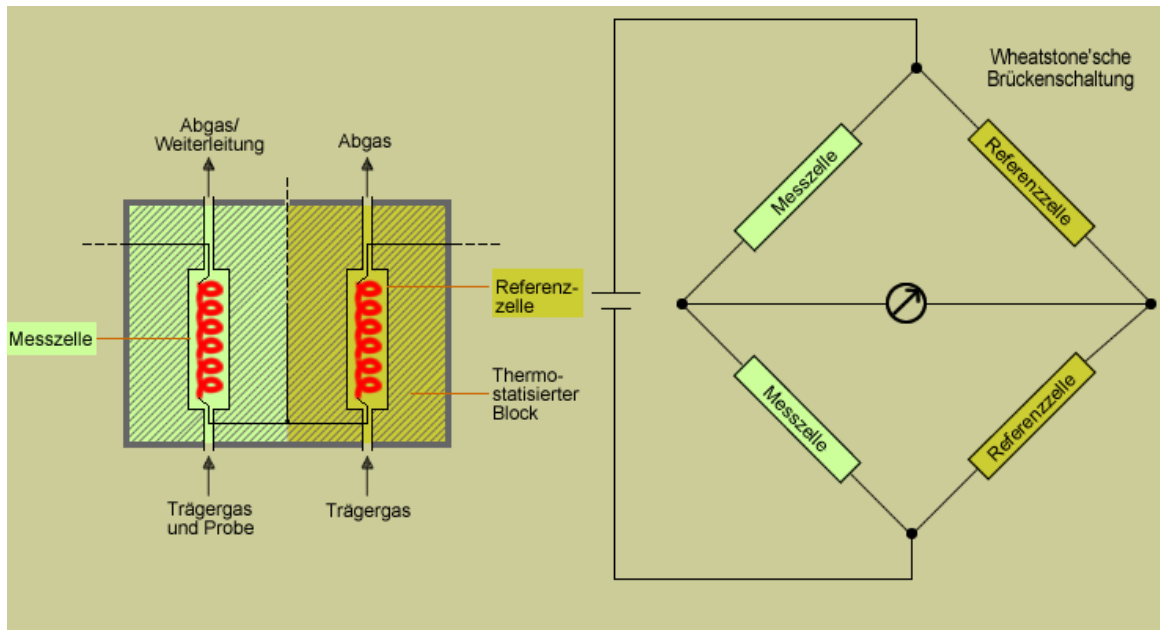


Abbildung 36 [schematischer Aufbau eines Wärmeleitfähigkeitsdetektors]

Gaschromatographie-Massenspektroskopie

Die Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS) ist eine Analysemethode, bei der gasförmige Stoffe nach ihrem Masse/Ladung-Verhältnis getrennt werden. Dazu werden die gasförmigen Analyten über ein gaschromatographisches System erst getrennt und danach ionisiert.

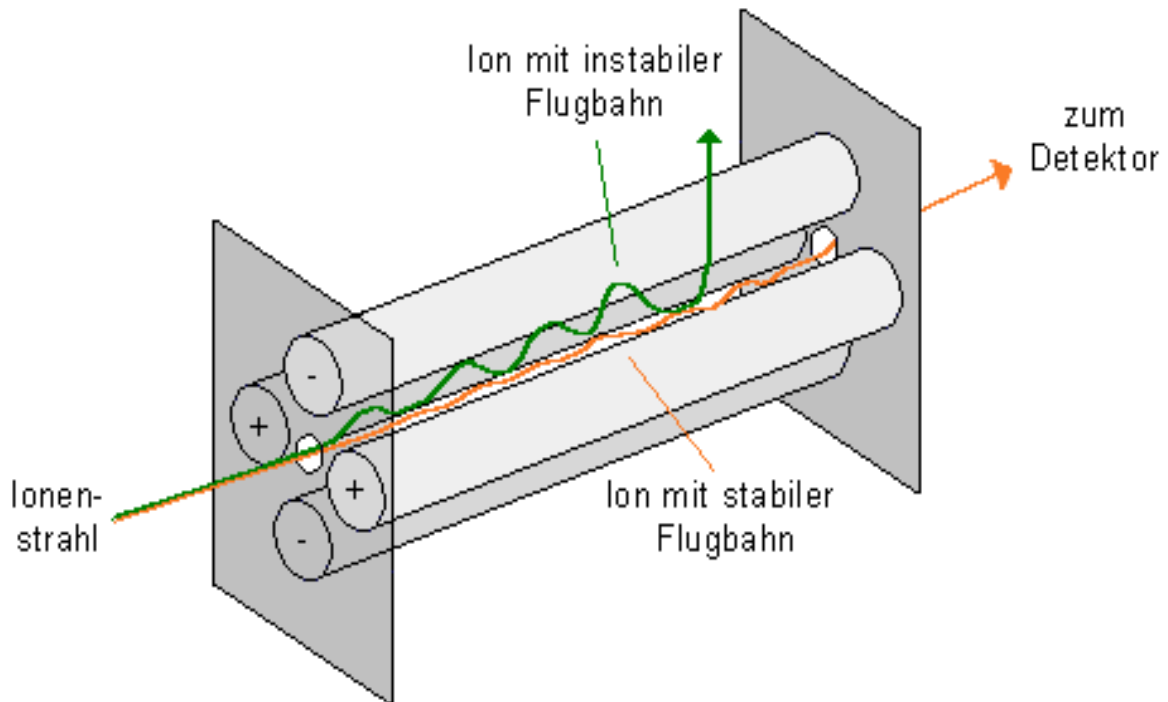


Abbildung 37 [schematischer Aufbau eines Quadrupols]

Die Ionisierung erfolgt in dieser Projektarbeit über eine Elektronenionisation. Bei dieser werden Elektronen, die über eine Glühkathode erzeugt und mit 70 eV beschleunigt werden, auf eine Probe geleitet. Dadurch werden Elektronen aus den Probemolekülen heraus geschleudert oder hinzugefügt. Durch die kinetische Energie der Elektronen können nun die Probenmoleküle zertrümmert und Fragmente ausbilden. Diese Fragmente werden nun mit einem Magnetfeld beschleunigt und über einen Quadrupol selektiert. Der Quadrupol besteht dabei aus vier parallel angeordneten Metallstäben. Durch unterschiedlich angelegte Stromarten (Wechsel und Gleichstrom), können nur bestimmte MZ-Verhältnisse im Molekül passieren. Durch diese Technik der Variation der Stromarten kann man nun auf Wunsch bestimmte MZ-Verhältnisse einstellen und detektieren. Am Ende des Magnet-Beschleunigung-Feldes befindet sich ein Sekundärelektronenvervielfacher (SEV). Ein Detektor der die eintreffenden Fragmente verstärkt und zur Detektion bringt.. So ist mit der Methode der Massenspektroskopie eine Strukturaufklärung möglich.

2-D Gaschromatographie

Grundlagen

Die zweidimensionale Gaschromatographie ist ein chromatographisches Analyseverfahren, das auf dem gleichen Prinzip wie die eindimensionale Gaschromatographie beruht. Anders als bei der eindimensionalen ist es bei der zweidimensionalen Gaschromatographie möglich eine Substanz zuerst nach ihrem Siedepunkt und anschließend nach ihrer Polarität aufzutrennen. Um dies zu erreichen, werden zwei Säulen verwendet, die sich in ihrer Polarität unterscheiden. Dabei ist die zweite, polare Säule um ein vielfaches kürzer als die Erste.

Aufbau

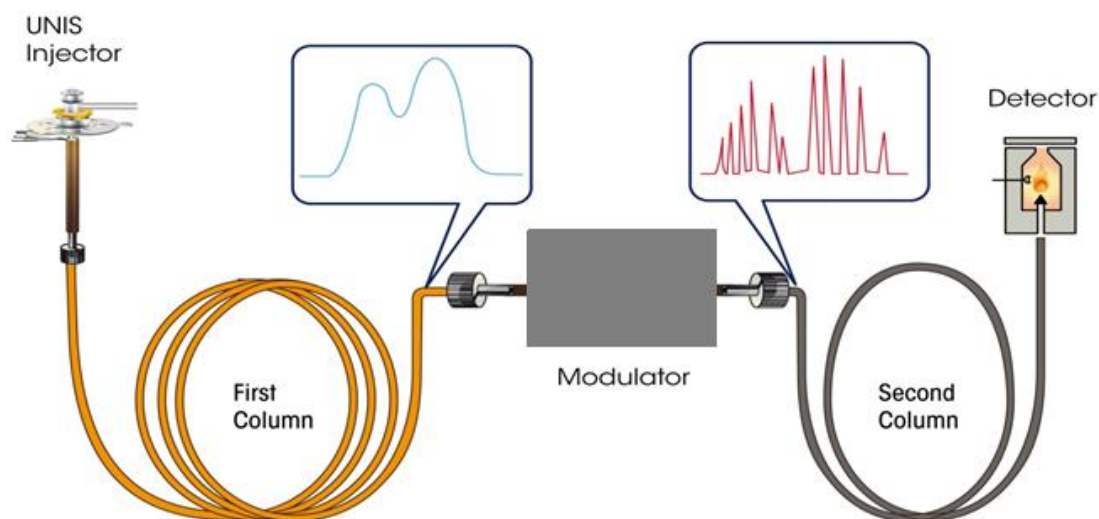


Abbildung 38 [schematischer Aufbau eines 2-D Gaschromatographen]

Im Grunde entspricht der Aufbau dem eindimensionalen Gaschromatographen, wie in Abbildung 38 dargestellt wird. Wesentlicher Unterschied ist der Modulator, der nach der ersten Säule den Analyten auf eine zweite Säule weiterleitet. Dazu zerlegt der Modulator die Probe in viele kleine Fraktionen. Verschiedene Modulatortypen gehen bei dieser Zerlegung unterschiedlich vor. Erwähnenswert sind vor allem zwei Typen.

Zum einen der Loop-Modulator, der diese Fraktionierung mittels Sublimierung festhält.

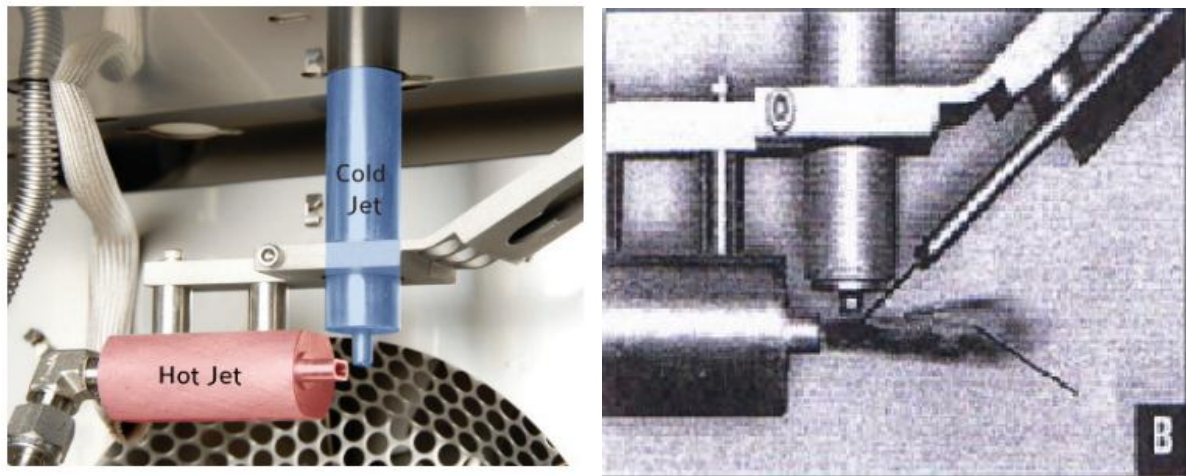


Abbildung 39 [Foto und Darstellung eines Loop-Modulators]

Dieser Modulator besteht aus einem Cold-Jet und einem Hot-Jet. Der Cold-Jet friert die Substanz mit gekühltem Stickstoff ein. Nach Ablauf der Modulationszeit, die zwischen 0 und 7 sec. betragen kann, wird die Probe durch den Hot-Jet aufgeheizt. Nachteilig ist bei diesem Verfahren der hohe Verbrauch an flüssigem Stickstoff. Durch die starke Abkühlung am Cold-Jet können sich Eiskristalle bilden, die das System negativ beeinflussen.

Zum anderen der Druckbasierte-Modulator, welcher von uns verwendet wurde.

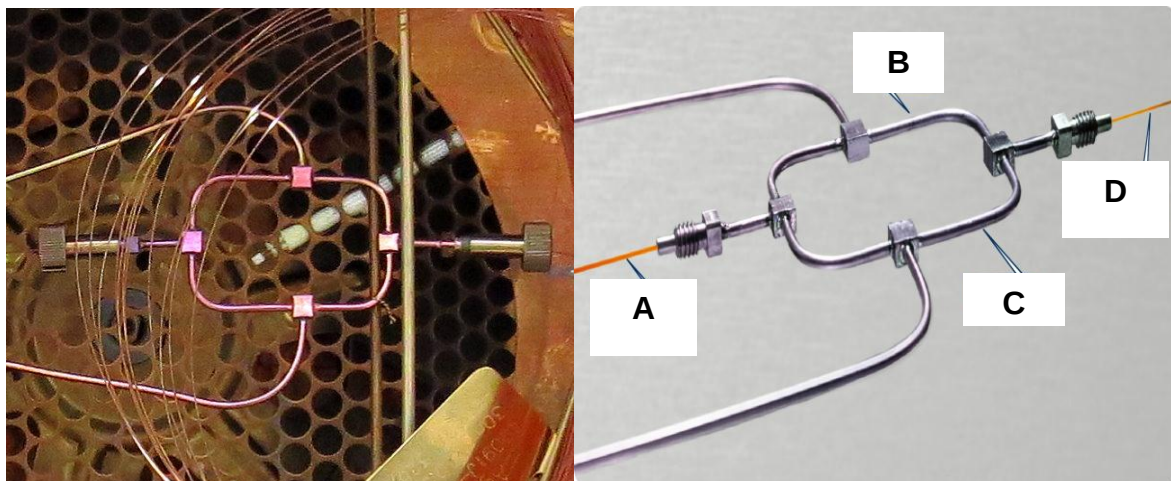


Abbildung 40 [zwei Fotos eines druckbasierten Modulators]

Dieser arbeitet mit wechselnden Gasströmen. Der Modulator besteht aus einem ringförmigen Aufbau mit drei Gaseingängen und einem Ausgang. Über Eingang A wird die vorgetrennte Probe mit dem Trägergas in den Modulator geleitet. Eingang B und C sind Zuleitungen für das Rückhaltegase. D bezeichnet den Ausgang, über den die fraktionierte Probe auf die zweite Säule gelangt.

In den folgenden Abbildungen ist der Vorgang der Modulation dargestellt.

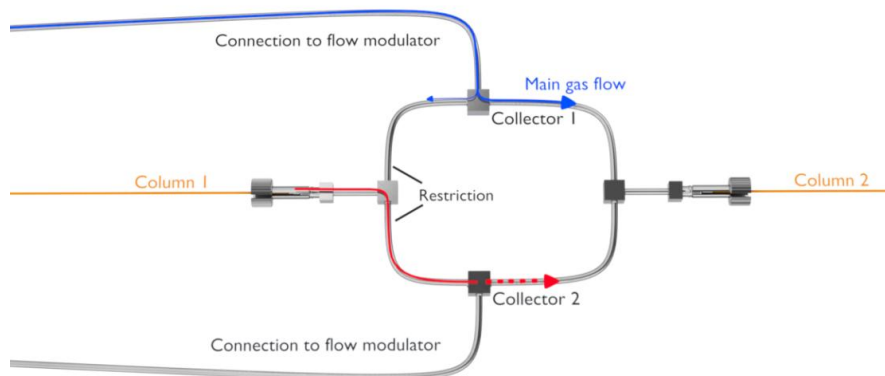


Abbildung 41 [schematische Funktion einer Fraktionierung in dem druckbasierten Modulator [1]

In dieser Abbildung ist als roter Pfeil verdeutlicht, wie das Trägergas mit dem Analyten in den Modulator fließt. Der blaue Pfeil zeigt den Fluss des Rückhaltegases, der in zwei Ströme aufgeteilt wird. Einmal in den Hauptstrom, der in die zweite Säule fließt und zum anderen in den Rückhaltestrom, der den Analyten in Richtung des zweiten Collectors zwingt. Nach Ablauf der Modulationszeit beginnt der zweite Schritt.

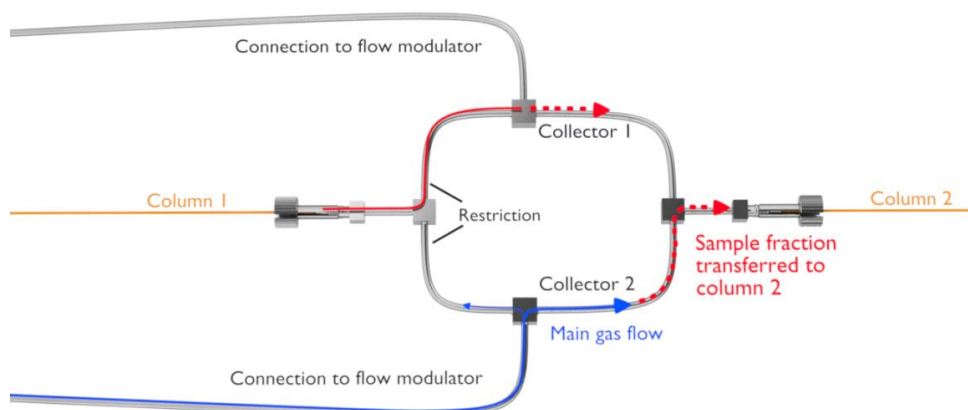


Abbildung 42 [schematische Funktion einer Fraktionierung in dem druckbasierten Modulator [2]

In dieser Phase wird der Rückhaltegassstrom von der anderen Seite in den Modulator geleitet. Dadurch wird das Gas, das sich in dem Bereich vor Collector 2 angesammelt hatte, mit dem Hauptstrom auf die zweite Säule transferiert. Anschließend sorgt der Rückhaltegassstrom dafür, dass die Probe in den Bereich vor Collector 1 gedrückt wird. Diese beiden Vorgänge wechseln im Rhythmus der Modulationszeit, die zwischen 0 und 15 Sek. liegen kann.

Darstellung und Auswertung

Im Gegensatz zur eindimensionalen Gaschromatographie ist eine quantitative Auswertung der erhaltenen Peaks mangels eines geeigneten Auswerteprogramms für uns nicht möglich. Daher basiert die Ergebnisauswertung und Bewertung zurzeit noch sehr stark auf der visuellen Analyse. Die Quantifizierung ist allerdings für den verwendeten Zweck des Geräts irrelevant. Sowohl in dieser Projektarbeit, als auch bei der Verwendung des Systems im Betrieb, ist der Schwerpunkt die Wiedererkennung und Unterscheidung bestimmter Substanzen in einem Substanzgemisch. In dem hier vorgestellten Beispiel sollten unterschiedliche Speiseöle in einem Gemisch wiedererkannt werden. Um die Fähigkeit des verwendeten Systems zu verdeutlichen, wird hier auf ein Gemisch aus Olivenöl und Sonnenblumenöl eingegangen.

In der zweidimensionalen Gaschromatographie gibt es drei Möglichkeiten der Darstellung. Zum einen die klassische, zweidimensionale Ansicht eines Chromatogramms.

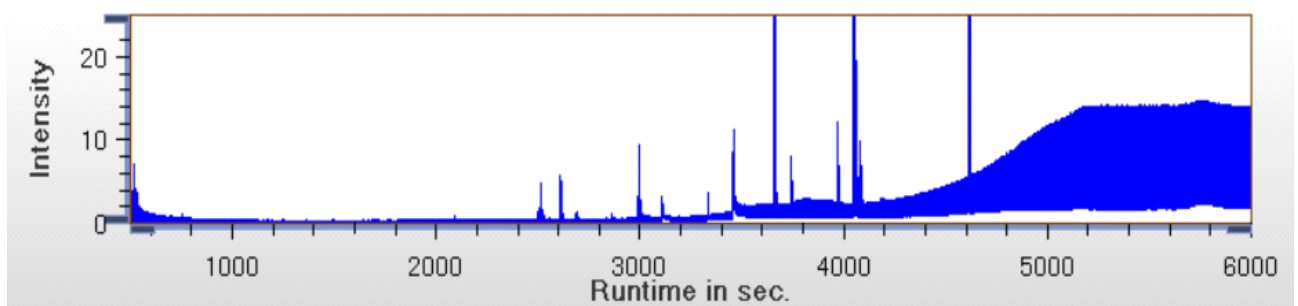


Abbildung 43 [klassische Ansicht eines zweidimensionalen Chromatogramms]

Diese Ansicht ist allerdings ungeeignet, was deutlich wird, wenn man sie vergrößert.

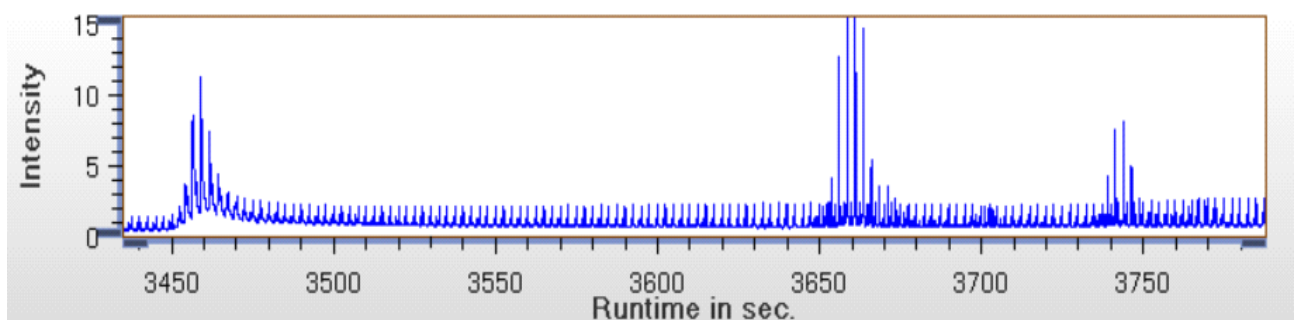


Abbildung 44 [vergrößerter Bereich der klassischen Ansicht eines Chromatogramms]

Durch die technischen Gegebenheiten des Systems, entsteht alle 2,5 Sekunden ein sogenannter Modulationspeak. Dadurch werden Stoffpeaks in mehrere Modulations-Segmente aufgeteilt und nicht als ein durchgängiges Signal angezeigt. Außerdem kommt es durch die zweite Säule zu Überlagerungen und Verschiebungen. Dies ist im hinteren Teil von Abbildung 44 zu erkennen. Daher ist optisch nicht eindeutig festzustellen, welche Peakgruppe zusammengehört und eine klassische "Valley to Valley" Auswertung wird verhindert.

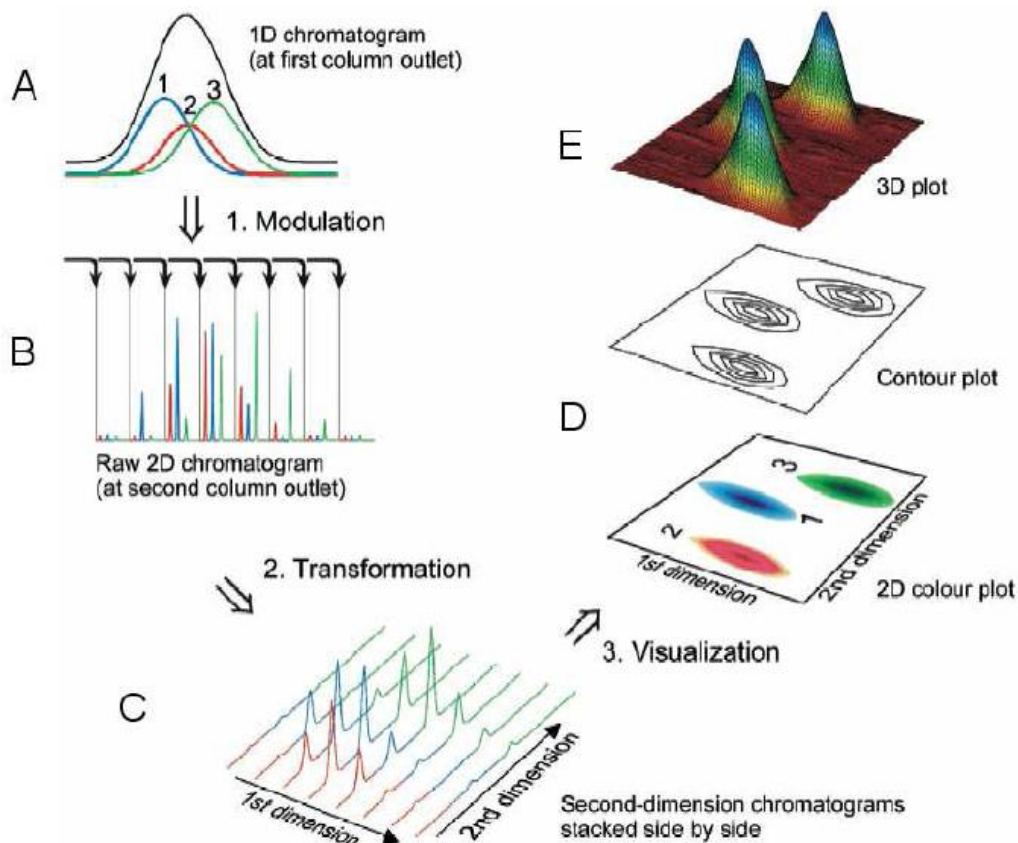


Abbildung 45 [Entstehung der 3-D Ansicht]

Die zweite Möglichkeit der Ansicht ist eine zweidimensionale Ansicht aus der Topshot Perspektive (eine 90° Draufsicht von oben).

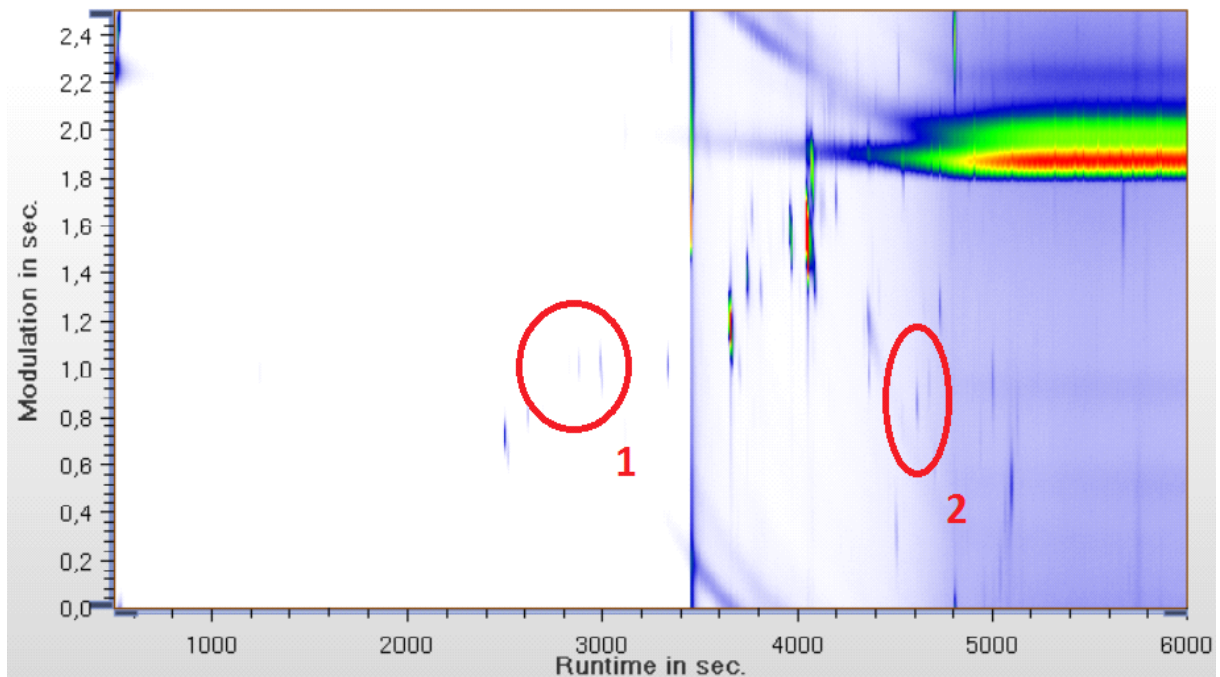


Abbildung 46 [Top-Shot-Perspektive Chromatogramm 1]

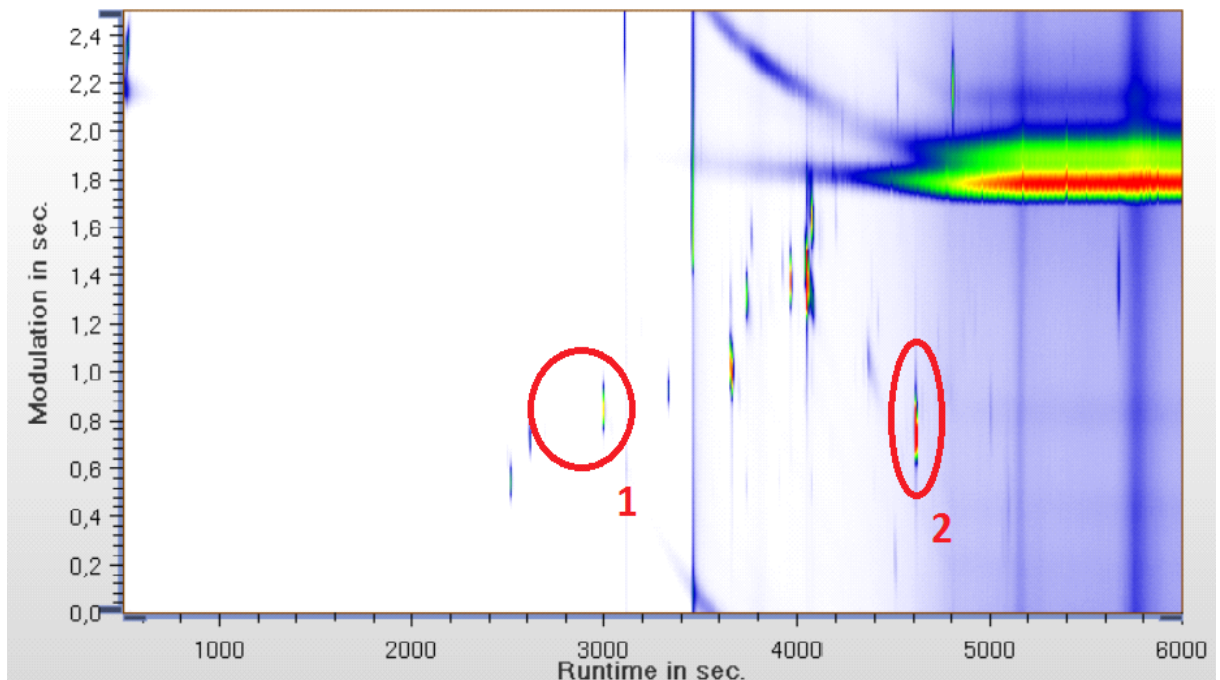


Abbildung 47 [Top-Shot-Perspektive Chromatogramm 2]

Diese Ansicht ist vor allem dann zur Auswertung von Ergebnissen heranzuziehen, wenn die zu findenden Substanzen viele große charakteristische Peaks aufweisen. Wie in Abbildung 46 und Abbildung 47 zu erkennen ist, ähneln sich die Chromatogramme stark, sodass lediglich ein großer charakteristischer Peak in Abbildung 47 (Markierung 2) zu erkennen ist. Vorteilhaft an dieser Darstellung ist die einfachere Vergleichbarkeit der Chromatogramme.

Bei der dritten Ansichtswise handelt es sich um eine in allen Angelpunkten freibewegliche 3D-Ansicht. Diese ist schlecht auf Papier darzustellen, daher wurden Screenshots aus verschiedenen Blickwinkeln und Zoombereichen aufgenommen.

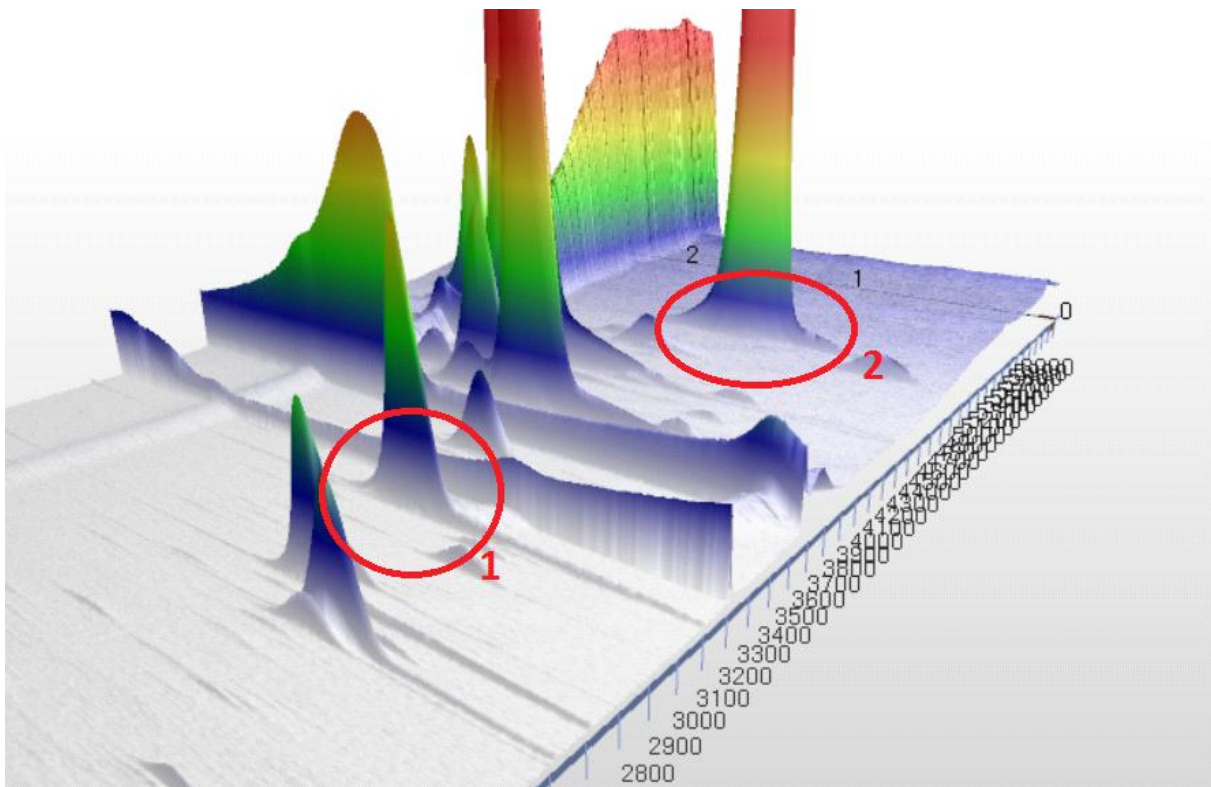


Abbildung 48 [3-D Ansicht eines Chromatogramms]

Im Gegensatz zur 2D-Ansicht können hier auch kleine Peaks sichtbar gemacht werden. Dies wird durch den stetigen Anstieg des Säulenblutens in der 2D Ansicht verhindert. Stellt man diese Ansicht so ein, dass auch die kleinsten Peaks sichtbar sind, so erhält man ein überfärbtes Bild, worüber sich keine Aussage treffen lässt.

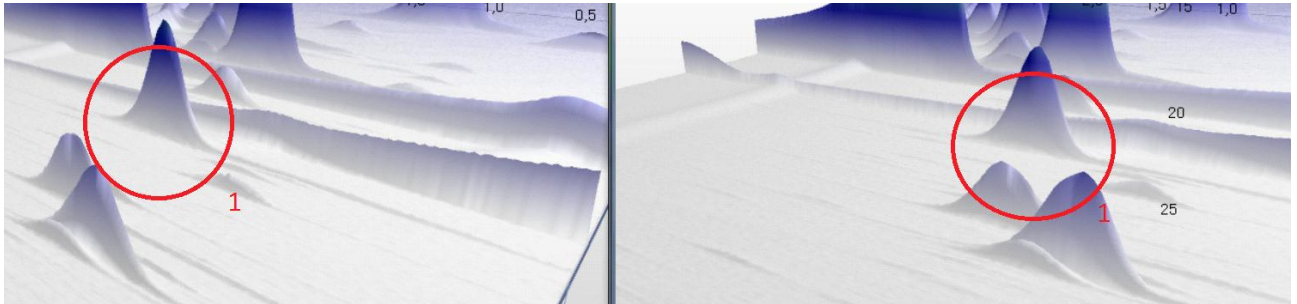


Abbildung 49 [3-D Ansicht von zwei vergrößerten Bereichen]

Wie in den oberen Bildern zu sehen ist, kann man auch in der 3D-Ansicht beliebig hereinzoomen, um so zwei Peaks in ihrer Position und Form genau zu vergleichen. Selbst kleine Unterschiede, die in den anderen Ansichten im Säulenbluten und im Grundrauschen untergehen, fallen in dieser Ansicht schnell auf. Allerdings benötigt man zur sinnvollen Interpretation und Auswertung in dieser Ansicht ein geübtes Auge und Erfahrung. So kommt es vor, dass erst beim zweiten oder dritten Überprüfen der Ergebnisse bestimmte Unterschiede auffallen.

Ergebnisse und Diskussion

Übersicht Probenergebnisse (alle Methoden)

Zur ersten Beurteilung der Proben wurden einige physikalische und optische Eigenschaften der Speiseöle bestimmt. Nachfolgend sind diese in der Tabelle 2 dargestellt.

Tabellen mit physikalischen Daten

Probennummer	Probenbezeichnung	Sensorische Beurteilung	Brechungsindex	Dichte [g/ml]
14-3818 (s)	Sonnenblumenöl Netto ;Bio Bio	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4740	0,912
14-3819 (s)	Sonnenblumenöl Netto, Vegola	Sehr schwach gelb, klar, flüssig	1,4740	0,919
15-116 (s)	Sonnenblumenöl Hartmann,	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4755	0,9200
15-117 (s)	Sonnenblumenöl Thomy,	Sehr schwach gelb, klar, flüssig	1,4745	0,919
15-118 (s)	Sonnenblumenöl Bellasam,	Sehr schwach gelb, klar, flüssig	1,4740	0,918
15-119 (o)	Olivenöl Hartmann,	Grün, klar, flüssig	1,4680	0,911
15-120 (o)	Olivenöl Bio Italien	Grün, klar, flüssig	1,4685	0,911
15-121	Rapsöl Hartmann	Gelb, klar, flüssig	1,4720	0,916
15-122	Wallnussöl Bellasam	Sehr schwach gelb, klar, flüssig	1,4770	0,923
15-140 (o)	Olivenöl extra Mitakos,	schwach grün, klar, flüssig	1,4680	0,913
15-141 (o)	Olivenöl Mama Gina	Schwach grün, klar, flüssig	1,4685	0,913
15-142	Sesamöl Mazola	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4720	0,919
15-143	Omega-3-6-9 Leinöl, Hanföl, Kürbiskernöl Rapunzel	Grün/braun, klar, flüssig	1,4780	0,924

Tabelle 2 Ergebnisse der physikalischen Kenngrößen der Proben [1]

Probennummer	Probenbezeichnung	Sensorische Beurteilung	Brechungsindex	Dichte
15-144	Sojaöl nativ, Rapunzel	Schwach orange, klar, flüssig	1,4745	0,921
15-145	Rapsöl kernöl Kaltgepresst Teutoburger Ölenmühle	Gelb, leicht trüb, flüssig	1,4720	0,917
15-146	Verfeinertes Rapsöl (+ Buttergeschmack) Teutoburger Ölenmühle	Leicht grün/gelb, klar, flüssig	1,4730	0,917
15-147	Traubenkernöl, Linea Rausso	Sehr schwach grün, klar, flüssig	1,4750	0,922
15-148	Trüffelöl + Olivenöl Linea Rausso	Gelb, klar, flüssig	1,4690	0,912
15-149	Wallnussöl, Linea Rausso	Sehr schwach gelb, klar, flüssig	1,4780	0,924
15-150	Hanföl kaltgepresst, Chiron	Schwach grün/gelb, klar, flüssig	1,4780	0,924
15-151 (o)	Natives Olivenöl, Rewe Bio	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4690	0,914
15-152	Avocadoöl „Südafrika“	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4690	0,914
15-153	Haselnussöl Kernöl Geröstet	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4695	0,913
15-154	Kürbiskernöl	grün/braun/schwarz, trüb, flüssig	1,4720	0,919
15-155 (o)	Spanisches Olivenöl	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4690	0,913
15-156 (s)	Selbstgepresstes Sonnenblumenöl ungefiltert	Schwach gelb, leicht trüb, flüssig *wenig Bodensatz	1,4740	/
15-157 (s)	Selbstgepresstes Sonnenblumenöl gefiltert	Schwach gelb, klar, flüssig	1,4740	/

Tabelle 2 Ergebnisse der physikalischen Kenngrößen der Proben [2]

(s) = Sonnenblumenöl
(o) = Olivenöl

Diese Werte ergaben einige Anhaltspunkte zu Beurteilung der Probeöle, waren aber zu deren Unterscheidung nicht ausreichend.

Tabelle der nasschemischen Daten

Repräsentativ zur Unterscheidung von Sonnenblumen- und Olivenölen wurden drei Sonnenblumenöle und zwei Olivenöle nasschemisch untersucht.

Säurezahl

Probennummer	Säurezahl Ø
14-3818 (s)	1,35
15-116 (s)	1,22
15-119 (o)	1,31
15-120 (o)	0,70
15-157 (s)	/

Tabelle 3 [Ergebnisse der Säurezahlen]

An der Säurezahl erkennen wir den unterschiedlichen Gehalt an ungebundenen Fettsäuren in den beiden Öltypen. Die Spannbreite innerhalb einer Ölsorte ist jedoch so groß, dass eine zuverlässige Unterscheidung hierüber nicht möglich ist.

Verseifungszahl

Probennummer	Verseifungszahl Ø
14-3818 (s)	191,3
15-116 (s)	182,4
15-119 (o)	187,2
15-120 (o)	185,8
15-157 (s)	183,5

Tabelle 4 [Ergebnisse der Verseifungszahlen]

Die Verseifungszahl gibt Aufschluss über die mittlere Kettenlänge der am Aufbau des Fettes beteiligten Fettsäuren. Die Ergebnisse sind stabiler als die der Säurezahl, allerdings ist auch hier schwierig die Öltypen voneinander zu unterscheiden.

Iodzahl

Probennummer	Iodzahl Ø
14-3818 (s)	116,8
15-116 (s)	116,9
15-119 (o)	84,0
15-120 (o)	86,2
15-157 (s)	116,8

Tabelle 5 [Ergebnisse der Iodzahlen]

Die Iodzahl gibt an, wieviel Gramm Iod von 100 g Fett addiert werden. Sie ist also ein Maß für den Anteil an ungesättigten Fettsäuren im Öl. Es ist mit Hilfe der Iodzahl möglich Sonnenblumenöl von Olivenöl zu unterscheiden. Mischungsverhältnisse lassen sich so aber nicht bestimmen.

Infrarotspektroskopie

Um Unterschiede zwischen den verschiedenen Ölsorten feststellen zu können, wurden alle Proben mit einem Infrarotspektrometer gemessen. Die dabei entstandenen Spektren befinden sich im Anhang ab Seite 85. Folgende Banden konnten zugeordnet werden:

- Valenzschwingung C-O (Peroxide) im Bereich 1000-1200 cm⁻¹
- Valenzschwingung C=O (Carbonsäureester) im Bereich 1650-1790 cm⁻¹
- Valenzschwingung C-H (CH₂,CH₃) Duplett im Bereich 2850-2900 cm⁻¹
- Valenzschwingung C-H (CH₂,CH₃ im Alken) im Bereich 3000-3100 cm⁻¹

Anhand der Bandengrößen des Duplett im Bereich von 2850 bis 2900 cm⁻¹ und der Bande im Bereich von 3000 bis 3100 cm⁻¹ können Unterschiede zwischen Sonnenblumenöl und Olivenöl festgestellt werden. Beim Olivenöl ist die Bande zwischen 3000 und 3100 cm⁻¹ schwächer. Da diese Bande auf C-H Valenzschwingung im Alken hinweist, kann davon ausgegangen werden, dass im Olivenöl weniger Doppelbindungen vorhanden sind. Dagegen ist die Duplett-Bande zwischen 2850 und 2900cm⁻¹ stärker ausgeprägt. Man kann also erkennen, dass im Olivenöl mehr gesättigte Fettsäuren vorhanden sind als im Sonnenblumenöl. Dies deckt sich mit Literaturangaben und den Iodzahl-Bestimmungen. Leider ist dieser Unterschied nicht signifikant genug, um Sonnenblumenöl oder Olivenöl sicher identifizieren zu können.

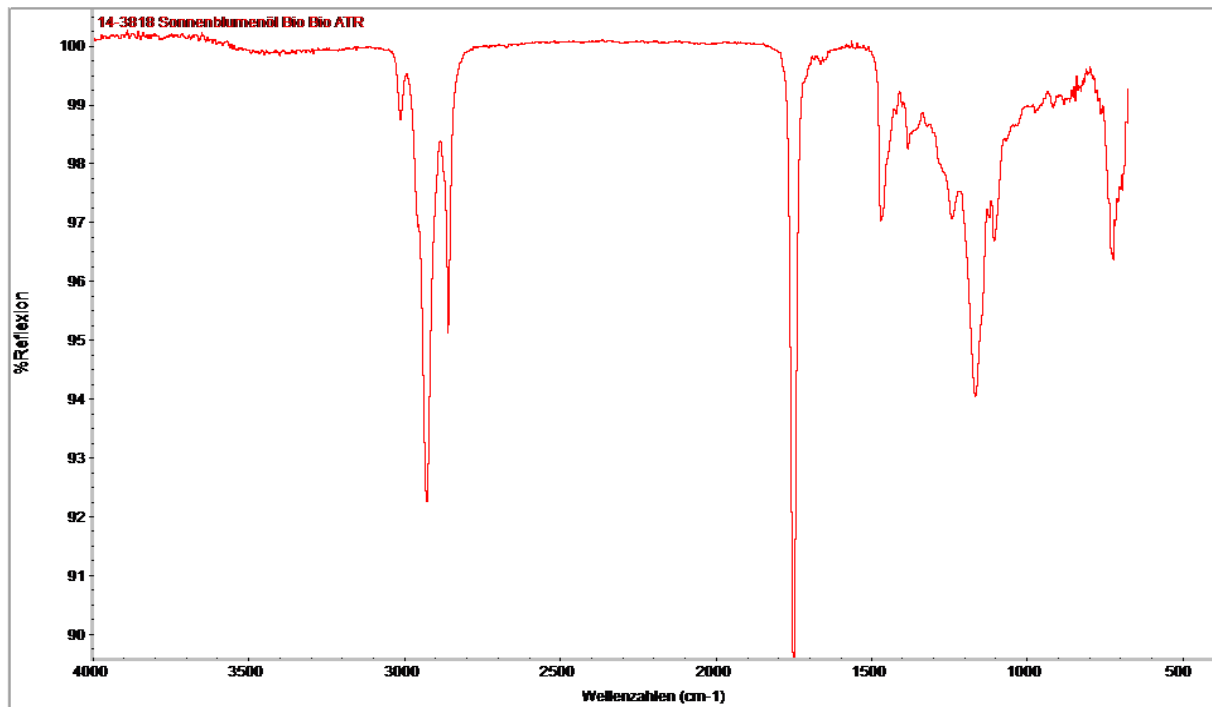


Abbildung 50 [IR-Spektrum einer unbekannten Probe]

Die Infrarotspektroskopie ist vor allem aufgrund ihrer kurzen Analysenzeit interessant.

Eindimensionale Gaschromatographie

Bessere Ergebnisse brachte die zeitlich aufwendigere, gaschromatographische Analyse mit einem Flammenionisationsdetektor (FID). In den dabei entstandenen Chromatogrammen ist es möglich einen charakteristischen Olivenöl-Peak festzustellen. Leider wurde dieser von kleineren Peaks teilweise überlagert, sodass eine quantitative Analyse nicht möglich war. Außerdem war es deshalb nicht möglich kleinere Mengen Olivenöl in einem anderen Öl nachzuweisen. Vermutlich sind Konzentrationen ab 20% Olivenöl nachweisbar. Auf Seite 83 im Anhang ist der Olivenölpeak rot markiert. Hier sind auch die Überlagerungen deutlich zu erkennen. Es ist mit dieser Methode nicht möglich die Struktur des Analyten aufzuklären. So ist es nicht möglich zu sagen, welcher Bestandteil des Olivenöls zum „Olivenölpeak“ führt. Über die Peakform lässt sich eine Aussage über die Polarität des Bestandteils treffen. Der Olivenölpeak ist, wie auf Seite 83 im Anhang zu erkennen, eher schmal. Das bedeutet, dass diese Komponente vergleichsweise unpolar ist. Ohne geeignete Vergleichssubstanzen, war es nicht möglich den Anteil der ungesättigten oder gesättigten Fettsäuren zu beziffern.

Vorteilhaft ist bei der GC-FID Methode das gut funktionierende Auswerteprogramm, das es zum Beispiel ermöglicht Chromatogramme miteinander zu vergleichen (Overlay). Auch eine Quantifizierung der Peaks und eine genaue Anzeige der Retentionszeiten ermöglicht dieses Programm. Außerdem ist diese Methode etabliert und bietet mehr Variationsmöglichkeiten als die GCxGC Kopplung. Erwähnenswert sind auch die geringere Anfälligkeit des Systems und die einfachere Reparatur.

Mit dem GC-MS-System wäre es möglich gewesen den Olivenölpeak im Chromatogramm einzeln auszuwählen und dessen Struktur aufschlüsseln zu können. Beim Vergleich der beiden Systeme ist klar geworden, dass die Retentionszeiten untereinander nicht vergleichbar sind. Dies liegt daran, dass die unterschiedlichen Säulen unterschiedlich polar und lang sind. Somit ist es nicht möglich die Signale in den unterschiedlichen Systemen an Hand ihrer Position wiederzuerkennen.

Zweidimensionale Gaschromatographie

Die zweidimensionale Gaschromatographie ist deutlich komplexer und anspruchsvoller in der Wartung und Auswertung. Der Schwerpunkt dieser Methode, liegt eher darin, einzelne Komponenten aus komplizierten Probenmatrices zu identifizieren. Die überlagerten Signale werden mit diesem System auf der zweiten Säule getrennt. Durch diese Signalaufftrennung ist es möglich unterschiedliche Öltypen voneinander zu unterscheiden. Der Olivenöl-Peak konnte wieder erkannt und von seiner Umgebung isoliert werden. Außerdem wird ein Signal sichtbar gemacht, das nie im Olivenöl, aber immer im Sonnenblumenöl vorhanden ist. Von allen verwendeten Methoden ist die zweidimensionale Gaschromatographie die zeitaufwendigste Analyse. Zusätzlich ist die Variierung der Methode durch die Modulation eingeschränkt. Das liegt unter anderem daran, dass die Änderung des Druckes nur möglich ist, wenn der Druck auf beiden Säulen gleichermaßen verändert wird. Anderenfalls kann es passieren, dass die Gase in die falsche Richtung zurück gedrückt werden.

Auswertung Öl-Mischungen

Für die Ermittlung von reinen Ölen in gemischten Ölen sind die elf Standards wie auf Seite 81 beschrieben ausgewertet worden. Als erstes sind Bereiche im Chromatogramm zu suchen die spezifisch nur in einer Öl-Sorte zu finden sind. Die Auswahl ist im Fall des Olivenöls auf den Bereich 2 gefallen. In diesem Bereich befindet sich der olivenölspezifische Peak. Im Bereich 1 befindet sich ein sonnenblumenölspezifischer Peak.

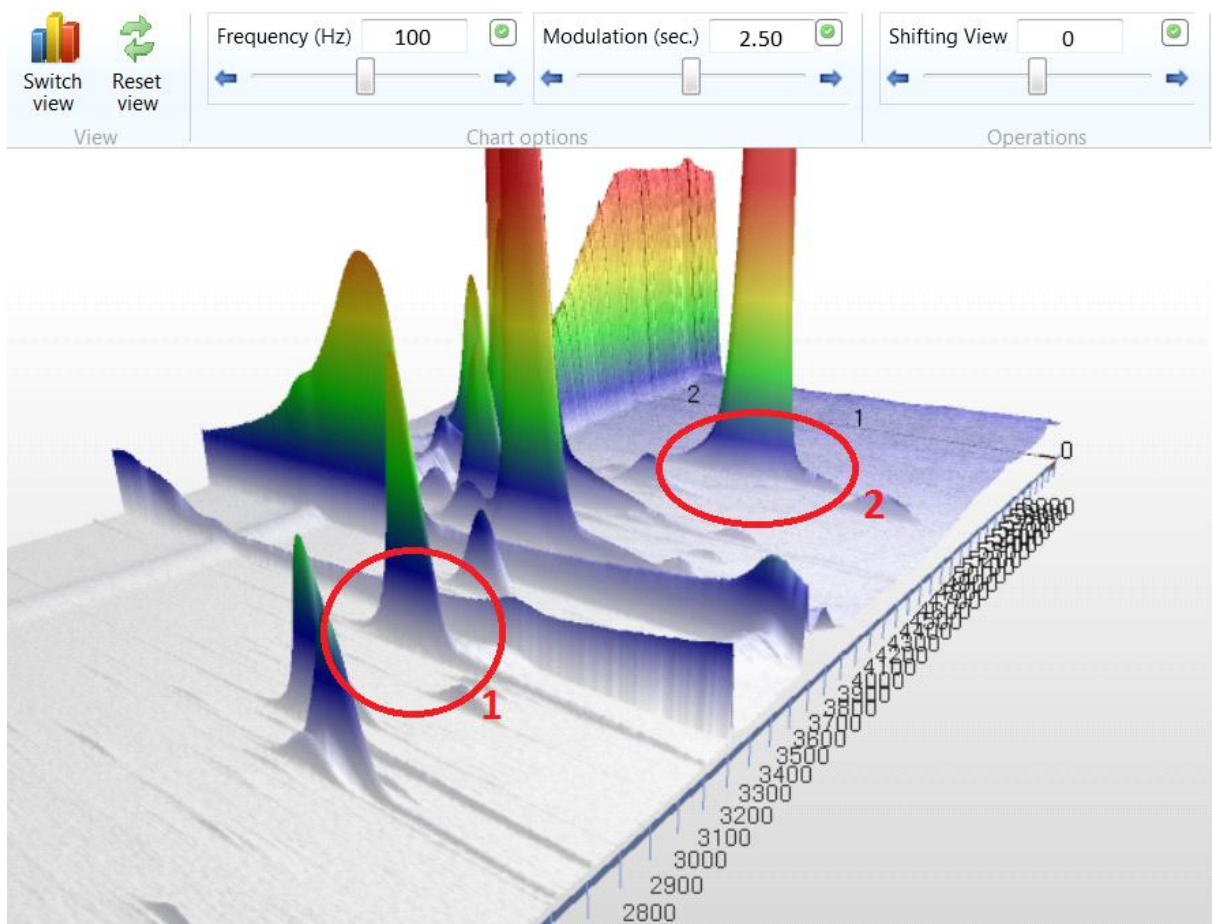


Abbildung 51 [3-D Ansicht eines Chromatogramms 15-119 (Olivenöl)]

Auf den ersten Blick fällt zunächst die starke Ähnlichkeit von Olivenöl und Sonnenblumenöl auf. Allerdings kann auch hier in Abbildung 51 im Bereich 2 der Olivenölpeak schnell und sicher erkannt werden. Im Gegensatz zur Topshot Perspektive wird auch im Bereich 1 ein Unterschied deutlich. Hier ist beim Olivenöl ein charakteristischer Einzelpeak zu erkennen.

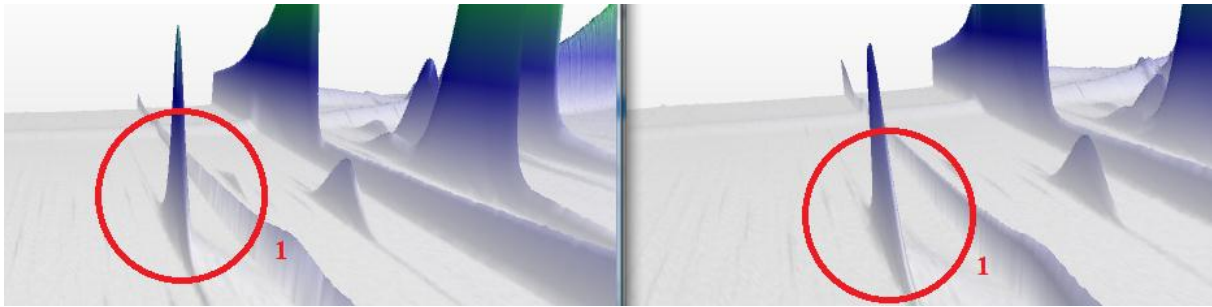


Abbildung 52 [3-D Ansicht von zwei vergrößerten Bereichen aus zwei verschiedenen Olivenölen]

Beim Sonnenblumenöl hingegen ist an derselben Stelle ein schlecht getrennter Doppelpeak zu erkennen (Das hintere Peakduo).

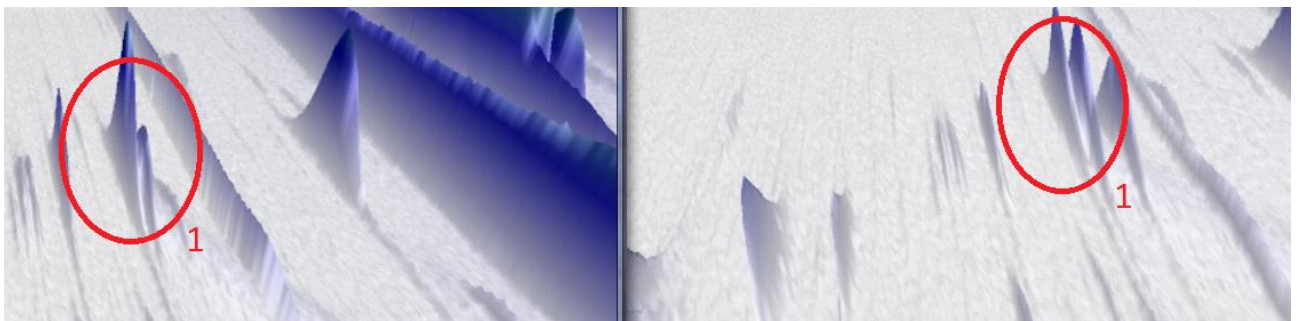


Abbildung 53 [3-D Ansicht von zwei vergrößerten Bereichen aus zwei verschiedenen Sonnenblumenölen]

Zwar ist bei den beiden Doppelpeaks in Abbildung 53 eine unterschiedliche Konzentration zwischen den Peaks festzustellen, wichtig ist allerdings nur, dass es in allen Sonnenblumenölen zwei sind. Dagegen kam es bei keinem der analysierten Olivenöle vor, dass ein zweiter Peak vorhanden war. Daher kann von einer Verunreinigung des Olivenöls ausgegangen werden, sobald ein zweiter Peak erscheint.

Um dieses Erkenntnis zu bestätigen, wurden Mischungen angesetzt und dem Olivenöl eine steigende Konzentration an Sonnenblumenöl zugemischt. Natürlich ist auch eine Verunreinigung von Sonnenblumenöl mit Olivenöl denkbar, durch den deutlich höheren Preis von Olivenöl aber eher unwahrscheinlich. Außerdem ist dieser Fall sehr einfach durch das Auftreten des starken und daher sehr leicht zu sehenden Olivenölpeaks feststellbar. Andersherum ist der Nachweis deutlich schwieriger.

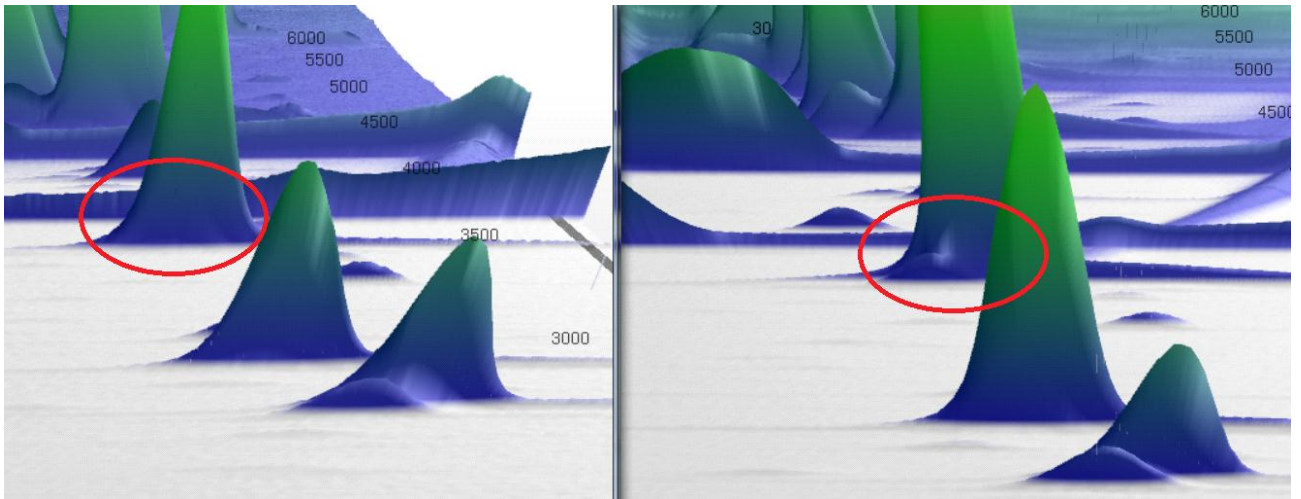


Abbildung 54 [Chromatogrammvergleich von reinem Olivenöl und 10 %iger Mischung mit Sonnenblumenöl]

Wie in Abbildung 54 deutlich wird, ist schon bei geringer Verunreinigung mit Sonnenblumenöl der zweite Peak erkennbar. Der hintere Peak ist identisch mit der Substanz, die auch in jedem Olivenöl auftaucht und wird daher vom Sonnenblumenöl aufgestockt. Da dieser zweite Peak in keinem getesteten Olivenöl vorkommt, kann daher eine Verunreinigung des Olivenöls gut nachgewiesen werden.

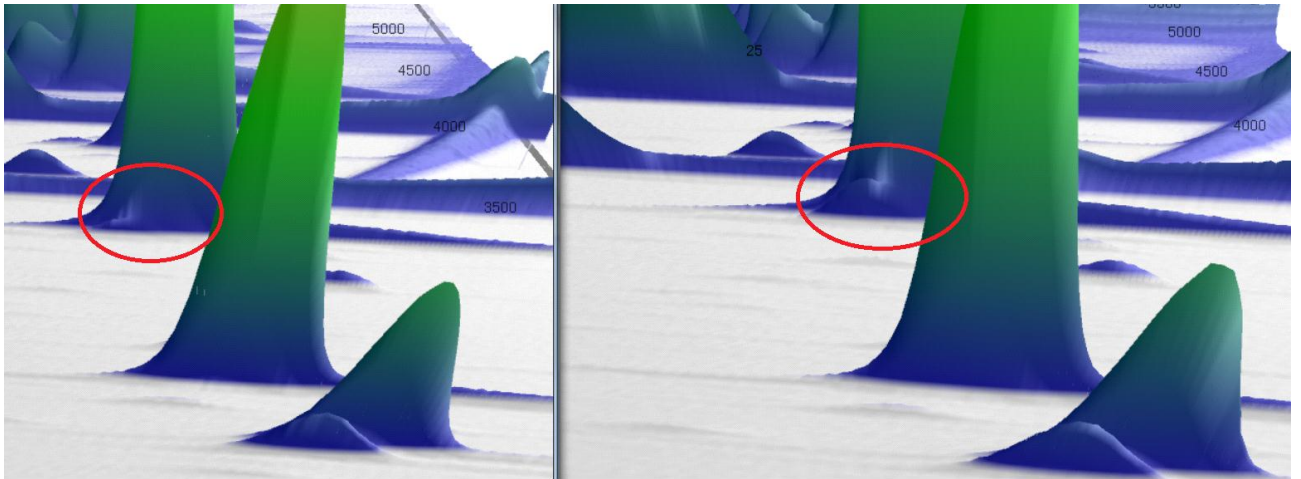


Abbildung 55 [Chromatogrammvergleich von 5%iger Mischung und 10%iger Mischung von Sonnenblumenöl in Olivenöl]

Auch bei einer Verunreinigung mit 5% Sonnenblumenöl ist ein Peakansatz zu erkennen, allerdings ist dieser nicht stark genug, um eine sichere Aussage zu gewährleisten.

Erfassung der Peaks in den Proben

Damit alle Peaks in den Proben erfasst werden, wurden sie in den Proben mit Nummern versehen. Die numerische Aufzählung der Peaks ist dabei ohne festes Muster. Auch wenn nicht sicher ist, welche Komponenten sich hinter welchen Signalen verbergen, sind die Proben mittels der Nummern und den Retentionszeiten vergleichbar. Eine tabellarische Aufzählung der Peaknummern und der Retentionszeiten ist im Folgenden zu erkennen. Im Anhang auf Seite 31 befindet sich ein Chromatogramm mit diesem Aufzählungssystem.

Peaknummer	Retentionszeit 1.Säule [s]	Retentionszeit 2. Säule [s]
1	3480	1,4-1,7
2	2560	0,54-0,7
3	4050-4080	1,32-1,62
4	3990	1,34-1,60
5	4060-4080	1,60-1,88
6	4780	1,13-1,42
7	3030	0,87-1,02
8	2660	0,78-0,86
9	2540	0,58-0,72
10	3360	0,96-1,06
11	3760	1,34-1,44
12	3820	1,22-1,28
13	4590-4610	0,68-1,02
14	3140	1,8-2,2

Tabelle 6 [Aufzählung Peaknummern und Retentionszeiten]

Die Peakform ist auch ein entscheidendes Kriterium, um Peaks vergleichen zu können. Da die Peakform nicht in ein standardisiertes Maß überführt werden kann, ist es nicht möglich dieses hier abzubilden.

Auswertung Standards am GCxGC

Um nicht nur Aussage über die Öl-Typen und Mischungen erhalten zu können, sind zusätzlich Standards von typischen gesättigten und ungesättigten Fettsäuren und Fettsäuremethylester analysiert worden. Um diese mit den Probenkomponenten vergleichen zu können, werden alle Vergleichs-Substanzen und die dazu gehörigen Retentionszeiten beider Säulen notiert. Das Auswerte-Programm konnte dahingehend nicht unterstützen. Per Hand ist ein Gitter-Raster über den Chromatogrammen zu erstellen. Dieses dient dazu die Retentionszeiten genau bestimmen und vergleichen zu können.

Die genauen Retentionszeiten und Substanznamen der Vergleichssubstanzen sind den folgenden zwei Tabellen zu entnehmen.

Std. Nr.	Name der Substanz	RT 1. Säule [sec]	RT 2. Säule [sec]
S1	Hexansäure	800-880	0,20-0,45
S2	Octansäure	1260-1340	0,54-0,80
S3	Dekansäure	1760-1820	0,68-1,00
S4	Dodekansäure	2240-2290	0,85-1,15
S5	Tetradekansäure	2680-2720	0,85-1,15
S6	Hexadekansäure	3100-3140	0,96-1,22
S7	Octadekansäure	3490-3520	1,04-1,37
S8	Eicosansäure	3760	1,30-1,40
S9	Docosansäure	4080	1,33-1,52
S10	Tetracosansäure	/	/
S11	Hexansäuremethylester	720-740	0,13-0,4
S12	Octansäuremethylester	1120-1140	0,58-0,84
S13	Dekansäuremethylester	1640-1660	0,70-0,92
S14	Dodekansäuremethylester	2140-2160	0,80-1,08
S15	Tetradekansäuremethylester	2610-2640	0,80-1,08
S16	Hexadekansäuremethylester	3050-3080	0,74-1,03
S17	Octadekansäuremethylester	3430-3460	0,76-1,06
S18	Eicosansäuremethylester	3780-3810	0,74-1,06
S19	Docosansäuremethylester	4110-4140	0,72-1,04
S20	Tetracosansäuremethylester	4410-4430	0,81-1,04

Tabelle 7 [Aufzählung der gesättigten Standardsubstanzen und Retentionszeiten]

Std. Nr.	Name der Substanz	RT 1. Säule [sec]	RT 2. Säule [sec]
S21	cis-9-Tetradekensäure	2700-2740	1,02-1,27
S22	cis-9-Hexadecensäure	3090-3130	1,09-1,35
S23	trans-9-Hexadecensäure	3090-3130	1,10-1,34
S24	cis-9-Octadecensäure	3470-3490	1,13-1,42
S25	trans-9-Octadecensäure	3470-3490	1,16-1,46
S26	cis-9-cis-12- Octadecensäure	3460-3480	1,21-1,54
S27	trans-9-trans-12- Octadecensäure	3460-3480	1,21-1,54
S28	cis-9-cis-12-cis-15- Octadecensäure	3470-3490	1,14-1,79
S29	cis-11-Eicosensäure	3820	0,78-1,16
S30	cis-13-Docosensäure	/	/
S31	cis-9- Tetradekensäuremethylester	2620-2650	0,90-1,21
S32	cis-9- Hexadekensäuremethylester	3010-3040	0,83-1,16
S33	trans-9- Hexadekensäuremethylester	3010-3040	0,90-1,22
S34	cis-9- Octadekensäuremethylester	3380-3420	0,85-1,18
S35	trans-9- Octadekensäuremethylester	3400-3440	0,86-1,19
S36	cis-9-cis-12- Octadekensäuremethylester	3180-3210	0,95-1,26
S37	trans-9-cis-12- Octadekensäuremethylester	3380-3410	1,04-1,35
S38	cis-9-cis-12-cis-15- Octadekensäuremethylester	3380-3410	1,06-1,39
S39	cis-11- Eicosensäuremethylester	3730-3770	0,83-1,13
S40	cis-13- Docosensäuremethylester	4060-4100	0,76-1,14

Tabelle 8 [Aufzählung der ungesättigten Standardsubstanzen und Retentionszeiten] [2]

Mit diesen Vergleichssubstanzen war es möglich Peak Nummer 1 als S28 (cis-9-cis-12-cis-15-Octadecensäure) zu identifizieren. Diese ist eine sehr häufig vorkommende natürliche Fettsäure. Da aber der Anteil der freien Fettsäuren in den verwendeten Speiseölen sehr gering ist, ca. 1 %, konnten keine weiteren Fettsäuren erkannt werden. Die meisten der Fettsäuren die im Speiseöl enthalten sind, kommen als glycerinegebundene Fettsäuren vor. Um auch den Aufbau der gebundenen Fettsäuren zu erhalten, wurden die Speiseöle verseift. Nach dieser Reaktion kam es zu keinen Übereinstimmungen zu den unbekannten Signalen. Durch Überlagerung wegen zu hoher Konzentration der Fettsäuren in den verseiften Proben war kein Vergleich möglich. (siehe Anhang Seite 81-82). Eine Trennung von cis-trans-Isomeren ist möglich. Dies ist mit den vorhandenen Parametern und Säulentypen aber nur ansatzweise gelungen.

Verschiebung der RT an den Säulen

Im Laufe der Projektarbeit ist aufgefallen, dass die Ergebnisse in Bezug auf die Retentionszeit der zweiten Säule nicht so stabil sind, wie bei der ersten Säule. Um diese Vermutung zu bestätigen und die genaue Abweichung festzustellen wurde dazu ein Stabilitätstest durchgeführt. Bei diesem Test wurde zehn Mal der gleiche Standard unter gleichen Bedingungen analysiert. Dadurch wurden zehn Messwerte zu der Retentionszeit der ersten und zweiten Säule erhalten. In folgender Tabelle sind die Messwerte und die statistische Auswertung zu entnehmen:

Analysenlauf	Retentionszeit 1. Säule [sec]	Retentionszeit 2. Säule [sec]
1. Lauf	3430	1,56
2. Lauf	3455	1,55
3. Lauf	3455	1,52
4. Lauf	3455	1,48
5. Lauf	3455	1,44
6. Lauf	3455	1,52
7. Lauf	3455	1,44
8. Lauf	3455	1,48
9. Lauf	3455	1,48
10. Lauf	3455	1,46
Mittelwert	3453	1,493
Absolute Spannbreite	25	0,12
Relative Spannbreite	0,72%	8,00 %
Standardabweichung	7,9057	0,0427

Tabelle 9 [Auswertung der Verschiebung der Retentionszeiten]

Die Messwerte des Stabilitätstest zeigen, dass die Abweichungen der Retentionszeiten auf der zweiten Säule um ein vielfaches höher ist als auf der ersten. Um nun eine gesuchte Komponente qualitativ zu ermitteln, ist es nötig die errechnete Abweichung mit zu beachten. Die ständigen Druckschwankungen auf der zweiten Säule können diese Abweichung erzeugen.

Die Vor- und Nachteile der einzelnen Systeme

Verwendetes System	Vorteile	Nachteile
Infrarotspektroskopie	- Kurze Analysenzeit - Geringere Kosten - Geringere Komplexität - Geringe Probenmenge - Einfache Probenvorbereitung - Verhältnis der gesättigten/ ungesättigten Fettsäuren analysierbar	- eingeschränkte Aussage möglich über Struktur, Öltypen oder Mischverhältnisse
Eindimensionale Gaschromatographie	- Quantifizierung der Signale möglich - Übersichtliche Darstellung - Gute Auswertungsmöglichkeiten - Olivenöl identifizierbar - Einfache Methoden-Variierung - Günstige Anschaffungskosten - Geringe Anfälligkeit - Einfache Reparatur	- Lange Analysenzeit - Keine Aussage möglich über genaue Mischverhältnisse oder Struktur - Hoher apparativer Aufwand - Überlagernde Peaks
Zweidimensionale Gaschromatographie	- Analyse von Mischverhältnissen möglich - Gut getrennte Peaks - Unterscheidung von cis-trans-Isomerie bedingt möglich	- Keine Quantifizierung - Sehr lange Analysenzeit - Keine Aussage über Struktur möglich - Schwierige Methodenvariierung - Schlechtes Auswerteprogramm - Hohe Anfälligkeit - Schwierige Reparatur - Hohe Anschaffungskosten - Hoher apparativer Aufwand
Gaschromatographie-Massenspektroskopie	- Strukturaufklärung möglich - Quantifizierung der Signale möglich - Übersichtliche Darstellung - Gute Auswertungsmöglichkeiten - Olivenöl identifizierbar	- Hohe Störanfälligkeit - Lange Analysenzeit - Keine Aussage möglich über genaue Mischverhältnisse - Hoher apparativer Aufwand - Überlagernde Peaks - Hohe Anschaffungskosten

Tabelle 10 [Aufzählung der Vor- und Nachteile der Analysenmethoden]

Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war es pflanzliche Öle mit Hilfe einer GCxGC-Kopplung zu analysieren und diese Analyse mit anderen Methoden zu vergleichen.

Wir erwarteten so Unterschiede zwischen Sonnenblumen- und Olivenöl zu erkennen. Im Laufe der Arbeit stellte sich heraus, dass mit sensorischer Beurteilung, physikalischen Kenngrößen, nasschemischen Methoden, wie Alkalimetrie, Acidimetrie und Iodometrie, Infrarotspektroskopie, oder eindimensionaler Gaschromatographie keine signifikanten Unterschiede zwischen den Speiseölen zu erkennen sind.

Sensorisch lässt sich ein Unterschied im Geruch und in der Farbe feststellen. Diese Parameter lassen sich aber leicht, zum Beispiel durch Zugabe von Farb- oder Aromastoffen, verfälschen.

Bei den physikalischen Kenngrößen Dichte und Brechungsindex ließen sich keine deutlichen Abweichungen der verschiedenen Öl-Typen erkennen.

Die Iodometrie lies zwar eine Unterscheidung von Olivenöl und Sonnenblumenöl zu, allerdings lassen sich die ermittelten Kennzahlen nicht einem spezifischen Öl zuordnen. Außerdem führt die Analyse von Ölgemischen mit diesem Verfahren nicht zu Ergebnissen, die eindeutige Zuordnung erlauben. Des Weiteren ist zu bedenken, dass physikalische Kennzahlen und Maßanalysen von Naturprodukten immer einer Schwankung unterliegen.

Mit der Infrarotspektroskopie war es möglich, Verhältnisunterschiede zwischen gesättigt, ungesättigten und glycerinveresterten Fettsäuren ungefähr festzustellen.

Im Vergleich dazu zeigten die chromatographischen Methoden etwas bessere Ergebnisse. Mit der eindimensionalen Gaschromatographie war es uns möglich einige Öltypen voneinander zu unterscheiden. Dadurch, dass die Sichtweise in der eindimensionalen Gaschromatographie auf die Trennung nach einer Stoffeigenschaft beschränkt ist, kommt es schnell zu Überlagerungen von Peaks.

Durch spezifische Komponenten im Olivenöl, ist es aber möglich, zumindest die Anwesenheit von Olivenöl in Öl-Gemischen, sicher zu bestimmen.

Die GC-MS lieferte Informationen über die Struktur der Komponenten. Dadurch, dass die Moleküle in diesem Fall sehr groß und sich sehr ähnlich sind, ist eine genauere Aussage nur mit hohem Aufwand verbunden.

Die GCxGC-Kopplung brachte die besten Ergebnisse.

Die entwickelte Methode halten wir für optimal, um die Fragestellung zu beantworten. Mit dieser Analysenmethode war es nicht nur möglich, Olivenöl von Sonnenblumenöl sicher zu unterscheiden, sondern auch Mischungen zu erkennen. Dabei konnte Olivenöl in Sonnenblumenöl ab einer Konzentration von 5% nachgewiesen werden. War Olivenöl mit Sonnenblumenöl verunreinigt, konnte dies ab einem Anteil von 10% sicher bestimmt werden.

Diese Methode ist potenziell auch zur Auftrennung von cis-trans-Isomeren geeignet.

Ausblick

Es bieten sich interessante Ansatzpunkte für weiterführende Untersuchungen. Aussichtsreich ist die Kopplung des GCxGC Systems mit einem nachgeschalteten Massenspektrometer. Durch die Komplexität der Probenmatrix ist es mit dem jetzigen System nicht möglich, alle Probenbestandteile zu identifizieren. Eine bessere Erkenntnis über die Bestandteile der Proben verspricht die GCxGC-MS Kopplung. Ein anderer Ansatzpunkt zur Analyse der Bestandteile wäre, die herkömmliche FAME-Methode auf dieses System zu übertragen. Dabei wäre es auch möglich die Triglyceridstruktur zu ermitteln. Auch bei dem verwendeten Auswerteprogramm besteht noch Optimierungspotential. Die Möglichkeit der quantitativen Analyse würde den Vergleich unterschiedlicher Öle erleichtern. Sinnvoll wäre es auch, die Voreinstellungen wie die Modulationszeit im Auswerteprogramm beibehalten zu können. Eine Overlay-Funktion würde den Vergleich der Retentionszeiten erleichtern und eine enorme Arbeitszeiterparnis bieten.

Es wäre auch interessant weitere Analysen zum Vergleich der Öle heranziehen zu können. Dazu wären beispielsweise die NMR Spektroskopie, die 2 dimensionale NMR oder eine noch zu entwickelnde GCxGC-IR geeignet.

Ähnlich wie selbstgepresstes Sonnenblumenöl wäre selbstgepresstes Olivenöl eine Möglichkeit die Verunreinigung der im Handel erhältlichen Produkte auszuschließen.

Grundsätzlich ist die vorgestellte Analysenmethode auch auf andere Öle und Ölmischungen übertragbar.

Experimenteller Teil

Gerätetypen

Infrarotspektrometer :	Nicolet Avatar 370 MCT „Thermo Scientific“ + Omnic-Sampler smart ATR
Dichtemessgerät :	DMA 38 Anton Paar
Refraktometer :	Carl Zeiss Nr. 322560
Eindimensionale GC :	6890N (G1530N) CN 10649107#
Injektorturm :	7683 B
• IT-Programm:	Empower 1
Gaschromatographie-Massenspektroskopie :	7890 A (G3440 A) CN 10846091
	5973 MassSelectiveDetector
• IT-Programm :	MSDCHEM station
Zweidimensionale GC: 10837023	7890 A (G3440 A) CN
Injektorturm :	7693 B
• IT-Programm :	GC * GC JAS Empower 1
Presse :	SchwabenthanPolystat 200 T

Versuchsvorschriften

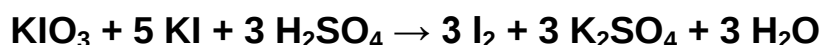
I. Iodometrie

Titerbestimmung einer Natriumthiosulfat-Maßlösung

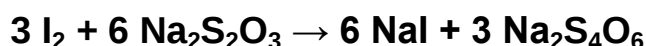
Grundlagen

Die Iodometrie ist eine auf Redoxreaktionen basierende Titration. In dieser Titration können sowohl oxidierende als auch reduzierende Analyten bestimmt werden. (z.B. Brom) Dabei werden die im Überschuss vorliegenden Iodidionen vom Analyten zu Iod oxidiert. Das entstandene Iod kann quantitativ, durch eine Rücktitration mit Natriumthiosulfat-Maßlösung, bestimmt werden. Die Natriumthiosulfatlösung wird bei der Iodometrie als Maßlösung verwendet.

Zur Titerbestimmung der Natriumthiosulfat-Maßlösung wird als Ursubstantz getrocknetes Kaliumiodat verwendet. Dieses oxidiert die Iodidionen zu Iod:



Anschließend wird das entstandene Iod durch eine Rücktitration mit Natriumthiosulfat-Maßlösung quantitativ bestimmt:



Dabei wird Schwefel von der Oxidationsstufe +IV zur Oxidationsstufe +V oxidiert und zu 0 reduziert. Iod wird zu Iodid reduziert. Um den Endpunkt der Titration besser zu erkennen, setzt man der Titrationslösung einige Milliliter einer Stärkelösung hinzu. Diese bildet mit Iod einen tiefblauen Iod-Stärke-Komplex. Sobald die blaue Färbung verschwindet, ist das Iod umgesetzt.

Geräte und Reagenzien

300ml-Erlenmeyerkolben
50ml-Bürette mit Stativ
500ml-PE-Vorratsflasche
Uhrgläser

Natriumthiosulfat-Lösung c (Na₂S₂O₃) = 0,1mol/L
Kaliumiodat (getrocknet)
10%ige Kaliumiodid-Lösung
Schwefelsäure c(H₂SO₄) konz.
1,0%ige Stärke-Lösung

Durchführung

Zur Titerbestimmung einer Natriumthiosulfat-Maßlösung wird von einer exakten Einwaage von getrocknetem Kaliumiodat ausgegangen, die in ca. 100ml dest. Wasser gelöst wird. Es wird mit 2 ml konz. Schwefelsäure angesäuert und die Lösung wird mit 20mL 10%iger Kaliumiodid-Lösung versetzt. Die Lösung wird mit einem Uhrglas abgedeckt und für 10min dunkel gestellt. Durch UV-Strahlung aus dem Sonnenlicht kann die Reaktion gestört werden, da Iod nicht UV-stabil ist. Anschließend wird die Probe mit 0,1 molarer Natriumthiosulfat-Maßlösung bis zur schwachen Gelbfärbung titriert. Kurz vor dem Endpunkt der Titration erfolgt die Zugabe von ca. 2ml 1,0%iger Stärkelösung, die zu einer starken Blaufärbung führt. Es wird bis zur Entfärbung titriert.

Berechnung der Einwaage an KIO_3 für die Titerbestimmung der Maßlösung

$$m(\text{KIO}_3) = \frac{c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot M(\text{KIO}_3)}{z}$$

m: Einwaage an Kaliumiodat in [g]

M: Molare Masse von Kaliumiodat in $\left[\frac{\text{g}}{\text{mol}}\right]$

c: Stoffmengenkonzentration der Maßlösung in $\left[\frac{\text{mol}}{\text{L}}\right]$

V: Verbrauch an Maßlösung in [l]

z: Äquivalenzzahl

$$m(\text{KIO}_3) = \frac{0,1 \text{ mol/L} \cdot 0,025 \text{ L} \cdot 214,001 \text{ g/mol}}{6}$$

$$m(\text{KIO}_3) = 0,0892 \text{ g}$$

Einwaage an Kaliumiodat

$$m_1(\text{KIO}_3) = 89,9 \text{ mg}$$

$$m_2(\text{KIO}_3) = 91,0 \text{ mg}$$

$$m_3(\text{KIO}_3) = 90,2 \text{ mg}$$

$$m_4(\text{KIO}_3) = 91,9 \text{ mg}$$

Verbrauch der $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -Maßlösung

$$V_1(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 24,6 \text{ ml}$$

$$V_2(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 24,8 \text{ ml}$$

$$V_3(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 24,6 \text{ ml}$$

$$V_4(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 25,1 \text{ ml}$$

Berechnung des Titer Na₂S₂O₃-Maßlösung

$$t(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = \frac{m(\text{KIO}_3) \cdot z}{C(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) \cdot M(\text{KIO}_3)}$$

$$t(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = \frac{0,0899 \text{ g} \cdot 6}{0,1 \text{ mol/L} \cdot 0,0246 \text{ L} \cdot 214,001 \text{ g/mol}}$$

$$t(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 1,0246$$

Mittelwertbestimmung

$$t = \frac{t_1 + t_2 + t_3 + t_4}{4} = \frac{1,0246 + 1,0288 + 1,0280 + 1,0265}{4} = 1,0270$$

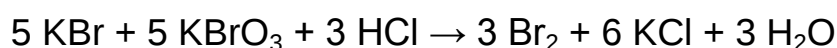
Ergebnis

Der Titer der Na₂S₂O₃-Maßlösung beträgt $t = 1,0270$

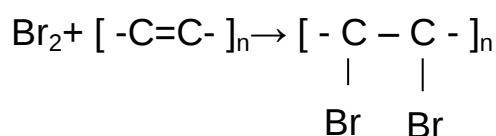
Iodometrische Bestimmung von ungesättigten Fettssäuren

Grundlagen

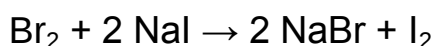
Die Iodzahl gibt an, wieviel Gramm Iod von 100 g Fett addiert werden. Sie ist also ein Maß für den Anteil an ungesättigten Fettsäuren im Fett. Zur Bestimmung der Iodzahl wird eine abgemessene Menge Brom im Überschuss mittels Kaliumbromid und Kaliumbromat hergestellt.



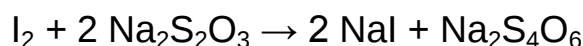
Das gebildete Brom addiert sich nun an den Doppelbindungen der ungesättigten Fettsäurebindungen in den Speiseölen.



Das nicht verbrauchte Brom wird nun mit 10 %iger Natriumiodidlösung versetzt. Das Natriumiodid wird nun zu Iod oxidiert.



Anschließend wird das entstandene Iod durch eine Rücktitration mit Natriumthiosulfat-Maßlösung quantitativ bestimmt



Dabei wird Schwefel von der Oxidationsstufe +IV zur Oxidationsstufe +V oxidiert und zu 0 reduziert. Iod wird zu Iodid reduziert. Um den Endpunkt der Titration besser zu erkennen, setzt man der Titrationslösung einige Milliliter einer Stärkelösung hinzu. Diese bildet mit Iod einen blauen Iod-Stärke-Komplex. Sobald die blaue Färbung verschwindet, ist das Iod umgesetzt.

Geräte und Reagenzien

300mL-Erlenmeyerkolben
 25 mL-Bürette mit Stativ
 500mL-PE-Vorratsflasche
 50 ml Vollpipette
 10 ml Vollpipette
 50 ml Messzylinder
 Uhrgläser

Natriumthiosulfat-Lösung c ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) =
 0,1mol/l
 Kaliumbromid (getrocknet)
 10%ige Natriumiodid-Lösung
 Kaliumbromatlösung c (KBrO_3) = 0,017 mol/l
 10%ige Salzsäure
 1,0%ige Stärke-Lösung
 Dichlormethan

Durchführung

Es werden von den jeweiligen Ölen 0,5g in drei Erlenmeyerkolben eingewogen. Die Proben werden nun in 10 ml Dichlormethan gelöst. In jedem Kolben werden zusätzlich 50 ml Kaliumbromatlösung, 1g Kaliumbromid und 10 ml der 10%igen Salzsäure hinzugegeben. Die Kolben werden nun mit Stopfen verschlossen und gut geschüttelt. Es scheidet sich Brom ab, die Lösung verfärbt sich braun.

Die Kolben werden nun 45 min an einen dunklen Ort gestellt. Durch UV-Strahlung aus dem Sonnenlicht kann die Reaktion gestört werden, da Iod nicht UV-stabil ist. Nach Ablauf der Reaktion werden in jeden Kolben 10 ml der 10%igen Natriumiodidlösung gegeben. Das nun abgeschiedene Iod verfärbt die Lösung dunkler.

Anschließend wird die Probe mit 0,1 molarer Natriumthiosulfat-Maßlösung bis zur schwachen Gelbfärbung titriert. Kurz vor dem Endpunkt der Titration erfolgt die Zugabe von ca. 2mL 1,0%iger Stärkelösung, die zu einer starken Blaufärbung führt. Es wird bis zur Entfärbung titriert. Am Ende der Titration wird die Natriumthiosulfat-Lösung nur noch langsam hinzugegeben, da sich immer wieder Iod aus der Öl-Phase löst.

Berechnung der Iod-Zahl

$$IZ = \frac{V2 * fA * M}{m}$$

$$V2 = 50 \text{ ml} - V1$$

IZ = Iodzahl

M = molare Masse Iod [g/mol]

m = Masse Öl [g]

V1 = errechneter Verbrauch [ml]

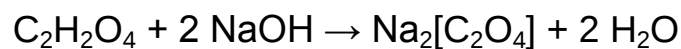
V2 = gemessene Verbrauch [ml]

I. Alkalimetrie

Titerbestimmung einer Natronlauge-Maßlösung

Grundlagen

Die Alkalimetrie beschreibt eine Säure-Base Titration. Dabei wird bei der Alkalimetrie die Lauge als Maßlösung verwendet.



Zur Titerbestimmung der Natronlauge-Maßlösung wird als Urtitersubstanz getrocknete Oxalsäure verwendet. Für die Erkennung des Umschlagpunktes wird Phenolphthalin verwendet. Der Umschlagpunkt geht von farblos nach rosa.

Geräte und Reagenzien

300ml-Erlenmeyerkolben
25ml-Bürette mit Stativ

Natronlauge c (HCL) = 0,1mol/l
Oxalsäure (getrocknet)
Phenolphthalin

Durchführung

Zur Titerbestimmung einer Natronlauge-Maßlösung wird von einer exakten Einwaage von getrockneter Oxalsäure ausgegangen. Die Oxalsäure wird in einem 300 ml Erlenmeyerkolben eingewogen und in 100ml dest. Wasser gelöst.

Die Lösung wird nun mit einer 0,1 molarer Natronlauge-Maßlösung bis zum Umschlagpunkt titriert.

Berechnung der Einwaage an Oxalsäure für die Titerbestimmung der Maßlösung

$$m(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4) = \frac{c(\text{NaOH}) * V(\text{NaOH}) * M(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4)}{Z^*}$$

m: Einwaage an Oxalsäure in [g]

M: Molare Masse von Oxalsäure in [$\frac{\text{g}}{\text{mol}}$]

c: Stoffmengenkonzentration der Maßlösung in [$\frac{\text{mol}}{\text{l}}$]

V: Verbrauch an Maßlösung in [l]

z: Äquivalenzzahl

$$m(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4) = \frac{0,1 \text{ mol/l} * 0,0125 \text{ L} * 90,04 \text{ g/mol}}{2}$$

$$m(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4) = 56,28 \text{ mg}$$

Einwaage an Oxalsäure

$$m_1(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4) = 56,40 \text{ mg}$$

$$m_2(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4) = 53,88 \text{ mg}$$

$$m_3(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4) = 56,29 \text{ mg}$$

Verbrauch der NaOH-Maßlösung

$$V_1(\text{NaOH}) = 12,5 \text{ ml}$$

$$V_2(\text{NaOH}) = 12,0 \text{ ml}$$

$$V_3(\text{NaOH}) = 12,5 \text{ ml}$$

Berechnung des Titer NaOH-Maßlösung

$$t(\text{NaOH}) = \frac{m(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4) * z}{C(\text{NaOH}) * V(\text{NaOH}) * M(\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_4)}$$

$$t(\text{NaOH}) = \frac{0,0564 \text{ g} * 2}{0,1 \text{ mol/l} * 0,0125 \text{ l} * 90,04 \text{ g/mol}}$$

$$t(\text{NaOH}) = 1,0022$$

Mittelwertbestimmung

$$t = \frac{t_1 + t_2 + t_3}{3} = \frac{1,0022 + 0,9974 + 1,0004}{3} = 1,0000$$

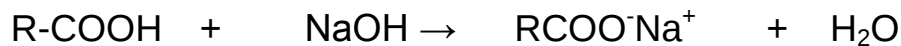
Ergebnis

Der Titer der NaOH-Maßlösung beträgt $t = 1,0000$

Bestimmung der Säurezahl der Speiseöle

Grundlagen

Die Säurezahl gibt die Menge an Lauge (in mg NaOH oder KOH) an, die bei der Neutralisation von 1 g Fett verbraucht wird.



Dabei werden nur die freien Fettsäuren im Öl neutralisiert und nicht die gebundenen wie bei der Verseifungszahl.

Geräte und Reagenzien

300mL-Erlenmeyerkolben
25mL-Bürette mit Stativ

Natronlauge c (NaOH) = 0,1mol/L
Phenolphthalin

Durchführung

Es werden von den jeweiligen Ölen ca. 3,0 g in je drei Erlenmeyerkolben eingewogen. Die Proben werden nun in den 10 ml Iso-Hexan/Ethanol-Gemisch gelöst. Zusätzlich werden in jeden Erlenmeyerkolben 3 Tropfen Indikator-Lösung (Phenolphthalin) hinzugegeben. Die Proben werden nun mit einer 0,1 molarer Natronlauge-Maßlösung bis zum Umschlagspunkt titriert.

Rechnung

$$SZ = \frac{V_{\text{NaOH}}}{m_{\text{ÖL}}} * m_{\text{KOH}}$$

SZ= Säurezahl]

$m_{\text{ÖL}}$ = Masse Öl [g]

V_{NaOH} = Verbrauch NaOH [ml]

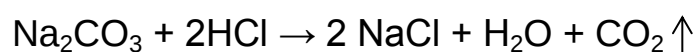
m_{KOH} = Masse an KOH in der
Reaktion [g]

II. Acidimetrie

Titerbestimmung einer Salzsäure-Maßlösung

Grundlagen

Die Acidimetrie beschreibt die Säure-Base-Titration zwischen einer Säure und einer Base. Dabei wird bei der Acidimetrie die Säure als Maßlösung verwendet.



Zur Titerbestimmung der Salzsäure-Maßlösung wird als Ur titersubstanz getrocknetes Natriumcarbonat verwendet. Für die Erkennung des Umschlagpunktes wird Phenolphthalin verwendet. Der Umschlagspunkt geht von rosa nach farblos.

Geräte und Reagenzien

300ml-Erlenmeyerkolben
50ml-Bürette mit Stativ

Salzsäure c (HCL) = 0,5 mol/l
Natriumcarbonat (getrocknet)
Ethanol p.A.
Phenolphthalin

Durchführung

Zur Titerbestimmung einer Salzsäure-Maßlösung wird von einer exakten Einwaage von getrocknetem Natriumcarbonat ausgegangen, die in ein wenig dest. Wasser gelöst wird und nun in 100 ml Ethanol überführt wird.

Die Probe wird nun mit einer 0,1 molarer Salzsäure-Maßlösung bis zur Entfärbung titriert.

Berechnung der Einwaage an Natriumcarbonat für die Titerbestimmung der Maßlösung

$$m(\text{Na}_2\text{CO}_3) = \frac{c(\text{HCl}) * V(\text{HCl}) * M(\text{Na}_2\text{CO}_3)}{Z^*}$$

m: Einwaage an Natriumcarbonat in [g]
M: Molare Masse von Natriumcarbonat in [$\frac{\text{g}}{\text{mol}}$]
c: Stoffmengenkonzentration der Maßlösung in [$\frac{\text{mol}}{\text{l}}$]
V: Verbrauch an Maßlösung in [l]
z*: Äquivalenzzahl

$$m(\text{Na}_2\text{CO}_3) = \frac{0,5 \text{ mol/l} * 0,025 \text{ l} * 105,99 \text{ g/mol}}{2}$$

$$m(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 662,44 \text{ mg}$$

Einwaage an Natriumcarbonat

$$m_1(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 704,64 \text{ mg}$$

$$m_2(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 713,0 \text{ mg}$$

$$m_3(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 684,4 \text{ mg}$$

Verbrauch der HCL-Maßlösung

$$V_1(\text{HCL}) = 24,6 \text{ ml}$$

$$V_2(\text{HCL}) = 24,8 \text{ ml}$$

$$V_3(\text{HCL}) = 24,6 \text{ ml}$$

Berechnung des Titer HCL-Maßlösung

$$t(\text{HCL}) = \frac{m(\text{Na}_2\text{CO}_3) * z}{C(\text{HCL}) * V(\text{HCL}) * M(\text{Na}_2\text{CO}_3)}$$

$$t(\text{HCL}) = \frac{0,70464 \text{ g} * 2}{0,5 \text{ mol/l} * 0,0246 \text{ l} * 105,99 \text{ g/mol}}$$

$$t(\text{HCL}) = 1,081$$

Mittelwertbestimmung

$$t = \frac{t_1 + t_2 + t_3}{3} = \frac{1,081 + 1,085 + 1,050}{3} = 1,072$$

Ergebnis

Der Titer der HCl-Maßlösung beträgt $t = 1,072$

Bestimmung der Verseifungszahl der Speiseöle

Grundlagen

Die Verseifungszahl (VZ) gibt die Masse an Lauge (in mg KOH) an, die bei der Hydrolyse von 1 g Fett zur vollständigen Verseifung der Fettsäuren verbraucht wird. Die Verseifungszahl gibt Aufschluss über die mittlere Kettenlänge der am Aufbau des Fettes beteiligten Fettsäuren. Umso kürzer die gebundenen Fettsäuren an dem Glycerin sind, desto höher ist die Verseifungszahl. Die VZ enthält die freien als auch die gebundenen Säuren in einem Öl-Gemisch.

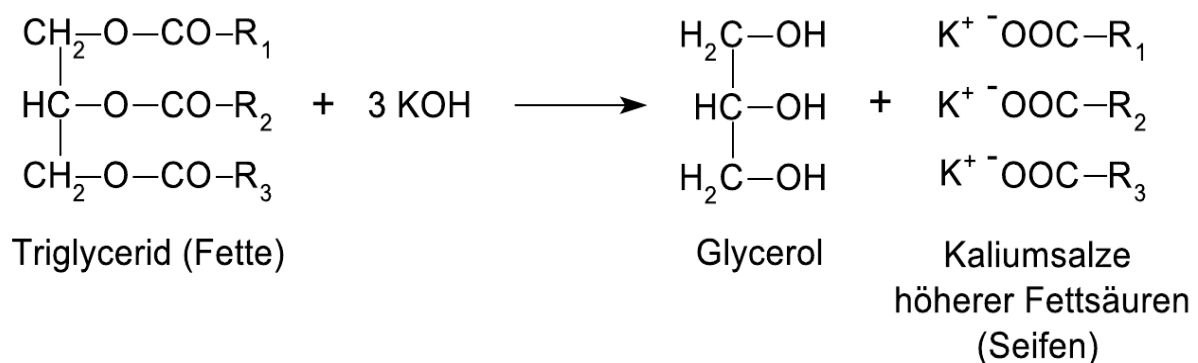
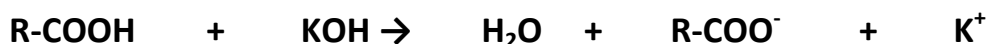


Abbildung 56 [Verseifung der an Glycerin gebundenen Fettsäuren]



Freie Fettsäure + Kalilauge → Wasser + Kaliumsalz der Fettsäure

Abbildung 57 [Verseifung der freien Fettsäuren]

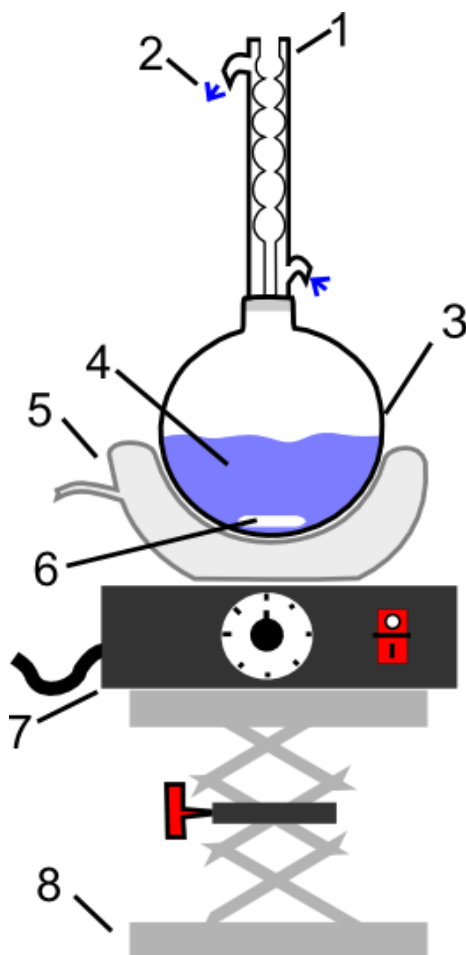
Um den Verbrauch an Kalilauge in der Verseifung zu ermitteln, wird die nichtverbrauchte Kalilauge mit einer Salzsäure-Maßlösung zurücktitriert. Durch die Differenz der eingesetzten Menge an Kalilauge und den errechneten Wert der nicht verbrauchten Kalilauge, kann nun die Verseifungszahl errechnet werden.

Die komplette Reaktion, sowie die Titration finden in ethanolischer Iso-Hexan-Lösung statt.

Geräte und Reagenzien

300ml-Erlenmeyerkolben
50ml-Bürette mit Stativ
Einhals-Kolben
Kugelkühler
Heizpilz
Magnetrührer
Magnetrühr-Platte
Hebebühne

Salzsäure c (HCL) = 0,5mol/l t= 1,0720
Ethanol p.A.
Phenolphthalin
Kalilauge c (KOH) = 0,5 mol/l t= 1,0334



- 1.) Kugelkühler
- 2.) Kühlwasser
- 3.) Einhals-Kolben
- 4.) Reaktionsgemisch
- 5.) Heizpilz
- 6.) Magnetrührer
- 7.) Magnetrühr-Platte
- 8.) Hebebühne

Abbildung 58 [schematischer Aufbau einer Ein-Hals-Kolbenrührapparatur]

Durchführung

Es werden von den jeweiligen Ölen 3,0 g in je einem Einhals-Kolben eingewogen. Die Proben werden nun in 25 ml Iso-Hexan gelöst. In jedem Kolben werden zusätzlich 25 ml KOH c (KOH) = 0,5 mol/l hinzugegeben. Das Reaktionsgemisch wird nun 30 min am Rückfluss gekocht. Nach abgelaufener Reaktion, wird das noch heiße Reaktionsgemisch mit weiteren 50 ml heißen Iso-Hexan in einen Erlenmeyer-Kolben überführt. Die noch heiße Probe wird mit 3 Tropfen Indikatorlösung (Phenolphthalin) versetzt und mit der Salzsäure-Maßlösung titriert.

Der Endpunkt der Titration ist erreicht, wenn die Farbe von rosa nach farblos umschlägt und nicht sofort (ca. 30 sec.) nach Zusatz von weiteren drei Tropfen Indikator-Lösung zurückkehrt.

Rechnung

$$VZ = \frac{C \cdot (V1 - V2) \cdot fA}{m}$$

VZ = Verseifungszahl
 C = Konzentration der Salzsäure in mol/L
 V1 = Verbrauch von Salzsäure im Blindwert in ml
 V2 = Verbrauch von Salzsäure in der Probe in ml
 fA = stöchiometrischer Faktor
 m = Masse Öl-Probe in g

Ansetzen der Standards/Proben für die Chromatographie

Beim Ansetzen und Verdünnen von Proben für die Gaschromatographie ist es wichtig, gut aufgelöste Peaks (Signal/Rausch-Verhältnis) zu erreichen und die Säule nicht zu überlagern. Es wurde sich für eine Verdünnung von 1:100 entschieden. Durch Erfahrungswerte in der eindimensionalen Gaschromatographie hat sich dieses Verhältnis von Probe und Lösemittel als optimal herausgestellt.

Am Anfang dieser Projektarbeit wurden verschiedene Öl-Typen analysiert, um so einen guten Überblick über die Signale und Signalunterschiede zu bekommen. Für die weitere Herangehensweise hat sich herauskristallisiert, dass es zeitlich nicht möglich ist alle Analysenschritte mit allen Öl-Typen durchzuführen.

Somit konzentriert sich diese Arbeit auf das Olivenöl und das Sonnenblumenöl.

Bei manchen Öl-Typen ist der Anteil der freien Fettsäure sehr gering. Um diesen zu erhöhen, bzw. die Zusammensetzung der Triglyceride zu ermitteln, wurden die verseiften Öle nach der Bestimmung der Verseifungszahl in Iso-Hexan gelöst und analysiert.

Für die Erkennung von reinen Ölen in Mischölen wurden elf verschiedene Mischungen angesetzt.

Der Anteil an Sonnenblumenöl im Olivenöl betrug 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% und 95%.

Auswahl der GC Methoden instrumentell

Die Parameter der Start-Methode sind aus folgender tabellarischer Aufzählung zu entnehmen.

Basis-Methode GCxGC =

Front-Injektor

Injekt-Volum	2.0
Viscosity delay	2.0
Injekt Dispence Speed	6000
Airgrap Volume	0.2
Sampla Pumps	4
Sampla washes	1
Sample wash volume	8.0
Solvent A post washes	2
Solvent A pre washes	1
Solvent A wash volumn	8.0
Solvent B post washes	2
Solvent B pre washes	1
Solvent B wash volumn	8.0
Sample Draw speed	300
Sample Dispence speed	3000
Solvent Draw speed	300
Solvent Dispence Speed	3000
Pre dwell time	0.00
Post dwell	off
Sample offset	off
Injektions Mode	normal
Injektor Light	on

Inlett

Trärgas	Helium
Mode	Split
Temp	330°C
Druck	1.2859 bar
Split Ratio	20.0
Split Flow	15.0
Total Flow	18.45
Septum Purge	3.0
Gas saver	on
Saver flow	15.0
Saver time	10.0

Oven

Initial temp	80°C
Initial time	0 min
Rate	3°C/min
Final temp	320 °C
Final time	20 min

Column 1

Typ	Agilent HP – 5 30 m * 0,32mm * 0,25µm 60°C – 325°C /350°C
Constant Flow	0.45
Velocity	5.1

Column 2

Typ	Optima 17-MS 4m * 0,25mm * 0,25µm 60°C-340°C /360°C
Constant Flow	10.00
Average Velocity	246.4

Front Detektor

Temp	330°C
H ₂ -Flow	30
Air-Flow	300
Makeup	off

PCM-B (Modulator)

Mode:	Forward pressure
Druck	1.1551
Aux-press.	off
Initial-time	0
Rate-1	off
Modulationszeit	2.5

Die Start-Methode und die darin enthaltenen Parameter wurden teilweise selbst erarbeitet, aus Erfahrungswerten der eindimensionalen GC übernommen oder sind Empfehlungen vom Hersteller (JAS/Agilent).

Die erste Säule eine Agilent HP-5 ist eine relativ unpolare Säule. Sie dient dazu die Analyten nach Siedepunkt zu trennen. Ihr Innenfilmmaterial besteht aus 5% Phenyl, und 95 % Dimethylpolysiloxan. Die Auswahl der zweiten Säule ist dahingegen schon etwas komplizierter. Sie muss erstens relativ polar sein aber auch zweitens hohe Temperaturen im Ofenraum aushalten.

Die Optima 17-MS beinhaltet sowohl das eine als auch das andere. Ihr Säulenmaterial besteht aus 50 % Phenyl und 50% aus neu entwickelten Silarylenphase. Diese ermöglicht eine gute Trennung bei mittelpolaren Stoffen.

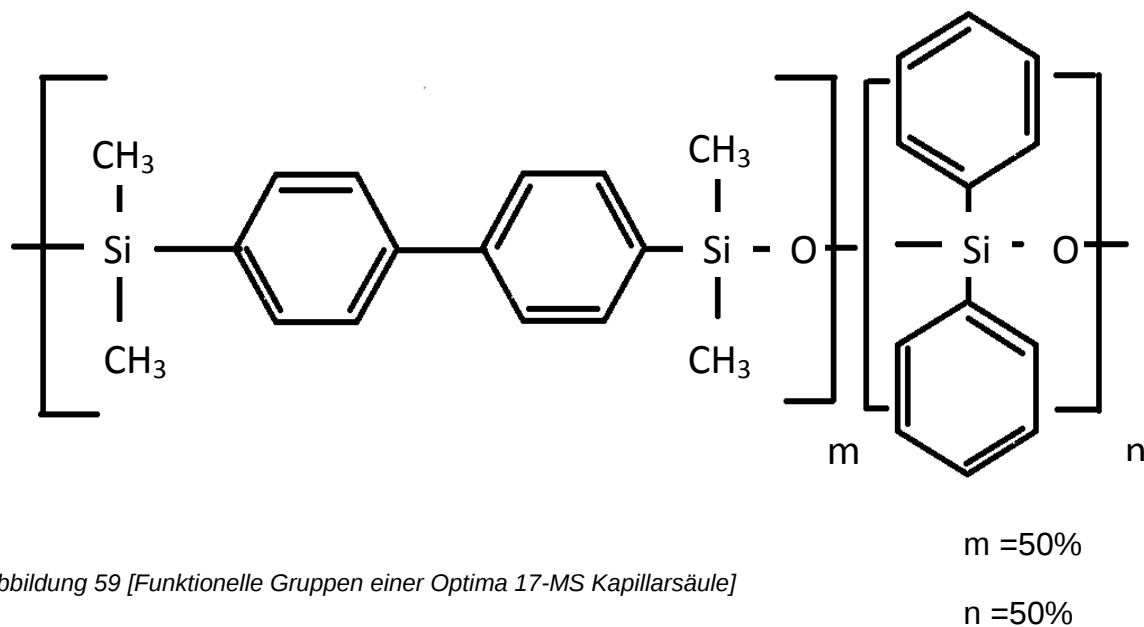


Abbildung 59 [Funktionelle Gruppen einer Optima 17-MS Kapillarsäule]

Optimierung der GC Methode

Die verwendete Basis-Methode der 2-Dimensionalen Gaschromatographie hat sich als solide Analysenmethode dargestellt. Alle Peaks wurden auf Basislinie getrennt, haben kein starkes Tailing oder Fronting. Triglyceride und langkettige organische Säuren erzeugen durch ihre große Molekülgröße eine zu mindestens leicht tailende Peakform, die aber als normal zu betrachten ist. Es wurden Unterschiede in den einzelnen Analysenläufen der verschiedenen Öl-Typen gut erkannt. Optimierungspotential ergab sich allerdings bezüglich der Analysenzeit und starkem Säulenbluten.

Um das Säulenbluten zu minimieren, wurde am Detektor einen Kompensations-Lauf durchgeführt. Dieser Kompensations-Lauf verringert das Säulenbluten rechnerisch, indem er den Blindwert-Lauf von jedem Folgenden subtrahiert. Das Säulen-Bluten existiert noch immer, aber es wird nicht mehr bei der Anzeige des Chromatogramms dargestellt. Ein Kompensations-Lauf ist aber nur ohne Lösemittel möglich, daher ist das Säulenbluten, das durch das Lösemittel verursacht wird, immer noch vorhanden. Um dieses Säulenbluten zusätzlich zu minimieren, wurde versucht auch andere Parameter zu verändern.

Daher wurde versucht die Methode weiter zu optimieren. Die Analysenzeit ist mit 100 min. relativ lang. An folgenden Parameter wurde gearbeitet, um diese zwei Probleme zu lösen.

- Druck des Trägergases
- Temperaturprogramm

Bei der Druckänderung in der instrumentellen Methode des GCs muss vorsichtig agiert werden. Erhöht man den Druck der ersten und zweiten Säule nicht gleichermaßen, kann es zu einem sogenannten Back-Flush kommen. Bei diesem drückt das Trägergas vom Modulator in die erste Säule und den Injektor zurück. Der Detektor wird so weder Analyt noch Trägergas detektieren. Um eine kürzere Analysenzeit zu erhalten wird empfohlen den Druck zu erhöhen. Somit wurde der Druck auf beiden Säulen um jeweils 10 % erhöht. Die Ergebnisse die daraus resultieren s.S.27 im Anhang lassen erkennen, dass die Trennung der Komponenten nicht mehr optimal ist. Der erhöhte Druck lässt zwar die Analyten schneller von der Säule retendieren, aber die Anzahl der Trennungsvorgänge auf der Säule werden dadurch geringer. Somit wurden wieder die Grundeinstellungen eingestellt.

Der zweite Parameter an dem versucht wurde die Methode zu optimieren ist die Temperatur. Die Initial-Temperatur liegt bei 80°C. Diese ist für Öl-Gemische und langkettige Fettsäuren relativ gering. Daher wurde die Start-Temperatur auf 180 °C erhöht. Somit verkürzt sich der Analysenlauf deutlich. Wir erhofften uns eine thermische Entlastung der zweiten Säule, da erstens die Temperaturschwankungen innerhalb einer Analyse nicht mehr so groß sind und zweitens die Endtemperatur vielleicht nicht mehr so lange gradient gehalten werden muss. Zusätzlich waren bei den meisten Proben im vorderen Bereich des Chromatogramms (0s bis 2000s) keine oder nur wenige Komponenten vorhanden. Wie auf Seite 28 im Anhang zu erkennen, wurden die Erwartungen des geringeren Säulenblutens leider nicht bestätigt. Eher im Gegenteil hat sich das Säulenbluten sogar noch verstärkt. Die Veränderung der Start-Temperatur hat zu mindestens einen verkürzten Analysenlauf eingebracht. Wie auf Seite 28 im Anhang zu sehen, wurde die Analysenzeit auf ca. 70 min verringert. Durch weitere Veränderung, auch an der Aufheizrate wurde versucht den Analysenlauf noch weiter zu verkürzen. Doch auch hier hat sich herausgestellt das die vorhandene Aufheizrate von 3°C/min optimal ist. Höhere Aufheizraten von 6°C/min ließen die Trennungseigenschaften verringern. Mit niederen Aufheizraten von 1,5 °C/min wurde zusätzlich versucht das Säulenbluten zu verringern, doch auch hier wurden die Trenneigenschaften verringert. Wie auf Seite 29 im Anhang zu erkennen, zeigten die Peaks ein zu großes Tailing.

Die Firma JAS hat die Modulationszeit von 2,5 sec als Empfehlung weitergegeben. Dies ist die Zeit, in der die Komponenten im Modulator zurück gehalten werden. Durch höhere oder niedere Modulationszeit werden auch die Trenneigenschaften auf der zweiten Säule verändert. Durch Veränderung und Analyse der Ergebnisse konnten keine Verbesserungen der Trennungseigenschaften erkannt werden. Die instrumentell mögliche Einstufung ist von 0 Sek. bis 5 Sek. Bei 0 Sek. ist keine Modulation vorhanden und somit nicht zu empfehlen. Bei der Modulationszeit von 5 Sek. wurde auch eine zu stark tailende Peakform beobachtet. (s.S. 30 im Anhang)

Alles in Allem konnte keine großartigen Verbesserungen der Basis-Methode erreicht werden. Nur durch Erhöhen der Starttemperatur konnte eine Verkürzung der Analysenzeit erreicht werden. Diese Verkürzung der Analysenzeit ist nur empfehlenswert, wenn es darum geht nur bestimmte Segmente im Chromatogramm zu erfassen oder wenn die Methode im Dauerbetrieb genutzt würde.

Herstellung von selbstgepressten Sonnenblumenöl

Um auszuschließen, dass in den von uns analysierten Sonnenblumenölen andere Zusätze enthalten sind, wurde Sonnenblumenöl aus Bio-Sonnenblumenkernen selbst gepresst. Dazu wurde eine Laminatpresse folgenden Typs genutzt :

Schwabenthan Polystat 200 T

Um möglichst viel Öl zur Analyse zu erhalten, wurde einen Pressdruck von 300 bar und eine Presszeit von 30 min gewählt. In die Presse wurden ungefähr eine Handvoll Sonnenblumenkerne gepresst.

Nach 30 Minuten hatten sich neben den trockenen Kernen deutliche Öllachen gebildet. Diese wurden mit einem Kartenblatt zusammen geschoben. Das Öl wurde mit einer Pipette aufgenommen. Das so gewonnene Öl wurde in ein Schnappdeckelglas überführt. Es ergaben sich aus der Handvoll Kerne ca. 3 ml Öl.

Das erhaltene Öl war trübe, weshalb es mit einer Einwegspritze und einem 0,45µm Weißband Spritzenfilter filtriert wurde.

Der Brechungsindex, wie in Tabelle 2 beschrieben, ist bei beiden Proben identisch und liegt bei 1,4740.

Für eine Dichtebestimmung waren beide Probemengen nicht ausreichend.

Im Folgenden wurde nur Probe 2 weiter verwendet.

Literaturverzeichnis

<https://www.test.de/Olivenoele-Nur-vier-sind-gut-1854841-0/>

<http://www.rp-online.de/panorama/olivenoel-durch-missernte-teuer-aid-1.4808452>

<http://www.gourmetglobe.de/kolumnen/geld-und-genuss/546-olivenoel-extra-falsificato-der-profit-mit-gepanschten-oel-ist-so-hoch-wie-beim-kokainhandel.html>

http://www.planet-wissen.de/alltag_gesundheit/essen/olivenoel/

<http://www.supermarktcheck.de/product/32299-buttella-feines-sonnenblumenoel>

<http://www.chemieunterricht.de>

http://www.dgfett.de/methods/hinweise_c_vi_13_14.pdf

(H. Pardun: Analyse der Nahrungsfette, Paul Parey Verlag Berlin, Hamburg (1976), ISBN 3-489-78814-1.)

<http://www.chemieunterricht.de/dc2/haus/fette.htm>

<http://www.eurofins.de/lebensmittel/produkte/ole-und-fette/olivenol-analyse.aspx>

Siegfried Hauptmann: Organische Chemie, 2. durchgesehene Auflage, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1985, S. 654, ISBN 3-342-00280-8.

Quelle: http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527317740_c01.pdf

Quelle: www.shsu.edu

<http://www.bernd-leitenberger.de/olivenoel.shtml>

Abb. 2/3 <http://www.chemieunterricht.de/dc2/haus/images/f-ester.jpg>

Abb. 4 <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b1/ALAnumbering.png>

Abb. 5 <http://www.physik.tu-berlin.de/institute/IFFP/moses/Subsites/themenseiten/brechungsgesetz/applets/brehreflbild.png>

Abb. 6/7 <http://www.physik.tu-berlin.de/institute/IFFP/moses/Subsites/themenseiten/brechungsgesetz/applets/brechungsgesetzindex.html>

Abb. 8 http://www.spektrum.de/lexika/images/optik/fff287_w.jpg

Abb. 9 <http://wiki.polymerservice-merseburg.de/index.php/Abbe-Refraktometer>

Abb. 10 <http://www.wee-solve.de/images/biegeschwinger.png>

Abb. 13 <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a0/IodStaerke - 2.svg/220px-IodStaerke2.svg.png>

Abb. 15 http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/ir_spek/ir_spektroskopie/ir_geraetetechnik/einschema_m35bi0101.gif

Abb. 14 http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/ir_spek/schw_spek/mol_spek/ir3_1/dreiatomlinear_m19bi0300.gif

Abb. 16 http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/ir_spek/-ir_spektroskopie/reflexionsmethoden/ir_6_1/prinzipatr_m14bi0300.gif

Abb. 17 https://sites.temple.edu/strongingroup/files/2014/10/atr_clip_image002.jpg

Abb. 19 http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527321195_c01.pdf

Abb. 20 http://www.gymnasium-stein.de/filedownload/Fachschaften/Faecher_Gruppe_1/Chemie/Experimente/Chromatographie.pdf

Abb. 21 <http://www.werner-knoben.de/rossleben2001/doku/kurs72web/img68.gif>

Abb. 24 www.chemie.tu-darmstadt.de/media/ak_plenio/pdf/Script_Geraeteanalytik_2009.pdf

Abb. 22/23/25/26/27 http://www.wiley-vch.de/books/sample/3527321195_c01.pdf

Abb. 28 <http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/prinzip/prinzipgc.gif>

Abb. 31 <http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/statphase/uebersicht1m71gr0201.png>

Abb. 32 http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/stat_phase/gepackte_saeule/gepacktopti1m71gr0101.png

Abb. 33 http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/stat_phase/kapillarsaeule/plotopti1m71gr0201.png

Abb. 34 http://www.shsu.edu/chm_tgc/primers/FID_files/FID1.gif

Abb. 35 http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/detektoren/elektro/ecd_prinzip_grm751200.gif

Abb. 36 http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/3/anc/croma/gc/detektoren/waerme/wld_prinzip_gruen_1m75gr1200.png

Abb. 38/39/40/41/42 Präsentation von der Firma JAS

Anhang

Siehe für den Anhang in Band II

„Wir versichern, dass diese Projektarbeit mit dem Titel 2-D Gaschromatographie von Speiseölen von uns selbst und ohne jede unerlaubte Hilfe angefertigt wurde. Die Stellen der Arbeit – einschließlich Tabellen, Karten, Abbildungen usw. –, die anderen Werken dem Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, haben wir kenntlich gemacht.“