

**EINE MASSENSENSITIVE ELEKTRONISCHE
NASE ZUR ERKENNUNG, UNTERSCHIEDUNG
UND QUALITÄTSKONTROLLE VON
SAFRAN UND TRÜFFEL**

Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades (Dr. rer. nat.)

der

Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn

von

Parham Mashayekhi

aus Teheran

Januar 2005

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Mai 2002 bis Dezember 2004 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. J. Bargon am Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn erstellt.

Angefertigt mit Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.

1. Referent: Prof. Dr. J. Bargon

2. Referent: Prof. Dr. F. Vögtle

Tag der Promotion: 04.03.2005

Ich versichere, dass ich diese Arbeit selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, sowie die Zitate kenntlich gemacht habe.

Meinen Eltern

Danksagung

- ◆ Herrn Professor Dr. J. Bargon danke ich für die Ermöglichung dieser Arbeit und für die vielen kreativen Ideen und Anregungen. Ebenso möchte ich ihm für seine stete Bereitschaft zur Diskussion und zur Unterstützung besonders danken.
- ◆ Herrn Professor Dr. F. Vögtle danke ich für die Übernahme des Korreferates und für die Anregung meines Promotionsthemas.
- ◆ Bei den Herren W. Wendler, R. Fligg und B. Missura bedanke ich mich für ihre ständige Hilfsbereitschaft.
- ◆ Frau I. Technau danke ich für die schnelle und unbürokratische Erledigung aller nur erdenklichen administrativen Angelegenheiten.
- ◆ Frau Dr. Ute Hermann, Herrn Dr. Boris Graewe und Herrn Dr. Jürgen Lörger danke ich für die Korrektur und für den Beistand in diesen hektischen Tagen.
- ◆ Allen derzeitigen und ehemaligen Mitgliedern des Arbeitskreises möchte ich für das hervorragende Arbeitsklima und die gute Zusammenarbeit danken.
- ◆ Mein größter Danke geht an meine Familie für die uneingeschränkte Unterstützung in jeglicher Hinsicht, die sie mir hat zukommen lassen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Sensorik	6
2.1	Sensorische Beurteilung von Lebensmitteln	7
2.2	Sensoren als technische Sinnesorgane	9
2.3	Definition und Merkmale von chemischen Sensoren	11
2.4	Charakterisierung chemischer Sensoren	14
2.5	Massensensitive Sensoren	15
2.5.1	BAW-Sensoren	15
2.6	Sensor-Physik	17
2.7	Chemische Wechselwirkungen	20
2.8	Adsorptionsmodelle	22
2.9	Volumenadsorption des Analyten	24
3	Safran	25
3.1	Botanische Systematik, Herkunft und Produktion von Safran	25
3.2	Flüchtige Komponenten des Safran-Aromas	27
3.3	Qualitätskontrolle von Safran	30
3.4	Fälschung von Safran	31
4	Trüffel	34
4.1	Botanische Systematik und Herkunft der Trüffel	35
4.2	Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Trüffelarten	37
4.3	Flüchtige Inhaltsstoffe der Trüffelarten	40
4.3.1	Tuber Magnatum Pico	41
4.3.2	Tuber Melanosporum Vitt.	44
4.3.3	Tuber Indicum	45
4.3.4	Tuber Aestivum	45

5	Sensoraktive Substanzen	47
5.1	Supramolekulare Chemie	47
5.2	Porphyrine und Metalloporphyrine	50
5.3	Chemische Eigenschaften der Porphyrine und Metalloporphyrine	54
5.4	Physikalische Eigenschaften der Porphyrine und Metalloporphyrine	56
5.5	Methoden zur Synthese von Porphyrinen und Metalloporphyrinen	57
5.6	Anwendungen der Porphyrine und Metalloporphyrine	60
5.7	Porphyrine und Metalloporphyrine als sensoraktive Substanzen	60
5.8	Eingesetzte Porphyrine und Metalloporphyrine	62
6	Multivariate Datenanalyse	64
6.1	Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis)	66
6.2	Die Clusteranalyse	68
6.3	Die Selbstorganisierende Karte (Self Organizing Map)	69
7	Experimenteller Teil	72
7.1	Die Multikomponenten-Gasmischanlage	72
7.2	Aufbau der Messzellen	75
7.3	Beschichtungsmethoden	76
7.3.1	Drop-Coating-Verfahren	77
7.3.2	Spin-Coating-Verfahren	77
7.3.3	Airbrush-Verfahren	78
7.3.4	Elektrospray-Verfahren	78
7.4	Anlage zur Untersuchung von festen Proben	81

8	Messungen	84
8.1	Messungen der leicht flüchtigen Verbindungen des Safrans	86
8.2	Praxismessungen von Safran	90
8.3	Messungen von leicht flüchtigen Verbindungen der Trüffel	99
8.3.1	Schwefel-Verbindungen	99
8.3.2	Aldehyde	106
8.3.3	Alkohole	110
8.3.4	Ketone	116
8.4	Praxismessungen von Trüffel	117
9	Zusammenfassung	125
10	Ausblick	127
11	Anhang	129
12	Literaturverzeichnis	130

Abkürzungsverzeichnis

AGS	Amperometric Gas Sensor
AT-Schnitt	festgelegte Orientierung für den Quarzschnitt relativ zu den Kristallachsen
BAW	Bulk Acoustic Wave (akustische Volumenwelle)
CP	Conducting Polymers (leitende Polymere)
DC	(Dünnschichtchromatographie), TLC (thin-layer chromatography)
EQCM	Elektrochemische Quarz-Mikrowaage
FET	Field Effect Transistor (Feldeffekttransistor)
GC	Gaschromatographie
GC-O	Gas Chromatography-Olfactometry
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IR	Infrarotspektroskopie
LOD	Limit of Detection (Nachweisgrenze)
MFC	Mass Flow Controller
MIP's	Molecular Imprinted Polymers
MOS	Metal Oxide Semiconductor (Metalloxid Halbleiter)
MOSFET	Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor
MS	Massenspektroskopie
MSDE	Micro Simultaneous Steam Distillation-Solvent Extraction
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (Kernresonanzspektroskopie)
ppm	parts per million
QCM	Quartz Crystal Microbalance (Quarzmikrowaage)
SAW	Surface Acoustic Wave (akustische Oberflächenwelle, Rayleigh-Typ)
SD	Steam Distillation (Dampfdestillation)
SDE	Simultaneous Distillation-Extraction (Simultane Destillation-Extraktion)
SPME	Solid Phase-Micro-Extraction Gas Chromatography Mass Spectrometry
TDS	Thermal Desorption Gas Chromatographie
UV	Ultraviolett-spektroskopie
VHS	Vacuum Headspace Analysis (GC-Analyse der Dampfphase)
VIS	Visible Spectroscopy (Spektroskopie im sichtbaren Spektralbereich)

1 Einleitung

In allen Bereichen der chemischen und industriellen Analytik besteht der Bedarf nach immer exakteren und schnelleren Analysen. In vielen Fällen ist es von größter Bedeutung, die Änderung einer Stoffkonzentration spezifisch, schnell und mit großer Empfindlichkeit nachzuweisen. Überall dort, wo möglichst kontinuierlich und unabhängig von geschultem Personal Informationen über das Vorhandensein und die Konzentration von bestimmten Substanzen gewonnen werden müssen, wurden in den vergangenen Jahren vielfältige Nachweisverfahren entwickelt oder sind, wie die Entwicklung neuer chemischer Sensoren, Gegenstand aktueller Forschung. So sind die Umweltanalytik und die medizinische Diagnostik, aber auch die Kontrolle von Reaktionen und Prozessen in der chemischen und pharmazeutischen Industrie, Anwendungsgebiete für chemische Sensoren.

Den gegenwärtigen Stand der Technik für eine exakte chemische Analyse stellen dagegen Gerätesysteme in speziellen Labors dar, die für den mobilen Einsatz nicht ausgelegt sind. Dies führt dazu, dass solche Analysen kostenintensiv und zeitaufwendig sind. Auf Grund der Komplexität dieser Verfahren können sie nur von speziell geschultem Personal bedient werden. Hierbei soll der Einsatz von einfach bedienbaren, miniaturisierten, transportablen und zugleich robusten Analysesystemen auf der Grundlage von chemischen Sensoren Abhilfe schaffen.

Bereits heute sind preiswerte Labordiagnostik und schnelle Vor-Ort-Analysen mit dem „Lab-on-a-Chip“ ebenso möglich wie die individuelle Kontrolle von Patientenmesswerten. Lab-on-a-Chip Systeme bieten die Funktionalität eines makroskopischen Labors auf der Fläche einer Chipkarte. Die Kombination von molekularen Erkennungssystemen und adaptierter Sensorik ermöglicht die präzise Steuerung von physikalischen und (bio-) chemischen Prozessen auf kleinstem Raum. Die Applikationen reichen von der medizinischen *In-vitro-Diagnostik* und der Pharmaforschung über den Umweltbereich bis hin zur industriellen Prozesskontrolle.

Wie innovativ und aktuell dieses Forschungsgebiet ist, zeigt nicht zuletzt die Verleihung des Deutschen Zukunftspreises 2004, mit dem das Projekt „Labor auf dem Chip - Elektrische Biochiptechnologie“ ausgezeichnet wurde. Nach dem „Schlüssel-Schloss-Prinzip“ binden auf dem Chip verankerte Biomoleküle spezifische Moleküle wie Nukleinsäuren oder Proteine aus einer Lösung. Dadurch entsteht ein hochempfindliches Sensorsystem für DNA und andere Proteine. Durch aggressive chemische Bedingungen oder enzymatischen Abbau wird die Stabilität von Biosensoren in der medizinischen Diagnostik empfindlich beeinflusst, weshalb der Ersatz von Biosensoren, die auf Proteinen als Erkennungsmolekülen beruhen, durch supramolekulare Erkennungssysteme, die eine erhöhte chemische Stabilität und verlängerte Lebensdauer aufweisen, angestrebt wird.

Im Gegensatz zu den Bio-Sensoren stellt die Analyterkennung in der chemischen Sensorik eine große Herausforderung dar. Die supramolekularen Systeme zeigen im Vergleich eine meist vielfach geringere Sensitivität und Selektivität auf. In vielen Fällen wird daher nicht das Signal eines einzelnen Sensors ausgelesen, sondern stattdessen die erforderliche Selektivität über ein Muster von Signalen erreicht. Ein Beispiel hierfür sind die Gassensoren. Ein individueller Sensor spricht auf unterschiedliche Gase verschieden stark an und kann damit nicht eindeutig zwischen zwei unterschiedlichen Gasen oder zwischen ein und demselben Gas bei unterschiedlichen Konzentrationen unterscheiden. Erst durch Hinzufügen weiterer Sensoren mit anderen Eigenschaften wird durch das Antwortmuster eine eindeutige Identifizierung des Gases bzw. der Konzentration möglich. Hierbei ist eine geringe selektive Erkennung in Hinblick auf die Reversibilität des Erkennungsvorganges häufig von Vorteil. Hohe Selektivität geht oftmals mit starken molekularen Wechselwirkungen einher. Diese führen zu einer langsamen Dissoziationskinetik des Analyten vom Erkennungsmolekül und damit zu einer geringen Reversibilität.

Der Einsatz sog. Sensor-Arrays, die ein Antwortmuster liefern, ist allgemein dort von Vorteil, wo aufgrund komplexer, mehrkomponentiger Stoffgemische die Gefahr einer Querempfindlichkeit durch andere Substanzen vermutet wird. Obwohl es sich bei der Auswertung von Sensor-Arrays um ein quantitatives Kalibrierungsproblem handelt, wird meist eine qualitative Untersuchung der Probenmatrix angestrebt.

Hierzu gehören die Verfahren der Mustererkennung (Pattern Recognition), bei denen sich besonders die Hauptkomponentenanalyse, Clusteranalyse und Neuronale Netze als geeignet erwiesen haben. Dabei kommt es nicht mehr auf die zuverlässige Identifizierung oder Quantifizierung einer einzelnen Komponente der Probenmischung an, sondern vielmehr wird vom System eine kollektive Aussage gefordert. Dem Stoffgemisch wird gewissermaßen ein „chemisches Porträt“ oder ein „Fingerabdruck“ abverlangt.

In vielen industriellen Produktionen, vor allem in der Parfüm- und in der Lebensmittelindustrie, ist die Überwachung von Gerüchen und Aromen ein wichtiger Bestandteil der Qualitätskontrolle. Dabei werden Spezialisten mit geschulten Nasen bei der Beurteilung von Reifeprozessen oder dem Frischezustand von sog. Elektronischen Nasen unterstützt. Eine Elektronische Nase ist ein Instrument, das mit Hilfe chemischer Sensoren, die mit einem Mustererkennungssystem gekoppelt sind, in der Lage ist, sowohl einfache als auch komplexe Gerüche zu identifizieren. In den letzten Jahren wurden zahlreiche elektronische Nasen entwickelt, die nach unterschiedlichen Messprinzipien arbeiten. Einige der am häufigsten eingesetzten Sensortypen sind Metalloxidsensoren aus SnO_2 (MOS- SnO_2), Schwingquarze (QCM) und leitende Polymere (CP). Daneben gibt es Systeme wie optische Sensoren, kalorische Sensoren oder elektrochemische Sensoren, die weniger Einsatz finden.

Zu den Elektronischen Nasen gehören ebenfalls die Frischesensoren, die sich in der Lebensmittelindustrie allmählich einen Platz erobern. Es wird vermutet, dass in Zukunft sogar abgepackte Lebensmittel im Einzelhandel mit derartigen Sensoren versehen werden können. Die Vielfältigkeit der Einsatzgebiete der Elektronischen Nasen im Bereich der Lebensmittelüberwachung konnten bereits durch zahlreiche Untersuchungen unter Beweis gestellt werden. Tabelle 1.1 enthält einige Beispiele für chemische Sensoren, die bereits in diversen Elektronischen Nasen im Bereich der Lebensmittel- und Getränkeüberwachung angewendet wurden.

Es gibt bereits zahlreiche, kommerziell verfügbare Elektronischen Nasen ebenfalls auf Basis von Quarzmikrowaagen.¹ Zu den bekanntesten Elektronischen Nasen in Deutschland zählt MOSES II der Firma Lennartz Electronic GmbH, die in Zusammenarbeit mit der Universität Tübingen eine Unterscheidung von Kaffeesorten mit einem Sensor-Array aus Quarzmikrowaagen (QMB) und Metalloxidsensoren (MOS) ermöglichte.

Anwendung	Analyse	Sensor
Kabeljau und Schellfisch ^[1]	Frischezustand	MOS (SnO ₂)
Kalmar ^[2]	Frischezustand	MOS (MgO-In ₂ O ₃)
Forelle ^[3]	Frischezustand	MOS
Meeresfrüchte ^[4-6]	Frischezustand	MOS (Al-ZnO)
Rind- und Schweinefleisch ^[7]	Frisezustand, Unterscheidung und	MOS (WO ₃ -ZnO)
	Alterungsprozesse	Gemischt
Weizen ^[8, 9]	Unterscheidung und	MOS, AGS, CP
	Alterungsprozesse	
Käsesorten ^[9-11]	Unterscheidung und	CP, QCM
	Reifeprozesse	
Alkohol ^[12]	Identifizierung	MOS (SnO ₂)
Wein ^[13]	Jahrgangsbestimmung	MOS (SnO ₂ , WO ₃)
Whisky ^[14]	Unterscheidung	QCM
	Unterscheidung und	
Bier ^[15, 16]	Diacetyl-Belastung	CP
	Unterscheidung zwischen	
Cola ^[17]	normal und Diät-Cola	MOS
Suppen ^[18]	Qualitätskontrolle	MOS (Ru-WO ₃)
Kaffee ^[19-21]	Unterscheidung	MOS
Lebensmittelaromen ^[22-31] (Orange, Erdbeere, Apfel, Weintraube, Pfirsich)	Aroma-Identifikation	QCM

Tabelle 1.1: Übersicht der bisher eingesetzten chemischen Sensoren in der Lebensmittelanalyse. (Metal Oxide Semiconductor MOS, Amperometric Gas Sensor AGS, Conducting Polymer CP und Quartz Crystal Microbalance QCM).

¹ Alpha MOS-Multi, Array Tech, EEV Ltd. Chemical Sensor System (UK), HKR-Sensorsysteme GmbH, Lennartz Electronic GmbH, Nordic Sensor, RST Rostock Raumfahrt und Umweltschutz GmbH

Eine weitere Elektronische Nase ist die KAMINA des Forschungszentrums Karlsruhe. Im Bereich der Lebensmittelüberwachung wurde sie darauf trainiert zu erkennen, wann Brötchen in einem Ofen knusprig braun sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wird als Basis für eine Elektronische Nase ein massensensitives Sensor-Array mit Porphyrinen und Metalloporphyrinen als sensoraktive Schichten vorgestellt. Das System wird in der Lage sein, jeweils verschiedene Safran-Proben bzw. Trüffelarten zu unterscheiden. Diese Elektronische Nase kann damit in Zukunft durch Kombination von geeigneten Praxismessungen mit Trainingsperioden der Mustererkennungsprogramme auf eine einfache Art Auskunft über Qualität, Herkunft und Spezies der untersuchten Probe geben. Die Intention hierbei besteht insbesondere in einer Unterstützung der etablierten Methoden der Qualitätskontrolle durch die Einfachheit und Mobilität der Geräte.

2 Sensorik

Der Begriff Sensorik (von *latein. sensus = Gefühl, Empfindung*) beschreibt im Allgemeinen die Gesamtheit der im Rahmen von Sinneswahrnehmung ablaufenden physiologischen Prozesse.^[32]

Die Sensorik bezeichnet ursprünglich die Beurteilung des Geruchs und Geschmacks von Lebensmitteln auf Grund von Sinneseindrücken bei Anwendung exakt wissenschaftlicher Prüfmethoden durch geschulte Prüfpersonen, denn nur dadurch sind die Prüfergebnisse reproduzierbar und lassen sich statistisch auswerten.^[33] Die sensorische oder organoleptische Analyse findet vielseitige Anwendung in der Qualitätskontrolle von Rohstoffen und Fertigprodukten, bei der Haltbarkeitsprüfungen von Lebensmitteln durch Lagerversuche, bei der Qualitätsverbesserung, der Entwicklung neuer Produkte, der Untersuchung von Faktoren, die den Geruch und Geschmack von Lebensmitteln beeinflussen, und schließlich in der Aromaforschung.^[34]

Trotz modernster Analysemethoden wie der Gas- und Flüssigkeitschromatographie, Massen- und Kernresonanzspektroskopie, IR- und UV-Spektroskopie hat die sensorische Analyse nicht an Bedeutung verloren. Diese Methoden analysieren oftmals nur einzelne Komponenten, während ein Gesamteindruck wie z.B. von Aroma-, Geschmack und Tastempfindung nur unseren Sinnen vorbehalten ist. Erst die Kombination der Analysemethoden mit Hilfe der Geruchs- und Geschmackanalyse kann das Optimum an Information erfassen. Dies wird am Beispiel der Untersuchung von zahlreichen Aromen mit Hilfe der Gaschromatographie-Olfaktometrie (GC-O) deutlich, mit deren Hilfe die einzelnen Komponenten nach der Trennung im GC an einem sog. „sniffing port“ sensorisch untersucht werden können.^[35] Dadurch wurden zahlreiche Leitkomponenten aufgespürt, die für das Aroma dieser Proben verantwortlich sind.

2.1 Sensorische Beurteilung von Lebensmitteln

Die sensorische Beurteilung eines Lebensmittels erfolgt anhand der visuellen, olfaktorischen, gustatorischen und haptischen Eindrücke. Die visuellen Eindrücke sind alle mit dem Auge wahrnehmbaren Merkmale (Farbe, Form, Struktur). Die olfaktorischen Eindrücke sind alle beim Riechen durch die Nase wahrnehmbaren Geruchseindrücke, die häufig in Anfangsgeruch (Kopfnote), Hauptgeruch (Mittelnote, Körper) und Nachgeruch (Ausklang) aufgeteilt werden können. Auch die erst beim Kauen freigesetzten flüchtigen Stoffe tragen zum olfaktorischen Eindruck bei. Gustatorische Eindrücke sind alle mit Zunge, Mundhöhle und Rachen wahrnehmbare Merkmale, zu denen neben dem Geschmack und dem Temperatur-Empfinden auch chemästhetische Eindrücke, wie die adstringierende Wirkung der Gerbstoffe, z.B. des Tannins, zu zählen sind. Haptische Eindrücke sind alle Empfindungen der Zunge, der Mundhöhle und des Rachens, an denen keine Geschmacksreize beteiligt sind und die vornehmlich Gefüge und Konsistenz und ebenso Schmerz betreffen. Der Gesamteindruck von haptischen, gustatorischen und olfaktorischen Eindrücken wird als „Flavor“ bezeichnet. Ebenfalls von Interesse sind auditive Eindrücke, die beim Kauen bzw. Beißen entstehen.

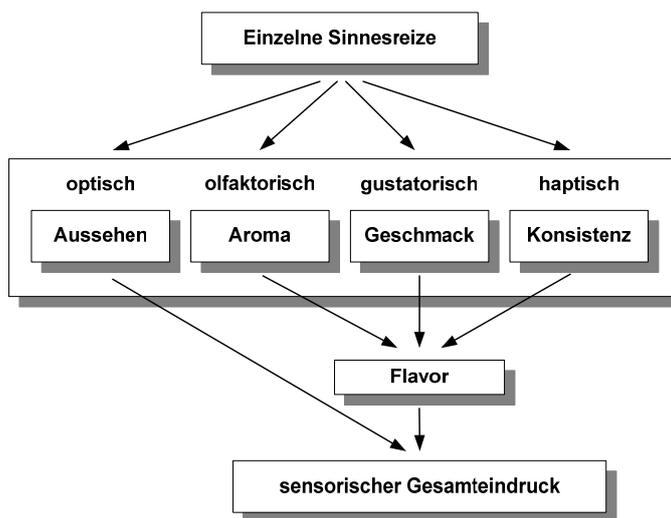


Abbildung 2.1: Wahrnehmung des sensorischen Gesamteindrucks.

Neben den historisch deskriptiven Kategorien gibt es inzwischen standardisierte Methoden für die Charakterisierung des Geruchsempfindens. Eine gebräuchliche Methode für die generelle Beschreibung von Gerüchen ist die Charakterisierung nach der American Society for Testing and Materials (ASTM)^[36]. Jede Probe kann anhand von 146 Adjektiven, die einem Leihen oftmals nicht auf Anhieb verständlich wirken, in einer Fünf-Punkte-Skala bewertet werden. Parfümeure und Aromaforscher bevorzugen eine andere Methode, bei denen die Gerüche anhand von 140 Adjektiven charakterisiert werden^[37]. Andere Beschreibungen finden sich im Flavor and Fragrance Catalogue^[38] oder auf technischen Internetseiten^[39].

Die Aufgabe einer Elektronischen Nase besteht nun darin, durch die Analyse des Aromas einer Probe eine Unterscheidung bzw. eine Klassifizierung zu ermöglichen. Als Aromastoffe werden flüchtige Verbindungen aus Lebensmitteln bezeichnet, die mit dem Geruchssinn erfasst werden können. Die Intensität der Wirkung einzelner Aromastoffe kann durch ihre Reizschwelle ausgedrückt werden. Es wird dabei zwischen dem Wahrnehmungsschwellenwert, d.h. der kleinsten Konzentration eines Stoffes in der Luft, die einen Reiz auslöst, und dem Erkennungsschwellenwert, bei dem der Geruch eindeutig identifiziert werden kann, unterschieden. Diese Werte variieren in sehr weiten Grenzen, was zur Folge hat, dass weder die Zahl der verschiedenen Aromastoffe noch deren absolute Menge, Rückschlüsse auf Qualität und Quantität eines Aromas zulassen. Für die sensorische Relevanz, d.h. das Maß für die Beteiligung einer Einzelsubstanz am Gesamtaroma, wird oft der dimensionslose Quotient aus Konzentration und Geruchsschwellenkonzentration, der als „Aromawert“ bezeichnet wird, herangezogen.^[40]

Folglich können Stoffe, die in Spuren vorkommen, als Schlüsselsubstanz fungieren, während andere Stoffe mit erheblich größeren Konzentrationen nicht oder nur unerheblich zum Gesamtaroma beitragen. Diejenigen Verbindungen, die das charakteristische Aroma eines Lebensmittels prägen, bezeichnet man als „Character Impact Compounds“, wie z.B. Vanillin in der Vanilleschote. Bei einem Aroma aus mehreren Riechstoffen werden die Reize überlagert, was zu einem neuen Signalmuster führt. Dabei können die einzelnen Aromen eine völlig andere Geruchsempfindung bewirken, als das eigentliche Gesamtaroma.

In der heutigen Wissenschaft wird der Begriff Sensorik jedoch zunehmend mit der Analyse und Überwachung bestimmter Parameter mit Hilfe geeigneter Sensoren verbunden. Demzufolge wird diese Terminologie im Rahmen dieser Arbeit beibehalten. Für eine organoleptische Beurteilung einer Probe wird der Begriff sensorische Analyse verwendet.

2.2 Sensoren als technische Sinnesorgane

Der Begriff „Sensor“ begann sich etwa seit den siebziger Jahren mit dem Aufkommen des Mikroprozessors und den dezentralen, mobilen Computern zu etablieren. Daher ist der Begriff mit der technologischen Entwicklung und dem rapiden Fortschritt in der Mikroelektronik eng verbunden und ist ursprünglich ein Teilgebiet der Elektrotechnik^[41].

Um jedoch geeignete chemische Sensoren zu entwickeln, bedarf es der Chemie - und zwar der chemischen Analytik. Dies führte dazu, dass das Gebiet der chemischen Sensorik von der Chemie vereinnahmt wurde, als wäre es ganz selbständig daraus hervorgegangen.

Sensoren sind im weitesten Sinne zunächst technische Sinnesorgane, also Augen, Ohren und Fühler von Maschinen. Unsere fünf Sinne beherrschen außer den Funktionen „sehen“, „hören“ und „fühlen“ auch „riechen“ und „schmecken“. Die letztgenannten Empfindungen sind nichts anderes als das Ergebnis einer chemischen Analyse unserer Umwelt, entweder der von uns umgebenden Atmosphäre oder der von Flüssigkeiten oder Festkörpern, mit denen wir in Berührung kommen. Folgerichtig lassen sich chemische Sensoren als künstliche Nasen oder künstliche Zungen auffassen.

Im lebenden Organismus stehen die Sinneszellen (Rezeptoren) mit der Umwelt in direktem Kontakt. Die Umweltreize werden in elektrische Signale umgeformt und von den anschließenden Nervenzellen (Neuronen) in Form von Potentialimpulsen weitergeleitet. Die Nervenzellen haben außer der Weiterleitung noch weitere Funktionen zu erfüllen. Insbesondere findet eine Signalverstärkung und eine Vorverarbeitung statt. Im Gehirn werden die Informationen anschließend verarbeitet und umgesetzt.

Abbildung 2.2 zeigt die Analogien zwischen der Signalverarbeitung in lebenden Organismen und in modernen chemischen Sensoren. Im direkten Kontakt mit der Umwelt steht eine sensitive Schicht (Rezeptor), die auf Umweltparameter anspricht. Im anschließenden physikalischen Wandler (Transduktor) werden die physikalisch-chemischen Eigenschaften wie z.B. die Masse, die Temperatur, die optischen Eigenschaften oder die elektrischen Parameter (Dielektrizitätskoeffizient, Widerstand, Kapazität) in elektrische Signale (Frequenz, Strom, Spannung) umgewandelt. Am Ende der Kette steht ein Computer, der ähnliche Funktionen erfüllt wie das Zentralnervensystem im Organismus und die elektrischen Signale entsprechend umwandelt, verarbeitet und ausgibt.

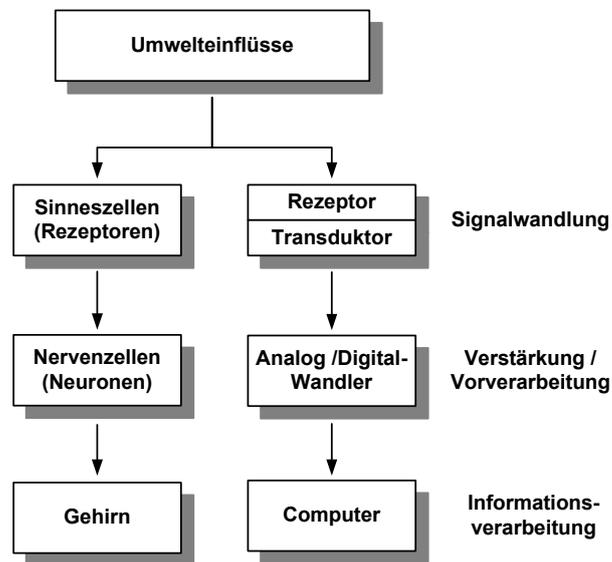


Abbildung 2.2: Vergleich der Signalverarbeitung zwischen dem lebendem Organismus und einem chemischen Sensor.

2.3 Definition und Merkmale von chemischen Sensoren

Bei der Definition eines chemischen Sensors wird vom allgemeinen Begriff des Sensors ausgegangen:

Ein Sensor ist eine Messeinheit, welche eine Messgröße in ein elektrisches Signal umwandelt.

Chemische Sensoren werden dann eingesetzt, wenn es sich bei der zu untersuchenden Messgröße um einen chemischen Zustand, etwa um Konzentration bestimmter chemischer Stoffe in Gasen oder Lösungen, Partialdrucke in Gasgemischen, sicherheitstechnisch relevante Grenzwerte (MAK-Werte), Explosionsgrenzen für brennbare Gase oder bestimmte Größen wie pH-Wert oder elektrolytische Leitfähigkeit handelt.

Im Gegensatz zum allgemeinen Begriff des Sensors gibt es für den chemischen Sensor eine offizielle Definition nach IUPAC^{2,[42]}

Ein chemischer Sensor ist eine Anordnung, die chemische Informationen (diese reichen von der Konzentration eines einzelnen Probenbestandteils bis zur Gesamtanalyse der Zusammensetzung) in ein analytisch nutzbares Signal umwandelt. Die erwähnten chemischen Informationen können von einer chemischen Reaktion der Probe oder von einer physikalischen Eigenschaft des untersuchten Systems herrühren. Chemische Sensoren enthalten gewöhnlich zwei Basiskomponenten in Serienordnung: Ein chemisches (molekulares) Erkennungssystem (Rezeptor) und einen physikochemischen Transduktor.

Neben dieser Definition gibt es zahlreiche Beschreibungen, die ebenfalls gebräuchlich sind. Insgesamt aber herrscht bei allen Definitionen weitgehend Einigkeit, dass für chemische Sensoren die folgenden Merkmale zutreffen. Sie sollten:

² International Union of Pure and Applied Chemistry

- chemische Informationen in elektrische Signale umwandeln,
- schnell ansprechen,
- lange Zeit einsatzbereit und gut regenerierbar sein,
- klein bzw. miniaturisierbar sein,
- preisgünstig sein,
- spezifisch sein, d.h. auf einen einzigen oder selektiv auf eine Gruppe von Analyten reagieren,
- nach Bedarf eine hohe Nachweisstärke bzw. hohe Empfindlichkeit besitzen, um auch kleine Konzentrationen nachweisen zu können.

Bei der Einteilung bzw. der Klassifizierung des Gebiets der chemischen Sensoren kann man von verschiedenen Ansätzen ausgehen. Am weitesten verbreitet ist eine Unterteilung nach dem Prinzip der Transduktion. Es ergeben sich nach IUPAC die folgenden Gruppen:^[42]

- **Optische Sensoren** folgen optischen Phänomenen wie Lichtabsorption, Reflexion, Lumineszenz, Fluoreszenz, Brechungsindex, optothermischer Effekt und Lichtstreuung.
- **Elektrochemische Sensoren**, darunter voltammetrische, potentiometrische, chemisch-sensitive Feldeffekttransistoren und potentiometrische Hochtemperatur-Gassensoren.
- **Elektrische Sensoren** mit oxidischen oder organischen Halbleitern sowie elektrolytische Leitfähigkeitssensoren.
- **Massenempfindliche Sensoren** mit piezoelektrischer Anordnungen (QCM) und solche auf der Basis von akustischen Oberflächenwellen (SAW).
- **Magnetische Sensoren**, im Wesentlichen Sauerstoffsensoren, die auf die paramagnetische Eigenschaft dieses Gases ansprechen.
- **Thermometrische Sensoren**, die auf der Messung einer spezifischen Reaktionswärme oder Wärmeabsorption beruhen
- **Strahlung-Sensoren**, die die Absorption oder Emission bestimmter Strahlungsarten nutzen.

Andere Klassifizierungsschemata orientieren sich an den Anwendungsgebieten der Sensoren oder der benutzten Rezeptorschicht. Dazu gehören die wichtige Gruppe der Biosensoren, die als selbständige Gruppe behandelt werden. Nach der IUPAC heißt es ergänzend zur allgemeinen Definition des chemischen Sensors:^[43]

Biosensoren sind chemische Sensoren, in denen das Erkennungssystem einen biochemischen Mechanismus nutzt.

Bei chemischen Sensoren tritt der Rezeptor in den meisten Fällen mit den Probemolekülen in Wechselwirkung und ändert infolgedessen seine physikalischen Eigenschaften so, dass im Transduktor ein elektrisches Signal gewonnen werden kann. In manchen Fällen sind Rezeptor und Transduktor nicht unterscheidbar wie z.B. bei oxidkeramischen Halbleitersensoren, die in Kontakt mit bestimmten Gasen ihre elektrische Leitfähigkeit ändern^[44]. Im Gegensatz dazu sind die beiden Einheiten bei den massensensitiven Sensoren unterscheidbar. Bei ihnen fungiert ein piezoelektrischer Schwingquarz als Transduktor, auf dem eine sensitive Schicht als Rezeptor die Gasmoleküle absorbieren kann. Die resultierende Massenänderung wird in Form einer veränderten Wechsellspannungsfrequenz in einem elektrischen Schwingkreis messbar.

2.4 Charakterisierung chemischer Sensoren

Für die Charakterisierung von chemischen Sensoren stehen die üblichen Bewertungskriterien chemischer Analysen zur Verfügung. Die folgenden Bezeichnungen enthalten sowohl statische, wie z.B. Selektivität und Empfindlichkeit, als auch dynamische Kenngrößen, wie z.B. die Ansprechzeit, mit denen die Leistungsfähigkeit von Sensoren beschrieben werden kann^[41]:

- **Empfindlichkeit** oder **Sensitivität**: Die Änderung des Messwertes pro Konzentrationseinheit in mol/l des Analyten.
- **Nachweisgrenze** (*Limit of Detection, LOD*): Die niedrigste mit dem betreffenden Sensor noch erkennbare Konzentration, ungeachtet dessen, ob eine Quantifizierung möglich ist.
- **Arbeitsbereich** (*Dynamic Range*): Der Konzentrationsbereich zwischen Nachweisgrenze und oberer Grenzkonzentration, die noch signifikante Werte liefert.
- **Selektivität**: Ein Begriff dafür, wie selektiv ein Sensor auf eine Gruppe von Analyten oder spezifisch auf einzelne Analyten anspricht.
- **Linearität**: Die prozentuale Abweichung der experimentell ermittelten Kalibrierkurve von einer Gerade in einem bestimmten Konzentrationsbereich.
- **Auflösung**: Die kleinste Konzentrationsdifferenz, die bei kontinuierlicher Änderung der Konzentration unterschieden werden kann.
- **Ansprechzeit**: Die Zeit, die vergeht, bis nach einem Konzentrationssprung ein bestimmter Prozentsatz des Endwertes erreicht wird. Die Zeit zum Erreichen von 63% des Signals heißt auch Zeitkonstante.
- **Stabilität**: Die Fähigkeit des Sensors, seine Leistungsfähigkeit für ein bestimmtes Zeitintervall beizubehalten. Als Maß für die Stabilität gilt der Driftwert, d.h. die zeitliche Wanderung der Signale für den Nullwert der Konzentration.
- **Lebensdauer**: Die Zeit, über die der Sensor funktionstüchtig bleibt. Dabei wird die Aufbewahrungszeit (*Shelf Life*) von der maximalen Operationszeit (*Operating Life*) unterschieden.

2.5 Massensensitive Sensoren

Massensensitive Sensoren sind im Prinzip Waagen, die auf kleinste Massenänderungen mit einem messbaren elektrischen Signal reagieren. Das Prinzip dieser Mikrowaagen beruht auf dem *Piezoelektrischen Effekt*. Die Schwingung eines Piezokristalls ist mit der Ausbreitung von Schallwellen verbunden. Diese können sich entweder durch das Innere des Kristalls oder an seiner Oberfläche bewegen. Beide Ausbreitungsarten lassen sich zum Aufbau massensensitiver chemischer Sensoren nutzen. Wellenausbreitungen im Inneren des Kristalls bilden die Grundlage der sog. BAW-Bauelemente (Bulk Acoustic Waves). Oberflächenausbreitung wird in den SAW-Bauelementen (Surface Acoustic Waves) genutzt.

2.5.1 BAW-Sensoren

BAW-Sensoren sind klassische Schwingquarze mit aufgedampften metallischen Elektroden zur Kontaktierung und einer selektiv wirkender Akzeptorschicht für den Analyten. Der Analyt wird an diese Schichten gebunden und verursacht dadurch eine Massenänderung, die als Frequenzänderung gemessen wird. In der Abbildung 2.3 wird der Aufbau eines Schwingquarzes verdeutlicht.

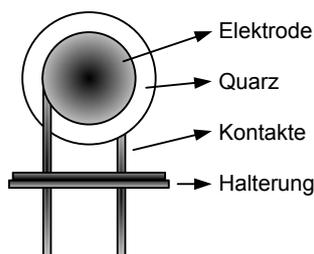


Abbildung 2.3: Aufbau eines Schwingquarzes.

Eine der ersten Anwendungen von BAW-Sensoren als Gassensor war die Bestimmung von Wasserstoff in Gasgemischen. Hierzu wurde die Kristallfläche mit Palladium metallisiert, welche ein hohes Adsorptionsvermögen für Wasserstoff besitzt.

Die Wasserstoffaufnahme ist reversibel, d.h. bei nachlassender Konzentration des Wasserstoffs verringert sich ebenfalls die Masse der Palladiumschicht.

Der Sensor kann ebenfalls für die Detektion von Quecksilberdämpfen eingesetzt werden. Quecksilber reagiert jedoch sehr leicht mit der Goldelektrode des Schwingquarzes. Nach der Aufnahme des Quecksilbers muss der Sensor wieder regeneriert werden, indem man die Goldschicht auf 150°C erhitzt.

Mit Ausnahme der beschriebenen Sensoren erfordern alle anderen massensensitiven Sensoren eine zusätzliche sensitive Akzeptorschicht. Die Kunst besteht nunmehr darin, eine Schicht zu finden, die möglichst selektiv mit der zu bestimmenden Komponente in Wechselwirkung tritt, jedoch so wenig wie möglich durch andere Parameter beeinflusst wird. Dabei soll die Reversibilität des Sensors in Vordergrund stehen, denn einige Analyten reagieren mit der sensitiven Schicht irreversibel, wie z.B. Ammoniak mit Ascorbinsäure und Silbernitrat oder Schwefelwasserstoff mit Silberacetat. Die Selektivitäten der chemischen Sensoren sind dabei sehr unterschiedlich.

Die Anwendung von BAW-Sensoren in Lösungen ist aufwendiger als in Gasen, da die umgebende Flüssigkeit auf den schwingenden Kristall stark dämpfend wirkt. Die piezoelektrischen Sensoren in der Flüssigphase gehorchen dabei nicht der Sauerbrey-Gleichung (Kapitell 2.6). Zwar sind die technischen Probleme weitgehend gelöst, analytische Anwendungen sind jedoch bis heute selten geblieben. Am besten untersucht sind die Anwendungen in Immunoassays, bei denen ein Antikörper auf dem Kristall immobilisiert wurde. Die spezifische, meist irreversible Wechselwirkung mit dem in der Lösung enthaltenen Antigen führt zu Massenänderung. In der Elektrochemie ist der BAW-Sensor als *Elektrochemische Quarz-Mikrowaage* (EQCM) zu einem wichtigen Forschungsinstrument geworden. Metallabscheidungen, Korrosionsvorgänge und die Bildung von Passivschichten lassen sich damit auf elegante Weise untersuchen.

2.6 Sensor-Physik

Das Prinzip von massensensitiven Sensoren beruht auf dem *piezoelektrischen Effekt*. Dabei entsteht bei der Verformung von Kristallen in bestimmten Richtungen eine Spannung, die der Größe der einwirkenden Kraft proportional ist. Die Piezoelektrizität tritt nur in Einkristallen ohne Inversionszentrum auf wie z.B. beim α -Quarz. Dadurch haben die Ladungen der einander gegenüberliegenden Kristallflächen entgegengesetzte Vorzeichen, wobei eine Verschiebung der positiven und negativen Ionen relativ zueinander entlang der *polaren Achse* stattfindet. In der Kristallographie zeichnet sich eine *polare Achse* dadurch aus, dass die Elementarzelle bei einer Drehung um diese Achse nicht deckungsgleich wird. Man spricht auch von einer *unsymmetrischen Faltungsebene*. Beim Quarz ist die X-Achse die polare Achse. In Abbildung 2.4 ist die vereinfachte Strukturzelle von Quarz dargestellt.

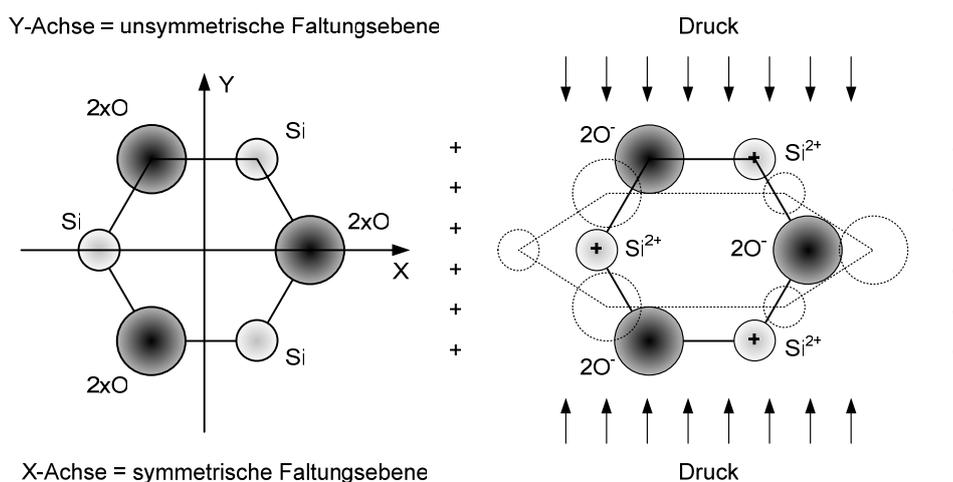


Abbildung 2.4: Vereinfachte Strukturzelle von Quarz inkl. der symmetrischen und unsymmetrischen Faltungsebene (links) sowie die aufgrund des Drucks entstehende Verformung (rechts).

Die kleinen Kreise stellen die positiv geladenen Silizium-Ionen, die größeren Kreise die negativ geladenen Sauerstoff-Ionen dar. Aufgrund der Verformung des Kristalls in Richtung der X-Achse kommt es zu einer Verschiebung der positiv und negativ geladenen Ionen.

Es entsteht eine elektrische Polarisierung in Richtung der X-Achse, die zu einer elektrischen Aufladung auf den X-Flächen des Kristalls führt. Aufgrund einer *symmetrischen Faltungsebene* erfolgt keine Polarisierung in Richtung der Y-Achse.

Bei Druck- oder Zugbeanspruchung in Richtung der Y-Achse entsteht jedoch ebenfalls in X-Richtung eine Polarisierung. Dieser Vorgang wird der *transversale Piezoeffekt*, die Y-Achse entsprechend die *mechanische Achse* genannt. Der Piezoelektrische Effekt ist reversibel, d.h. unter Einwirkung eines elektrischen Feldes in Richtung der X-Achse deformiert sich der Kristall in Richtung der Y-Achse. Dieser Effekt wird auch als *indirekter Piezoeffekt* bezeichnet. Damit ist die Piezoelektrizität ein Ausdruck für die Polarisierung des Kristalls unter Druckeinwirkung.

Bevorzugtes Material für Piezokristalle sind Einkristalle aus Quarz, die entlang bestimmter Vorzugsflächen (*AT-Schnitt*) geschnitten werden. Durch das Aufbringen einer Metallschicht entsteht ein Schwingquarz, der durch eine elektronische Rückkopplungsschaltungen wie z.B. durch Kopplung mit einem *Negator-Schaltkreis*, zu Schwingungen angeregt werden kann^[45]. Abbildung 2.5 zeigt das Ersatzschaltbild, das die elektrische Wirkung des Schwingquarzes in der Schaltung darstellt.

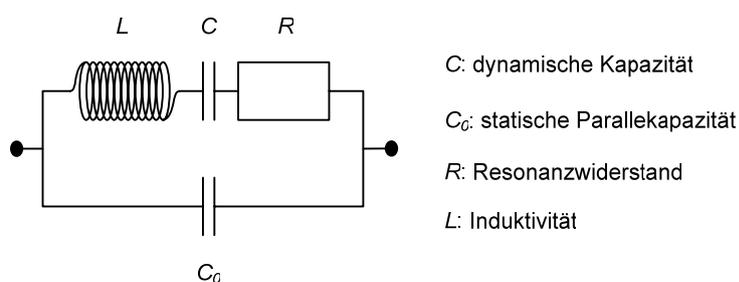


Abbildung 2.5: Ersatzschaltbild eines Schwingkreises.

Nach der Theorie einer elektrisch-mechanischen Analogie entspricht die dynamische Kapazität C der elastischen Nachgiebigkeit und die Induktivität L der schwingenden Masse des Schwingquarzes. Der Resonanzwiderstand R wird durch die dynamischen Schwingverluste gebildet. Diese dynamischen Größen bilden einen elektrischen Serienkreis, dem die statische Kapazität C_0 parallel geschaltet ist.^[46]

Der entstehende *Schwingkreis* liefert dann eine Wechselspannung mit äußerst stabiler Frequenz, der sog. *Resonanzfrequenz* f_0 . Auf diese Weise funktioniert die Zeitanzeige in allen modernen Quarzuhren.

Auf einer solchen Anordnung basiert die so genannte Quarzmikrowaage, die als Grundlage für massensensitive chemische Sensoren dient. Ein chemischer Sensor entsteht dann durch das Aufbringen einer Akzeptorschicht auf einer Quarzmikrowaage, die selektiv mit bestimmten Substanzen wechselwirken kann.

Die Grundlage der quantitativen Auswertung einer Quarzmikrowaage ist dabei die Sauerbrey-Gleichung^[47]. In dieser Gleichung bedeuten Δm die Massenänderung der sensitiven Schicht, f_0 die Resonanzfrequenz, ρ die Dichte und A die Querschnittsfläche des Kristalls. k_f ist die sog. Frequenzkonstante, die unter den oben genannten Bedingungen 168 kHz/cm beträgt.

$$\Delta f = \frac{1}{\rho_m \cdot k_f} f_0^2 \frac{\Delta m}{A} \quad (2.1)$$

Setzt man Δf in Hertz, f_0 in Megahertz, Δm in Gramm und A in cm^2 ein, dann erhält man folgende Gleichung:

$$\Delta f = -2,3 \cdot 10^6 f_0^2 \frac{\Delta m}{A} \quad (2.2)$$

Daraus geht hervor, dass bei einer Massenänderung von 10 ng/cm^2 auf einem mit einer Grundfrequenz von $f_0 = 10 \text{ MHz}$ schwingenden Kristall eine Frequenzänderung von 2,3 Hz resultiert.

2.7 Chemische Wechselwirkungen

Die Grundlage einer sensoraktiven Schicht besteht in der chemischen Wechselwirkung mit dem Analyten. Diese Wechselwirkungen kommen meist durch schwache Kräfte wie die van-der-Waals-Kräfte oder Wasserstoffbrückenbindungen zustande und werden als *Physisorption* bezeichnet. Bedingt durch die Adsorption findet dabei eine Anreicherung des Analyten an der Festkörperoberfläche statt. Entsprechend der großen Vielfalt einer Festkörperoberfläche sind die Adsorptionserscheinungen an Festkörpern vielseitig.

Diese können durch die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Festkörperoberfläche variiert werden. Da die Adsorption hauptsächlich durch attraktive Kräfte bewirkt wird, verläuft der Vorgang exotherm. Neben einer physikalischen Anlagerung ist die Ausbildung chemischer Bindungen zwischen Molekülen ebenfalls möglich. Dieser Vorgang wird als *Chemisorption* bezeichnet.

Eine Unterscheidung zwischen physikalischer und chemischer Adsorption ist zweckmäßig, aber nicht immer eindeutig möglich. Bei der chemischen Adsorption treten Adsorptionsenergien in der Größenordnung der chemischen Bindungen bis zu 400 kJ mol^{-1} auf. Ein Beispiel dafür ist die Adsorption von Wasserstoff an Platin- oder Palladium-Oberflächen. Die Adsorptionsenergien der Physisorption sind in der Regel nicht größer als 40 kJ mol^{-1} .

	Physisorption (van-der-Waal-Adsorption)	Chemisorption (spezifische Adsorption)
Adsorptionenthalpie	$8\text{-}25 \text{ kJ mol}^{-1}$	$> 40 \text{ kJ mol}^{-1}$
Bindung	Schwach, unselektiv	Stark, selektiv
Gleichgewichtseinstellung	Schnell	Langsam

Tabelle 2.1: Arten von Adsorptionsgleichgewichten.

Die energetischen Effekte der Adsorption werden durch die molaren Größen der Standardadsorptionsenthalpie $\Delta_A H^\circ$ und der Standardadsorptionsentropie $\Delta_A S^\circ$ quantitativ beschrieben. Die Adsorptionsenthalpie kann kalorimetrisch aus den Temperaturableitungen des Gleichgewichtspartialdampfdruckes p_i bei konstanter Adsorptionskonzentration k_i für die Adsorption aus der Gasphase bestimmt werden^[48].

$$\left(\frac{\partial \ln \left(\frac{p_i}{[p_i]} \right)}{\partial T} \right)_{k_i} = -\frac{\Delta_A H^\circ}{RT^2} \quad (2.1)$$

Bei einer Adsorption aus der Gasphase hängt k_i von der Temperatur und dem Partialdruck p_i der adsorbierenden Komponente ab. Am Häufigsten werden die experimentellen Untersuchungen unter isothermen Bedingungen durchgeführt. Die Gleichgewichtskurve bei $T = \text{const.}$ wird als Adsorptionsisotherme bezeichnet. Die Adsorptionsisothermen können für verschiedene Systeme sehr unterschiedliche Gestalt annehmen. Für alle gemeinsam gilt, dass bei niedrigen Temperaturen die Zahl der adsorbierenden Teilchen pro Flächeneinheit und damit auch die Oberflächenkonzentration k_i größer als bei höheren Temperaturen ist.

2.8 Adsorptionsmodelle

Zur Beschreibung der Adsorptionsisothermen gibt es verschiedene Modellvorstellungen, nach denen auf einer meist als eben betrachteten Oberfläche eine oder mehrere Teilchen adsorbiert werden. Gibt es nur eine Teilchenschicht, so spricht man von monomolekularer Bedeckung, bei mehreren Schichten von multimolekularer Bedeckung. Die Schichten können vollständig oder unvollständig aufgefüllt sein. Weiterhin unterscheiden sich die Modelle durch die Wechselwirkungen, die zwischen den in einer Schicht befindlichen Teilchen existieren. Im Folgenden werden einige Adsorptionsmodelle für die Adsorption aus der Gasphase vorgestellt. Die Gasphase wird als ideale Mischung betrachtet. Es wird dabei keinen Unterschied zwischen der Adsorption eines reinen Gases unter dem Druck p und der Adsorption desselben Gases i mit dem Partialdruck p_i aus der Mischung mit einem nichtadsorbierbaren Gas gemacht. Bei genaueren Untersuchungen müssen sowohl die Konkurrenzadsorption als auch die Nichtlinearität berücksichtigt werden^[48].

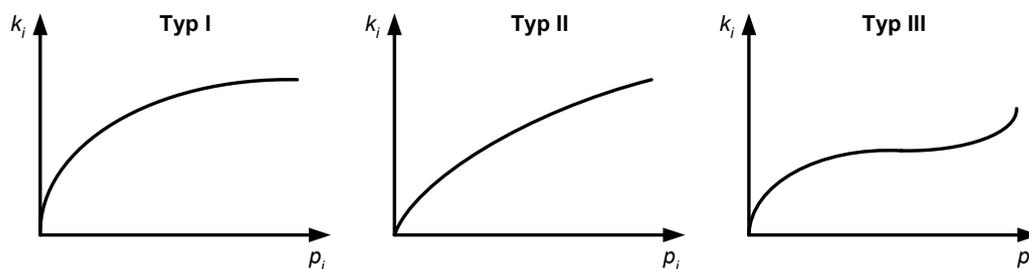


Abbildung 2.6: Typen von Adsorptionsisothermen. k_i Oberflächenkonzentration; p_i Partialdruck.

Adsorptionsisotherme nach Langmuir (Typ I)

Diese Beschreibung geht von einer maximal einlagigen Belegung einer Oberfläche aus. Alle Adsorptionsplätze werden als äquivalent eingestuft, wodurch keine Abhängigkeit der Adsorptionswahrscheinlichkeit vom Belegungsstatus des Nachbarplatzes vorliegt. Der Bedeckungsgrad wird lediglich von der Temperatur und vom Partialdruck der Gaskomponente beeinflusst.

Das Adsorptionsgleichgewicht stellt sich dann ein, wenn die Geschwindigkeit der Adsorption neuer Moleküle gleich der Geschwindigkeit der Desorption bereits adsorbierter Moleküle ist. Da der Bedeckungsgrad der Monolage nicht überschritten werden kann, strebt jede Langmuir-Isotherme gegen einen Grenzwert.

Adsorptionsisotherme nach Freundlich (Typ II)

Hierbei ist die Adsorption im Gegensatz zu Langmuir nicht unabhängig von der Belegung, sondern nimmt mit der Belegung logarithmisch ab. Besonders bei der Physisorption macht sich eine mehrmolekulare Adsorption bemerkbar, in dem häufig eine Adsorption in mehreren Schichten übereinander stattfindet. In der Form der Adsorptionsisotherme macht sich das dadurch bemerkbar, dass die adsorbierte Menge gegen den Druck zunächst anscheinend ein Grenzwert erreicht, um anschließend weiter zu steigen. Die Kurve weist demnach einen Wendepunkt auf^[49].

Adsorptionsisotherme nach Brunauer, Emmett und Teller (Typ III)

Hierbei werden Wechselwirkungen zwischen den adsorbierten Gasteilchen mit einbezogen, womit weitere Anlagerungen auf der Monoschicht erlaubt sind. Dadurch wird im Gegensatz zur Langmuir-Isotherme keine Sättigung erreicht, sondern die adsorbierte Teilchenmenge steigt weiter an. Bei kleinen Dampfdrücken des Adsorbens nähern sich BET- und Langmuir-Isotherme an. Wird der Gastpartialdruck bis an den Kondensationsbereich stark erhöht, ergeben sich jedoch beträchtliche Abweichungen. Bei sehr hohem Partialdruck erfolgt Kondensation, die man als Grenzfall betrachten kann. Wie auch im Fall der Langmuir- setzt auch die BET-Isotherme eine Energieäquivalenz der Adsorptionsplätze voraus^[50].

Adsorptionsisotherme nach Temkin

Dieses Modell setzt keine Energieäquivalenz der Adsorptionsplätze voraus. Die Adsorptionsenergie bzw. -enthalpie hängt vom Bedeckungsgrad und somit vom Druck ab. Hierbei ist diese Adsorptionenthalpie linear vom Druck abhängig.

2.9 Volumenadsorption des Analyten

Die Isothermen beschreiben sehr genau die Adsorptions-, Desorptions- und Kondensationsvorgänge auf der Oberfläche des Sensors. Die Langmuir-Betrachtung z.B. gilt nur für homogene Festkörperoberfläche im Falle einer chemischen Adsorption. Wird der Schwingquarz mit einer Schicht, die ein makroskopisches Volumen hat, beschichtet, darf die Diffusion der Gastmoleküle in das Innere des Festkörpers nicht vernachlässigt werden. Ein Kennzeichen für Volumenadsorption ergibt sich oft aus dem zeitlichen Verlauf der Wirt-Gast-Reaktion. Bei Exposition der Sensorschicht mit einer definierten Konzentration des Analyten lagern sich die Gasmoleküle zunächst an die Oberfläche des Wirtes an. Daraufhin stellt sich schnell ein Gleichgewicht zwischen Adsorption und Desorption ein.

Durch Diffusion dringen Analytmoleküle in die tiefere Schicht ein und werden so dem Gleichgewicht an der Oberfläche entzogen. Dabei werden auf der Oberfläche wieder Plätze frei, die durch neue Gastmoleküle an der Oberfläche belegt werden können. Die adsorbierten Teilchen diffundieren zunächst in die zweitoberste Schicht der Wirtsubstanz und im weiteren Verlauf von dort aus immer tiefer ins Volumen. Die Geschwindigkeit, mit der Gastmoleküle durch die Oberfläche wandern, sinkt und erreicht einen Grenzwert, wenn das gesamte Wirtvolumen besetzt ist. Bei Beendigung der Exposition desorbieren die Teilchen zunächst nur von den oberflächennahen Plätzen der sensoraktiven Schicht. Die Teilchen aus dem Volumen diffundieren langsam zurück an die Oberfläche und gehen von dort aus in die Gasphase über. Folglich sinkt die Geschwindigkeit, mit der Gastmoleküle von innen an die Oberfläche diffundieren, exponentiell solange ab, bis sich keine Moleküle mehr im Innern befinden.

3 Safran

Safran ist eines der ältesten und teuersten Gewürze der Welt und wurde im Mittelalter ebenfalls als Medizin verwendet.³ Aufgrund seines komplexen „Flavors“, ausgedrückt durch die Kombination seines Geschmacks und Aromas und durch seine besondere Farbe, wird Safran nur in gehobenen Lebensmitteln und in manchen Spirituosen verwendet.^[51] Der Name, so wie die meisten anderen Namen dieses Gewürzes in europäischen Sprachen, leitet sich vom arabischen za'fran „gelb sein“ ab.

3.1 Botanische Systematik, Herkunft und Produktion von Safran

Die Safranpflanze ist ein Zwiebelgewächs aus der Familie der Schwertlilien (*Crocus Sativus*, Iridaceae). Sie ist eine 8 bis 25 cm lange Knollenpflanze, deren Zwiebel an der Basis bewurzelt und von netzfasrigen Scheidresten der vorjährigen Laubblätter umgeben ist. Sie besitzt sechs lilaviolette Blütenblätter, die von sechs bis neun Laubblättern überragt werden.^[52] Das Gewürz Safran wird aus dem mittleren Teil der Blüte, dem weiblichen Organ (Narbe) gewonnen. Die von Hand gepflückten Fäden werden getrocknet und kommen entweder unverarbeitet oder zu Pulver gemahlen in den Handel. Für ein Kilogramm getrockneten Safrans werden etwa 150.000 Blüten benötigt. Weniger teure Qualitäten (*natureller Safran*) enthalten zusätzlich die gelben Staubgefäße (männliches Organ), die allerdings keinen eigenen Geschmack aufweisen. Der Safran besitzt einen einzigartig intensiven und aromatisch-würzigem Geruch und weist eine leichte Bitternote im Geschmack auf. Alter Safran bekommt einen moderig-erdigen Beigeschmack. Safran ist als Gewürz auch deshalb einmalig, da seine wichtigsten Inhaltsstoffe wasserlöslich sind; weicht man Safran in warmem Wasser ein, so erhält man eine wohlriechende, leuchtend orangerote Lösung.

³ Es gibt Hinweise, dass Safran bereits vor 5000 Jahren von den Sumerern in Mesopotamien verwendet wurde. Im Mittelalter gaben Hebammen Safran an Gebärende. Safran wurde gegen Haut- und Augenkrankheiten verabreicht. Gegen die Pest und zur Empfängnisverhütung sollte Safran ebenfalls „Gutes tun“. In orientalischen Ländern gilt Safran bis heute als Aphrodisiakum. In Überdosis genossen, hat Safran die Wirkung eines Rauschmittels. Im ersten Stadium kommt es zu einem Lachreiz, dann folgt Herzklopfen bis zu Lähmungen. Die tödliche Dosis des Safran-Rausches liegt bei 10 Gramm.

Der Safrancrocus ist ein Form des im östlichen Griechenland verbreiteten *Crocus cartwrightianus* und trat wahrscheinlich zuerst auf Kreta auf; die häufig geäußerte Vermutung einer west- oder zentralasiatischen Herkunft ist botanisch widerlegt worden.^[53]

Safranpflanzen sind triploid und daher trotz ihrer wunderschönen Blüten notwendigerweise steril; sie können sich nicht über Samen, sondern nur durch Knollen verbreiten. Großräumigere Verbreitung ist von daher nur durch menschliche Hilfe möglich.

Die Weltproduktion von Safran beträgt ca. 210 Tonnen im Jahr. Safran wird heute in einem großen Gebiet, von den Pyrenäen zu den südlichen Alpen über die gesamte Mittelmeerregion bis nach Asien angebaut. Der Iran ist mit einer Anbaufläche von 41325 Hektar, einer Produktion von 150-180 Tonnen und einem Marktanteil von über 90 % der größte Safran-Produzent der Welt. Das wichtigste Anbauggebiet ist die Provinz Khorasan um die Stadt Mashad. In Europa wird Safran fast nur im Mittelmeerraum angebaut. Die heutigen Anbauggebiete in Europa sind vor allem in Spanien (Albacete, Alicante, La Mancha, Murcia) Südfrankreich (Gâtinais) und Griechenland (Kreta).

Land	Produktionsmenge	Marktanteil
Iran	170 Tonnen	90,4%
Griechenland	8 Tonnen	4,3%
Spanien	4 Tonnen	2,1%
Marokko	2 Tonnen	1,1%
Andere Länder	4 Tonnen	2,1%

Tabelle 3.1: Weltproduktion von Safran im Erntejahr 1999-2000.

In wesentlich kleinerem Rahmen wird Safran auch in Italien (Sardinien und Abruzzen) und in der Schweiz (Mund in Kanton Wallis) angebaut. Seit dem 15. Jahrhundert wurde Safran auch immer wieder in Deutschland, Österreich und sogar England⁴ in Kultur genommen. Obwohl man Safran in Europa gelegentlich wild, oder besser gesagt, verwildert, antrifft, ist es niemandem ohne botanische Kenntnisse anzuraten, verwilderten Safran zu sammeln: Die Chancen stehen nämlich hoch, dass es sich dabei um die viel häufigere Herbstzeitlose (*Colchicum autumnale*) handelt. Diese Pflanze ist aus gutem Grund nach dem antiken Land der Giftmischerei, Kolchis, benannt und ist eine der gefährlichsten Giftpflanzen in der europäischen Flora.

⁴ Die Kreuzzüge brachten die Pflanze nach England, wo man unter Eduard III. (1312-1377) deren Kultivierung versuchte.

3.2 Flüchtige Komponenten des Safran-Aromas

Die Geschichte der Aromauntersuchung von Safran begann 1934, als Kuhn und Winterstein Safranal (1) (2,6,6-trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-carboxaldehyd) als Dehydrationsprodukt von Picrocrocin (7) erhielten. Lange Zeit galt Safranal als die einzige flüchtige Verbindung des Safran-Aromas. Neuere sensorische Studien fanden jedoch in den flüchtigen Fraktionen zusätzliche Spuren von Bestandteilen, die für das Aroma des Safrans ebenfalls eine wichtige Rolle spielen.^[54, 55] Mit Hilfe von GC in Kombination mit IR, UV und MS und ebenso NMR konnten Zarghami und Heinz 1971 sieben flüchtige Verbindungen in einem Diethylether-Extrakt von Safran finden.^[56] Im gleichen Jahr konnten aus der Extraktion fünf weitere Komponenten isoliert werden.^[57]

1991 untersuchten Rödel und Petzika mit verbesserten Isolationstechniken Safran-Proben aus Azerbaijan. Sie benutzten dabei die Simultaneous Distillation-Extraction (SDE) und konnten im Prinzip die bisherigen Untersuchungen auf diesem Gebiet bestätigen. Sie fanden ebenfalls neue Komponenten, die bis dahin weder isoliert noch synthetisiert worden waren. Insgesamt konnten 19 flüchtige Verbindungen durch die Massenspektroskopie identifiziert werden.^[55] Das Resümee dieser Untersuchungen offenbarte die quantitative Prävalenz von Safranal und Isophoron als die beiden charakteristischen Schlüsselkomponenten des Safran-Aromas. Bei den anderen identifizierten Komponenten handelt es sich um diverse Strukturisomere des Safranals bzw. Isophorons, die jeweils in Spuren vorkommen. Eine sensorische Analyse zur Charakterisierung dieser flüchtigen Komponenten ist aufgrund der geringen Konzentrationen bisher nicht durchgeführt worden. Daher bleibt der Einfluss dieser Komponenten auf das Gesamtaroma des Safrans weiterhin ungeklärt.

Tarantilis und Polissiou untersuchten den Einfluss von verschiedenen Isolationstechniken in Bezug auf die Zusammensetzung der flüchtigen Fraktion von Safran. Durch den Vergleich von Steam Distillation (SD), Microsimultaneous Steam Distillation-Solvent Extraction (MSDE) oder Vacuum Headspace (VHS) konnten klare Unterschiede in der Zusammensetzung der erhaltenen Fraktionen festgestellt werden. Zum Beispiel wurden unter den rabiateren SD-Bedingungen mehr hochsiedende Komponenten detektiert als bei der moderateren VHS-Methode.^[58]

Freiburghaus et al. analysierten mit Hilfe der Dynamic Head-Space-Analysis diverse Safran-Proben unterschiedlicher geographischer Herkunft^[59]. Die wichtigste Kenntnis dieser Arbeit war die quantitative Analyse der wichtigsten Komponenten wie Safranal (**1**), Isophoron (**2**), 2,6,6-trimethyl-cyclohexan-1,4-dion (**3**) und 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1,4-dion (**5**), die eine erhebliche Abweichung unter den untersuchten Proben aufwiesen. Eine denkbare Erklärung für die verschiedenen Aroma-Qualitäten ist, neben den unterschiedlichen Anbaugebieten, vielmehr die eingesetzte Trocknungsmethode und die inadäquate Lagerung. Beide Faktoren haben sowohl qualitativ als auch quantitativ einen enormen Einfluss auf die Aroma-Zusammensetzung des Safrans.

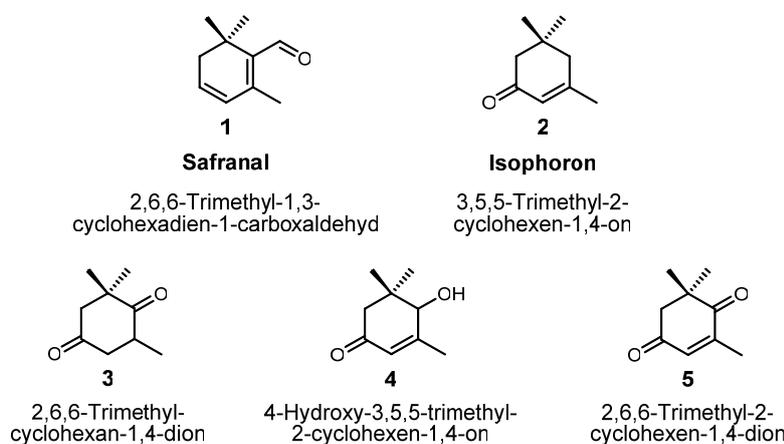


Abbildung 3.1: Die wichtigsten flüchtigen Verbindungen des Safrans.

Insgesamt konnten die Isolationsmethoden wie z.B. Thermal Desorption Gas Chromatographie (TDS)^[60] und Solid Phase-Micro-Extraction-GasChromatography-Mass Spectrometry (SPME-GC-MS)^[61] in Verbindung mit Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O)^[54] zeigen, dass der intensive und charakteristische Duft des Safrans von Safranal herrührt. Die Verbindung Safranal wurde dabei als „safron like“ beschrieben. Andere in den zitierten Artikeln beschriebene Komponenten tragen jedoch zum komplexen Gesamtaroma des Safrans bei. Die identifizierten Aromen reichen dabei von „Pilz, geröstet, Citrus, blumig bis Karamell“. Zu den wichtigsten nicht flüchtigen Inhaltsstoffe des Safrans gehören Farbstoffe und Bittersubstanzen, die hauptsächlich mit Hilfe von HPLC-UV-VIS Photodiode-Array Detection^[62, 63], aber auch mittels Dünnschicht-Chromatographie (DC)^[64] untersucht wurden.

Daneben findet sich noch bis zu 10% fettes Öl, Pektine, Pentosane, Vitamin B₂ sowie Oleanolsäurederivate. Picrocrocin (7), das β-D-Glucosid des Hydroxysafranals (8) (4-Hydroxy-2,2,4-trimethyl-cyclohexan-1,3-dien-carbaldehyd), ist für den bitteren Geschmack des Safrans verantwortlich. Die intensive Farbe des Safrans ist durch Carotinoide bedingt, besonders Crocin (10), ein Ester des Crocetins (9) (einer Dicarbonsäure mit einem Carotin-artigen Kohlenstoffgerüst) mit Gentobiose; daneben wurden auch andere carotinoide Farbstoffe nachgewiesen, z.B. α- und β-Carotin, Lycopin und Zeaxanthin (6). Die postulierte bio-oxidative Spaltung des Zeaxanthin (6) ist in Abbildung 3.2 dargestellt.^[65] Durch diese Spaltung entsteht Picrocrocin (7) und der wasserlösliche Farbstoff des Safrans Crocin (10). Während des Trocknungsprozesses, durch erhöhte Temperatur und/oder die Reaktion von Glycosidasen wird Picrocrocin (7) in das Aroma-aktive Safranin (1) umgewandelt.

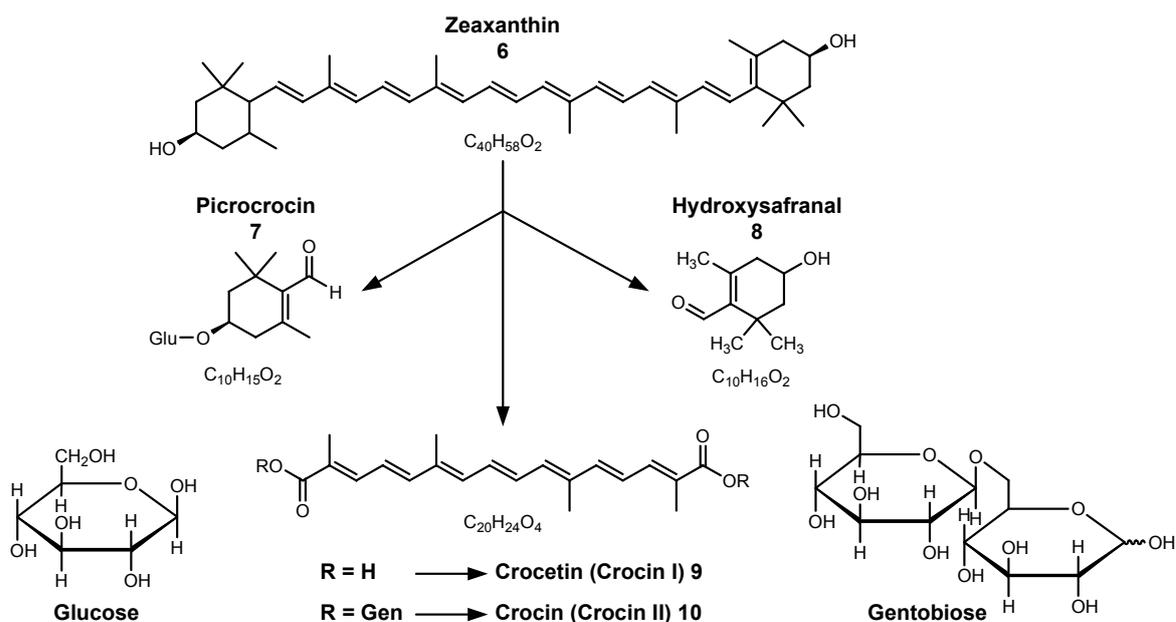


Abbildung 3.2: Die postulierte bio-oxidative Spaltung des Zeaxanthin^[65].

3.3 Qualitätskontrolle von Safran

Die Qualität von Safran wird entsprechend dem deutschen Lebensmittelrecht durch ein ISO⁵-Verfahren bestimmt, das den Safran in 4 Kategorien einteilt.^[66, 67] Dabei wird der Safran in einem Spezialofen verglüht, und die verbleibende Asche wird auf mögliche Beimengungen untersucht. In einer ersten Untersuchung wird der Feuchtigkeitsgehalt und der Gehalt an leicht flüchtigen Bestandteilen^[66], der Verbrennungsrückstand^[68], die säureunlöslichen Verbrennungbestandteile^[69], Löslichkeit im kaltem Wasser^[70], der Stickstoffgehalt^[71] und der Gehalt an Rohfasern^[72] im getrockneten Zustand bestimmt. Anschließend wird in einer zweiten chromatographischen Untersuchungsreihe^[67] die Konzentration von Picrocrocin, ein Maß für die Herbheit, die Konzentration von Safranal, das für das unverkennbare Safranaroma maßgeblich ist, und der Gehalt an Crocin, das für das Färbevermögen des Safrans verantwortlich ist, bestimmt. Ein Vergleich der Probe mit Standardwerten erlaubt eine Klassifizierung und entlarvt mögliche Fälschungen.

Tabelle 3.2 enthält die nationalen Handelsbezeichnungen der jeweiligen Kategorien. Neben den weltweit anerkannten ISO-Verfahren gibt es ebenfalls nationale Untersuchungsmethoden und Kategorien, wie z.B. SLB5 (Schweiz), ÖLB (Österreich) und Codex für Gewürze, die von dem oben geschilderten ISO-Verfahren abweichen können.

ISO	Iran	Spanien	Indien
Kategorie I	Sargol	Coupe	Mongra
Kategorie II	Dasteh	Mancha	Lacha
Kategorie III	Pushal	Rio	
Kategorie IV		Standard	

Tabelle 3.2: Klassifizierung von Safran nach ISO/TS 3632-1/2:2003 sowie die nationalen Handelsbezeichnungen.

⁵ International Organization for Standardization

3.4 Fälschung von Safran

Beim Safran (*Crocus sativus* L.) verleitet der hohe Preis seit Jahrhunderten dazu, das Gewürz zu fälschen. Es wäre naiv, anzunehmen, dass sich im 21. Jahrhundert daran plötzlich etwas ändern sollte.^{6[73, 74]} Ein Blick auf die Tabelle 3.3 verdeutlicht die enorme wirtschaftliche Bedeutung dieses Produktes z.B. für den iranischen Handel. Im Jahre 2002 wurden aus dem Iran 120.706 kg Safran im Wert von über 53 Mio. \$ exportiert.⁷ Die Tendenz ist steigend.

Land	Menge [Tonnen]	Wert [Mio. \$]
Vereinigte Arabische Emirate	39,427	16,3
Spanien	35,545	14,4
Turkmenistan	11,500	4,7
Frankreich	5,181	1,9
Italien	3,618	1,6

Tabelle 3.3: Exportierte Menge Safran aus dem Iran im Jahr 2002.

Man hört oft von sog. „echten Safran“, dieser Begriff ist eigentlich überflüssig, weil es keinen „falschen Safran“ gibt. Der Geschmack von Safran kann nicht künstlich reproduziert werden, und es gibt keine anderen Pflanzen mit dem unverkennbaren Safranaroma. Man spricht jedoch von verfälschtem Safran, wenn Zusätze, z.B. eingefärbte männliche Blütenfäden oder roter Lebensmittelfarbstoff der Pulverform zugegeben wurden. Die Möglichkeiten zum Betrug sind vielfältig.^[75-77]

⁶ Schon 1456 wird aus Nürnberg berichtet, dass der Krämer Hanns Knobel und sein Gehilfe Lienhard Frey "samt ihrer gefälschten Wahr lebendig verbrennet" wurden. Mitunter begrub man die Betrüger auch bei lebendigem Leibe oder stach ihnen die Augen aus. Solche Gerichtsurteile waren im Mittelalter in zahlreichen europäischen Handelsstädten an der Tagesordnung.

⁷ I.R.I Customs

Eine grobe Täuschung ist etwa das Verkaufen von Pflanzen, die mit Safran gar nichts zu tun haben. Einige offensichtliche Kandidaten sind gefärbte Grasspelzen, Narben und Griffelteile von Frühlings-Krokus (*Crocus biflorus* Mill.) sowie Zungen- und Röhrenblüten der Ringelblume (*Calendula officinalis* L.) oder der Färberdistel (*Cartamnus tinctorius* L.), die in Amerika auch unter den Namen „Mexikanischer Safran“ oder „Bastard Safran“ bekannt sind.

Selbst die irreführende Bezeichnung von Kurkuma als „Indischer Safran“ grenzt an Betrug. Diese Art der Verfälschung ist durch mikroskopische Untersuchung oder mikrochemische Prüfung leicht herauszufinden. Die Form und die Farbe der Narben sind unter dem Mikroskop deutlich zu unterscheiden^[75], und im Gegensatz zum Safran ist der Farbstoff der Ringelblume (*Calendula officinalis* L.) und der rötliche Farbstoff Carthamin der Färberdistel (*Cartamnus tinctorius* L.) nicht wasserlöslich^[78]. Oft wird echter Safran auch mit solchem Material gestreckt. Neben den oben genannten Pflanzenteilen sind Kurkuma, Mais- sowie Paprikapulver oder getrocknete Fleischfasern zu erwähnen.

Eine andere Methode ist den Kunden, die das starke Aroma von gutem Safran nicht kennen, überalterte, zu stark getrocknete oder schlecht gelagerte Ware zu verkaufen. Selbst große Gewürzfirmer verkaufen mitunter Produkte, die zwar von der richtigen Pflanze stammen, aber gar kein oder fremdes Aroma aufweisen. Letztlich wird Safran auch noch oft künstlich durch Zusatz von möglichst schweren, unauffälligen anorganischen und organischen Stoffen erschwert. Nachgewiesen wurden als anorganische Beimengungen verschiedene Sulfate, Carbonate, Phosphate und Nitrate, Borax, Ammoniumsalze und Ziegelmehl. Bei den organischen Verbindungen handelte es sich in der Regel um Fette, Öle, Zuckerstoffe, Stärken oder Glycerin mit dem der Safran bedampft wird.⁸

Die am schwierigsten nachzuweisende Fälschung ist der Zusatz von extrahiertem Safran der mit synthetischen Farbstoffen oder mit natürlichen Farbauszügen anderer Pflanzen wieder aufgefärbt wurde.^[75] Die üblichen Untersuchungsmethoden für Safran erlauben nur den Nachweis von massiven Verunreinigungen mit künstlichen Farbstoffen.

⁸ Der süße Geschmack des Glycerins lässt sich einem einfältigen Kunden sogar noch als besonderes Qualitätsmerkmal verkaufen.

Die Problematik liegt darin, dass die allgemeingültigen Verfahren zur Farbstoffanalyse von Lebensmitteln durch Inhaltsstoffe des Safrans derart gestört werden, dass eine Bestimmung im Spurenbereich nicht möglich ist. Neuere Untersuchungsmethoden zum empfindlichen Nachweis von künstlich wasserlöslichen Farbstoffen von 143 Safranproben aus dem schweizerischen Markt ergaben insgesamt 28 Fälle von Verunreinigungen.^[79] Dabei wurden die Farbstoffe Azorubin (E122), Ponceau 4R (E 124), Gelborange S (E 110) und Tartrazin (E 102) sowie der Textilfarbstoff Roccellin (CI 15620) nachgewiesen.

Wie bereits ausführlich beschrieben, gibt es vielfältige Möglichkeiten zur Fälschung von Safran. Alle diese Möglichkeiten betreffen in erster Linie eine optische Täuschung durch fremde Pflanzenteile mit ähnlicher morphologischer Struktur oder durch künstliche Farbstoffe, die den Speisen die entsprechende Farbe verleihen. Aber keine dieser Möglichkeiten sorgt auch nur entfernt für den Ersatz des unverkennbaren Aromas von Safran. Daher können die Fälschungen nur das Auge, nicht aber die Zunge und vor allem nicht die Nase täuschen.

Hierbei bietet die Sensorik durch den Einsatz einer Elektronischen Nase eine nützliche Alternative zu klassischen Analysemethoden an. Mit Hilfe von geeigneten chemischen Sensoren kann eine qualitative Identifizierung bzw. Klassifizierung unabhängig von der Art der Fälschung erfolgen. Inwieweit die erhaltenen Daten einen Aufschluss über die Art der Fälschung erlauben, muss anhand von geeigneten Praxismessungen verifiziert werden.

4 Trüffel

Trüffel sind eines der teuersten Lebensmittel und werden für die Verwendung in der *Haute Cuisine* zu extrem hohen Preisen gehandelt. Besonders dramatisch hat sich der Preis während der letzten Jahre bei der Weißen Trüffel (*Tuber Magnatum Pico*) entwickelt. Erst kürzlich wurde eine 850 Gramm schwere Riesentrüffel für mehr als 40.000 Euro ersteigert.⁹ Dies erklärt, warum die Weißen Trüffeln auch als das „weiße Gold“ oder als die „weißen Diamanten“ des Piemonts bezeichnet werden.

Die Weiße Trüffel ist nicht nur wegen ihres hohen Preises, sondern auch vor allem wegen des außergewöhnlichen und unvergleichlichen Aromas ein begehrtes Forschungsobjekt für die Aromenindustrie. Das Ziel ist, mit Hilfe diverser physikalisch-chemischer und sensorischer Analysemethoden die natürliche Geschmacksrezeptur im Detail zu entschlüsseln, um „naturgetreue Trüffelaromen“ zu akzeptablen Preisen entwickeln zu können. Diese dienen der Lebensmittelindustrie als wichtige Bausteine bei der Entwicklung industrieller Lebensmittel mit authentischem Trüffelgeschmack.¹⁰ Ein Beispiel hierfür ist die Firma Dragoco in Holzminden, die im Jahr 2000 ein Patent für die Herstellung und Verwendung von 2,4,6-Trithiaheptan in einer Aromakomposition als sensorisch aktive Substanz der Weißen Trüffel angemeldet hat.^[80]

⁹ Spiegel Online vom 09.10.2004

¹⁰ Tatsächlich kann man heute in jedem gut sortierten Supermarkt Trüffelöl kaufen, obwohl dieses Produkt kaum mit dem natürlichem Trüffel zu tun hat. Zur Herstellung von Trüffelöl wird die Substanz Bis(methylthio)methan, das aus Flüssiggas hergestellt wird, in das Speiseöl geleitet, was in geringen Konzentrationen an das Aroma des weißen Trüffels erinnert.

4.1 Botanische Systematik und Herkunft der Trüffel

Trüffel (lat. Gattung *Tuber*) sind Pilze, die in der botanischen Systematik aufgrund ihrer morphologischen Merkmale zu der Klasse der *Ascomyzeten* (Schlauchpilze) und der Ordnung der *Tuberales* gezählt werden. Vertreter dieser Ordnung leben meist unterirdisch im Waldboden in *Mycorrhiza*, d.h. in einer symbiotischen Lebensgemeinschaft, meist dicht belaubter Bäume (Eichen, Kiefern, Pappeln und Weiden). Da die Trüffel ohne ihren Wirtsbaum nicht existieren können, sind sie im Gegensatz zu den Champignons so gut wie nicht kultivierbar. Daher gibt es zurzeit große Bestrebungen Trüffel zu züchten, doch alle Versuche sind bisher gescheitert. Bei dem eigentlichen Organismus der Trüffel handelt es sich um ein weit verzweigtes Hyphengeflecht (Myzel), welches den Boden nur mikroskopisch sichtbar durchzieht. Die für den Verzehr so begehrte Trüffelknolle ist dagegen nur der Fruchtkörper, der die Sporen bildet und für die Vermehrung und Verbreitung der Trüffel sorgt.

Trüffel zu finden, ist eine äußerst mühsame Aufgabe, denn die Fruchtkörper wachsen im Gegensatz zu den Fruchtkörpern von *Basidiomyceten* (Ständerpilze), auch bekannt als Champignons oder Steinpilze, bis zu einer Armlänge unter der Erde an den Wurzeln von Laubbäumen. Die kommerzielle Trüffelsuche ist daher ein sehr aufwendiges und schwieriges Unterfangen und gelingt nur unter der Zuhilfenahme speziell trainierter Hunde, die für ihren ausgeprägten Geruchssinn bekannt sind. Da Hunde kein natürliches Interesse an Trüffeln besitzen, werden sie durch klassische Konditionierung in langwierigen Trainingsperioden als „Trüffelschnüffler“ trainiert.

Früher wurden auch Schweine zur Trüffelsuche verwendet. Da aber Trüffel zu den Leibspeisen der Schweine gehören, spürten sie die Trüffel auf, um sie daraufhin selbst zu fressen. Die leidenschaftliche Suche der Schweine nach der Trüffel aufgrund des Vorhandensein des Steroid-Pheromons *5 α -Androstenol*, die durch Arbeiten von Claus, Hoppen und Karg 1981^[81] in einer Menge von 40-60 ng g⁻¹ detektiert wurde, ist inzwischen widerlegt worden.

Talou et al.^[82] zeigten in einem Experiment, dass es sich bei der sensorisch aktiven Substanz höchstwahrscheinlich um die Verbindung Dimethylsulfid handelt, wonach die Tiere suchen.¹¹ Derzeit gibt es Bestrebungen, die Trüffelschweine bzw. Trüffelhunde durch Elektronische Nasen auf der Basis von Metalloxidsensoren zu ersetzen.^[83]

Eine andere unkonventionelle Methode zum Auffinden von Trüffeln ist das Beobachten von besonderen Fliegen-Spezies (genus *Suillia*), die ihre Eier oberhalb der Trüffel legen, damit sie der geschlüpften Larven als Nahrung dienen können. Eine Ansammlung dieser Fliegen auf dem Boden des Waldes, könnte ein möglicher Hinweis auf das Vorhandensein von Trüffeln sein.

Die Gattung *Tuber* umfasst nach den Untersuchungsergebnissen von Prof. Dr. A. Ceruti etwa 240 verschiedene Trüffelarten, von denen ca. 55 in Italien beheimatet sind. In der Tabelle 4.1 sind die kulinarisch wichtigsten Trüffelarten zusammengefasst. Lediglich die beiden Arten *Tuber Magnatum* Pico und *Tuber Melanosporum* Vitt. sind von großer Bedeutung und werden seit dem Altertum gesammelt. Daneben gibt es weitere Arten mit deutlich schwächerem und zum Teil schlechtem Aroma.

Art	Name	Vorkommen	Reifezeit
<i>Tuber Magnatum</i> Pico	Weißer Trüffel	Italien (Alba, Piemont)	September bis Januar.
<i>Tuber Melanosporum</i> Vitt.	Schwarzer Trüffel	Italien, Frankreich (Perigord)	November bis März
<i>Tuber Aestivum</i> Vitt.	Sommer Trüffel	Italien, Frankreich	Mai bis Oktober
<i>Tuber Indicum</i>	Asia Trüffel	Nordindien, Ostchina	Oktober bis März
<i>Tuber Brumale</i> Vitt.	Winter Trüffel	Alpenraum, Frankreich	Januar bis März
<i>Tuber Borchii</i> Vitt.	Bianchetto Trüffel	Italien	Im Winter
<i>Tuber Uncinatum</i> Chatin	--	Italien	Oktober bis Januar

Tabelle 4.1: Die kulinarisch wichtigsten Trüffelarten mit den entsprechenden Handelsnamen, Vorkommen und Reifezeit.

¹¹ In einem ersten Versuch wurden verschiedenen Proben aus reifem Trüffel, Proben mit 3 α -hydroxy-5 α -androst-16-en und natürlichem Trüffel-Extrakt vergraben. Alle ausgewählten Trüffelhunde und Schweine fanden erfolgreich die Stelle mit dem reifen Trüffel und dem Trüffel-Extrakt. Die Stelle mit dem Pheromon wurde trotz 10fach erhöhter Konzentration nicht gefunden. Um den sensorisch aktiven Komponenten auf die Spur zu kommen, wurden in einem zweiten Versuch alle identifizierten Verbindungen des Trüffel-Extraktes als geeignete Proben vergraben. Nur die Stelle mit der Verbindung Dimethylsulfid wurde bei allen Tieren reproduzierbar angesprochen.

Unabhängig von der Art, der sie angehören, haben die Trüffel eine unregelmäßig rundliche und zum Teil abgeflachte Form. Jede Trüffelart hat ihre eigene Färbung, der sie zum Teil ihren Namen verdanken. Die Farbe allein kann jedoch nicht als Identifikationsmerkmal herangezogen werden, denn je nach Reifegrad verändert sich die äußere Farbe. Der jeweilige Reifegrad bestimmt ebenfalls die Eigenschaften der *Gleba*¹³, sowohl was ihre Farbe als auch die Anordnung der Adern betrifft. Zum Beispiel weisen alle Schwarzen Trüffel, die noch nicht den mittleren bzw. optimalen Reifegrad erreicht haben und trotzdem geerntet werden, anstatt dunkles ein helles Fruchtfleisch auf. Nach der Ernte können diese Trüffel nicht zur vollen Reifung gelangen und weisen daher einen verminderten Geruch und Geschmack auf. Das Fruchtfleisch ändert ebenfalls seine Farbe, je nach dem, mit welchem Baum die Trüffel in Symbiose lebt. In Symbiose mit Pappel oder Weide ist das Fruchtfleisch des *Tuber Magnatum* Pico fast weiß, in Symbiose mit Eiche hellbraun, mit der Linde hellbraun bis rötlich. Ferner hat jede Trüffelart ihren ganz eigenen Geruch und aromatische Ausprägung.

4.2 Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Trüffelarten

Bei der Qualität von Trüffeln gibt es im Gegensatz zu Safran kein ISO-Verfahren, das zur Identifizierung oder Klassifizierung dienen könnte. Die üblichen Klassifikationsmethoden beschränken sich auf die morphologischen Charakteristika wie die *Ascus*¹²-Größe, Form, Anzahl der Sporen und schließlich die Struktur der *Gleba*¹³ und *Peridium*¹⁴.^[84] Diese klassischen Methoden erlauben jedoch nicht die Unterscheidung von manchen Trüffelarten, speziell während der vegetativen und symbiotischen Phase. *Tuber Magnatum* Pico und die sog. *Bianchetti* Trüffel haben dieselbe geographische Herkunft und ähnliche morphologische Charakteristika, weisen jedoch unterschiedliche organoleptische Eigenschaften und einen unterschiedlichen ökonomischen Wert auf. Das Fruchtfleisch von *Tuber Melanosporum* Vitt. weist auf Basis der mikroskopischen Sporenanalyse große Ähnlichkeiten mit dem erschwinglicheren asiatischen *Tuber Indicum* Cook et Masee auf.

¹² Sporenschlauch

¹³ Fruchtschicht

¹⁴ äußere Fruchtkörperhülle

Aufgrund dieser Tatsachen sind diverse molekulare Analysemethoden auf der Grundlage der Polymerase Kettenreaktion (PCR¹⁵) entwickelt worden, um die traditionelle morphologische Analysemethoden zu unterstützen.^[85] Diese Analysemethoden sind jedoch nur in speziell ausgerüsteten Labors unter Bedarf von geschulten Mitarbeitern durchführbar. Eine einfache und schnelle Unterscheidungsmöglichkeit ist durch Einsatz von Elektronischen Nasen zu erreichen. Bereits erste Qualitätsuntersuchungen sind mit Hilfe einer Elektronischen Nase auf der Basis von MOS und MOSFET¹⁶ erfolgreich durchgeführt worden.^[86] Das Ziel hierbei war die Definition des Zusammenhangs zwischen dem wahrgenommenen Trüffelaroma durch die elektronische Nase mit dem sensorischem Eindruck einer Expertengruppe. Insgesamt konnten von der 51 untersuchten Weißen Trüffeln mittels Diskriminant Analyse und Neurale Netze (ANNs) 80% der Proben zuverlässig klassifiziert werden.

Um verschiedene Trüffel-Sorten voneinander zu unterscheiden, bedarf es guter Kenntnisse, denn wie bereits erwähnt, weisen verschiedene Trüffelarten ähnliche morphologische Eigenschaften auf. Dadurch werden im Vergleich zur Weißen oder Schwarzen Trüffel minderwertige und erschwingliche Trüffelarten gerne von unseriösen Händlern zum Betrug benutzt.

So kann z. B. die Mäander Trüffel in Deutschland (*Choiromyces Meandriiformis*), in Italien auch "Schweinetrüffel" oder "verrückte Weiße Trüffel" genannt, durch ihre glatte, feine, nusschalenfarbene Haut und festes, helles Fruchtfleisch, die von feinen grauen Adern durchzogen ist, mit *Tuber Magnatum* Pico verwechselt werden. Gekocht verliert diese Trüffel ihre giftigen Substanzen, kann jedoch in größeren Mengen oder ungekocht verzehrt Vergiftungen verursachen. Eine weitere Trüffelart, die dem *Tuber Magnatum* Pico äußerlich zum Verwechseln ähnlich sieht und auch gerne als dessen Fälschung bezeichnet wird, ist *Tuber Borchii* Vitt. Sie wird daher auch von vielen unehrlichen Händlern als solche verkauft.

¹⁵ Polymerase Chain Reaction

¹⁶ Metal Oxid Semiconductor MOS, Metal Oxid Semiconductor Field Effect Transistor MOSFET

Eine Trüffelart, die meist mit *Tuber Melanosporum* Vitt. verwechselt und oft auch als diese verkauft wird, ist *Tuber Indicum* oder Chinesische Trüffel. Die Haut dieser Trüffel ist dunkelrot bis dunkelbraun und glatter als beim *Melanosporum*. Der *Tuber Indicum* ist jedoch von geringerer Qualität und weist deutliche organoleptische Unterschiede auf.

Tuber Moschatum Ferry im Volksmund auch "Tartufo Moscato" genannt; wird aufgrund der schwarzen, mit kleinen Warzen bedeckten Haut und des schwarzen Fruchtfleisch ebenfalls gerne mit dem *Tuber Melanosporum* Vitt. verwechselt, der jedoch im Gegensatz zu diesem einen unangenehmen Geruch besitzt.

Tuber Uncinatum Chatin, die in der italienischen Gastronomie nach dem *Tuber Magnatum* Pico und dem *Tuber Melanosporum* Vitt. auf dem dritten Platz rangiert, ähnelt dem *Tuber Aestivum*, die als „Sommertrüffel“ oder im Piemont als „Scorzzone“ bezeichnet wird. Dieser reift jedoch im Gegensatz zur Sommer Trüffel von Oktober bis Anfang Januar. Das Fruchtfleisch ist braun und ihr intensiver Geruch ähnelt manchmal dem Geruch von Steinpilzen.

Eines der wichtigsten Unterscheidungsmerkmale und Qualitätskriterien bei der Trüffel ist neben der morphologischen Struktur, der Geschmack und vor allem das Aroma der Trüffel, weshalb auch die Trüffel-Händler ständig an den Trüffel-Knollen schnüffeln. Daher sind beim Kauf viel Erfahrung und eine gut geschulte Nase von großer Bedeutung. Es gibt viele Versuche, das Aroma und den Geschmack zu beschreiben. Nur diejenigen, die das Vergnügen hatten, Trüffel zu kosten, können selbstbewusst behaupten, dass es keine vernünftige Beschreibung des Aromas gibt. In der Literatur wird das Aroma als sehr intensiv und facettenreich beschrieben. Es umfasst erdige, nussige, fettige, würzige, fleischige und schwefelige Geruchs- und Geschmacksnuancen, die sich zu einem harmonischen Bouquet vereinen. Nicht nur die regionale Herkunft, sondern auch das Alter und die Lagerbedingungen haben einen wesentlichen Einfluss auf das Aroma und damit die Qualität der jeweiligen Trüffelart.

4.3 Flüchtige Inhaltsstoffe der Trüffelarten

Eine frisch gesammelte Trüffel hat bereits einen gewissen Reifegrad erreicht und verändert, ähnlich einem lagernden Käse, kontinuierlich sein sensorisches Profil. Nach einer gewissen Zeit kommen bei der Trüffel zu den frischen, würzigen-schwefeligen und fleischigen Geruchsnuancen vermehrt käsige, fettige und schimmelige Aspekte. Für die Entwicklung eines geeigneten Trüffel-Sensors zur Unterscheidung der verschiedenen Trüffelarten, ist die genaue Kenntnis der flüchtigen Bestandteile erforderlich. Aufgrund der anhaltenden Reifeprozesse und die damit verbundene Veränderung des sensorischen Profils, werden die flüchtigen Bestandteile ebenfalls für die gelagerte Weiße Trüffel vorgestellt.

Zur Identifizierung der flüchtigen Inhaltsstoffe der Trüffel wurde hauptsächlich die Headspace- und Vakuum-Headspace-Technik^[87] angewandt. Hierbei handelt es sich um eine Analyse der Dampfphase, die sich in einem Gefäß oberhalb der Probe bildet und die die zu analysierenden flüchtigen Inhaltsstoffe, die meist mittels GC-MS oder SPME^[88, 89] identifiziert werden, beinhaltet. Eine weitere Isolationsmethode ist die Purge and Trap-Methode^[90-93], bei der die leichtflüchtigen Stoffe aus einer erwärmten Probelösung mit einem Trägergas (Helium) ausgetrieben und in einer Absorptionsfalle angereichert werden. Nach der thermischen Desorption erfolgt üblicherweise eine Bestimmung mittels GC-MS.

Dank der sich verbessernden Trennungs- und Analysemöglichkeiten werden zunehmend neue Komponenten entdeckt, die eine Gesamtübersicht der flüchtigen Komponenten nicht gerade vereinfachen. Zum Teil gibt es in der Literatur widersprüchliche Angaben über die Zusammensetzung und die Quantität der identifizierten Verbindungen, die sowohl mit der Trüffel, als sich durch Reifeprozesse veränderndes Naturprodukt, aber auch mit der gewählten Isolations-technik, zusammenhängt. Zum Beispiel können die Menge der höher siedenden oder die thermisch empfindlichen Komponenten durch die Wahl der Isolations-technik stark variieren. Die meisten Trüffelarten weisen jedoch weitgehend eine Analogie in der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung ihrer flüchtigen Verbindungen auf.

Aus diesem Grunde wird im Folgenden nur eine detaillierte Beschreibung der sensorisch aktiven Komponenten der jeweiligen Trüffelart, die eine mögliche Unterscheidung gestatten, aufgeführt. Daneben gibt es zahlreiche Verbindungen, die nur in sehr geringen Konzentrationen vorliegen und zudem sensorisch inaktiv sind. Diese Komponenten kommen für eine mögliche Unterscheidung nicht in Frage und werden daher in dieser Arbeit nicht erwähnt. Folgend werden die flüchtigen Verbindungen und die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Trüffelarten vorgestellt.

4.3.1 *Tuber Magnatum Pico*

Bereits 1967 beschrieb Fiechi et al. die Verbindung Bis(methylthio)methan (2,4-Dithiapentan) als das „riechende Prinzip“ der Weißen Trüffel.^[94] Bellesia und Pinetti untersuchten die flüchtigen Komponenten des Weißen Trüffels aufgrund verschiedener Lagertemperaturen^[90] mit Hilfe der Purge and Trap Methode. Die Identifizierung erfolgte mittels GC-MS. Tabelle 4.2 fasst die Konzentration der wichtigsten flüchtigen Verbindungen des *Tuber Magnatum Pico* während der Lagerung bei 0°C zusammen.

	Tag	1	2	4	7	10	12
Komponente							
Butanon		1,35	0,35	1,02	1,57	8,83	1,4
3-Methylbutanal		0,38	9,95	10,56	2,29	2,11	30,9
2-Methylbutanal		0,96	2,83	2,11	0,22	1,57	1,22
Dimethyldisulfid		2,07	3,21	1,11	0,04	0,03	1,89
Hexanal		0,89	7,33	2,19	2,64	26,97	32,41
Bis(methylthio)methan		84,47	75,05	66,84	66,39	56,26	54,51
Heptanal		0,21	1,45	0,72	0,71	0,93	0,76
Dimethyltrisulfid		0,32	0,21	0,13	0,19	0,19	0,54

Tabelle 4.2: Die zeitliche Konzentrationsänderungen der wichtigsten flüchtigen Bestandteile der Weißen Trüffel bei einer Lagertemperatur von 0°C in ppm.

Die Ergebnisse zeigen eine leichte Abnahme der Konzentration von Bis(methylthio)methan. Die Konzentration der verzweigten Aldehyde aufgrund des Strecker-Abbaus der Aminosäuren (Lysine und Leucine) erreicht nach vier Tagen ein Maximum und fällt anschließend stark ab. Ein möglicher Grund kann das Denaturieren der Enzyme bei 0°C sein. Die Konzentration von Hexanal, das aus der Fett-Oxidation (Linolsäure) stammt, steigt während der gesamten Lagerzeit kontinuierlich an. Analoges gilt für 2- und 3-Methylbutanol. Die relativ hohen Konzentrationen von 2-Methylbutanol und Hexanal im Vergleich zu Bis(methylthio)methan können als Fehl aroma (*off-flavor*) interpretiert werden. Aufgrund des deutlich geringeren Geruchsschwellenwerts wird das Aroma der Trüffel nach einer 12-tägigen Lagerung bei 0°C als unverändert wahrgenommen.

	Tag	1	2	4	5	7
Komponente						
Butanon		0,02	0,04	2,16	4,65	6,64
3-Methylbutanal		0,02	18,35	0,72	0,76	0,37
2-Methylbutanal		0,06	5,93	1,37	1,56	0,37
3-Methylbutanol		0,12	3,31	0,51	3,85	5,22
Dimethyldisulfid		0,36	0,05	0,12	32,77	47,62
Hexanal		0,03	1,43	0,06	0,06	0,05
3-Butenol		0,04	1,36	0,05	0,06	0,05
2-Methylpent-2-enal		0,03	1,43	0,06	0,06	0,05
Bis(methylthio)methan		97,96	98,44	94,88	51,38	0,37
Heptanal		2,82	2,29	1,95	1,11	0,06
Dimethyltrisulfid		0,01	0,01	0,12	4,25	6,79

Tabelle 4.3: Die zeitliche Konzentrationsänderungen der wichtigsten flüchtigen Bestandteile der Weißen Trüffel bei einer Lagertemperatur von 25°C.

Bei einer Lagertemperatur von 25°C vermindert sich die Konzentration von Bis(methylthio)methan nach vier bis fünf Tagen bis zur Nachweisgrenze. Ein möglicher Grund für die Abnahme der Konzentration wird in der enzymatischen Oxidation zu Dimethyldisulfid vermutet, die aufgrund der Hydrolyse von Bis(methylthio)methan durch die Metallionen des Cofaktors im aktiven Zentrum des Enzyms stattfindet.^[90]

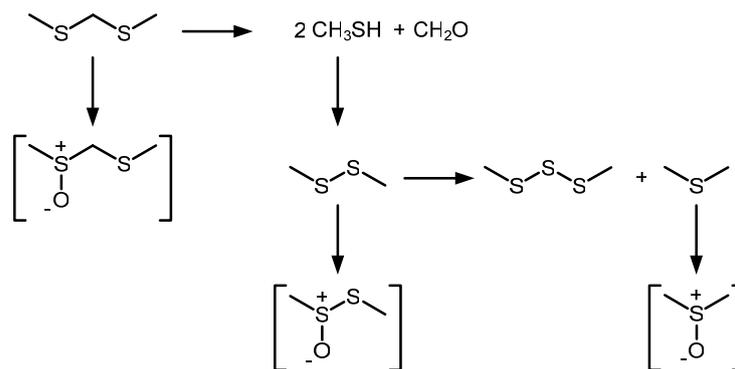


Abbildung 4.1: Abnahme der Konzentration von Bis(methylthio)methan durch enzymatische Oxidation zu Dimethyldisulfid und anschließende Disproportionierung zu Dimethyltrisulfid.

Das entstandene Methylsulfid wird anschließend durch Luftsauerstoff zu Dimethyldisulfid oxidiert, das durch Disproportionierung in Dimethyltrisulfid umgewandelt wird. Die Konzentrationen von Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid steigen indessen stark an. Die Konzentration von 2- und 3-Methylbutanal erreicht nach zwei Tagen ein Maximum, um dann rapide bis an die Nachweisgrenze abzufallen.

Eine weitere Bestätigung des Abbaus von Bis(methylthio)methan^[95] ist die relativ hohe Konzentration an Methyl(methylthiomethyl)sulfon - formal ein Oxidationsprodukt von Bis(methylthio)methan, wie Schmaus und Meier bei ihren Untersuchungen gefunden haben^[87]. Der postulierte Ablauf ist in der Abbildung 4.2 schematisch dargestellt.

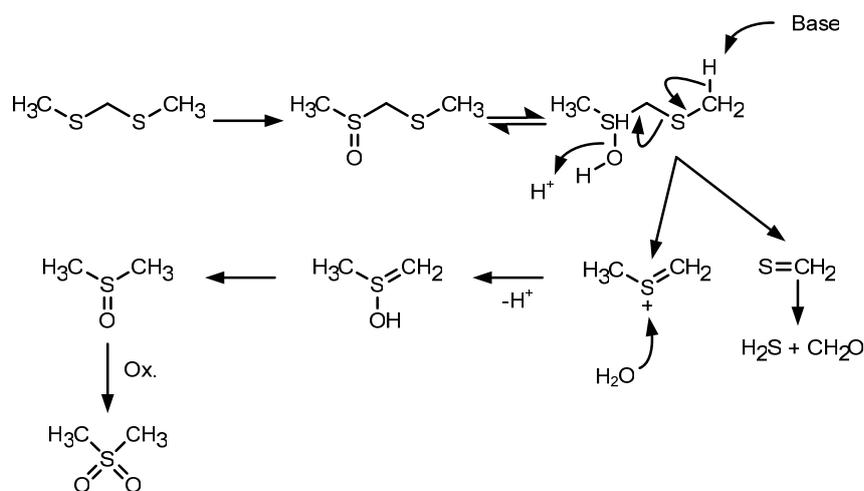


Abbildung 4.2: Abnahme der Konzentration von Bis(methylthio)methan durch Abbauprozesse.

Bei den Hauptkomponenten, die im Vakuum-Headspace-Konzentrat mittels GC-MS identifiziert wurden, handelt es sich neben der sensorisch aktiven Verbindung Bis(methylthio)methan (29,58%), um Propanol (6,1%), Isobutanol (5,1%), 2-Methylbutanol/ Isoamyalkohol (18,3%) und Methyl(methylthiomethyl)sulfon (4,9%). Neben den schwefelhaltigen Substanzen wie 2,4-Dithapentan, Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid konnten folgende sensorisch relevanten Spurenkomponenten mittels GC-Sniffing identifiziert werden: Diacetyl und 3-Hydroxy-2-butanon mit charakteristisch butterigen Noten, 1-Octen-3-on und 1-Octen-3-ol mit stark pilzigem Charakter sowie diverse aliphatische Fettsäuren wie Isobuttersäure, Isovaleriansäure und 2-Methylbuttersäure, die käsige Nuancen beisteuern.

4.3.2 *Tuber Melanosporum* Vitt.

1968 beschrieben Andreotti und Casoli die Verbindung Dimethylsulfid als die schwefelige Note der Schwarzen Trüffel.^[96] 1987 fanden Talou et al. mit der Dynamic Headspace-Technik in Verbindung mit Kapillar-GC-MS insgesamt 14 flüchtige Verbindungen, wovon 9 als repräsentative Bestandteile der Schwarzen Trüffel beschrieben wurden.^[97] Quantitativ waren die Alkohole vorherrschend. Aufgrund der sensorischen Analyse der identifizierten flüchtigen Verbindungen durch eine Expertengruppe konnte jedoch keine der Komponenten als das charakteristische Aroma der Schwarzen Trüffel wie im Falle von Bis(methylthio)methan oder 1-Octen-3-ol, welche als die charakteristischen Leitkomponenten der Weißen Trüffel bzw. des Champignons gelten, bestätigt werden. Die Verbindung Dimethylsulfid wurde jedoch als eine der Schlüsselkomponenten für den Gesamteindruck bezeichnet^[98]. Die Quelle des Dimethylsulfids wird im Metabolismus entweder durch die Reduktion von anorganischen Sulfaten oder durch die Hydrolyse von (S)-Methylmethionin Sulfonium-Salze vermutet^[99]. Ein Vergleich der 10 wichtigsten flüchtigen Komponenten bei verschiedenen Lagertemperaturen hat vergleichbare Ergebnisse wie im Falle von *Tuber Magnatum* Pico ergeben^[91]. Quantitativ wichtige Hauptkomponenten sind die Aldehyde 2- und 3-Methylbutanal, die durch Strecker-Abbau von Aminosäuren entstehen, und die beiden Alkohole 2- und 3-Methylbutanol, die durch Stärkefermentation gebildet werden, und das Diketon 2,3-Butandion.

Aufgrund ihrer geringen Geruchsschwellenkonzentration sind die sensorisch wichtigsten Komponenten jedoch Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid. Die Verbindung Bis(methylthio)methan konnte im *Tuber Melanosporum* Vitt. nicht gefunden werden. Mit zunehmender Lagerzeit sowohl bei 0° als auch bei 25°C steigt die Konzentration von Isobutanol und 2- und 3-Methylbutanol an, wobei die Konzentration bei 25°C um ein Vielfaches höher liegt. Interessant ist jedoch, dass die Konzentration von Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid während der gesamten Lagerzeit fast konstant bleiben.

4.3.3 *Tuber Indicum*

Im Gegensatz zu den morphologischen Eigenschaften konnte durch eine Testreihe gezeigt werden, dass bei *Tuber Indicum* im Vergleich zu *Tuber Melanosporum* nur eine grobe Ähnlichkeit besteht. *Tuber Indicum* weist insgesamt einen geringeren Gehalt an flüchtigen Verbindungen vor allem im Bereich der beschriebenen Aldehyde und Alkohole auf. Das wichtigste Merkmal ist jedoch die Absenz der kompletten Palette an Schwefelverbindungen^[93].

4.3.4 *Tuber Aestivum*

Das Aroma des *Tuber Aestivum* weist analog zu *Tuber Indicum* ein vermindertes Gesamtaroma auf. Die wichtigsten flüchtigen Verbindungen sind hierbei Acetaldehyd, 2-Butanon, 2-Methyl-1-propanol, 2- und 3-Methylbutanal, 2- und 3-Methylbutanol. Im Gegensatz zu *Tuber Indicum* konnte die Verbindung Dimethyldisulfid als einzige Schwefelverbindung entdeckt werden.^[100] Durch Untersuchungen mit HS-SPME-GC-MS konnten diese Ergebnisse ebenfalls bestätigt werden.^[89] Ferner wurden weitere Verbindungen wie Ethylacetat, 2-Propanon, 2-Butanol, Hexanal, Heptanal, Phenylethanol, 3-Octanon und 1-Octen-3-ol identifiziert. Die zwei letztgenannten Verbindungen sind für das charakteristische Pilzaroma verantwortlich.

Wie zuvor ausführlich beschrieben ist Bis(methylthio)methan das charakteristische Aroma der Weißen Trüffel, also die Verbindung, auf die wir unsere Aufmerksamkeit lenken sollten. Die Konzentration sowohl des Bis(methylthio)methan als auch die durch die andauernden Abbauprozesse entstanden Verbindungen Dimethyldisulfid bzw. Dimethyltrisulfid, können als chemischer Indikator für die Frische und adäquate Lagerung der Weißen Trüffel herangezogen werden.

Je geringer die Konzentration von Bis(methylthio)methan bzw. je höher die Konzentration von Dimethyldisulfid, desto schlechter wurde die Trüffel gelagert. Untersuchungen bei -18°C haben gezeigt, dass selbst im gefrorenen Zustand die Oxidation und Fermentation nicht komplett gestoppt werden kann. Die Konzentration von Bis(methylthio)methan fiel von anfänglich 86,95 ppm nach 360 Tagen auf 0,20 ppm ab. Bei den beiden Komponenten Dimethyldisulfid und Dimethyltrisulfid dagegen gab es keine signifikanten Veränderungen.^[95]

5 Sensoraktive Substanzen

5.1 Supramolekulare Chemie

Auf der Suche nach sensitiven und selektiven Substanzen für chemische Sensoren bedient sich die Sensorik der Supramolekularen Chemie. Sie ist eines der zurzeit populärsten und sich am schnellsten entwickelnden Gebiete der experimentellen Chemie und gilt als zentrales Standbein der sich entwickelnden Nanotechnologie. Nach einer Definition von J. M. Lehn, der als Begründer dieses modernen Forschungsgebiets gilt, ist die Supramolekulare Chemie die Chemie der molekularen Assoziate, d.h. „die Chemie über das Molekül hinaus“. Sie beschäftigt sich in erster Linie mit der Untersuchung, Entwicklung und Herstellung von komplexen Molekül-Assoziaten, die durch intermolekulare, schwache Bindungskräfte zusammengehalten werden. Die Bindungsarten reichen dabei von Wasserstoffbrückenbindungen bis hin zu Ion-Dipol-, Dipol-Dipol- oder van-der-Waals-Wechselwirkungen. Aufgrund von komplementären Eigenschaften entstehen dann die Supramoleküle. Der zentrale Aspekt der Supramolekularen Chemie im Hinblick auf die Entwicklung geeigneter chemische Sensoren, ist die molekulare Erkennung und die molekulare Selbstorganisation aufgrund einer Vielzahl an schwachen und reversiblen Wechselwirkungen, deren Wurzeln in der Wirt-Gast-Chemie manifestiert sind. Durch molekulare Selbstorganisation in den synthetisierten Systemen können Molekülaggregate von definierter Größe bis in den Nanometerbereich und mit großer Strukturvielfalt dargestellt werden. Hierbei können die Strukturen der flüchtigen Verbindungen zur Synthese von geeigneten Makrozyklen als eine Art Schablone dienen. Der Templateffekt unterstützt dabei die Reaktion und steuert auf diese Weise die molekulare Selbstorganisation. Hierdurch konnte die Herstellung kompliziert geformter Molekülaggregate erfolgen. Beispiele für diese Strukturvielfalt sind die bereits synthetisierten Kapseln, Kugeln, Röhren, Helices, Gitter, Würfel, Röhren, Catenane, Rotaxane, Dendrimere, Clathrate u.a. Als Vorbild dienen dabei viele biologische Systeme, die durch molekulare Selbstorganisation hochgeordnete, funktionale Strukturen, wie z.B. Proteine, Enzyme und DNA-Moleküle bilden.

Dabei steht die gebildete Struktur der Aggregate in direkter Verbindung mit den Informationen, die in den einzelnen molekularen Komponenten beinhaltet sind, wie z.B. in der Starrheit der Liganden, der Anzahl und Position der Donor- bzw. Akzeptorstellen oder der Koordinationsgeometrie des Metallatoms. Gerichtete Wasserstoffbrückenbindungen begünstigen dabei die Selbstorganisation zu geschlossenen sphärischen Molekülen. Durch die entstandenen Hohlräume (Kavitäten), die in großen Molekülstrukturen vorliegen, können die Moleküle nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip reversibel gebunden werden. Die Größe bzw. Gestalt des Gastes ist komplementär zu der des Wirts, d.h., die Geometrie und der elektronische Charakter des Gastes und des Hohlraums des Wirts müssen übereinstimmen. Der Wirt kann auf diese Weise unter verschiedenen Substanzen seinen Gast erkennen (molekulare Erkennung) und selektiv binden. Dabei kann der Gast ein einfaches Molekül wie Kohlenmonoxid oder ein kompliziertes Molekül wie ein Pheromon sein.

Die zielgerichtete Synthese von Supramolekülen mit geeigneten Kavitäten ist eine der Ziele und zugleich eine der großen Herausforderung für die Supramolekulare Chemie, wodurch die Sensitivität und Selektivität der chemischen Sensoren beträchtlich erhöht werden kann. Molekulare Sensoren zu entwickeln, d.h. Verbindungen, die sowohl die Aufgabe der molekularen Erkennung als auch der Signalgebung erfüllen, stellen ebenfalls ein Teilgebiet der supramolekularen Chemie, nämlich der „Semiochemie“, dar.

Die Supramoleküle fungieren dabei als photochemische oder elektrochemische Sensoren. Ein Beispiel sind die sog. Fluorophore, die bereits kommerziell verwendet werden und selektiv mit Zinkionen in Gegenwart von Alkali- und Erdalkalimetallen reagieren.

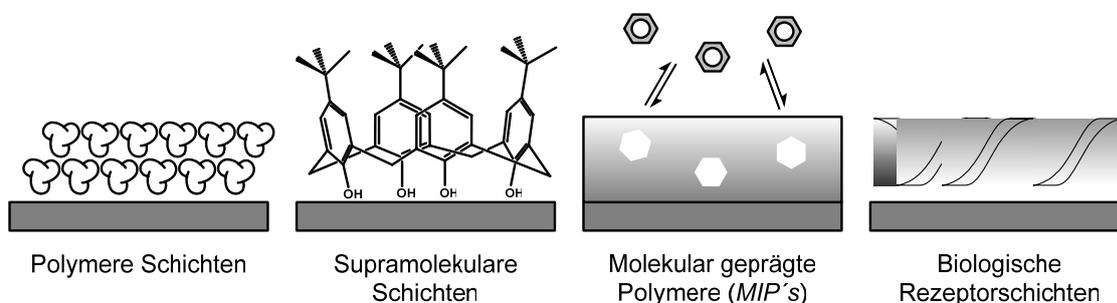


Abbildung 5.1: Beispiele für die Strukturvielfalt der sensoraktiven Schicht bei chemischen Sensoren.

Es gibt zahlreiche Untersuchungen von Supramolekülen als chemische Sensoren. Neben den klassischen Polymeren wie z.B. PVC, die als unselektiv gelten, sind Polymerschichten mit substituierten supramolekularen Einheiten zu nennen. Sie weisen im Vergleich zu den Polymerschichten aufgrund ihrer supramolekularen Passform, wie z.B. durch Ausbildung von „Kelchen“, eine erhöhte Selektivität auf. Eine weitere Selektivitätssteigerung erreicht man bei den Polymeren durch eine molekulare Prägung der Polymerschicht. Durch die gezielte Polymerisation um das Zielmolekül und das anschließende Herauslösen entstehen maßgeschneiderte Kavitäten für einen bestimmten Analyten. Die Selektivität dieser *Molecular Imprinted Polymers (MIPs)* wird nur noch von den sog. Biopolymeren übertroffen, die mit biologischen Rezeptoren modifiziert sind und somit definierte „Schlüssel-Schloss-Wechselwirkungen“ eingehen können.

Eine wichtige Gruppe von supramolekularen Wirtsmoleküle, die als sensitive Schicht im Bereich der gravimetrischen Sensoren untersucht wurden, sind die Cyclodextrine. Es handelt sich dabei um zyklische Oligosaccharide, die aus sechs bis acht 1,4-glykosidisch verknüpften D-Glucopyranosid-Einheiten aufgebaut sind. Der Innenraum des Cyclodextrinrings ist hydrophob, die Außenseite dagegen hydrophil, weshalb Cyclodextrine gut wasserlöslich sind und in ihrem Inneren z.B. Moleküle mit aromatischem Grundgerüst aufnehmen können. In der Pharmazie werden Cyclodextrine als Lösungsvermittler eingesetzt, um schlecht lösliche Arzneimittel molekular zu verkapseln. Eine weitere Gruppe von supramolekularen Wirtsmolekülen sind die Calixarene, die sich vielfältig funktionalisieren lassen, wodurch eine geeignete Wirt-Gast-Beziehung resultiert.

Des Weiteren wurden ebenfalls Dendrimere als sensitive Schichten untersucht.^[101, 102] Bei Dendrimeren handelt es sich um dreidimensionale, hoch geordnete oligomere Supramoleküle mit konzentrisch um einen Kern angeordneten Generationen von Wiederholungseinheiten. Sie bestehen häufig aus identischen Bausteinen und bilden ein regelmäßiges Verzweigungsmuster, das in zahlreichen Kettenenden an der Oberfläche des Teilchens mündet. Charakteristisch für diese neue Art von Supramolekülen ist neben ihrem hochsymmetrischen, schichtartigen Aufbau ihre globuläre Form, die viele Hohlräume besitzt.

5.2 Porphyrine und Metalloporphyrine

Die Porphyrine stellen eine der wichtigsten natürlich vorkommenden Substanzklassen dar, der in einer Vielzahl von Stoffwechselfvorgängen lebender Organismen eine Schlüsselrolle zukommt. Aufgrund ihrer großen biochemischen Relevanz wie auch ihre außergewöhnlichen optischen Eigenschaften werden sie am treffendsten durch Battersby's Charakterisierung als „pigments of life“ bezeichnet^[103]. Die wichtigsten Beispiele sind die Chlorophylle, welche den wesentlichsten Bestandteil des photochemischen Reaktionszentrums der Pflanzen und Bakterien darstellen, und der rote Blutfarbstoff Häm, der den Sauerstofftransport im Blut der Wirbeltiere ermöglicht. Andere Naturstoffe auf Porphyrin-Basis sind Vitamin B12, die sauerstoffübertragenden Proteine der Gruppe der Cytochrome und das Coenzym F430, welches im Methanstoffwechsel anaerober Bakterien eine wichtige Rolle spielt.

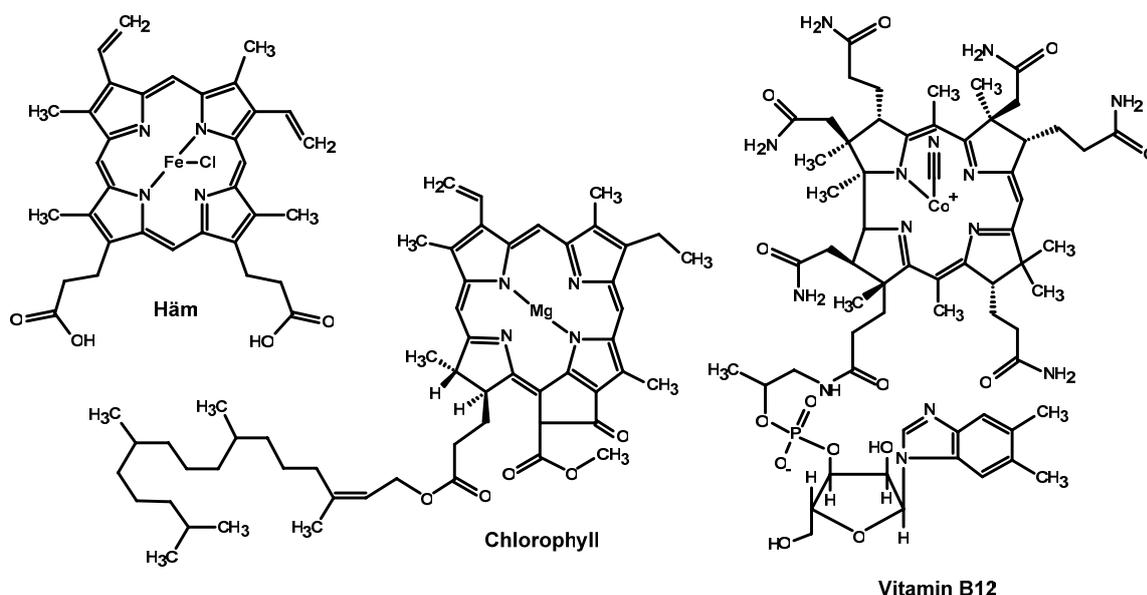


Abbildung 5.2: Einige Strukturen der wichtigsten Porphyrine, die bei den Stoffwechselfvorgängen in lebenden Organismen eine Schlüsselrolle spielen.

Porphyrine sind Derivate der Stammverbindung Porphin mit der Zusammensetzung $C_{20}H_{14}N_4$. Ein Porphyrin-Ring besteht aus vier Pyrroleinheiten, die miteinander durch Methinbrücken ($-CH=$) cyclisch verknüpft sind. Der Name Porphyrin stammt aus dem griechischen Wort *porphýra* und bedeutet Purpur.

Die Nomenklatur der Substanzen, die vier Pyrrol oder pyrrolähnliche Ringe enthalten, die über Kohlenstoff- oder Stickstoffbrücken miteinander verbunden sind, werden nach den Richtlinien der IUPAC^[104] als Tetrapyrrole bezeichnet. Im Allgemeinen werden die Positionen 5, 10, 15, 20 als *meso*-Position (C_m), die Positionen 2, 3, 7, 8, 12, 13, 17, 18 als β -Position (C_β) und die Positionen 1, 4, 6, 9, 11, 14, 16, 19 als α -Position (C_α) bezeichnet.^[105] Den Grundkörper mit den beiden Wasserstoffatomen (21, 23) am Stickstoffatom, bezeichnet man als freie Porphyrinbase.

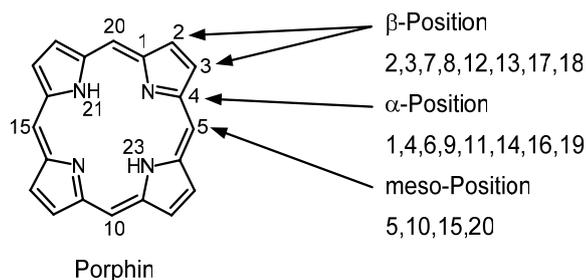


Abbildung 5.3: Nomenklatur von Porphyrin-Ringen.

Wegen der unterschiedlichen Positionen (α -, β - und *meso*-Positionen) werden Porphyrine grundsätzlich in drei verschiedene Klassen unterteilt:

- β -substituierte Porphyrine, wobei die R^2 -Gruppen mit Alkyl- oder Arylsubstituenten und die R^1 -Gruppen mit Wasserstoff substituiert sind.
- *meso*-substituierte Porphyrine, wobei die R^1 -Gruppen Alkyl- oder Arylsubstituenten tragen.
- Dodekasubstituierte Porphyrine, wobei alle R^1 - und R^2 -Gruppen substituiert sind.

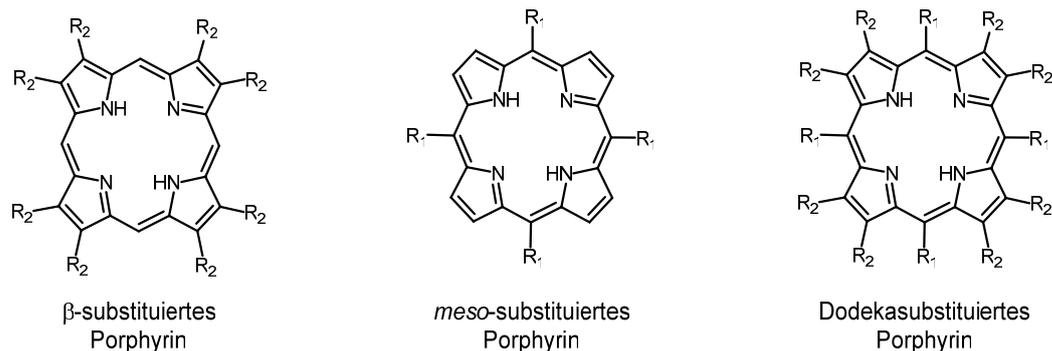


Abbildung 5.4: Struktur der in α -, β - und meso-Positionen substituierten Porphyrine.

Die Grundstruktur des Porphyrins wird in der Natur durch partielle Hydrierung, Metallkomplexierung und Verknüpfung mit anderen funktionellen Gruppen derart variiert, dass Verbindungen entstehen, die an spezifische Aufgaben im Metabolismus angepasst sind. Die Porphyrine bilden sehr leicht stabile Metallkomplexe, die sog. Metalloporphyrine. Diese sind wie zuvor erwähnt, vor allem biochemisch von elementarer Bedeutung (z.B. Bakteriochlorophylle, Chlorophyll, Hämin, Vitamin B12). Dabei ist die einzig mögliche Koordinationsstelle die Mitte des Porphyrin-Ringes.

An die Seite der natürlich vorkommenden Porphyrine, die seit fast einem Jahrhundert Gegenstand interdisziplinärer Forschung sind, tritt in jüngster Zeit eine große Zahl synthetisch hergestellter, porphyrin-ähnlicher Moleküle. Eine Übersicht über die Vielfalt neuartig synthetisierter Verbindungen, die sich formal aus dem Stammsystem Porphin ableiten lassen, ist in Abbildung 5.5 dargestellt. Sie stellt nur einige der wichtigsten Entwicklungstrends der Porphyrinchemie dar. Als Oberbegriff für die gesamte Klasse dieser polypyrrolischen Makrozyklen wurde - in Analogie zur Bezeichnung anderer Stoffgruppen wie z.B. den Alkaloiden - der Ausdruck Porphyrinoide geprägt.^[106]

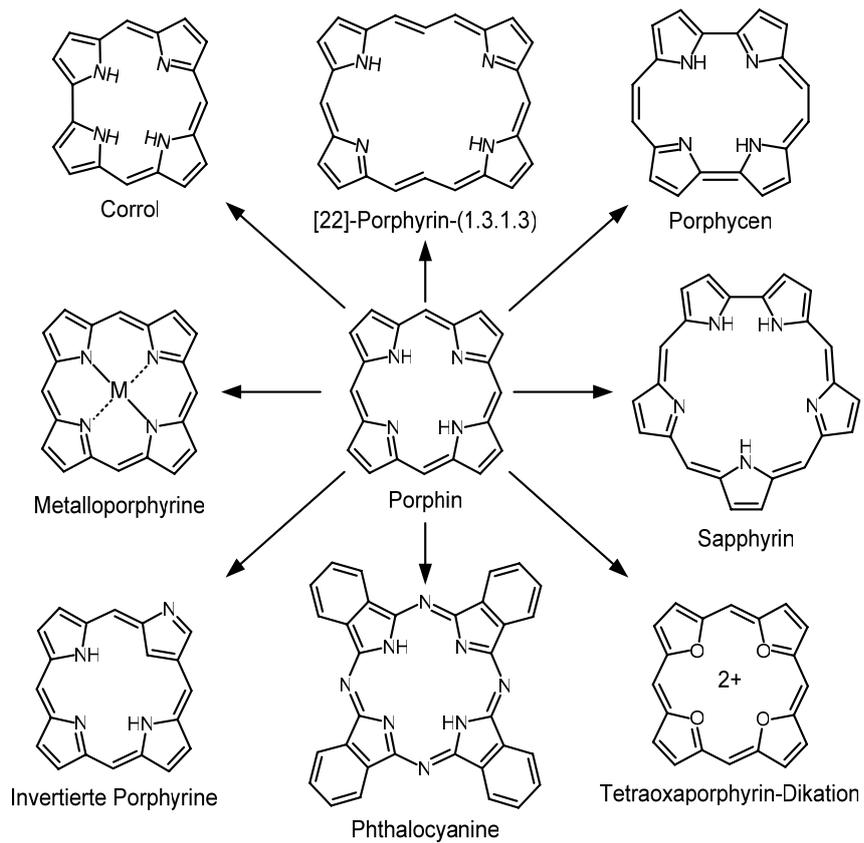


Abbildung 5.5: Übersicht über die Vielfalt neuartig synthetisierten Verbindungen, die sich formal aus dem Stammsystem Porphin ableiten lassen.

5.3 Chemische Eigenschaften der Porphyrine und Metalloporphyrine

Der Porphyrin-Ring ist ein vollständig konjugiertes π -Elektronensystem. Er besitzt insgesamt 22 π -Elektronen, wovon nur 18 cyclisch delokalisiert sind. Damit erfüllt das Porphyrinsystem die $(4n+2)$ -Hückel-Regel der Aromatizität und ist als Diaza-[18]-annulen zu verstehen. Neuere molekülmechanische Rechnungen zeigen ebenfalls die Ausbildung eines so genannten aromatischen „inneren Kreuzes“, ein 18 π -Elektronensystem aus 16 Atomen und 4 Pyrrol-Ringen an dessen Peripherie.^[107]

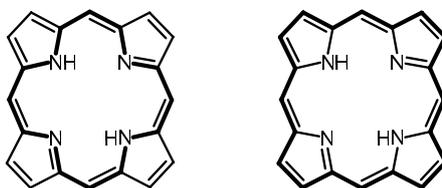


Abbildung 5.6: Beschreibung von Porphyrin als [18]Annulen-Derivat (rechts) und als makrocyclisches inneres Kreuz mit vier Pyrrolringen (links).

Im freien Porphyrin-Liganden tragen zwei der vier Pyrrol-Ringe am Stickstoff ein H-Atom, das zum aromatischen System gehört. Die Aromatizität und damit das Diaza[18]annulen kann auch durch $^1\text{H-NMR}$ bewiesen werden. Der Ringstromeffekt hat wie beim Benzen eine Tieffeldverschiebung der äußeren Protonen zur Folge, die bei $\delta(\text{H}) = 8$ bis 10 ppm zu sehen ist. Dagegen werden die inneren NH-Protonen sehr stark abgeschirmt und erscheinen im Bereich von $\delta(\text{H}) = -4$ bis -2 ppm.^[108] Die NH-Tautomerie ist ein dynamischer intramolekularer Prozess, der bei allen Porphyrinen beobachtet wird. Sie gehört zu den am besten untersuchten Themengebieten der Porphyrinchemie. Der Mechanismus dieser Konvertierung war und ist das Thema zahlreicher NMR-Untersuchungen und theoretischer Studien. Durch spektroskopische und Röntgenstrukturanalytische Methoden konnten bisher vier Formen nachgewiesen werden. Dabei sind die beiden *trans*-NH-Tautomere aus sterischen Gründen favorisiert.

Porphyrin und seine Derivate sind amphoter. Daher werden die beiden H-Atome zwischen den vier Stickstoff-Atomen durch eine hohe Mobilität gekennzeichnet. Diese Tautomerie tritt sowohl in Lösung als auch im festen Zustand auf. Die Basizität von Porphyrin (PorH_2), die häufig als „metallfreie Porphyrinbase“ bezeichnet wird, führt bei der Protonierung durch Säuren zum stabilen Dikation (PorH_4^{2+}). Der Säurecharakter von Porphyrin manifestiert sich in der Abgabe zweier Protonen bei der Bildung von Metalloporphyrinen.^[109]

Das Porphyringerüst ist thermodynamisch sehr stabil; dementsprechend ist die Funktionalisierung an einem schon gebildeten Porphyrinsystem äußerst schwierig. Oft ist es zweckmäßig, die gewünschten funktionellen Gruppen schon vor der Cyclisierung einzuführen. Der aromatische Charakter der Porphyrine spiegelt sich auch in ihrer Reaktivität wieder. Die Porphyrine sind im Allgemeinen elektronenreiche Heteroaromaten. Analog zu den Aromaten wie Benzen können bei den Porphyrinen elektrophile Substitutionen (Halogenierung, Nitrierung, Acylierung, Sulfonierung, Formylierung, Deuterierung) durchgeführt werden.^[110] Hierbei stehen ebenfalls die *meso*-Positionen und die pyrrolischen β -Positionen für eine elektrophile Substitution zu Verfügung: Dabei besitzen die *meso*-Position aufgrund der besonderen elektrophilen Charakter des Porphyrins an dieser Stelle die größte Reaktivität. Ein nukleophiler Angriff, wie z.B. durch Alkyllithium, ist ebenfalls möglich.^[111] Die zentralen Stickstoff-Atome reagieren leicht mit elektrophilen Reagenzien. Sie können dabei protoniert und metalliert werden.

5.4 Physikalische Eigenschaften der Porphyrine und Metalloporphyrine

Die Farbigkeit ist die herausragende Eigenschaft von Porphyrinen. Die meisten Verbindungen dieser Klasse haben eine rot-violette Farbe. Eines der eindrucksvollsten Kennzeichen der Porphyrine und Metalloporphyrine sind ihre charakteristischen UV/Vis-Spektren, die Absorptionsbanden bis in den Rotbereich zeigen. Im Allgemeinen besteht das Spektrum eines Porphyrins aus einer intensiven Bande im Nah-UV-Bereich, um die 390-425 nm. Sie wird B-Bande oder nach ihrem Entdecker auch Soret-Bande genannt. Bereits 1883 wurde von Soret eine intensive Absorptionsbande bei ungefähr 400 nm für Hämoglobin gefunden. Diese Bande im UV-VIS Spektrum ist charakteristisch für alle Tetrapyrrole mit einem cyclisch konjugierten 18π -Elektronensystem. Im Bereich von 480-700 nm sind bis zu vier weitere schwächere Banden, die so genannten Q-Banden zu finden.

In Porphyrinsystemen liegen starke π - π -Wechselwirkungen vor, die im Falle des Porphins besonders stark ausgeprägt sind. Dieser Fakt wurde bereits in den 60er und 70er Jahren mittels NMR-Spektroskopie von Abraham et al. untersucht.

Aufgrund der starken π - π -Wechselwirkungen zwischen den Porphyrinen, die zu einer Aggregation führen, weisen die meisten Porphyrine eine verminderte Löslichkeit in unpolaren organischen Lösungsmitteln auf. Weiterhin besitzen die Porphyrine und Metalloporphyrine im Vergleich zu anderen organischen Verbindungen extrem hohe Schmelzpunkte von über 250°C.

5.5 Methoden zur Synthese von Porphyrinen und Metalloporphyrinen

Aufgrund der herausragenden Struktur und deren Bedeutung für Modellstudien in verschiedenen Bereichen sind Porphyrine und ihre Derivate ein interessantes Syntheseziel. Obwohl es sich um eine relativ einfache symmetrische Verbindung handelt, ist die Herstellung größerer Mengen in einer kurzen und einfachen Synthese immer noch eine Herausforderung.

Die erste makrocyclische Tetrapyrrol-Struktur wurde 1912 von Küster vorgeschlagen, die jedoch aufgrund der Ringgröße und der damit vermuteten geringen Stabilität keine Akzeptanz fand. Erst Fischer et al. gelang 1926 die Totalsynthese von Hämin aus entsprechend substituierten Pyrrol-Edukten, wodurch diese Struktur bestätigt wurde. Die einfache säurekatalysierte Kondensation von Pyrrolen mit Aldehyden entsprechend den Rothmund- (1935), Adler- (1964) oder Lindsey-Bedingungen (1986) ist für die Synthese funktionalisierter, *meso*-substituierter Porphyrine aufgrund extrem niedriger Ausbeuten nur bedingt geeignet. Durch die säurekatalysierte Kondensation von Pyrrol mit verschiedenen Aldehyden wird eine Mischung unsymmetrisch substituierter Porphyrine erhalten, die chromatographisch getrennt werden müssen. Generell existieren zahlreiche Synthesansätze zur Darstellung von Porphyrinen, die im Folgenden kurz erläutert werden.^[112]

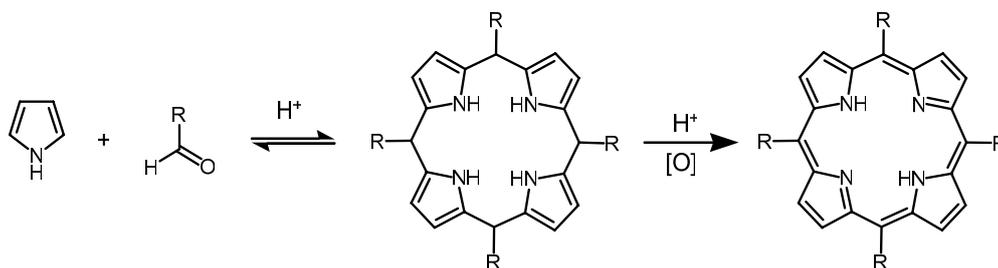


Abbildung 5.7: Allgemeine Strategie zur Synthese funktionalisierter, symmetrischer Porphyrine.

Die wichtigste und effektivste Strategie zur Synthese funktionalisierter, unsymmetrischer Porphyrine ist die MacDonald-Kondensation. Mit dieser säurekatalysierten [2+2]-Kondensation diformylierter oder bis-hydroxymethyl-substituierter Dipyrrylmethane mit α -unsubstituierten Dipyrrylmethanen lassen sich viele komplexe β -substituierte Porphyrine herstellen, wie am Beispiel der Totalsynthese des Häms und des Chlorophylls gezeigt wurde.

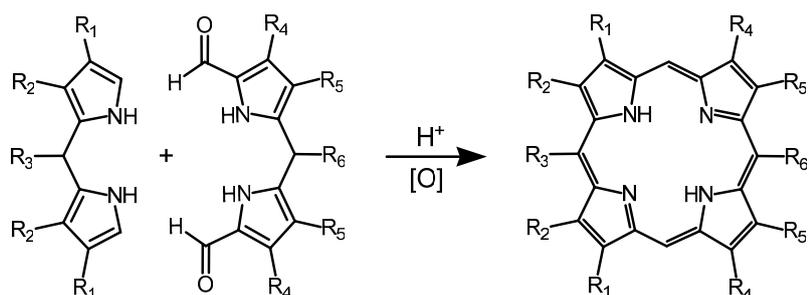


Abbildung 5.8: MacDonald-Kondensation zur Synthese funktionalisierter, symmetrischer Porphyrine.

Die gezielte Synthese von 5,15-dimesosubstituierten Porphyrinen nach dem Prinzip von Rothemund ausgehend von unsubstituierten Dipyrrylmethan und freien Aldehyden gelang 1981 Gunter und Mander.

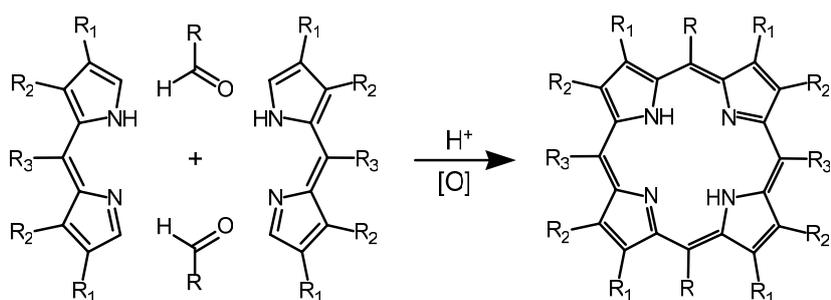


Abbildung 5.9: Synthese von 5,15-dimesosubstituierten Porphyrinen nach dem Prinzip von Rothemund.

Die säurekatalysierte Synthese nach Boudiff und Momenteau gestattet die Herstellung von Porphyrinen mit definiertem Substituentenmuster. Diese [3+1]-Kondensation eines Pyrrol-2,5-dialdehyds mit Tripyrran (2,5-Bis-[(pyrrol-2-yl)methyl]pyrrol) erfolgt über Porphyrinogene. Bei dem [3+1]-Ringschluss sind nur sehr wenige Nebenreaktionen zu beobachten.

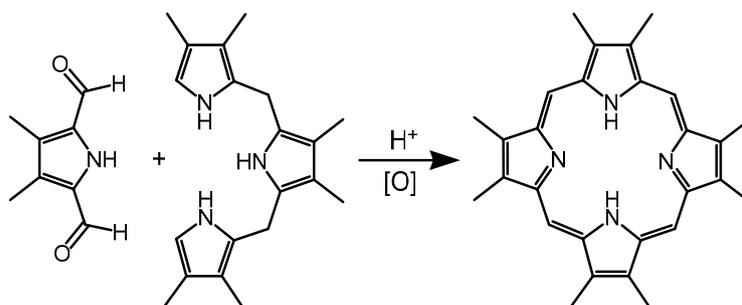


Abbildung 5.10: Synthese von Porphyrinen mit definiertem Substituentenmuster nach Boudiff und Momenteau.

Die Synthese von β -substituierten Porphyrinen mit einem völlig unsymmetrischen Substituentenmuster ohne Nebenprodukte gelingt über den schrittweisen Aufbau eines linearen Tetrapyrrols mit anschließender oxidativer Cyclisierung. Die als Biladiene bekannten Tetrapyrrole sind beispielsweise durch Kondensation von zwei Äquivalenten substituierter 2-Formylpyrrole und einem α, α' -unsubstituierten Dipyrrylmethan zugänglich.

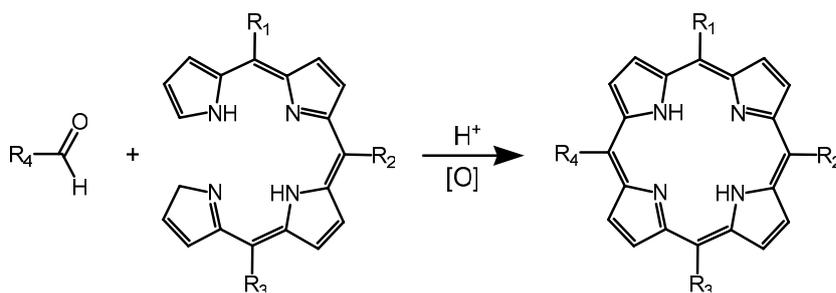


Abbildung 5.11: Synthese von β -substituierten Porphyrinen mit einem völlig unsymmetrischen Substituentenmuster.

5.6 Anwendungen der Porphyrine und Metalloporphyrine

Die Studien über die makrocyclischen Tetrapyrrolysysteme gelten als wichtiges Forschungsgebiet im Grenzbereich zwischen Chemie, Physik, Biologie und Medizin. Eine wesentliche Triebkraft für die Synthese neuartiger Porphyrinoide sind die zahlreichen Anwendungsfelder, die diese Verbindungen im Bereich der Materialwissenschaften und der Medizin besitzen.

Als technische Anwendungen sind organische Leiter^[113], Elektrodenüberzüge^[114], als organische Solarzellen in der Photovoltaik^[115], Flüssigkristalle^[116] und optische Speichermedien^[117] zu nennen. Im medizinisch-pharmazeutischen Bereich kommen Porphyrinoide vor allem in der photodynamischen Therapie von Tumoren und Hauterkrankungen^[118] zum Einsatz. Weiterhin finden Porphyrinoide bei der Katalyse chemischer Reaktionen Verwendung^[119]. Abgesehen von ihrem großen Potential in Bezug auf Anwendungen in Technik und Medizin, sind die Porphyrinoide auch für die Grundlagenforschung von wesentlichem Interesse, weil etliche dieser Substanzen geeignete Modellsysteme zur Untersuchung einer Vielzahl biologisch-chemischer und physikalischer Phänomene darstellen.

5.7 Porphyrine und Metalloporphyrine als sensoraktive Substanzen

Die ersten Untersuchungen von Porphyrinen und Metalloporphyrinen als sensoraktive Schichten auf Basis von Schwingquarzwaagen wurden von D'Amico und Paolesse durchgeführt.^[120-124] Dabei haben sie sich als stabile Verbindungen mit guter Sensitivität herausgestellt. Diese Verbindungen sind inzwischen gut charakterisiert und lassen sich leicht durch diverse Substituenten modifizieren.

Dadurch entstehen neue Verbindungen mit einer großen Strukturvielfalt. Dabei erfolgt die Wechselwirkung der Porphyrine mit den Analyten durch die Bildung eines Koordinationskomplexes oder durch die Adsorption aufgrund der van-der-Waals-Kräfte.

Infolge des aromatischen Charakters zeigen die Porphyrine und Metalloporphyrine besondere Absorptions- bzw. Lumineszenz-Eigenschaften, die sowohl vom Substituenten als auch von dem Metall abhängig sind. Aufgrund dieser physikalisch-chemischen Eigenschaften werden sie meist in den optischen Sensoren eingesetzt. Beispiele sind ein Lumineszenz-Sensor^[125] zur Detektion von Sauerstoff sowohl in der Gas- als auch in der Flüssigphase. Dieser enthält eine Polymer-Schicht, welche mit einem Metalloporphyrin als Donor-Akzeptor-Paar als Luminophor beschichtet ist. Weiter Beispiele sind optische Sensoren auf der Basis von oxidativen Enzymen, die zur Detektion von Blutkomponenten eingesetzt werden und optochemische Sensoren zur Detektion von Schwemetallen, die im UV-Vis-Bereich arbeiten.

Als gassensitive Schichten werden die Porphyrine und Metalloporphyrine ebenfalls erfolgreich eingesetzt. Zum Beispiel in Halbleiter- und Amperometrische Sensoren, Potentiometrische Sauerstoff-Sensoren^[125] und Anion-Sensoren, die mit Zink-Metalloporphyrin funktionalisierten Nanopartikeln als sensitive Schicht arbeiten.

5.8 Eingesetzte Porphyrine und Metalloporphyrine

Die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Porphyrine und Metalloporphyrine wurden von der Firma Porphyrin Systems GmbH bezogen. Bei der ersten Gruppe handelt es sich um *meso*-substituierte Porphyrine, wobei die R¹-Positionen die entsprechenden Benzyl- bzw. Pyridinyl-Substituenten tragen. Aufgrund der Übersichtlichkeit wurden die Porphyrine jeweils mit einer Nummer versehen. Eine vollständige Bezeichnung der Porphyrine befindet sich im Anhang.

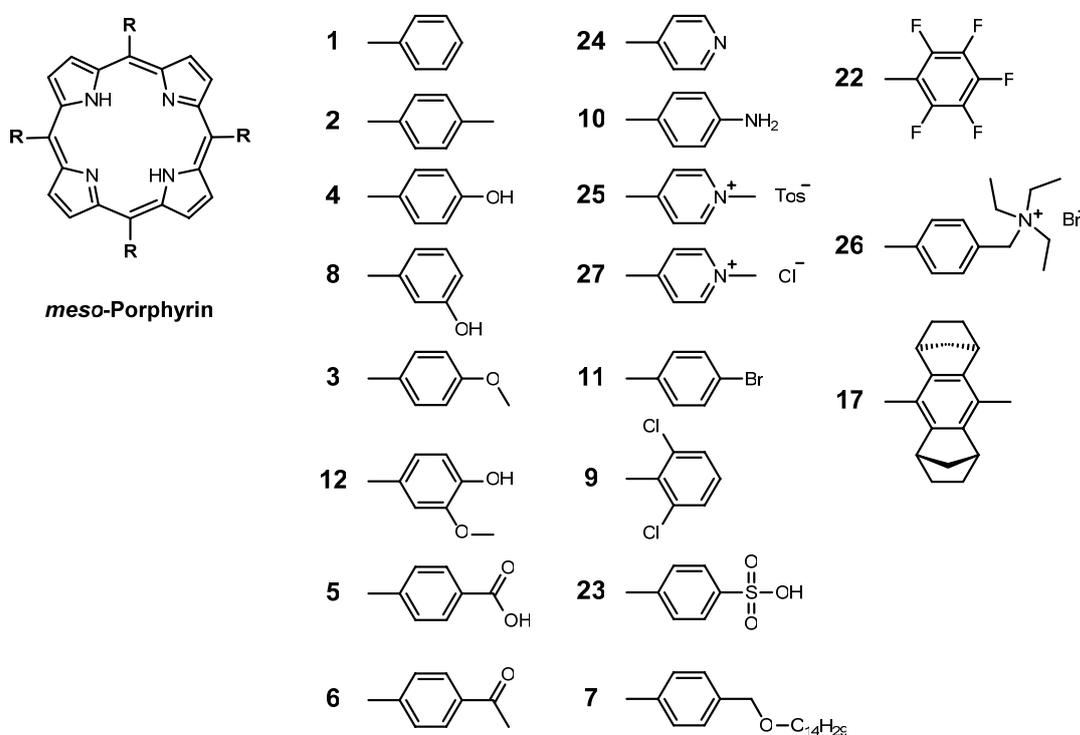


Abbildung 5.12: Übersicht der untersuchten *meso*-substituierten Porphyrine.

Weiterhin sind *meso*-substituierte Metalloporphyrine mit denselben Substituenten eingesetzt worden, um den Einfluss des Metallkerns auf die Sensivität bzw. Selektivität zu untersuchen.

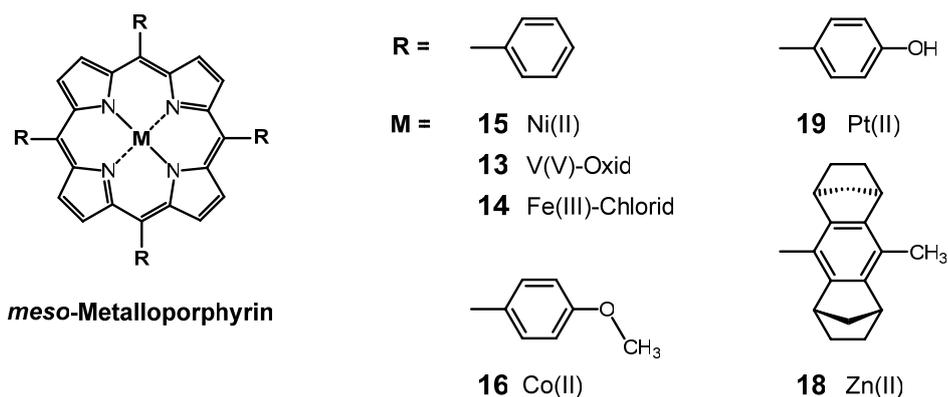


Abbildung 5.13: Übersicht der untersuchten meso-substituierten Metalloporphyrine.

Als β -substituierte Porphyrine wurden die folgenden Verbindungen untersucht, wobei die R^2 -Positionen mit Ethyl-Substituenten und die R^1 -Gruppen mit Wasserstoff substituiert sind. Als Metallatom fungiert dabei im Metalloporphyrin ein Ru(III)-Carbonyl-Komplex.

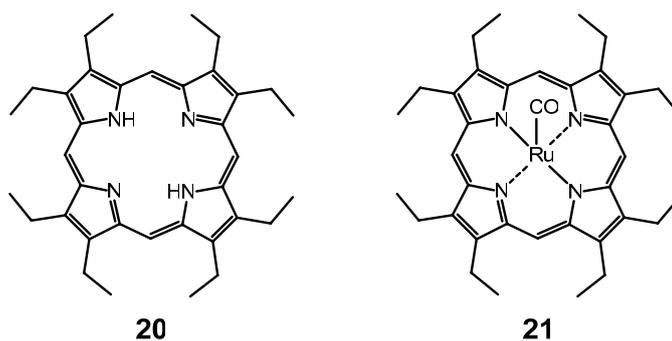


Abbildung 5.14: Übersicht der untersuchten β -substituierten Porphyrinen bzw. Metalloporphyrine.

6 Multivariate Datenanalyse

Das Ziel der Gas-Sensorik ist der Aufbau kostengünstiger Messapparaturen, um mittels geeigneter Sensoren eine qualitative und/oder quantitative Analyse z.B. eines bestimmten Gases oder Gasgemisches zu ermöglichen. Die Kombination verschiedenartiger Sensoren zu sog. Sensor-Arrays ermöglicht dabei die Entwicklung von preisgünstigen, allgemein einsetzbaren Messgeräten. Diese bestehen in der Regel aus nicht vollständig selektiven Sensoren für eine bestimmte Substanz oder Substanzgruppe, sondern sie nutzen meist Querempfindlichkeiten aus, die für die meisten Analysemethoden eine eher unerwünschte Eigenschaft darstellen.

Der Versuch, die komplexen Zusammenhänge, die aufgrund der Querempfindlichkeiten der einzelnen Sensoren auftreten, mathematisch exakt zu beschreiben, scheitert an der großen Anzahl von Einflussfaktoren und deren meist unzureichenden Beschreibungen. So leistungsfähig auch manche diese Sensoren sind, so problematisch ist auch ihre Auswertung. Aber gerade die mangelnde Selektivität der Sensoren wird hierbei zu einer erwünschten Eigenschaft, da nur in diesem Fall mit Hilfe der multivariaten Datenanalyse die gleichzeitige Bestimmung einer Anzahl von Komponenten möglich ist, die die Anzahl der Sensoren übersteigt. Damit entstehen neue Herausforderungen in Bezug auf die Auswertung der Messungen und die Bewertung und Interpretation von Analyseergebnissen.

Die Aufgabe der multivariaten Datenanalyse besteht nun darin, aus der Datenbasis für eine konkrete Fragestellung relevante Informationen zu gewinnen. Die erhaltenen Informationen müssen jedoch anhand der Messwerte überprüft und gegebenenfalls verifiziert werden. Hierzu steht eine Vielzahl von überwachten und unüberwachten Methoden zur Verfügung, deren Auswahl von der zu behandelnden Fragestellung bestimmt wird.

Um die multivariate Analyse besser zu verstehen, bedienen wir uns einer Analogie aus der Natur. Die menschlichen Sinnesorgane besitzen eine erstaunliche Fähigkeit, komplexe Reihen von Merkmalen, wie Formen, Farben, Gerüche, Geschmack usw. zu klassifizieren. Besonders deutlich wird das unter anderem beim Vergleich von Gesichtern. Dabei werden die sofort wahrgenommenen markanten Unterschiede nicht auf einzelne Merkmale wie Nasenlänge oder Mundbreite reduziert, sondern beruhen auf nicht direkt messbaren sog. *latenten Charakteristika*, die man als gewichtete Mischungen der messbaren Merkmale auffassen kann. Analoges gilt für die multivariate Datenanalyse. Vereinfacht gesprochen beschäftigt sich die multivariate Datenanalyse mit der Systematisierung von Merkmalmustern^[126]. Dazu wird durch simultane Bestimmung von mehreren Eigenschaften, wie in diesem Fall durch Frequenzänderungen durch ein massensensitives Sensor-Array, dem Untersuchungsobjekt ein „Fingerabdruck“ von Merkmalen zugeordnet, der mittels einer graphischen Darstellung eine bequeme Art der Auswertung oder Interpretation gestattet. Die Problematik soll anhand des folgenden Beispiels erläutert werden.

Bei der Untersuchung der flüchtigen Verbindungen der Trüffeln mit Hilfe der Porphyrine und Metalloporphyrine als sensitive Schichten entsteht eine 22x13-Matrix, bestehend aus 22 Objekten (Porphyrinen und Metalloporphyrinen) und 13 Variablen (Analyten). Um sich bei einer solchen Problemstellung einen Überblick zu verschaffen, scheint es ganz natürlich, auf gewohnte Auswertevarianten, wie die Anfertigung von Histogrammen, Sternenplots oder Elementardiagrammen, zurückzugreifen. Die Histogramme und Sternenplots werden mit zunehmender Anzahl der Objekte und/oder Variablen sehr schnell unübersichtlich und eignen sich somit nicht für eine Gesamtdarstellung des Datensatzes. Etwas einfacher ist die Anfertigung von Elementardiagrammen in Form von Objekt- oder Variablendarstellung.

Diese Darstellungsformen erfassen jedoch nur einen geringfügigen Ausschnitt der im gesamten Datensatz verborgenen Struktur. Natürlich können fehlende Informationen durch zusätzliche Diagramme nachgeholt werden, aber in unserem Fall müssten für die Darstellung des gesamten Datensatzes insgesamt 169 Variablendarstellungen und bei einer Objektdarstellungen sogar 484 Diagramme erstellt werden.

Eine vollständige Analyse aller Kombinationen ist damit kaum möglich. Hinzu kommt noch, dass die klassische Herangehensweise durch die begrenzte Dimensionalität des menschlichen Vorstellungsvermögens eingeschränkt ist. Wird unsere dreidimensionale Vorstellungswelt überschritten, sind Methoden der mathematischen Datenanalyse erforderlich, um Inhomogenität, Variabilität bzw. bestimmte Strukturen in Datensätzen zu erkennen und damit Informationen aus diesen höherdimensionalen Daten zu gewinnen.

Hierbei bietet die multivariate Analyse eine elegante Möglichkeit, mittels geeigneter Rechenmethoden zu einer Systematisierung der Musterstruktur zu gelangen, wobei als Resultat eine 2- oder 3-dimensionale graphische Darstellung der wesentlichen Struktur eines Datensatzes entsteht. Um einen möglichst einfachen Zugang zu den multivariaten Verfahren zu erhalten, wird hierbei der explorative Aspekt der Datenanalyse in den Vordergrund gestellt. Die schnelle graphische Darstellung der hauptsächlichen Datenstruktur ist ein wichtiges Hilfsmittel zur Ableitung von Hypothesen aus den Messwerten. Die im Rahmen dieser Arbeit benutzten Methoden der unüberwachten Klassifikation sind die Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis), Clusteranalyse (Cluster Analysis) und Kohonens Selbstorganisierende Karte (Self Organizing Map), die im Folgenden kurz erläutert werden.

6.1 Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis)

Unter einer Hauptkomponente versteht man eine optimale Linearkombination, d.h. eine gewichtete Summe der ursprünglichen Messdaten. Linearkombinationen sind neue, künstliche Variablen, die selbst nicht messbar sind, sondern sich aus den gemessenen Variablen errechnen lassen. Dabei bilden die Hauptkomponenten neue statistische Variablen mit günstigen Eigenschaften, die sich vorteilhaft für andere Klassifikationsverfahren wie z.B. Clusteranalyse verwenden lassen.^[126] Der wesentliche Vorteil der Hauptkomponenten im Vergleich zu den Ausgangsvariablen ist, dass sie mehr Informationen als jede einzelne Ausgangsvariable erhalten.

Dadurch erfolgt eine Reduktion des Variablenraums auf 2- oder 3-Dimensionen ohne dabei wesentlich an Information zu verlieren. Gesucht wird folglich eine Anordnung der Variablen als Punkte in einem r -dimensionalen Unterraum, so dass die Skalarprodukte dieser Punkte, aufgefasst als Vektoren, möglichst gut die Kovarianzen bzw. Korrelationen der entsprechenden Variablen reproduzieren.

Das numerische Problem bei einer Hauptkomponentenanalyse stellt dabei die Bestimmung der Eigenvektoren und Eigenwerte der Kovarianz- bzw. Korrelationsmatrix des Datensatzes bei vorausgegangener Zentrierung bzw. Standardisierung dar. Die Komponenten der normierten Eigenvektoren erhalten die gesuchten optimalen Gewichte der Ausgangsvariablen der jeweiligen Hauptkomponente. Mit Hilfe der Eigenvektoren lassen sich die Koordinaten der Objekte und Variablen in einem Hauptkomponenten-Diagramm berechnen, dessen Interpretation der Mittelpunkt der graphischen Analyse eines Datensatzes darstellt. Die Eigenwerte geben dabei die Varianz oder Streuung an, die durch diese Hauptkomponenten repräsentiert werden.

Die Hauptkomponentenanalyse beruht formal auf der Zerlegung einer Datenmatrix X in zwei Matrizen V und U , die orthogonal zueinander sind. Die Matrix V wird als *Loadings-Matrix*, die Matrix U als *Score-Matrix* bezeichnet. *Loadings* können als Gewichte der Originalvariablen verstanden werden, um die Hauptkomponenten zu berechnen. Die Matrix U enthält die originalen Daten im modifizierten Haupt-Koordinatensystem. Die Interpretation der Hauptkomponenten-Darstellung erfolgt hierbei subjektiv. Die Punkte, die nahe beieinander liegen, weisen jeweils ähnliche Eigenschaften auf, während entfernte Punkte folgerichtig unterschiedliche Merkmale besitzen.^[127]

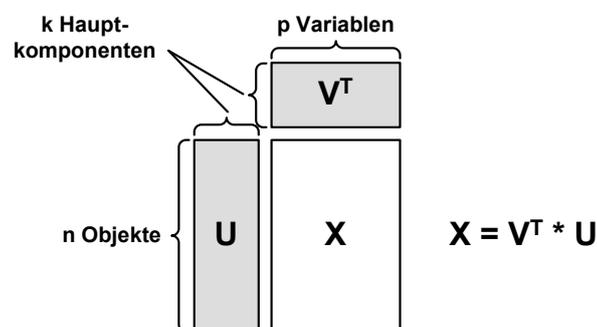


Abbildung 6.1: Zerlegung einer Datenmatrix X in Loadings- und Score-Matrix.

6.2 Die Clusteranalyse

Die Clusteranalyse dient der Unterteilung der Objektmenge eines Datensatzes in homogene Klassen, sog. Cluster innerhalb derer alle Objekte ähnliche Variablenmuster aufweisen, während sich die Muster von Objekten verschiedener Klassen deutlich unterscheiden. Im Gegensatz zur Hauptkomponentenanalyse, wo eine Gruppierung der Objekte bzw. Variablen subjektiv bei der Interpretation der Hauptkomponenten-Darstellung vorgenommen wird, erfolgt sie bei der Clusteranalyse objektiv nach unterschiedlichen, für die jeweilige Methode spezifischen Kriterien, die alle auf dem Abstands begriff basieren.

Bezeichnung	Bemerkung
Euklidische Distanz	Geometrischer Abstand
Quadrierte Euklidische Distanz	Stärkere Wichtung weiter entfernter Objekte
Manhattan-Distanz	Gleiche Abstände liegen auf einem Rechteck
Tschebyscheff-Distanz	Nur Variable mit max. Differenz werden berücksichtigt
1-Pearsonsche-Distanz	Maß für Unähnlichkeit

Tabelle 6.1: Einige Methoden zum Abstandsberechnung bei einer Clusteranalyse.

Dabei gibt es zwei verschiedene Vorgehensweisen. Bei der divisiven Clusterung wird die Aufspaltung der Objektmenge von oben nach unten konstruiert. Bei der agglomerativen Clusterung wird mit jedem Einzelobjekt beginnend durch Fusion passender Objektgruppen das Dendrogramm von unten nach oben aufgebaut. Das Ziel der Clusteranalyse ist die Ermittlung einer überzeugenden Clusterzahl und Bestimmung der Clusterzusammensetzung.^[127] Bei der in dieser Arbeit verwendeten Methode handelt es sich um die hierarchisch agglomerative Clusteranalyse. Sie ist aus der Taxonomie entlehnt, wo biologische Spezies anhand ihrer phänomenologischen Ähnlichkeiten klassifiziert werden und das Ergebnis in Form eines Stammbaumes abgebildet wird.

Dieses Prinzip lässt sich ebenfalls auf die Charakterisierung von Porphyrinen und Metallporphyrinen anwenden, die aufgrund ihrer sensitiven Wechselwirkungen mit den entsprechenden Analyten definiert werden.

Dabei wird die Anordnung in einem Dendrogramm nicht nur zur qualitativen Darstellung der erzeugten Objekthierarchie verwendet, sondern auch zur quantitativen Bewertung dieser Hierarchie. Die Höhe des Zusammenfassungsniveaus zweier Gruppierungen im Dendrogramm kann als Maß ihrer Unähnlichkeit interpretiert werden. Ein solches Zusammenfassungsniveau wird auch als *Index* bezeichnet. Insgesamt ergibt sich eine indizierte (bewertete) Hierarchie, deren graphische Darstellung durch das Dendrogramm erfolgt.

6.3 Die Selbstorganisierende Karte (Self Organizing Map)

Wie bereits erwähnt, ist der Mensch, oder besser gesagt das Gehirn, auf dem Gebiet der Mustererkennung (Pattern Recognition) einem Computer weit überlegen. Dabei wird bei den künstlichen Neuronalen Netzen für bestimmte Anwendungen eine Anlehnung an Gehirnmodelle der Neurobiologie angestrebt^[128].

Das Gehirn besteht aus einer Vielzahl unterschiedlicher Neuronen, die über Synapsen mit den Dendriten anderer Neuronen verbunden sind. Der Signaltransfer zwischen den Nervenzellen über Synapsen ist ein komplexer chemischer Prozess, in dem spezielle Neurotransmitter an die benachbarten Neuronen ausgeschüttet werden. Das Resultat ist eine Veränderung des elektrischen Ruhepotentials eines Neurons, das bei der Überschreitung einer Schwelle ein Aktionspotential sendet - d.h. das Neuron feuert. Analoges gilt für die künstlich neuronalen Modelle. Ein Neuron liefert dann einen Ausgangswert, wenn die gewichtete Summe der synapthischen Ausgänge der Vorgängerneuronen eine Schwelle überschreitet.

Die einzelnen Neuronen sind in Schichten angeordnet, die über gewichtete Kanten miteinander verbunden sind. Je nach Position des Neurons im Schichtenmodell ist dieses von unterschiedlichem Typ, d.h. Eingabeneuron, Ausgabeneuron oder verdecktes Neuron. Wenn ein Neuron i durch eine Eingabe ein anderes Neuron j aktiviert, erhöht sich dabei das Gewicht G , d.h. die Stärke der Verbindung von Neuron i zum Neuron j .

Die Stärke der Gewichtsänderung ΔG , d.h. die Lernrate α , wird dabei von der Ausgabe des Neurons i und die Aktivierung des Neurons j bestimmt. Im Laufe des Lernprozesses nimmt die Lernrate ab, das künstliche neuronale Netz stumpft mit zunehmender Dauer des Lernvorgangs auf die äußeren Reize ab.

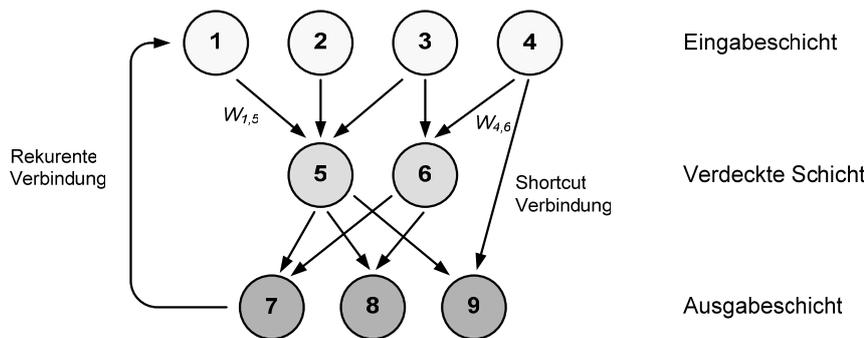


Abbildung 6.2: Schematischer Aufbau eines Neuronales Netzes.

Donald O. Hebb formulierte diesen Ablauf in einer Lernregel, welche die Grundlage für die meisten komplizierten Lernregeln neuronaler Netze bildet:

$$\Delta G_{ij} = \alpha(t) \text{ Ausgabe}_i(t) \text{ Aktivierung}_j(t)$$

$$G_{ij}(t+1) = G_{ij}(t) + \Delta G_{ij}(t)$$

Die künstlichen Neuronales Netze werden nach der Art des Ablaufs des Lernvorgangs unterschieden. Kohonens Selbstorganisierende Karte, die erstmals 1981 veröffentlicht wurde, gehört zu den unüberwacht lernenden neuronalen Netzen und kann selbstorganisierend nichtlinear klassifizieren. Bei dieser Art des Lernens wird das künstlich neuronale Netz wiederholt mit Daten gefüttert. Dem Netzwerk wird es überlassen, sich selbstorganisierend zu ordnen. Eine festgelegte Lernrate bestimmt dabei die Veränderlichkeit der Neuronen des Netzes. Ziel der Selbstorganisation ist die Generalisierung der Eingabedaten.¹⁷

¹⁷ So lernen Kinder ihre Umwelt verstehen. Sie nehmen viele Reize ihrer Umgebung auf, und ihr Gehirn organisiert sich selbst. Mit zunehmendem Alter nimmt die Lernfähigkeit ab. Im Gehirn sind dann viele generalisierte Modelle der Umwelt gespeichert. So wird ein Gegenstand, der aussieht wie einen Ball, selbst wenn er nie vorher in den entsprechenden Farbe oder Größe gesichtet wurde, als Ball erkannt.

Dieser sehr leistungsfähige Algorithmus besteht aus einem Feld von Neuronen, die in einer Gitterstruktur (Karte) angeordnet sind, wobei jedes Neuron mit seinem direkten Nachbarn verbunden ist. Die Eingabe der Neuronen geschieht in Form von n -dimensionalen Vektoren, die wesentlich mehr Dimension aufweisen, als die der Selbstorganisierenden Karte. Jedes Neuron der Selbstorganisierenden Karte hat als Grunderregung (Ruhepotential) einen Gewichtungsfaktor gleicher Dimensionalität wie der Eingabevektor.

Das Prinzip des Lernvorgangs ist eine Abbildung des n -dimensionalen Eingaberaumes auf die zweidimensionale Karte. Dabei werden benachbarte Vektoren aus dem Eingaberaum auf benachbarte Neuronen auf der Selbstorganisierenden Karte abgebildet. Dieses Prinzip bezeichnet man als Topologieerhaltungsprinzip. Somit stellt die Selbstorganisierende Karte ein leistungsfähiges Klassifizierungswerkzeug dar, mit dessen Hilfe eine Merkmalextraktion durchgeführt werden kann. Die Selbstorganisierende Karte ist eine Verallgemeinerung der oben beschriebenen linearen Hauptkomponentenanalyse. Statt linearer Hauptachsen oder Ebenen (Hauptkomponenten) werden durch die Selbstorganisierende Karte nichtlineare Hyperebenen bestimmt, deren Lage und Orientierung so gewählt wird, dass sich jeder Datenpunkt aus dem Eingaberaum möglichst gut durch einen Punkt der Hyperebene annähern lässt, deren Lage durch die auf den Kartenneuronen gespeicherten Gewichtvektoren bestimmt wird.

Vereinfacht gesprochen führt die topologieerhaltende Abbildung in unserem Fall dazu, dass Porphyrine und Metalloporphyrine oder die untersuchten Safran- bzw. Trüffelproben, die eine ähnliche Frequenzänderung aufweisen, auf der Karte von benachbarten Neuronen repräsentiert werden. Unterschiedliche Porphyrine und Metalloporphyrine sind danach in unterschiedlichen Bereichen der Karte angeordnet und können infolgedessen klassifiziert werden.

7 Experimenteller Teil

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente beinhalten die Beschichtung der Quarze mit den Porphyrinen und Metalloporphyrinen als sensoraktive Schichten sowie die Untersuchung der Wechselwirkungen mit den entsprechenden flüchtigen Verbindungen. Die Beschichtung der Quarze wurde mittels des Elektrospray-Verfahrens durchgeführt. Die Untersuchung der Wechselwirkungen mit massensensitiven Sensoren ist mit einer Multikomponenten Gasmischanlage, bestehend aus einer Anreicherungseinheit und zwei Messzellen, durchgeführt worden. Die Praxismessung der Safran- bzw. Trüffelproben erfolgte mit einer speziell konstruierten Feststoffanlage, die im Arbeitskreis von Prof. Bargon entwickelt wurde.

7.1 Die Multikomponenten-Gasmischanlage

Die Gasmischanlage ist ein System zur Erzeugung von definierten Gaskonzentrationen für die Untersuchung von massensensitiven Sensoren. Diese Untersuchungen können qualitativ oder quantitativ in Form von Eichung oder Validierung erfolgen. Die gesamte Anlage ist modular aufgebaut und besteht im Prinzip aus drei Bereichen.

Die Aufgabe des ersten Bereiches ist die Erzeugung einer definierten Analytkonzentration in der Gasphase (Prüfgas). Dieser Bereich besteht aus vier Bubblerflaschen, die mit den zu analysierenden Analyten gefüllt und zusätzlich mit Rückflusskühlern versehen sind. Die Bubblerflaschen sind durch sog. Mass-Flow-Controller (MFC) der Firma Brooks mit einer Stickstoffquelle verbunden. Der Stickstoff dient dabei als Trägergas. Die Analytkonzentration wird als Volumenkonzentration [ppm], die aus der Stickstoffmenge, welche die Bubblerflasche durchströmt, und dem Dampfdruck des Analyten bei einer konstanten Temperatur, welche durch die temperierten Rückflusskühler gewährleistet ist, vorgegeben.

Nach der Formel von Antoine stellt sich über der Flüssigkeit ein temperaturabhängiger Sättigungsdampfdruck ein. Hierbei ist T die Temperatur des Kryostaten mit dem die Rückflusskühler temperiert werden, A , B und C sind tabellierte Konstanten. Sie stellt demnach die maximale Analytkonzentration in der Gasphase bei einer definierten Temperatur dar und kann nur nach geringeren Konzentrationen variiert werden.

$$\log p = A - \frac{B}{T + C} \quad (7.1)$$

Die Aufgabe des zweiten Bereiches ist die Variation der Konzentrationen durch das Verdünnen des im ersten Bereich erzeugten Prüfgases. Hierbei ist dieselbe Stickstoffquelle durch vier weitere MFC's mit den Rückflusskühlern verbunden. Dabei wird das Prüfgas durch Mischen mit dem Trägergas bei konstantem Gasfluss auf die gewünschte Konzentration nach folgender Mischungsformel eingestellt:

$$c'_p = \frac{c_p \cdot V_T}{V_{Ges.}} \quad (7.2)$$

Dabei ist c'_p die gewünschte Konzentration des Prüfgases, c_p die Konzentration des ursprünglichen Prüfgases, V_T das Volumen des Trägergases und $V_{Ges.}$ der Gesamtfluss.

Die Vermischung geschieht in einem temperierten Rohrstück, das als Mischkammer dient. Dabei ist zu beachten, dass die Länge der Mischkammer nicht zu klein gewählt wird, da sonst eine homogene Mischung des Prüf- und des Trägergases nicht gewährleistet ist. Ferner darf die Temperatur der Mischkammer nicht geringer sein, als die der Rückflusskühler, da sonst eine Kondensation des Analyten in der Mischkammer erfolgen kann. Nach Erzeugung einer definierten Konzentration wird das Prüfgas zur massensensitiven Untersuchung in die Messzellen geleitet. Die Anlage erlaubt den Betrieb von bis zu vier verschiedenen Analyten. Diese können sukzessive oder gleichzeitig vermischt werden, so dass eine Untersuchung mit einem definiertem Gashintergrund ebenfalls möglich ist. Gesteuert wird das Ganze über insgesamt acht Magnetventile der Firma Kuhnke, die über eine Relais-Karte mit einem Computer verbunden sind.

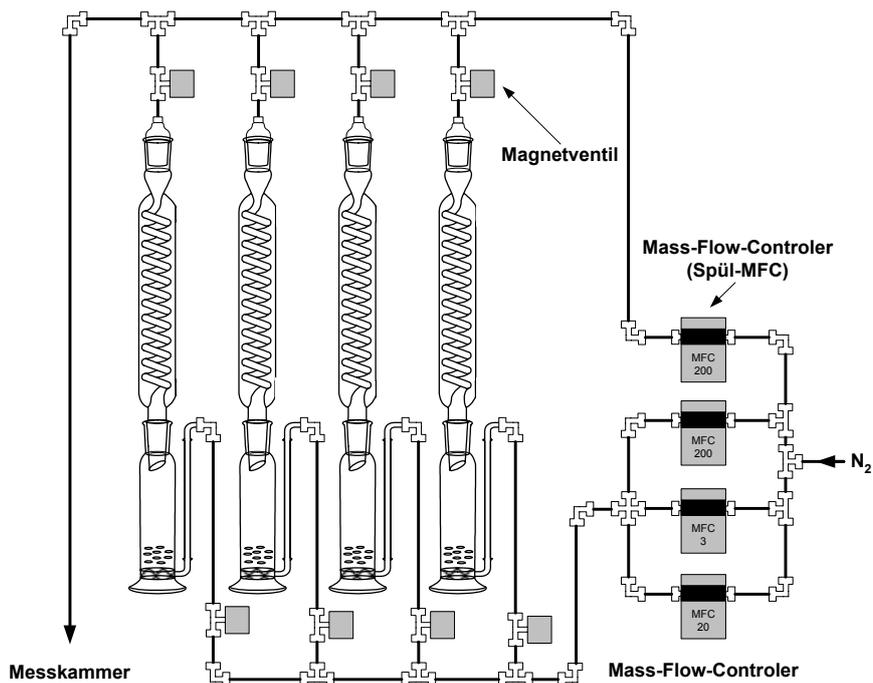


Abbildung 7.1: Schematische Darstellung der Multikomponenten-Anlage.

Die gesamte Anlage wird über das Programm Main, das auf der Basis von LabView geschrieben wurde, gesteuert. Dazu werden in Main der gewünschte Ablauf der Messung sowie die entsprechenden Konzentrationen eingestellt. Das Programm Main übernimmt ebenfalls die Registrierung der Frequenzänderungen in Form von ASCII-Dateien.

Zur Generierung der Prüfgase wurden Chemikalien der Qualität Analytical Grade der Firmen Fluka, Merck, Aldrich oder Acros verwendet. Der Stickstoff wurde aus Druckgasflaschen der Firma PraxAir bezogen.

7.2 Aufbau der Messzellen

Der wichtigste Bestandteil der Messkammer besteht aus einer integrierten Oszillatorschaltung für die Schwingquarze. Da eine lange elektrische Verbindung zwischen dem Schwingquarz und der Oszillatorschaltung eine zusätzliche Kapazität bewirkt, sind die Quarzsockel direkt in die Oszillatorschaltung integriert.

Zur Auswertung der Resonanzfrequenzen werden zwei Frequenzplatinen der Firma HKR-Sensorsysteme eingesetzt. Diese bestehen aus sechs 24-Bit Zählern und einem Mikrocontroller, der die serielle Kommunikation (RS 232) mit einem Computer gewährleistet. Dadurch können in einer Messzelle die Resonanzfrequenzen für 12 Quarze in einem Intervall von einer Sekunde registriert werden. Die Genauigkeit der Resonanzfrequenzen beträgt ± 1 Hz. Die Betriebsspannung von 5V Gleichspannung wird durch ein integriertes Netzteil gewährleistet.

Die Resonanzfrequenz der Quarze weist zwar eine geringe Temperaturabhängigkeit auf, trotzdem ist die Messkammer mittels eines selbstoptimierenden PID-Thermoelements der Firma RS-Component temperiert. Durch die entsprechende Temperatur wird eine Kondensation des Analyten in der Messkammer vermieden. Ferner kann durch Variation der Temperatur die Kinetik der Adsorption bzw. der Desorption untersucht werden.

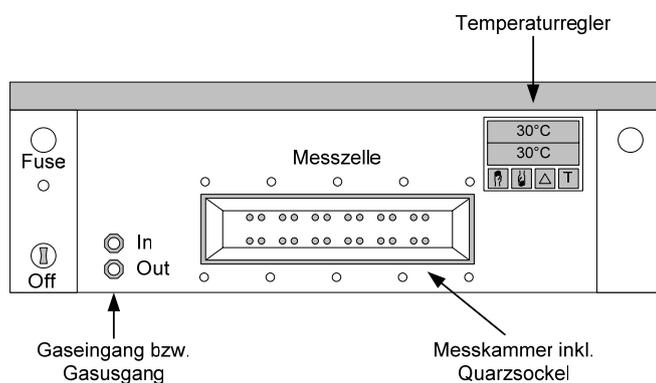


Abbildung 7.2: Schematischer Aufbau der Messzelle.

7.3 Beschichtungsmethoden

Das Prinzip der massensensitiven Sensorik ist die Wechselwirkung zwischen dem Analyten und der sensitiven Schicht, die anschließend vom Transduktor detektiert wird. Sie stellt die Erkennungsebene des Sensors dar, die über Sensitivität und Selektivität des Sensors entscheidet. Aus diesem Grunde werden an die sensitive Schicht besonders hohe Anforderungen gestellt. Das Auftragen einer Schicht auf dem Schwingquarz vermindert die Güte der Resonanzschwingung. Dies äußert sich durch ein erhöhtes Signal-Rausch-Verhältnis, das bei geringen Frequenzänderungen eine Auswertung verhindert. Es besteht ebenfalls die Möglichkeit, dass aufgrund einer schlechten Beschichtung die Schwingung eines Quarzes zusammenbricht.

Je nach Art der Wechselwirkung zwischen dem Analyt und der sensitiven Schicht erfolgen diese meist über bestimmte Sorptionsplätze, deren Anzahl über die Sensitivität der Schicht mitbestimmt. Ebenso findet meist eine Volumendiffusion in die tieferen Molekülebenen der sensitiven Schicht. Folglich gilt für eine massensensitive Schicht, dass je mehr Moleküle auf dem Quarz vorhanden sind, d.h. je dicker eine Schicht ist, desto größer würde die Frequenzänderung ausfallen. Aus diesem Grund sollte die ausgewählte Beschichtungsmethode eine homogene, gleichmäßige und möglichst starre dicke Schicht erzeugen, die das überproportionale Absinken der Resonanzfrequenzgüte vermindert. Eine nicht starre Schicht sorgt für eine zusätzliche Dämpfung des Quarzes, die einen enormen Einfluss auf die Güte der Resonanzfrequenz hat. Ein Quarz, der nicht gleichmäßig beschichtet ist, weist bei gleicher Menge an Wirtsubstanz eine geringere Sensitivität auf. Dies hängt mit der differentiellen Schichtwäageempfindlichkeit zusammen, die glockenförmig um die Elektrodenmitte verläuft. Um verschiedene Schichten miteinander vergleichen zu können und die Reproduzierbarkeit der Messungen zu gewährleisten, ist es erstrebenswert, die aufgetragene Menge an Wirtsubstanz quantitativ zu erfassen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden alle Quarze mit dem Elektrospray-Verfahren, das sich für die Anwendungen im Rahmen dieser Arbeit als die zweckmäßigste Methode herausgestellt hat, beschichtet. Der Vollständigkeit halber werden die anderen Beschichtungsverfahren in Bezug auf ihre Einsetzbarkeit in der massensensitiven Sensorik ebenfalls kurz erläutert.

7.3.1 Drop-Coating-Verfahren

Drop-Coating ist eines der einfachsten Beschichtungsverfahren, das sich hauptsächlich durch den geringen technischen Aufwand auszeichnet. Einige Tropfen einer gelösten Substanz werden mit einer geeigneten Mikropipette auf die Oberfläche eines Quarzes getropft. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels bildet sich auf der Oberfläche des Quarzes eine Schicht aus. Aufgrund der Oberflächenspannung und der daraus gebildeten Tropfenform erfolgt die Verdunstung hauptsächlich an den Rändern. Deshalb weisen diese Schichten eine gewisse Inhomogenität auf. Um eine hinreichende Beschichtung zu erzielen, ist oft eine Wiederholung notwendig, die sehr zeitraufwendig sein kann. Nach vollständiger Trocknung kann die aufgebrachte Menge an Wirt-Substanz bestimmt werden. Eine Überwachung der Resonanzfrequenz während der Beschichtungsphase ist nicht möglich. Als einzige Forderung wird eine genügende Löslichkeit der sensitiven Substanz in dem entsprechenden Lösungsmittel gestellt.

7.3.2 Spin-Coating-Verfahren

Während sich der Quarz mit einer konstanten Winkelgeschwindigkeit von 1000 bis 10.000 Umdrehungen pro Minute dreht, wird eine möglichst viskose Lösung auf der Oberfläche des Quarzes aufgebracht, die nach dem Trocknen für eine sehr gleichmäßig dünne Schicht sorgt. Diese kann allerdings aufgrund der Zentrifugalkräfte von konzentrischen Kreisen durchzogen sein. Als schwierig und Nachteilig erwies sich die Herstellung der hochviskosen Lösung der sensoraktiven Substanzen, die nicht immer möglich ist.

Nach vollständiger Trocknung kann die aufgebrachte Menge an Wirt-Substanz bestimmt werden. Eine Überwachung der Resonanzfrequenz während der Beschichtungsphase ist dabei ebenfalls nicht möglich.

7.3.3 Airbrush-Verfahren

Das Airbrush-Verfahren wird im Alltag zum Lackieren verwendet und fand erst später in der Sensorik als Beschichtungsmethode Verwendung. Das Prinzip besteht in der Zerstäubung einer Lösung mittels Druckluft. Durch die feinen Tröpfchen bildet sich ein Spraykegel, wobei das Lösungsmittel rasch verdampft. Dadurch entsteht auf der Quarzoberfläche eine sehr homogene Schicht. Nachteilig ist, dass zum Trocknen der Substanz ein gewisser Abstand zum Quarz bestehen muss. Dadurch wird jedoch die Querschnittsfläche des Spray-Kegels größer als die Quarzoberfläche, woraus ein relativ hoher Verbrauch an Wirtsubstanz resultiert. Diese Methode eignet sich demzufolge nur für Wirtsubstanzen, die in größeren Mengen zu erschwinglichen Preisen zu erwerben sind. Für Substanzen, die durch aufwendige und zeitraubende Synthesemethoden hergestellt werden und zudem nur in geringen Mengen zu Verfügung stehen, ist diese Methode jedoch ungeeignet. Nach vollständiger Trocknung kann die aufgebrachte Menge an Wirt-Substanz bestimmt werden. Eine Überwachung der Resonanzfrequenz während der Beschichtungsphase ist grundsätzlich möglich.

7.3.4 Elektrospray-Verfahren

Dieses Verfahren stammt ursprünglich aus der Massenspektroskopie und wird in der Probenaufnahme für die Ionisierung von organischen Molekülen eingesetzt. In der Industrie findet es bei der elektrostatischen Lackierung von Metalloberflächen Verwendung. Zur Beschichtung von Schwingquarzen wurde dieses Verfahren modifiziert und hat sich als die beste Methode herausgestellt. Der schematische Aufbau des Elektrospray-Vorgangs ist in der Abbildung 7.3 dargestellt. Das Prinzip dieses Verfahrens besteht in der Erzeugung kleiner geladener Tröpfchen, die gezielt auf den Quarz, der als Gegenelektrode dient, aufgebracht werden. Dabei wird die Wirtsubstanz in einem leichtflüchtigen und vor allem polaren und leitfähigen Lösungsmittel gelöst und in einer 100µl-GC-Hamilton-Spritze aufgezogen. Die Spritze wird in einer Vorrichtung, die mit einem Schrittmotor versehen ist, arretiert. Zwischen der Spritze (Pluspol) und dem Schwingquarz (Minuspol) wird ein Hochspannungsfeld von 3-6 kV angelegt.

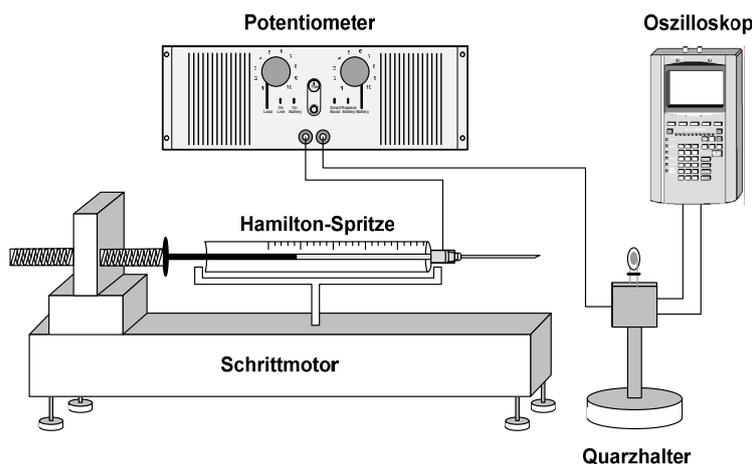


Abbildung 7.3: Schematischer Aufbau der Elektrospray Anlage.

Durch eine geeignete Vorschubgeschwindigkeit ($<1\text{ml pro Minute}$) tritt die Lösung ganz langsam aus der Spritze heraus und wird aufgrund der elektrostatischen Aufladung in Form von Mikrotröpfchen auf die Goldelektrode des Quarzes beschleunigt. Während der Beschleunigungsphase des geladenen Tröpfchens auf die Elektrodenoberfläche wird das Lösungsmittel weitgehend verdampft, so dass auf der Goldoberfläche nur die reine Substanz angelangt. Für die Erklärung dieses Phänomens gibt es verschiedene Ansätze. Aufgrund der angelegten Spannung treten die geladenen Lösungsmittel-Tröpfchen in Form eines Spray-Kegels aus und werden bedingt durch das Spannungsfeld in Richtung der Goldelektrode beschleunigt. Nach Doyle werden die geladenen Primärtröpfchen aufgrund der kontinuierlichen Verdampfung des Lösungsmittels während der Beschleunigungsphase solange kleiner, bis sie einen kritischen Radius erreicht haben. In diesem Zustand übersteigt die Coulomb-Abstoßung die Oberflächenspannung und es kommt zu sog. Coulomb-Explosion, wobei sich kleinere, sog. Satellitentröpfchen bilden. Durch die Wiederholung dieses Vorgangs kommt es schließlich zu kompletten Verdampfung des Lösungsmittels. Beim Elektrospray-Vorgang gibt es mehrere Faktoren, die auf die Qualität der Beschichtung einen enormen Einfluss ausüben. So ist bei der Wahl des Lösungsmittels eine gute Löslichkeit der Wirtsubstanz vorausgesetzt. Dabei muss eine genügend hohe Leitfähigkeit gewährleistet sein. Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente hat sich als Spray-Lösung eine Mischung aus Tetrahydrofuran und Methanol im Verhältnis von 8:2 als besonders geeignet herausgestellt.

Da sich die untersuchten Porphyrine bzw. Metallporphyrine jedoch in der reinen Spray-Lösung nicht als genügend löslich erwiesen, wurden sie je nach Porphyrin in Dichlormethan, Dimethylsulfoxid oder Wasser vorgelöst und anschließend mit der Spray-Lösung versetzt. Die angelegte Spannung entscheidet bisweilen über die Form des ausgebildeten Spray-Kegels und damit indirekt über die Tröpfchengröße. Bei zu geringer Spannung werden relativ große Tröpfchen gebildet (Drop-Mode). Diese verlieren während der Beschleunigungsphase nicht genügend an Lösungsmittel und sind für das Beschichten nicht geeignet. Bei genügend hoher Spannung kommt es zu einer spontanen Zerstäubung in Form von Cone-Jet- oder Rim-Emission, bei der sehr kleine Tröpfchen entstehen und die somit für die Beschichtung hervorragend geeignet sind.

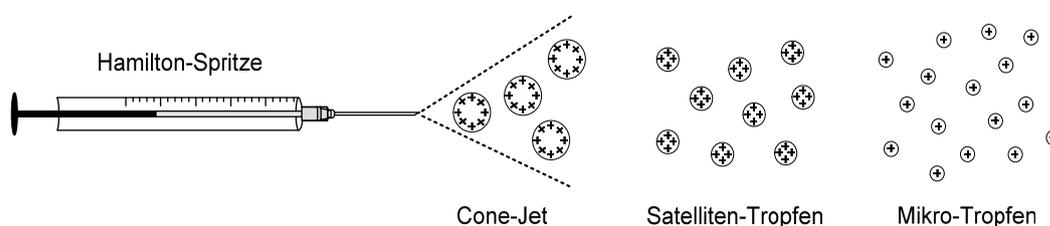


Abbildung 7.4: Entstehung der Mikro-Tropfen beim Spray-Vorgang.

Der Vorteil dieses Beschichtungsverfahrens liegt darin, dass es alle Voraussetzungen eines geeigneten Beschichtungsverfahrens übergreifend erfasst. So ist die dabei erzeugte sehr homogene und gleichmäßige Schicht mit der aus dem Airbrush-Verfahren vergleichbar. Dabei ist die verbrauchte Substanzmenge für eine vergleichbare Beschichtung äußerst gering. Die Beschichtung kann mittels einer Oszillatorschaltung und einem Frequenzzähler kontinuierlich überwacht, normiert und gegebenenfalls optimiert werden. Somit ist ein erhöhter apparativer und zeitlicher Aufwand gerechtfertigt.

Die in dieser Arbeit ausschließlich verwendeten Schwingquarze (AT-Schnitt) mit Goldelektrode wurden von der Firma KVG Quartz Crystal Technology GmbH bezogen. Die Grundfrequenz beträgt 10 MHz. Der Elektrodenradius beträgt 1,5 mm, was einer aktiven Quarzfläche von $1,4 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$ entspricht. Bei einer Nachweisgrenze von 1 Hz beträgt die kleinste nachzuweisende Massenänderung $6,73 \cdot 10^{-11} \text{ g}$. Die Quarze sind mit einer Substanzmenge, die einer 10 kHz Frequenzerniedrigung entspricht, beschichtet worden. Die Substanzmenge pro Quarz beträgt demnach etwa 120 ng.

7.4 Anlage zur Untersuchung von festen Proben

Wie bereits erwähnt, wurde die Konstruktion der Multikomponenten-Gasmischanlage daraufhin optimiert, Prüfgase von flüssigen Analyten zu untersuchen. Dazu ist die Kenntnis der Dampfdrücke der Substanzen bei den entsprechenden Temperaturen erforderlich.

Die meisten natürlichen Produkte beinhalten jedoch eine Vielzahl von flüchtigen Komponenten, die insgesamt das Gesamtaroma des Produktes ausmachen. Eine Simulation all dieser Komponenten zu einem Gesamtaroma setzt die Kenntnis aller vorhandenen flüchtigen Komponenten voraus und würde dem entsprechend einen immensen apparativen Aufwand voraussetzen. Deshalb beschränkt man sich auf einige wenige Hauptkomponenten und versucht, diese möglichst geschickt zu einem Aroma zu kombinieren. Für die Praxismessungen wurde in Anlehnung an die spätere Elektronische Nase eine Anlage konstruiert, die es erlaubt, eine feste Probe mittels eines Sensor-Arrays zu untersuchen. In Abbildung 7.5 ist der schematische Aufbau dieser Feststoffanlage dargestellt.

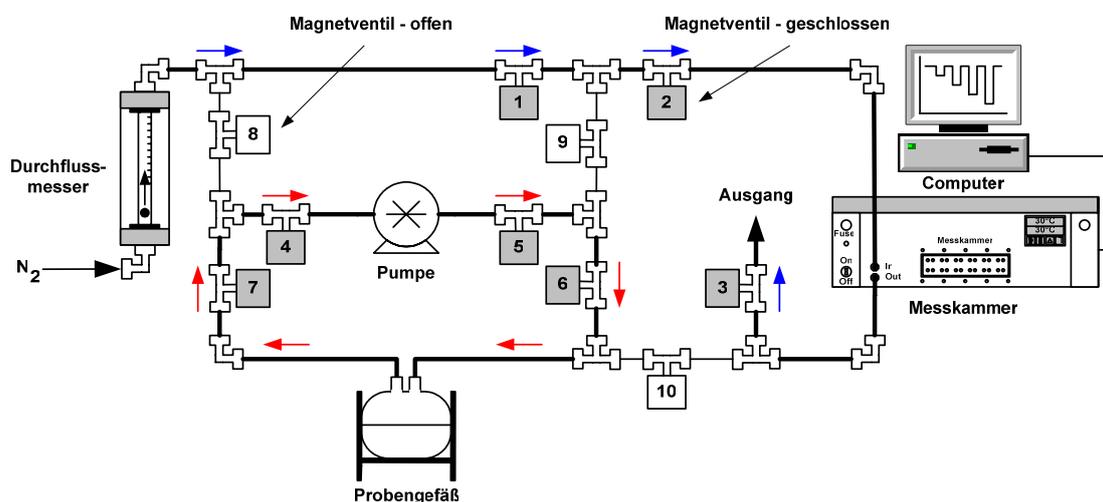


Abbildung 7.5: Schematischer Aufbau der Feststoffanlage. Die Pfeile stellen die Flussrichtung der flüchtigen Bestandteile während der Spül- bzw. Anreicherungsphase dar.

Das Prinzip dieser Anlage ist die Integration der Messkammer und der Probe in einem geschlossenen Kreislauf. Das Probengefäß, in das die zu untersuchende feste Probe hineinkommt, besteht aus einem gasdichten Glasbehälter, welcher über insgesamt 10 Magnetventile mit der Messkammer verbunden ist. Für den Gastransport sorgt hierbei eine Pumpe. Die entsprechenden Magnetventile sind über Edelstahlröhren miteinander verbunden und können über eine Relais-Karte gesteuert werden. Die komplette Steuerung sowie Registrierung der Frequenzänderungen übernimmt ebenfalls das Programm Main, das speziell hierfür modifiziert wurde. Der Vorteil dieser Anlage besteht darin, dass die unterschiedlichen Prozesse in zwei voneinander getrennten Kreisabläufen simultan ablaufen können. Während in dem ersten Kreislauf die Spülung der Messkammer erfolgt (Spül-Modus), verteilt sich in dem zweiten Kreislauf die zu untersuchende Probe. Somit wird im Stickstoffstrom des zweiten Kreislaufs, die Sättigungskonzentration der flüchtigen Komponenten der Probe eingestellt (Anreicherungs-Modus).

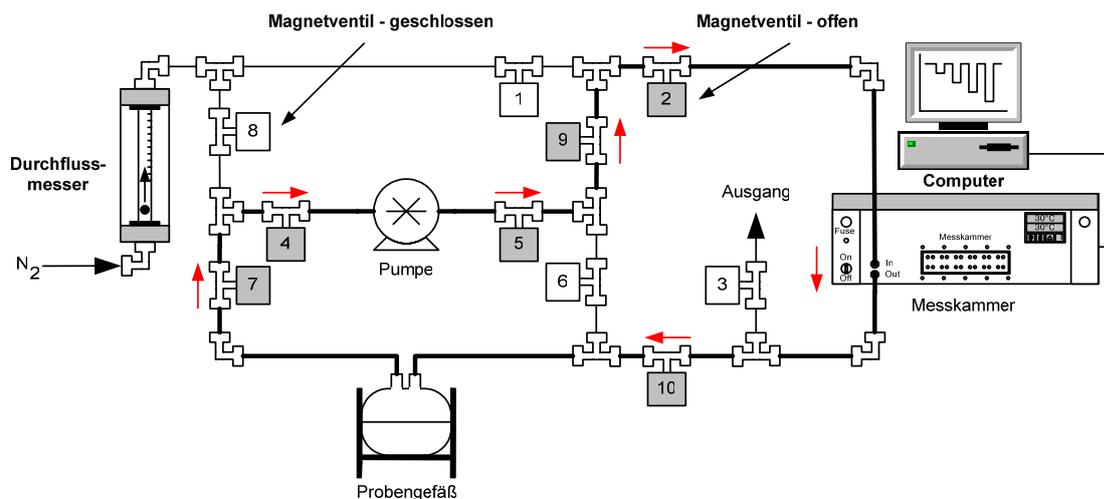


Abbildung 7.6: Schematischer Aufbau der Feststoffanlage. Die Pfeile stellen die Flussrichtung der flüchtigen Bestandteile während der Messphase dar.

Die Anlage kann auch ebenso wie die Multikomponenten-Gasmischanlage im Durchfluss-Modus betrieben werden, wobei der Stickstoff durch die Probe und anschließend in die Messkammer geleitet wird. Durch simultane Spülung der Messkammer und Anreicherung der Probe kann eine Messung innerhalb von 35 Minuten erfolgen. Dies ist vor allem bei Produkten wie Trüffel enorm wichtig, da diese mit zunehmender Zeit ihr sensorisches Profil verändern.

Aufgrund des geringen Druckunterschieds, der im geschlossenen Anreicherungskreislauf im Vergleich zum offenen Spülkreislauf durch die Pumpe erzeugt wird, entsteht beim Umschalten auf den Mess-Modus eine geringe Frequenzänderung. Diese geringen Frequenzänderungen sind reproduzierbar und werden durch eine Blindmessung ohne Probe ermittelt und anschließend von den Praxismesswerten subtrahiert. Ein Beispiel für eine solche Blindmessung zeigt die Abbildung 7.7.

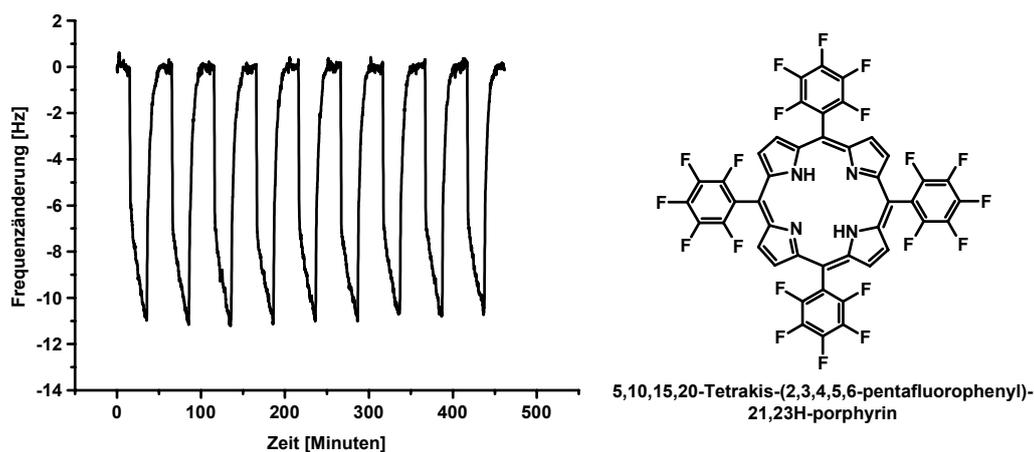


Abbildung 7.7: Frequenzänderung bei einer Blindmessung aufgrund der unterschiedlichen Druck-verhältnisse in der Feststoffanlage.

8 Messungen

Für die folgenden Untersuchungen wurden die mit den Porphyrinen und Metalloporphyrinen beschichteten Schwingquarze in der Multikomponenten-Gasmischanlage verschiedenen Analyten ausgesetzt. Zur Bestimmung einer Sensorkennlinie werden die Frequenzänderungen der verschiedenen Analyten bei unterschiedlicher Konzentration registriert. Die Messung beginnt mit einer 4 stündige Spülphase, die anschließend mit der eigentlichen Konzentrationsmessung, beginnend mit der kleinsten Konzentration fortgeführt wird. Die Beaufschlagungsphase ist von der Adsorptions-geschwindigkeit des Analyten abhängig und dauert für jede einzelne Konzentration zwischen 2,5 und 5 Stunden. Aufgrund der Frequenzänderungen bei zunehmenden Konzentrationen des Analyten weist die Frequenzänderung insgesamt einen treppenförmigen Verlauf auf.

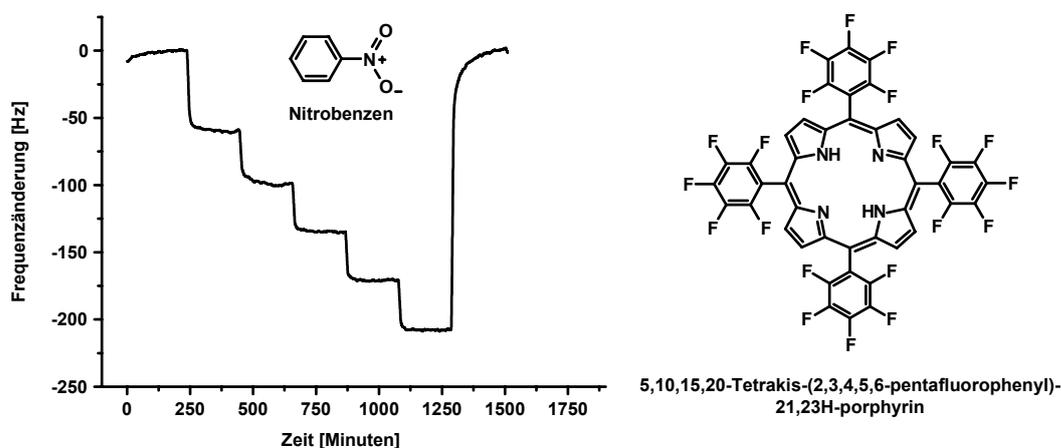


Abbildung 8.1: Beispiel des zeitlichen Frequenzverlaufs bei einer Messung in der Multi-Komponentenanlage.

Auf eine Spülphase zwischen den einzelnen Konzentrationsänderungen wird hierbei aus Zeitgründen bewusst verzichtet. Erst am Ende der Messung wird die Desorptionsphase eingeleitet, wobei die Frequenz bis auf den Anfangswert steigt. Der Frequenzunterschied zwischen der Anfangs- und der Endfrequenz weist dann auf eine nicht reversible Wechselwirkung hin.

Diese Phase dauert insgesamt je nach Analyt 4 bis 6 Stunden an. Somit ergibt sich für eine Konzentrationsmessung mit fünf verschiedenen Konzentrationen eine Gesamtzeit von 18 bis 35 Stunden. Die Temperatur der Messzellen betrug 30°C. Aus den erhaltenen Frequenzänderungen bei unterschiedlichen Konzentrationen kann eine Isotherme ermittelt werden. Zum Beispiel erhält man für die erhaltene Frequenzänderungen aus der Abbildung 8.1 die folgende Isotherme:

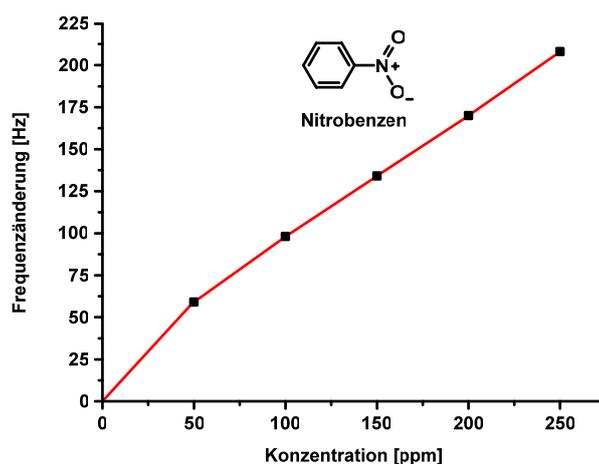


Abbildung 8.2: Isothermendarstellung des in Abbildung 8.1 demonstrierten Frequenzverlaufs.

Zur Darstellung der Frequenzänderungen eines einzelnen Analyten wurden die erhaltenen Frequenzen abzüglich der Anfangsfrequenz in einem Balkendiagramm abgebildet. Für den Vergleich von mehreren Analyten in einem Balkendiagramm wurden die erhaltenen Frequenzänderungen in Bezug auf die molare Masse der Analyten normiert.

Zur Erhaltung der Hauptkomponentendiagramme, die sich auf einen einzelnen Analyten beziehen, wurden ebenfalls die reinen Frequenzänderungen verwendet. Für eine Gesamtdarstellung mehrere Analyte in einem Hauptkomponentendiagramm wurden die zuvor molmassenbezogenen Frequenzänderungen in Bezug auf den untersuchten Konzentrationsbereich normiert. Dadurch wurde eine Darstellung der verschiedenen Analyte über den gesamten Konzentrationsbereich möglich. Im Folgenden werden die Ergebnisse graphisch dargestellt und erläutert.

8.1 Messungen der leicht flüchtigen Verbindungen des Safrans

Das Aroma des Safrans besteht hauptsächlich aus den beiden Verbindungen Safranal und Isophoron. Abbildung 8.3 (links) zeigt das Hauptkomponentendiagramm der Frequenzänderungen des Safranal mit den untersuchten Porphyrinen über einen Konzentrationsbereich von 5-100 ppm. Es zeigt sich hierbei, dass die Porphyrine 5, 17 und 18 die größte Sensitivität gegenüber Safranal aufweisen. Dies wird auch exemplarisch durch das Balkendiagramm bestätigt. Es zeigt die Frequenzänderungen der Porphyrine bei einer Safranal-Konzentration von 5 ppm.

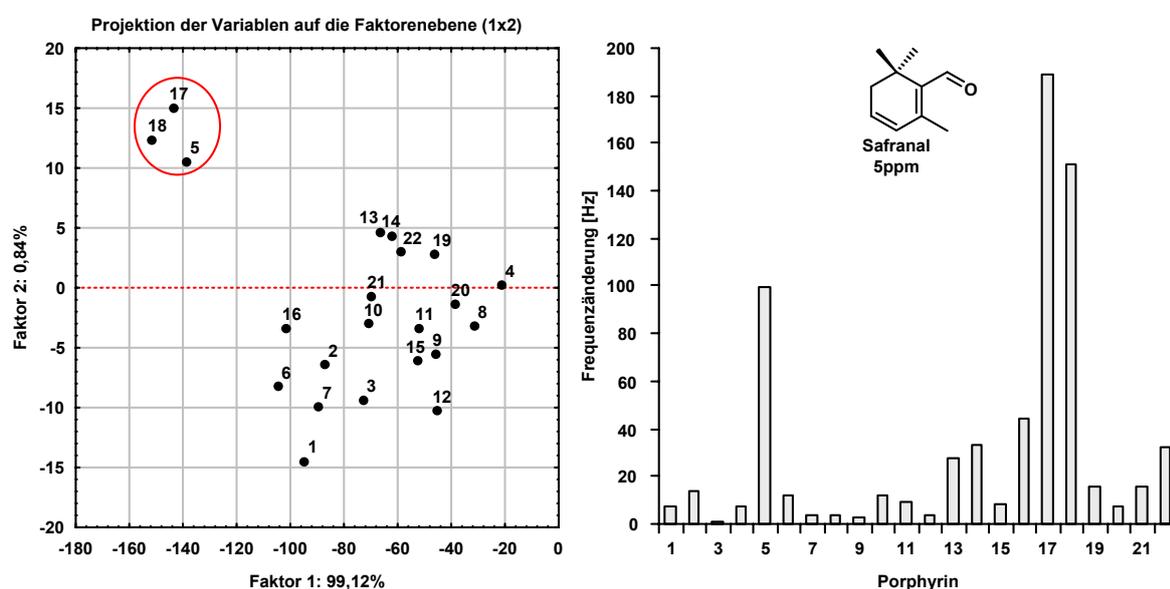


Abbildung 8.3: Das Hauptkomponentendiagramm der Verbindung Safranal über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich (links) und zum Vergleich die Frequenzänderungen bei einer Konzentration von 5 ppm (rechts).

Die Isothermendarstellung der Porphyrine 5, 17 und 18 zeigt einen nichtlinearen Verlauf über den gemessenen Konzentrationsbereich auf. Nur bis zu einer Konzentration von 5 ppm kann ein linearer Bereich vorausgesetzt werden. Unter den untersuchten Porphyrinen gibt es darüber hinaus eine Reihe von Substanzen, die über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich einen linearen Verlauf aufweisen. Diese Porphyrine weisen jedoch eine um den Faktor 10 geringe Sensitivität auf.

Abbildung 8.4 zeigt z.B. die Isothermendarstellung der Porphyrine 2, 6, 10 und 11, die in einem Konzentrationsbereich von 5-100 ppm einen linearen Verlauf aufweisen.

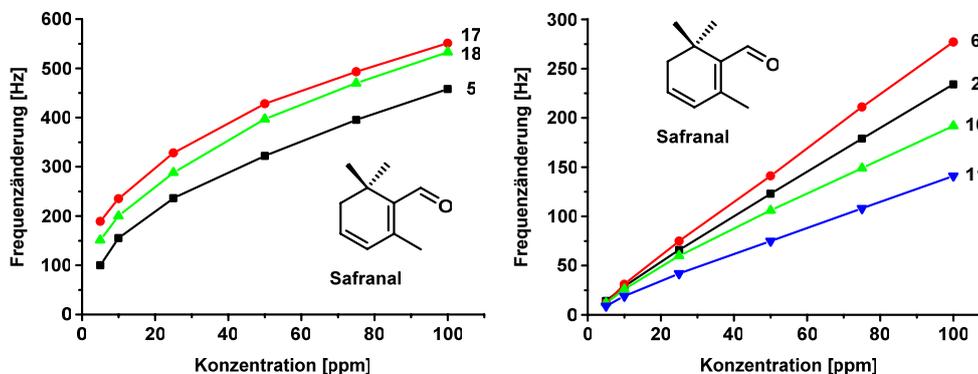


Abbildung 8.4: Isothermen ausgesuchter Porphyrine für Safranal.

Abbildung 8.5 zeigt das Hauptkomponentendiagramm der Frequenzänderung des Isophorons mit den untersuchten Porphyrinen über einen Konzentrationsbereich von 25-400 ppm. Es zeigt sich hierbei, dass die Porphyrine 5, 17, 18 und 21 die größte Sensitivität gegenüber Isophoron aufweisen. Exemplarisch ist die Frequenzänderungen der Porphyrine bei einer Konzentration des Isophorons von 25 ppm mit aufgeführt.

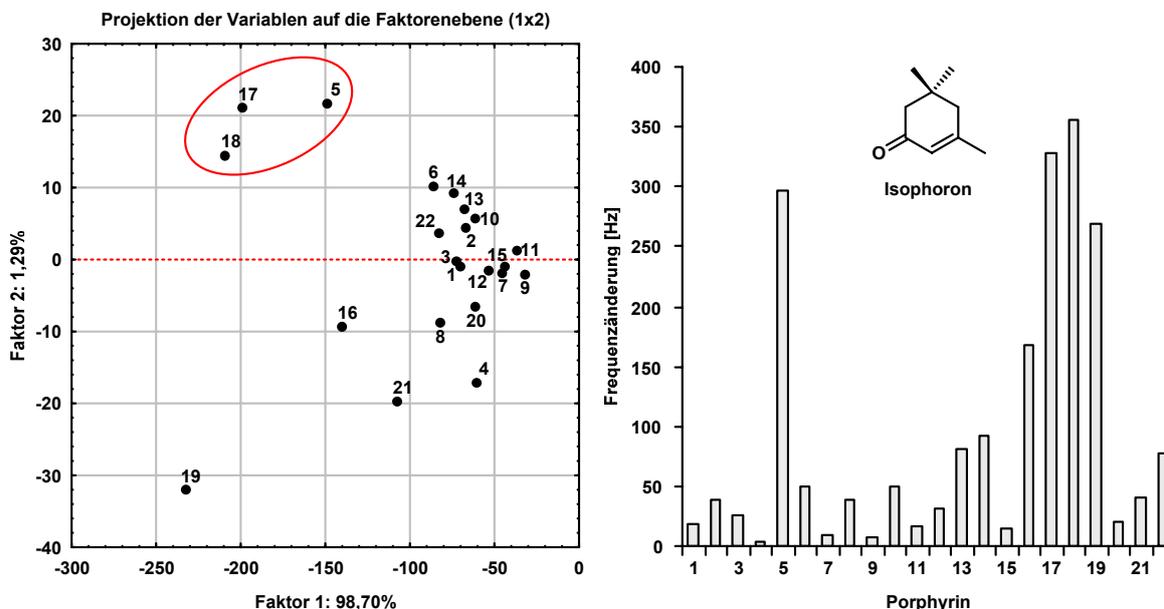


Abbildung 8.5 : Das Hauptkomponentendiagramm der Verbindung Isophoron über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich (rechts) und zum Vergleich die Frequenzänderung bei einer Konzentration von 25 ppm.

Die beiden Metalloporphyrine 16 und 19 zeigen ebenfalls eine große Sensitivität auf. Der zeitliche Frequenzverlauf dieser Porphyrine zeigt jedoch ab einer Konzentration von 100 ppm ein irreversibles Verhalten, so dass bei Wiederholung des Messvorgangs eine andere Analyse resultiert. Ebenso wie beim Safranal verlaufen die Isothermen der Substanzen mit den größten Frequenzänderungen nicht linear. Abbildung 8.6 zeigt den Verlauf der Isothermen.

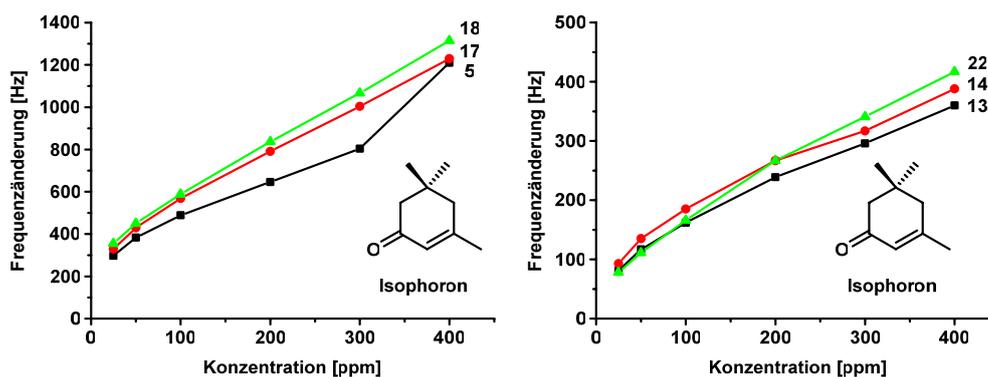


Abbildung 8.6: Isothermen ausgesuchter Porphyrine für Isophoron.

Die Verbindungen 7, 9, 11 und 15 ergeben über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich eine Isotherme mit einem linearen Verlauf. Diese Verbindungen besitzen jedoch eine viel geringere Sensitivität gegenüber Isophoron. Zum Beispiel zeigt die Isotherme der Verbindung 15 (Abbildung 8.7) eine Steigung von 0,58 Hz / ppm, d.h., eine Änderung von 1 ppm wäre im Rahmen der Messgenauigkeit kaum vom Rauschen zu unterscheiden.

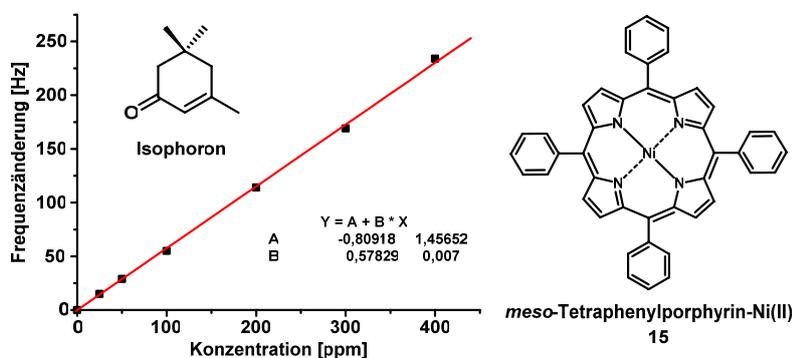


Abbildung 8.7: Isotherme der Verbindung meso-Tetraphenylporphyrin-Ni(II) bei der Exposition mit Isophoron in unterschiedlichen Konzentrationen.

Insgesamt weist Isophoron bei entsprechender Konzentration im Vergleich zu Safranal ein geringeres Sensor-Signal auf. Die Abbildung 8.8 zeigt den Vergleich zwischen den beiden Analyten bei jeweils 25 ppm. Die Frequenzänderungen sind molmassenbezogen und wurden zur Übersichtlichkeit mit dem Faktor 1000 multipliziert. Es ist hierbei ersichtlich, dass bei allen Porphyrinen, die eine molmassenbezogene Frequenzänderung von über 500 Hz aufweisen, Safranal der Analyt mit dem größeren Sensor-Signal ist. Umgekehrt, mit Ausnahme der Porphyrine 8 und 12, sorgt Isophoron nur dann für ein besseres Sensor-Signal, wenn insgesamt die Frequenzänderung unterhalb 500 Hz liegt.

Eine entscheidende Rolle spielt das Porphyrin 19, das gegenüber Safranal eine um den Faktor 11 höhere Sensitivität aufweist als gegenüber Isophoron. Dies ist zum Teil durch das irreversible Verhalten des Porphyrins 19 gegenüber Isophoron zu erklären, das sich im zeitlichen Frequenzverlauf bemerkbar macht. Der Grund für das Auftreten dieser Irreversibilität gegenüber Isophoron konnte nicht geklärt werden.

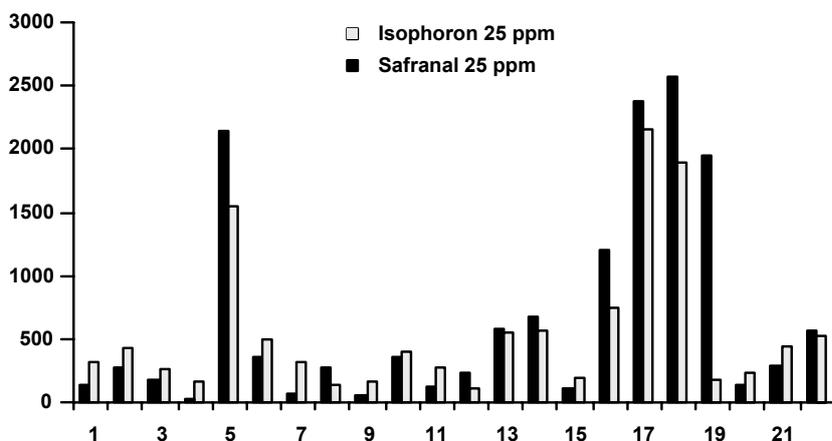


Abbildung 8.8: Vergleich der Frequenzänderungen zwischen Safranal und Isophoron bei einer Konzentration von 25 ppm.

8.2 Praxismessungen von Safran

Der erste Schritt in der Entwicklung eines Sensors besteht in der Optimierung der wesentlichen Parameter des Messsystems in Bezug auf ein brauchbares Sensor-Signal. Diese Parameter sind Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases, Temperatur der Messzellen, unterschiedliche Verweilzeiten der flüchtigen Bestandteile im Anreicherungs- bzw. Messbereich und schließlich die zur Verfügung stehende Probenmenge. Die vorangegangenen Messungen und die daraus resultierenden Ergebnisse beschränken sich lediglich auf Untersuchungen der beiden Leitkomponenten des Safran-Aromas. Zur Untersuchung dieser Reinsubstanzen wurden in der Multikomponenten-Anlage die entsprechenden Prüfgase in genügend hoher Konzentration hergestellt. Im natürlichen Safran ist jedoch die Konzentration dieser beiden Substanzen erheblich geringer. Der Erhalt eines brauchbaren Sensor-Signals ist daher nicht selbstverständlich. Um zu prüfen, ob das Aroma des natürlichen Safrans ein hinreichendes Sensor-Signal hervorruft, wurde die im Kapitel 7.4 beschriebene Feststoffanlage konstruiert. Für die Praxismessungen wurden zwei Safranproben aus dem Iran und jeweils eine Probe aus Spanien und Indien untersucht. Diese Ergebnisse wurden anschließend mit den Messungen von Curry und Kurkuma verglichen.

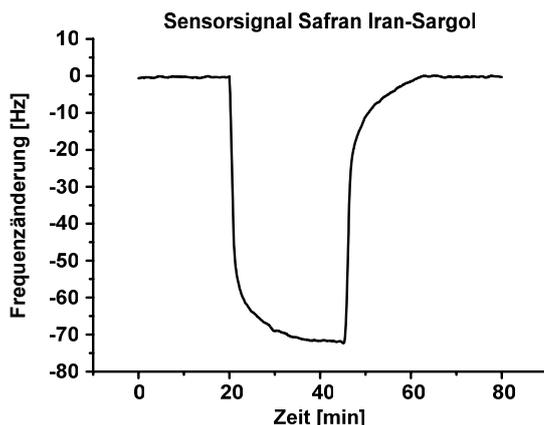


Abbildung 8.9: Beispiel eines Sensor-Signals für eine Safran-Probe mit der Feststoffanlage.

Abbildung 8.9 zeigt den zeitlichen Frequenzverlaufs einer Safran-Probe aus dem Iran, die mit Porphyrin 16 gemessen wurde. Die Messung beginnt mit einer 20-minütigen Spül- und einer ebenso langen Anreicherungsphase, die simultan ablaufen. Danach erfolgt die Messphase, die insgesamt 25 Minuten andauert. Die Zeiten bei der Durchführung der Experimente stellen Erfahrungswerte dar und sind sowohl von den Proben als auch von der Messanlage abhängig. Die Proben-Menge von einem Gramm Safran hat sich dabei als ausreichend herausgestellt.

Nach der Bestimmung der Parameter für ein ausreichendes Sensor-Signal beginnen die eigentlichen Praxismessungen. Um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu prüfen, wurden fünf Safran-Probe aus dem Iran von je einem Gramm gemessen. In Abbildung 8.10 sind die Mittelwerte der Frequenzänderungen sowie die Standardabweichungen dieser Messungen dargestellt. Die Standardabweichung beträgt im Durchschnitt 7% und ist mit einer apparativen Messgenauigkeit von 1% für eine reproduzierbare Messreihe als gut zu bezeichnen.

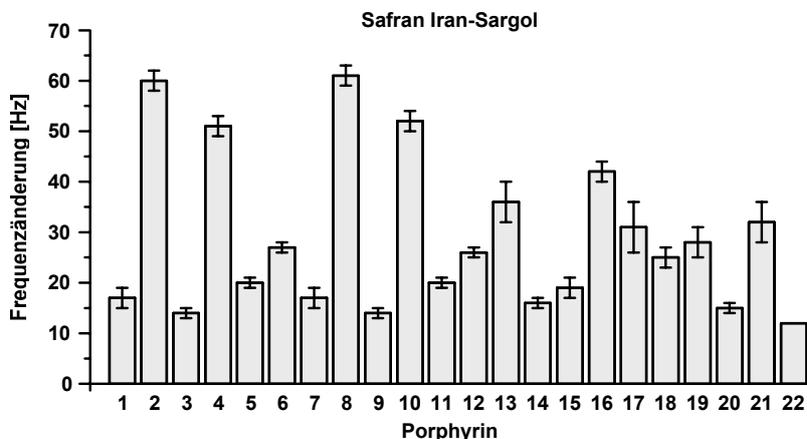


Abbildung 8.10: Reproduzierbarkeit der Sensor-Signale beim iranischem Safran.

Nachdem eine gute Reproduzierbarkeit der einzelnen Safran-Proben sichergestellt wurde, beginnen die Praxismessungen der verschiedenen Safran-Proben. Dazu wurden je nach Erhalt der Safran-Menge zwischen drei und fünf Messungen pro Probe durchgeführt. Die Abbildung 8.11 stellt das Hauptkomponentendiagramm der Frequenzänderungen aller untersuchten Safran-Proben dar.

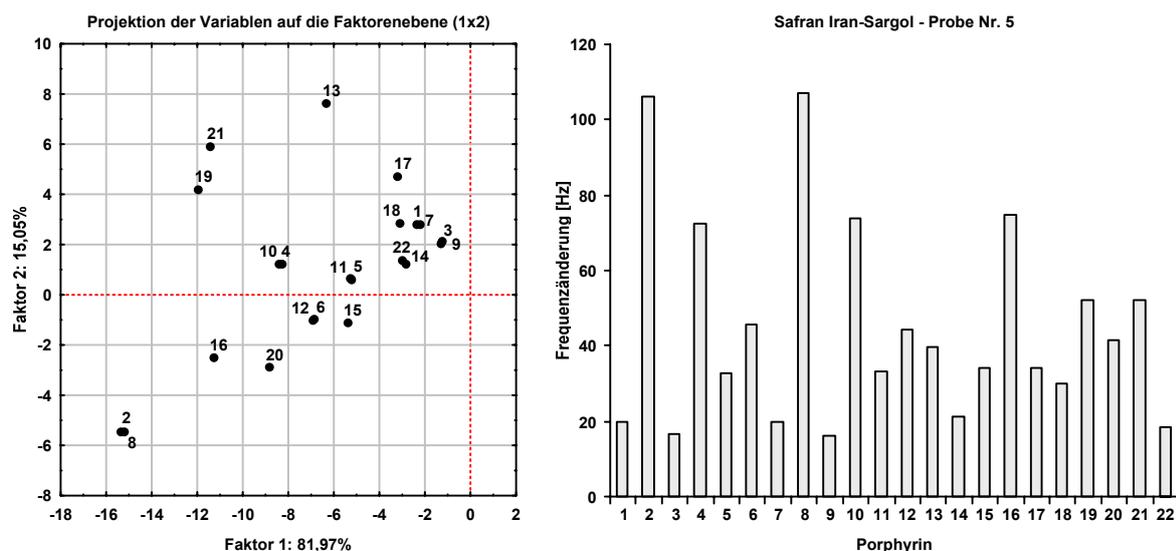


Abbildung 8.11: Hauptkomponentendiagramm der untersuchten Safran-Proben (links) und zum Vergleich die Frequenzänderungen einer Safran Probe aus dem Iran (rechts).

Hierbei stellt man eine veränderte Sensitivität im Vergleich zu den Messungen von Safranal und Isophoron fest. Bei der Untersuchung der Safran-Proben zeigen die Porphyrine 2, 8, 13, 16, 19 und 21 die größten Frequenzänderungen. Welche flüchtigen Verbindungen des Safran-Aromas im Detail für diese Sensitivitätsveränderung verantwortlich sind, kann mit dieser Methode nicht bestimmt werden. Eine Möglichkeit zur Aufklärung wird im Kapitel 10 vorgestellt. In Abbildung 8.11 ist exemplarisch die Frequenzänderungen einer Safran-Probe aus dem Iran dargestellt. Hierbei zeigt sich in Übereinstimmung mit dem Hauptkomponentendiagramm, dass die Porphyrine 2, 4, 8, 10 und 16 die besten Ergebnisse liefern.

Um die gute Sensitivität zu demonstrieren, wurde dieselbe Safran-Probe über 400 Minuten lang mit der Feststoffanlage kontinuierlich untersucht. Hierbei zeigte sich, dass eine kontinuierliche Überwachung des „Aroma-Verlusts“, wie man ihn z.B. in einem offenen System erwarten würde, möglich ist (Abbildung 8.12).

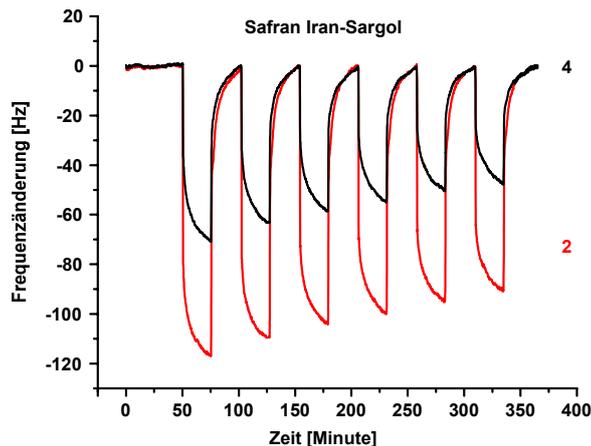


Abbildung 8.12: Die Frequenzabnahme (Aroma-Verlust) einer Safran-Probe aus dem Iran während einer kontinuierlichen Messung über 400 Minuten.

Für eine Klassifizierung von Safran-Proben in Analogie an ISO/TS 3632-1:2003 sollte der Sensor die Erfassung des Feuchtigkeits- und des Gehalts an leicht flüchtigen Bestandteilen ermöglichen. Dabei wird ein linearer Anstieg oder zumindest ein mathematisch exakt beschreibbarer Kurvenverlauf vorausgesetzt. Hierzu wurde eine Linearitätsuntersuchung mit jeweils fünf unterschiedlichen Mengen zwischen 0,5-2,5 g einer Safran-Probe aus dem Iran durchgeführt. Das Resultat dieser Linearitätsuntersuchung ist in der Abbildung 8.13 dargestellt. Hierbei zeigt sich in Analogie zu den Messungen von Safranal und Isophoron eine leichte Sättigung der Frequenzkurve mit zunehmender Safran-Menge und demnach ein nicht-linearer Verlauf der Isotherme.

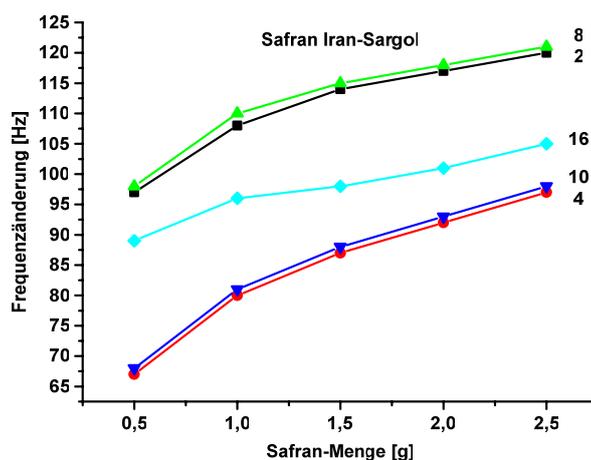


Abbildung 8.13: Verlauf der Isotherme bei verschiedenen Safran-Mengen aus dem Iran.

Bei den Frequenzkurven besteht jedoch die Möglichkeit eines nicht-linearen Kurven-Fits. Inwieweit eine Kalibrierung dieser Sensoren möglich ist, muss in Verbindung mit spektroskopischen Methoden anhand von geeigneten Proben ermittelt werden.

Für die Mustererkennung und damit für eine mögliche Unterscheidung der verschiedenen Safran-Proben aus dem Iran, Spanien bzw. Indien wurden zwei Hauptkomponentenanalysen durchgeführt. Die erste Analyse wurde mittels eines Sensor-Arrays bestehend aus den Porphyrinen 5, 17, 18 und 19 durchgeführt. Diese Porphyrine zeigten bei Safran bzw. Isophoron die größten Sensitivitäten auf. Das Ergebnis ist in der Abbildung 8.14 (links) dargestellt. Die zwei Proben aus dem Iran können eindeutig von den anderen unterschieden werden. Bei den Safran-Proben aus Spanien und Indien zeigt sich jedoch keine eindeutige Trennung.

Die zweite Hauptkomponentenanalyse wurde mittels eines Sensor-Arrays bestehend aus den Porphyrinen 2, 4, 8, 10 und 16 durchgeführt. Die Auswahl dieser Porphyrine wurde aufgrund der Sensitivität bzw. der Selektivität der Praxismessungen getroffen. Hierbei zeigt sich die bestmögliche Trennung zwischen den verschiedenen Safran-Proben.

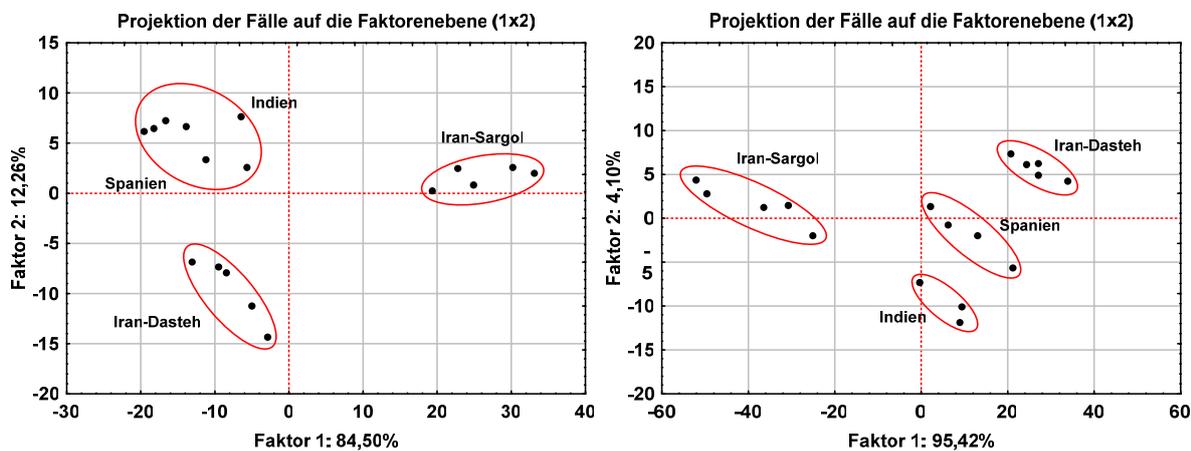


Abbildung 8.14: Hauptkomponentenanalyse der verschiedenen Safran-Proben mittels eines Sensor-Arrays bestehend aus den Porphyrinen 5, 17, 18 und 19 (links) und 2, 4, 8, 10 und 16 (rechts).

Um die Leistungsfähigkeit des Sensors zu überprüfen, wurden die Ergebnisse mit den Messungen von Curry- sowie von zwei Kurkuma-Proben¹⁸ ergänzt. Dies sind die meistverwendeten Komponenten für grobe Fälschungen. Abbildung 8.15 zeigt das Hauptkomponentendiagramm der Ergebnisse aus allen Curry bzw. Kurkuma-Messungen sowie zum Vergleich das Balkendiagramm der Proben mit den größten Sensor-Signalen.

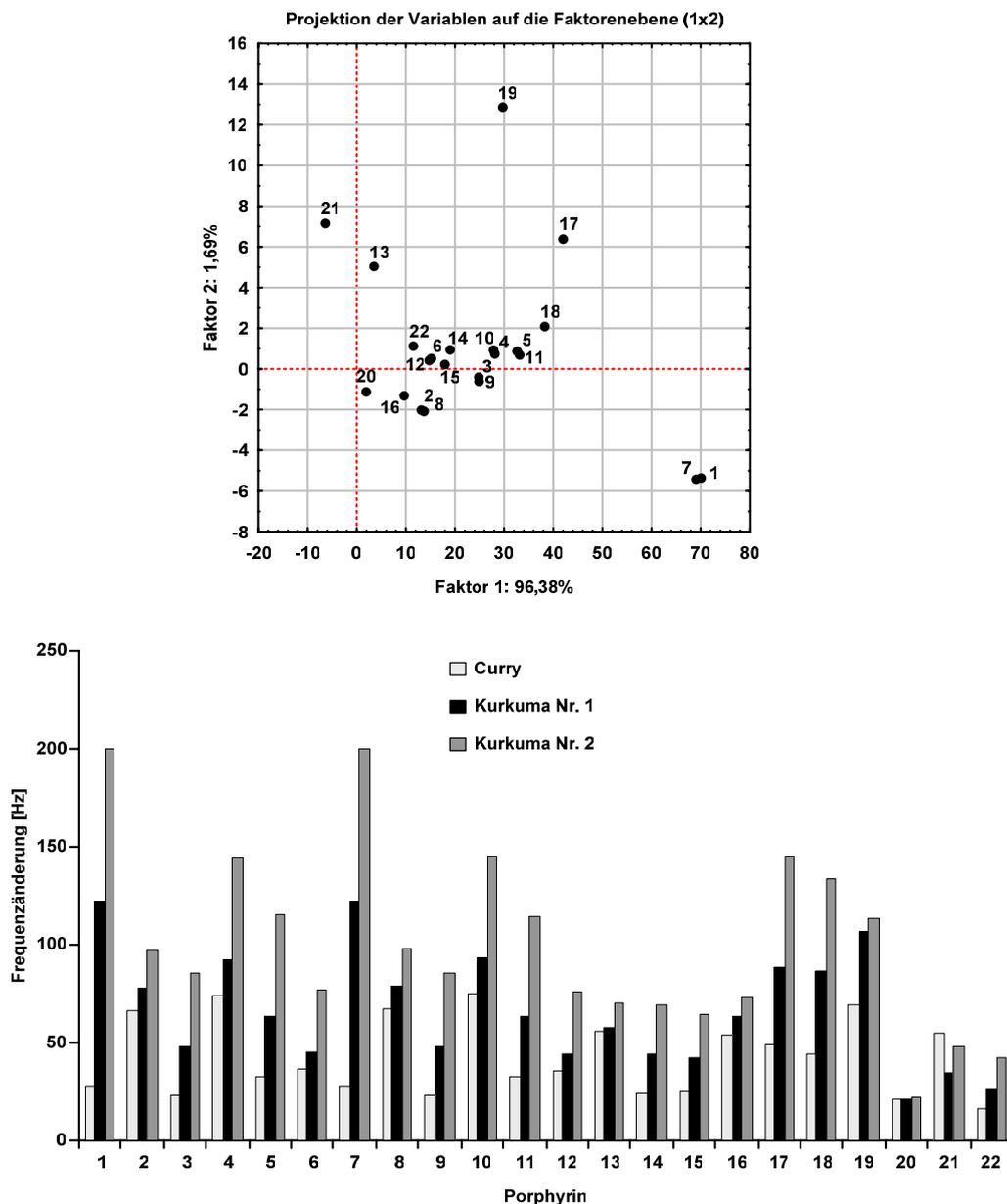


Abbildung 8.15: Hauptkomponentendiagramm (oben) und zum Vergleich die Frequenzänderungen der untersuchten Curry- bzw. Kurkuma-Proben (unten).

¹⁸ Es handelt sich hierbei um handelsübliche Produkte aus dem Supermarkt. Die Curry sowie die Kurkuma-Probe 1 ist von der Firma Ostmann, die Kurkuma Probe 2 von der Firma Fuchs.

Die Porphyrine 1 und 7 zeigen dabei die größten Sensor-Signale, gefolgt von den Porphyrinen 4, 10, 17 und 18. Hierbei zeigen die beiden Kurkuma-Proben deutlich höhere Sensor-Signale als die Curry-Probe. Deutliche Selektivitätsunterschiede zeigen die Porphyrine 7 und 21, wodurch eine Unterscheidung möglich wäre.

Die Abbildung 8.16 zeigt das Ergebnis der Hauptkomponentenanalyse mit einem Sensor-Array bestehend aus den Porphyrinen 1, 4, 7, 10, 17 und 18. Eine eindeutige Unterscheidung zwischen Curry und Kurkuma sowie den beiden Kurkuma-Proben untereinander ist damit möglich.

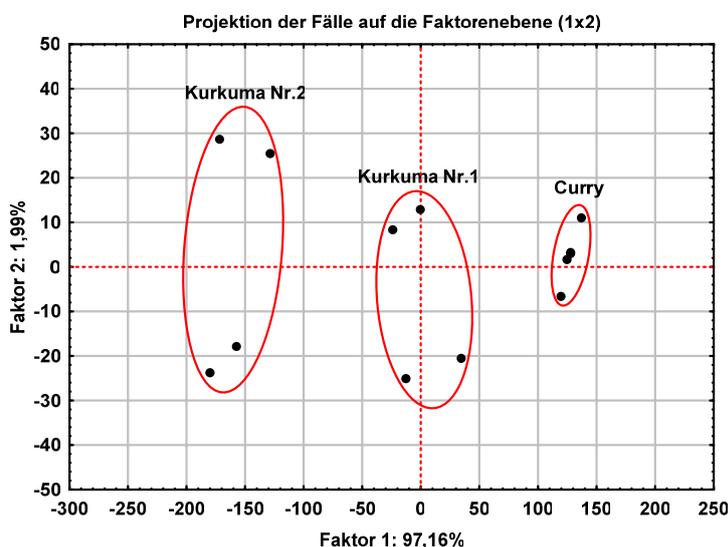


Abbildung 8.16: Hauptkomponentenanalyse der Curry- bzw. Kurkuma-Proben mittels eines Sensor-Arrays bestehend aus den Porphyrinen 1, 4, 7, 10, 17 und 18.

Für die Unterscheidung aller untersuchten Safran-, Curry- und Kurkuma-Proben wird ein Sensor-Array bestehend aus den Porphyrinen 1, 2, 4, 7, 8, 10, 17 und 18 erstellt. Die Auswahl dieser Porphyrine erfolgte aus den Sensitivitäten der Praxismessungen sowie in Anbetracht ihrer Selektivitäten in Bezug auf die unterschiedlichen Proben. Die Abbildung 8.17 zeigt das Ergebnis der Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Proben. Auf den ersten Blick können die Safran-Proben der Kategorie I aus dem Iran (Iran-Sargol) sowie die beiden Kurkuma-Proben (Kurkuma Nr. 1 und Kurkuma Nr. 2) von den anderen untersuchten Proben unterschieden werden.

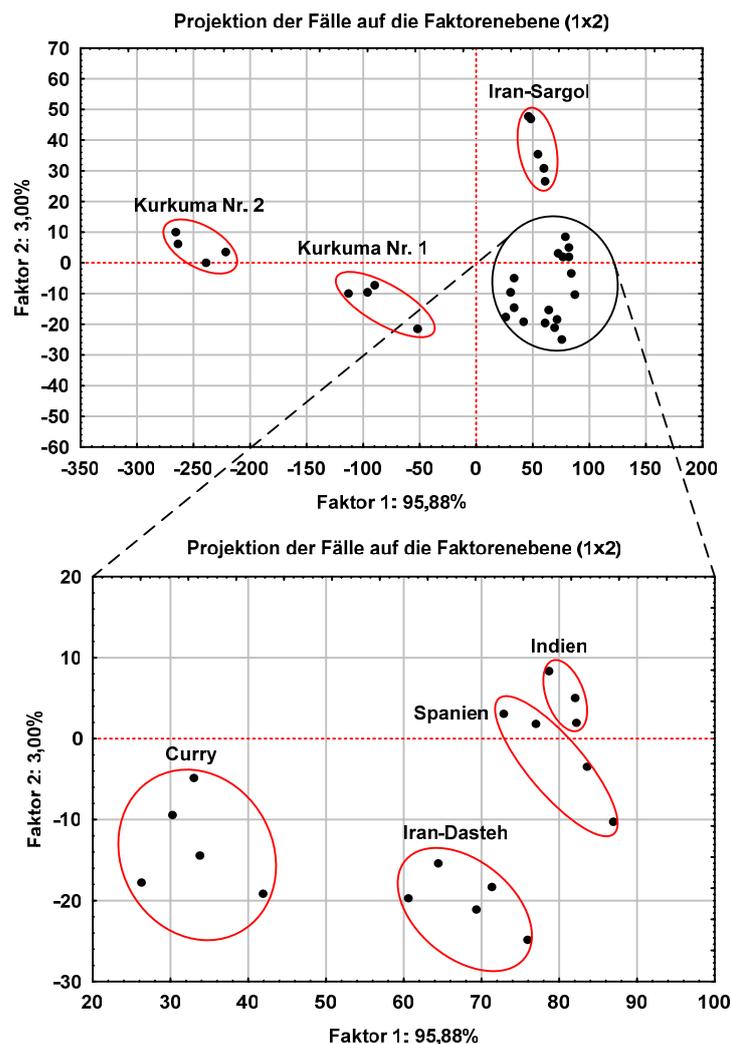


Abbildung 8.17: Hauptkomponentenanalyse der Safran-, Curry- und Kurkuma-Proben mittels eines Sensor-Array bestehend aus den Porphyrinen 1, 2, 4, 7, 8, 10, 17 und 18.

Die Vergrößerung des Ausschnittes (Abbildung 8.17, links) zeigt die untersuchten Safran-Proben der Kategorie II aus dem Iran, Spanien bzw. Indien sowie die Curry-Probe. Hierbei kann ebenso eine Unterscheidung zwischen der Safran-Probe aus dem Iran und der untersuchten Curry-Probe erfolgen. Eine eindeutige Unterscheidung zwischen den Safran-Proben aus Spanien und aus Indien ist im Rahmen der Messgenauigkeit jedoch nicht möglich. Diese Ergebnisse werden ebenfalls von der in der Abbildung 8.18 dargestellten Clusteranalyse bestätigt. Das Dendrogramm zeigt bei einer Distanz von 40 eine Unterscheidung zwischen den Safran- und Curry- bzw. den beiden Kurkuma-Proben. Eine Unterscheidung der Safran-Proben von der Curry-Probe ist erst bei einer Distanz von 10 möglich.

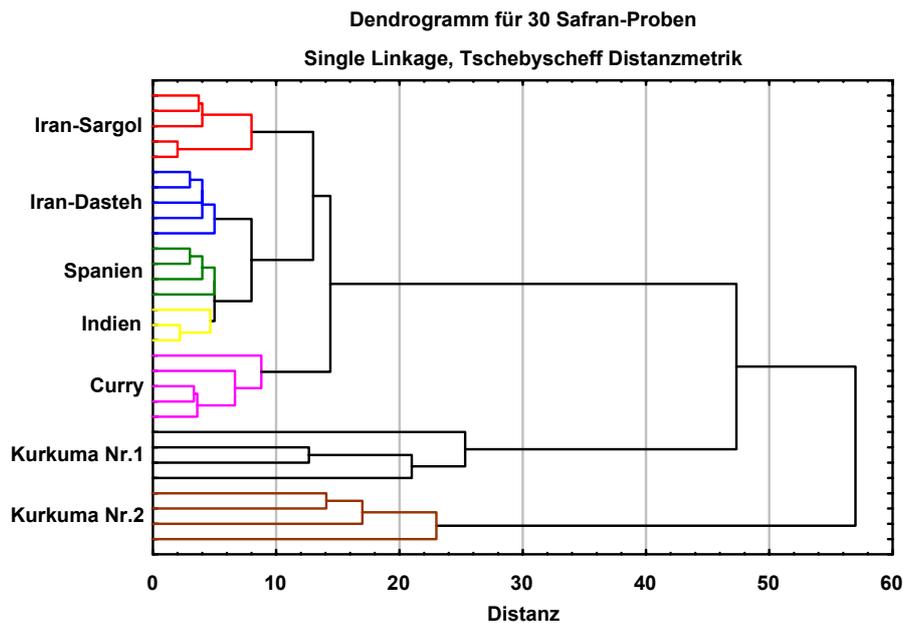


Abbildung 8.18: Clusteranalyse der Safran-, Curry- und Kurkuma-Proben mittels eines Sensor-Arrays bestehend aus den Porphyrinen 1, 2, 4, 7, 8, 10, 17 und 18.

Aus dem Dendrogramm wird ebenfalls die Ähnlichkeit der beiden Safran-Proben aus Spanien und Indien deutlich. Diese Ähnlichkeit zeigt ebenfalls die Mustererkennung mit Hilfe der selbstorganisierenden Karte. Die beiden Proben aus Spanien und Indien werden durch dasselbe Neuron dargestellt und können somit nicht unterschieden werden. Die übrigen Proben, vor allem die beiden Safran-Proben aus dem Iran, werden eindeutig von den übrigen Proben unterschieden.

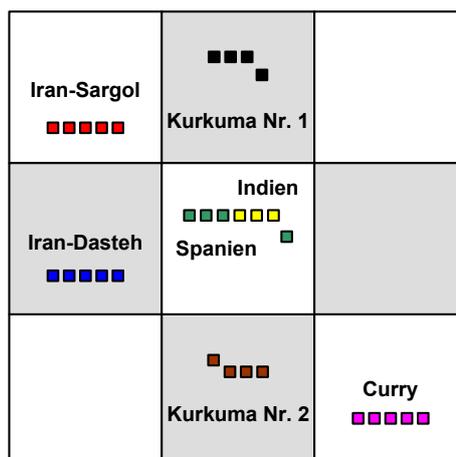


Abbildung 8.19: Die selbstorganisierende Karte der Safran-, Curry- und Kurkuma-Proben mittels eines Sensor-Arrays bestehend aus den Porphyrinen 1, 2, 4, 7, 8, 10, 17 und 18.

8.3 Messungen von leicht flüchtigen Verbindungen der Trüffel

Für die Entwicklung eines Trüffel-Sensors wurden, analog zu Safran, die sensorisch aktiven Verbindungen in der Multikomponenten-Anlage untersucht. Aufgrund der großen Anzahl dieser Verbindungen werden sie in chemischen Gruppen vorgestellt.

8.3.1 Schwefel-Verbindungen

Die wichtigsten sensorisch aktiven Verbindungen in der Weißen- und Schwarzen Trüffel stellen die Schwefelverbindungen dar. Bei den untersuchten Schwefelverbindungen handelt es sich um folgende Substanzen:

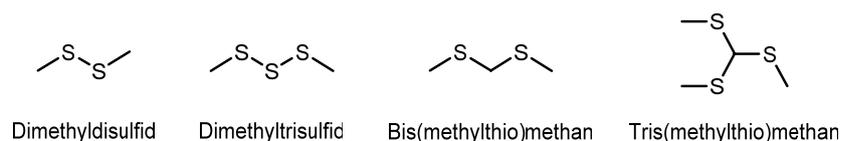


Abbildung 8.20: Übersicht der wichtigsten Schwefel-Verbindungen der Trüffel, die zum Gesamtaroma der Trüffel beitragen.

Die Verbindung Bis(methylthio)methan ist die sensorisch aktive Komponente der Weißen Trüffel und aufgrund der Konzentrationsänderung ein chemischer Indikator für eine mögliche Unterscheidung der Weißen Trüffel von den anderen Spezies. Durch enzymatische Abbauprozesse verringert sich die Konzentration von Bis(methylthio)methan, was ein Hinweis auf dem Frischezustand bzw. auf eine inadäquate Lagerung hindeutet.

Die Verbindung Dimethyldisulfid kommt hauptsächlich in der Schwarzen Trüffel und in geringerer Konzentration in der Sommer Trüffel vor. Die Verbindung, die nach Zwiebeln, Kohl und Fäulnis riecht, konnte als die sensorisch aktive Komponente in der Schwarzen Trüffel nicht bestätigt werden. Sie wurde jedoch als eine der Schlüsselkomponenten im Gesamtaroma der Schwarzen Trüffel bezeichnet. Das Nichtvorhandensein jeglicher Schwefelverbindung im Asia Trüffel kann eine mögliche Unterscheidung im Fall eines selektiven Sensors bezüglich der Schwefelverbindungen erleichtern.

Eine erste Untersuchung ergab, dass alle Verbindungen mit Ausnahme von Dimethylsulfid von den Porphyrinen sehr gut eingelagert werden. Bei Dimethylsulfid handelt es sich um eine Verbindung mit einem sehr hohen Dampfdruck von 530 mbar bei 25°C¹⁹. Die Verbindung riecht nach verfaultem Gemüse und besitzt für den Geruchssinn eine außerordentlich geringe Schwellenwertkonzentration von 0,1 ppb^[129]. Die Nachweisgrenze mit den untersuchten Porphyrinen liegt leider oberhalb von 5000 ppm und erlaubt, aufgrund des zeitlichen Frequenzverlaufs, der keine eindeutigen Frequenzsprünge aufzeigt, demnach keine Quantifizierung. Aus diesem Grund wird die Verbindung Dimethyldisulfid im Rahmen dieser Arbeit im Sinne eines geeigneten chemischen Sensors als nicht detektierbar eingestuft.

Ebenfalls weisen die zeitlichen Frequenzverläufe der Porphyrine 4 und 8 trotz guter Sensitivität keine eindeutige Treppenform auf. Der Grund ist eine enorm langsame Desorptionsgeschwindigkeit gegenüber den untersuchten Schwefelverbindungen. Aus diesem Grund eignen sich diese Verbindungen nicht als sensoraktive Substanzen und werden in den folgenden Beschreibungen nicht berücksichtigt.

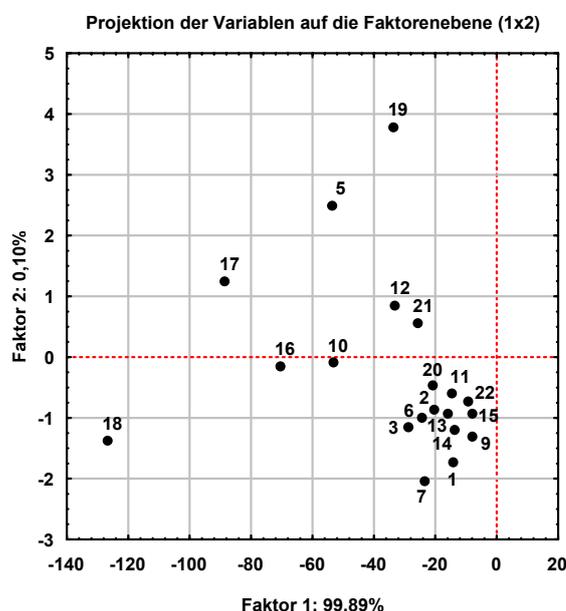


Abbildung 8.21: Hauptkomponentendiagramm von Dimethyldisulfid über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich.

¹⁹ Merck ChemDAT

Die Abbildung 8.21 zeigt das Hauptkomponentendiagramm der Frequenzänderungen von Dimethyldisulfid über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich. Aus der Abbildung wird ersichtlich, dass hierbei die Porphyrine 5, 17, 18 und 19 die größte Sensitivität besitzen.

Die Isothermen dieser Porphyrine im untersuchten Konzentrationsbereich, die in der Abbildung 8.22 dargestellt sind, zeigen eine leichte Sättigung mit zunehmender Konzentration, die bei den Porphyrinen mit höherer Sensitivität weniger ausgeprägt ist.

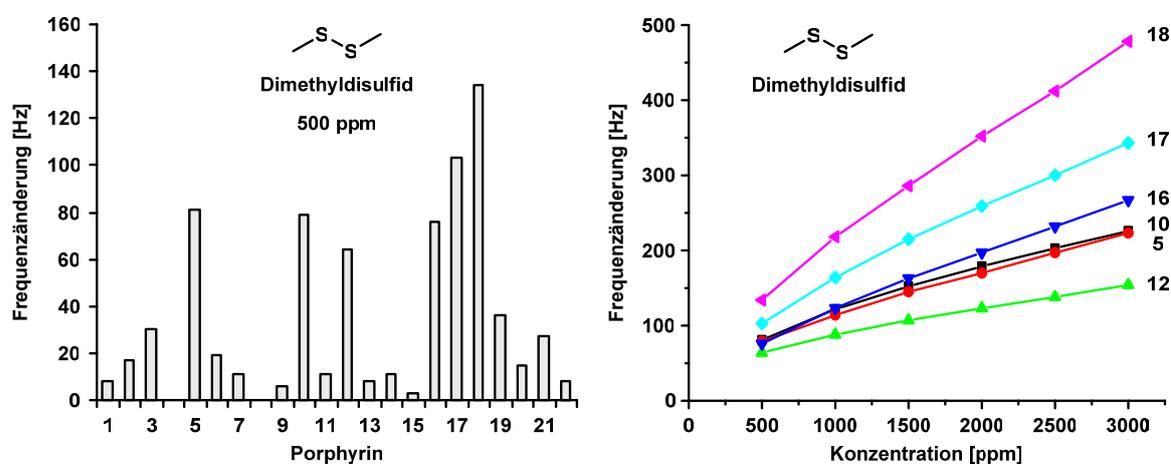


Abbildung 8.22: Frequenzänderungen von Dimethyldisulfid bei einer Konzentration von 500 ppm (links) sowie die Isotherme der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität in Bezug auf Dimethyldisulfid (rechts).

Abbildung 8.23 zeigt das Hauptkomponentendiagramm der Verbindung Dimethyltrisulfid. Sie weist ebenfalls einen starken Schwefel-Geruch auf und erinnert an Fisch und Kohl. Durch die zusätzliche Methylthio-Gruppe im Vergleich zu Dimethyldisulfid erniedrigt sich der Dampfdruck um den Faktor 30, woraus eine erheblich größere Sensitivität resultiert.

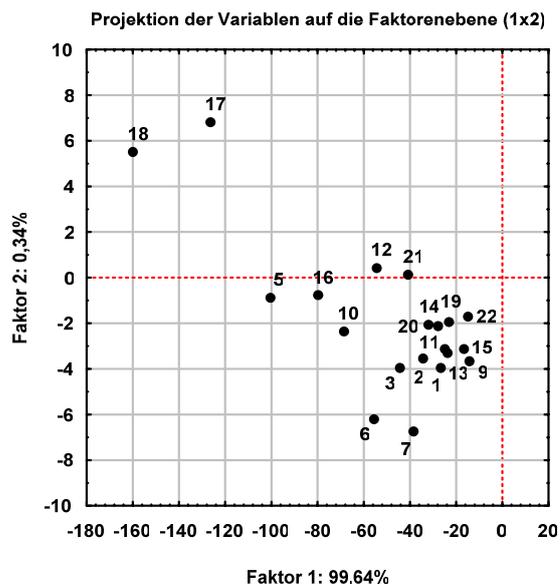


Abbildung 8.23: Hauptkomponentendiagramm von Dimethyltrisulfid über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich.

Das Sensitivitätsmuster weist im Vergleich zu Dimethydisulfid ein analoges Verhältnis auf. Hierbei zeigen die Porphyrine 17 und 18 eine besonders große Sensitivität. Die Isothermen der empfindlichsten Porphyrine gegenüber Dimethyltrisulfid nähern sich im Vergleich zu Dimethydisulfid einer stärkeren Sättigung bei zunehmender Konzentration.

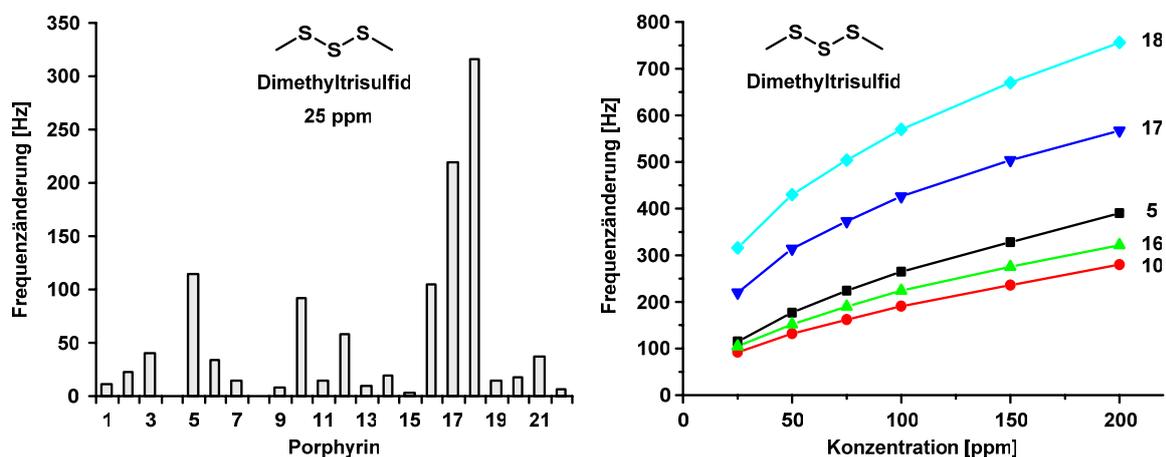


Abbildung 8.24: Frequenzänderung von Dimethyltrisulfid bei einer Konzentration von 500 ppm (links) sowie die Isotherme mit der höchsten Sensitivität (rechts).

Die Ergebnisse für die Verbindung Bis(methylthio)methan zeigen ebenfalls große Ähnlichkeiten zu den bisher beschriebenen Schwefel-Verbindungen. Bei den Porphyrinen 5, 10, 12, 16, 17 und 18 beobachtet man die größten Sensor-Signale. Aufgrund eines um den Faktor fünf geringeren Dampfdrucks im Vergleich zu Dimethyltrisulfid, ist die Sensitivität hierbei etwas geringer ausgeprägt.

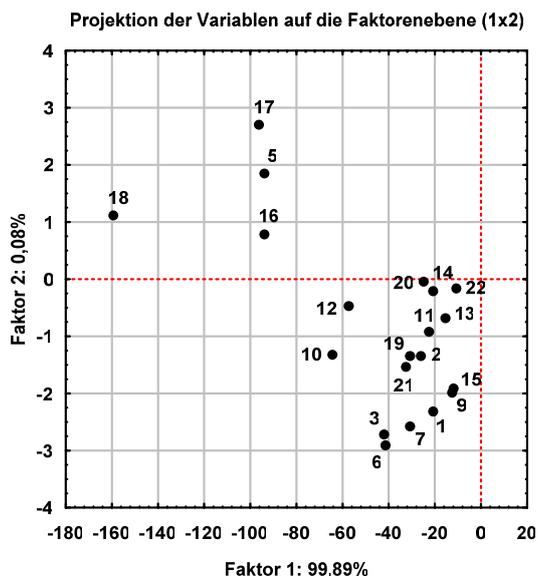


Abbildung 8.25: Hauptkomponentendiagramm von Bis(methylthio)methan über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich.

Die Isothermen zeigen ähnlich wie Dimethyldisulfid eine leichte Sättigung mit zunehmender Konzentration.

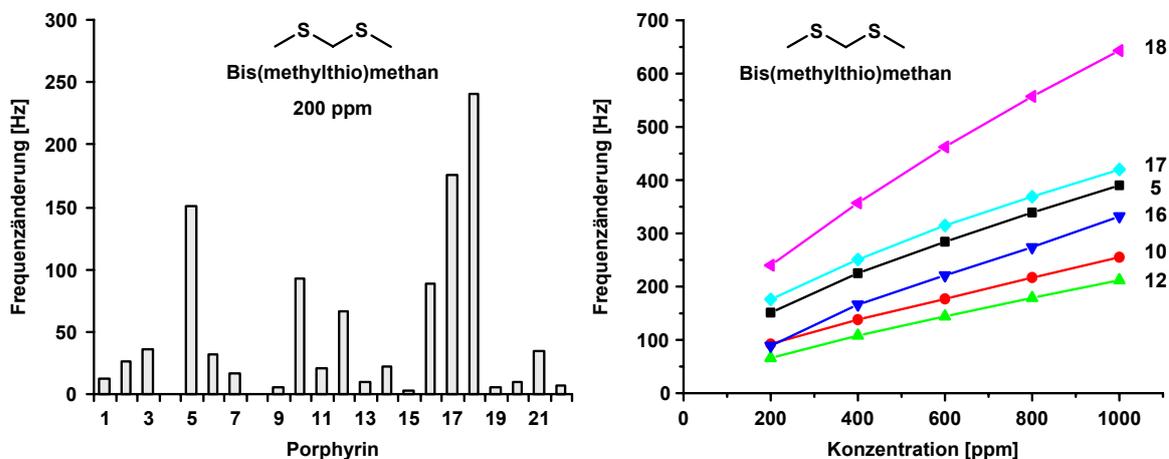


Abbildung 8.26: Frequenzänderung von Bis(methylthio)methan bei einer Konzentration von 500 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

Die Verbindung Tris(methylthio)methan kommt in der frischen Weißen Trüffel nur in Spuren vor^[130] und zeigt aufgrund der verzweigten Struktur ein anderes Adsorptionsverhalten.

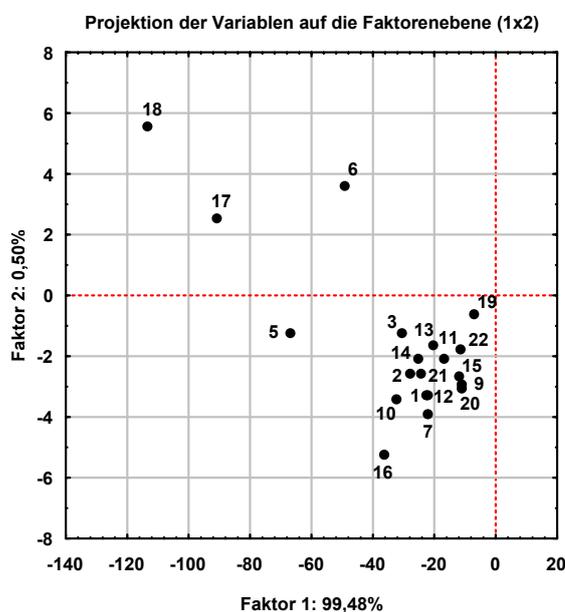


Abbildung 8.27: Hauptkomponentendiagramm von Tris(methylthio)methan über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich.

Neben den Porphyrinen 5, 17 und 18, die die größte Sensitivität aufweisen, zeigt das Porphyrin 6 im Gegensatz zu den bisherigen Schwefel-Verbindungen eine ebenfalls gute Empfindlichkeit auf. Dies kann eine mögliche Unterscheidung von der Weißen Trüffel begünstigen. Aufgrund eines sehr geringen Dampfdrucks von 0,14 mbar bei 20°C war eine genaue Analyse dieser Verbindung bis zu einer Konzentration von 5 ppm möglich.

Die Isothermen zeigen analog zu Dimethyltrisulfid eine stärker ausgeprägte Krümmung bei zunehmender Konzentration.

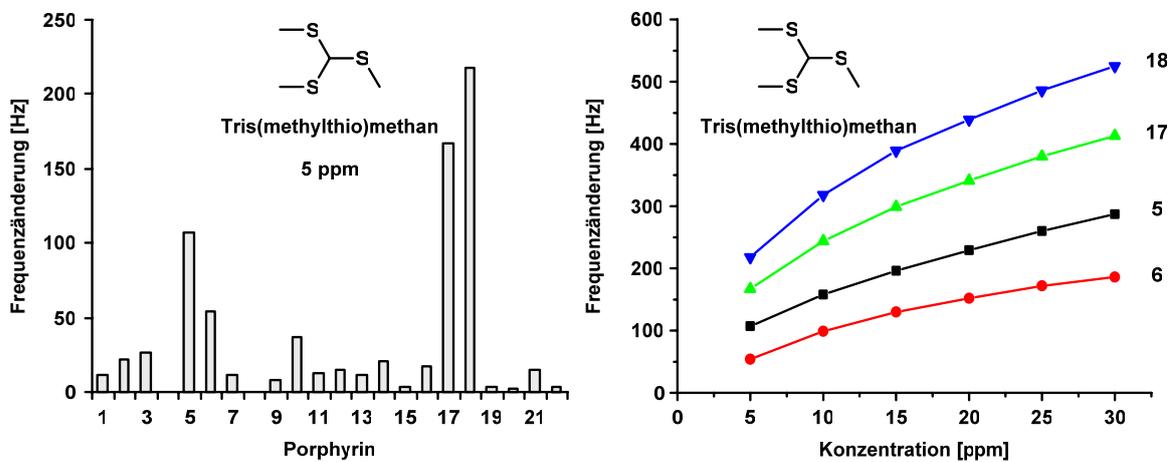


Abbildung 8.28: Frequenzänderung von Tris(methylthio)methan bei einer Konzentration von 500 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

8.3.2 Aldehyde

Aldehyde spielen im Aroma von Lebensmitteln eine wichtige Rolle und kommen in zahlreichen Früchten vor. Somit ist es nicht verwunderlich, dass sie auch in verschiedenen Trüffel-Sorten vorkommen. Abbildung 8.29 enthält eine Übersicht der wichtigsten Aldehyde, die als sensoraktive Komponente für das Gesamtaroma der Trüffel eine Schlüsselrolle spielen.

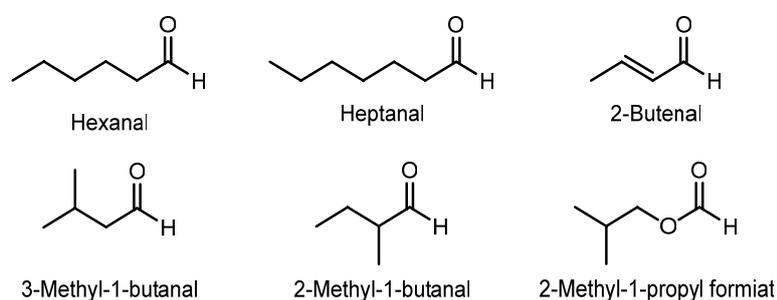


Abbildung 8.29: Übersicht der wichtigsten Aldehyde, die zum Gesamtaroma der Trüffel beitragen.

Die beiden Aldehyde 2- und 3-Methylbutanal, die als Kakao und Mandeln bzw. als malzig wahrgenommen werden, haben sich im Vorversuch für die entsprechenden Wirte als nicht geeignet herausgestellt. Auch die Verbindung 2-Methyl-1-propyl formiat, die einen beissend stechenden Geruch aufweist, konnte nicht detektiert werden.

Ein möglicher Grund kann der 50-fach höhere Dampfdruck dieser Verbindungen im Vergleich zu den anderen untersuchten Aldehyden bestehen. Die beiden langkettigen Aldehyde Hexanal und Heptanal kommen in verhältnismäßig größeren Mengen vor. Die Wahrnehmung der Verbindung Hexanal wird als fettig bzw. nach Gras und Talg riechend beschrieben. Heptanal wird als fettig, ranzig und Zitrusfrucht wahrgenommen.

Abbildung 8.30 zeigt die Frequenzänderung von Hexanal bei einer Konzentration von 200 ppm. Die Porphyrine 5, 16, 17 und 18 ergeben hierbei die größten Sensor-Signale. Die Isothermen verlaufen auch bei Hexanal in Richtung einer leichten Sättigung mit zunehmender Konzentration des Analyten.

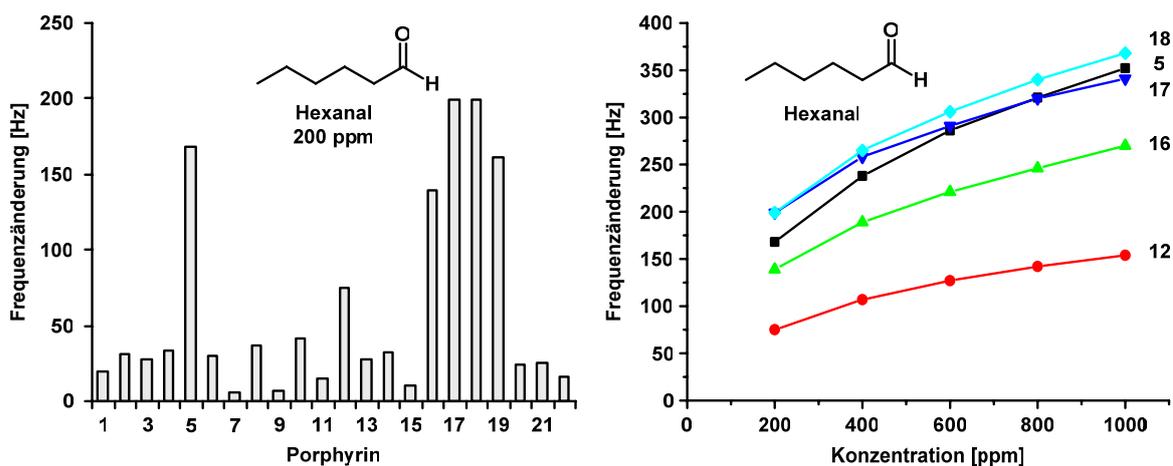


Abbildung 8.30: Frequenzänderung von Hexanal bei einer Konzentration von 200 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

Abbildung 8.31 stellt die Frequenzänderung von Heptanal bei einer Konzentration von 200 ppm dar. Die Porphyrine 4, 5, 8, 12, 16, 17 und 18 ergeben hierbei die größten Sensor-Signale.

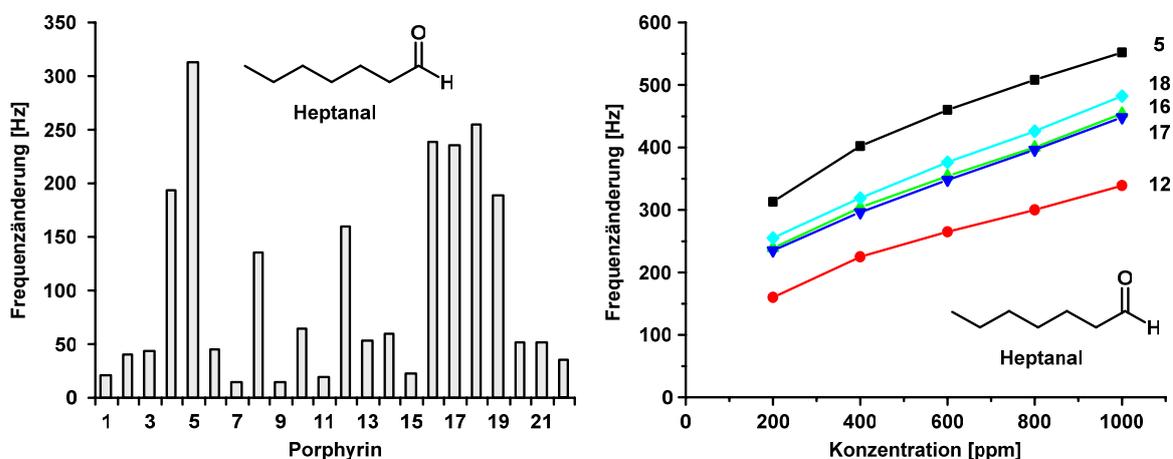


Abbildung 8.31: Frequenzänderung von Heptanal bei einer Konzentration von 200 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

Ein Vergleich der beiden Verbindungen wird in der Abbildung 8.32 demonstriert. Das Balkendiagramm stellt die molmassenbezogenen Frequenzänderungen der Verbindungen Hexanal und Heptanal bei einer Konzentration von 200 ppm dar. Daraus geht hervor, dass fast alle Porphyrine eine größere Sensitivität für Heptanal ergeben als für Hexanal.

Die einzige Ausnahme ist das Porphyrin 1, bei dem im Rahmen der Messgenauigkeit Hexanal leicht bevorzugt wird. Die Porphyrine 5, 12, 16, 17 und 18 ergeben hierbei die größten Sensor-Signale.

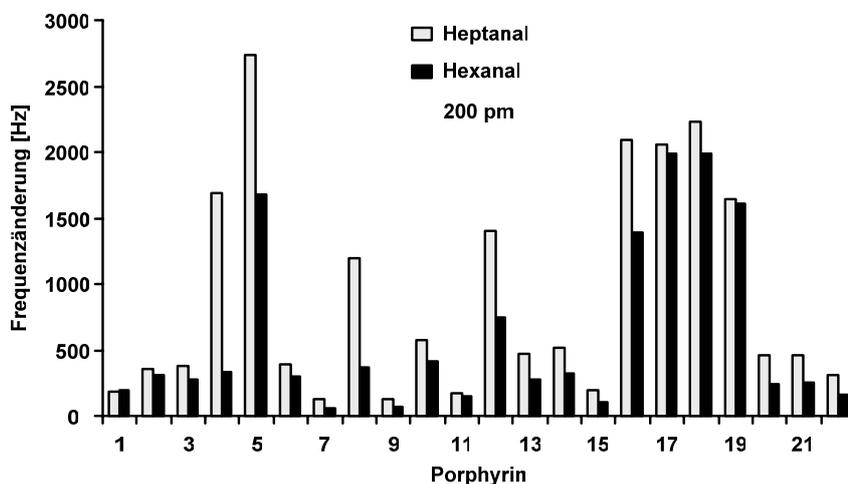


Abbildung 8.32: Molmassenbezogene Frequenzänderungen von Hexanal und Heptanal bei einer Konzentration von 200 ppm.

Die Verbindung 2-Butenal hat einen wohlriechenden Geruch und wird als blumig wahrgenommen. 2-Butenal hat einen deutlich höheren Dampfdruck als die beiden zuvor beschriebenen Aldehyde. Abbildung 8.33 zeigt die Frequenzänderungen bei einer Konzentration von 500 ppm. Die besten Resultate erzielen die Porphyrine 4, 5, 8 und 10 gefolgt von den Porphyrinen 16, 17, 18 und 19. Der zeitlicher Frequenzverlauf der Porphyrine 4 und 8 weisen bei 2-Butenal im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Aldehyden ein wesentlich schnelleres Adsorptions- bzw. Desorptionsverhalten auf. Die in Abbildung 8.33 dargestellten Isothermen zeigen eine leichte Krümmung bei zunehmender Konzentration des Analyten. Das Porphyrin 17 zeigt im Rahmen der Messgenauigkeit einen fast linearen Verlauf.

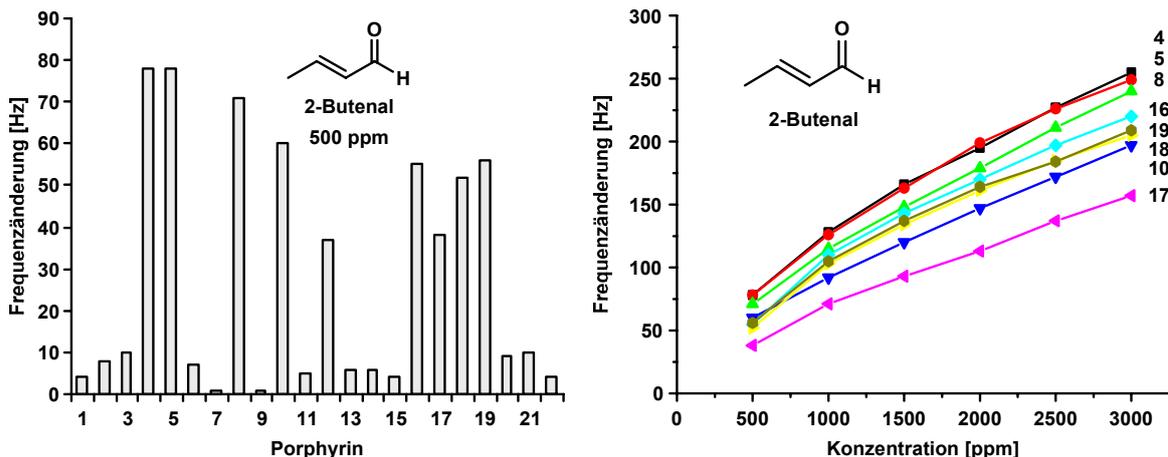


Abbildung 8.33: Frequenzänderung von 2-Butenal bei einer Konzentration von 500 ppm (links) sowie die Isotherme der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

In Analogie zu den Schwefelverbindungen sind in Abbildung 8.34 das Hauptkomponentendiagramm der wichtigsten Aldehyde über den gesamten untersuchten Konzentrationsbereich dargestellt. Die molmassenbezogenen Frequenzänderungen wurden ebenfalls in Bezug auf die untersuchten Konzentrationen normiert. Aus dem Hauptkomponentendiagramm können die Porphyrine mit der größten Sensitivität entnommen werden.

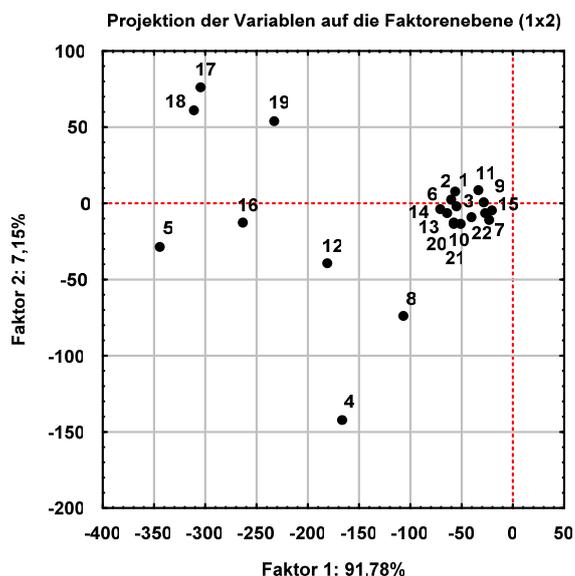


Abbildung 8.34: Hauptkomponentendiagramm der wichtigsten Aldehyde, die zum Gesamtaroma der Trüffel beitragen.

8.3.3 Alkohole

Die Alkohole stellen quantitativ die größte chemische Gruppe unter den leicht flüchtigen Verbindungen der Trüffel dar, und obwohl sie nicht zu den charakteristischen Verbindungen des sensorischen Profils gehören, tragen sie ebenfalls wie die Aldehyde zum Gesamtaroma der Trüffel bei. Abbildung 8.35 stellt die wichtigsten untersuchten Alkohole dar.

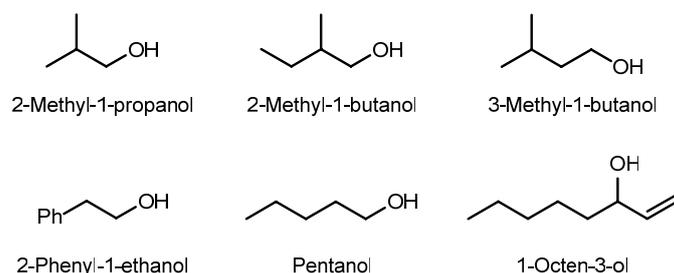


Abbildung 8.35: Übersicht der wichtigsten Alkohole, die zum Gesamtaroma der Trüffel beitragen.

Die sensorische Wahrnehmung dieser Verbindungen ist unterschiedlich. Während die Verbindung 2-Methyl-1-propanol nach Lösungsmittel, Wein und leicht bitter riecht, wird 1-Pentanol als angenehm nach Balsamessig riechend empfunden.

Die beiden Struktur-Isomere 2- bzw. 3-Methyl-1-butanol weisen einen malzigen Geruch auf. Die Verbindung 3-Methyl-1-butanol ist das charakteristische Aroma von Whiskey und wird als „gebrannt“ beschrieben. Die Verbindung 1-Octen-3-ol, die im Sommer bzw. Asia Trüffel vorkommt, ist das charakteristische Champignon-Aroma und riecht stark nach Pilzen. Aufgrund des um den Faktor 100 kleineren Dampfdrucks als die beschriebenen Alkohole ergibt diese Verbindung sehr große Sensor-Signale. Die Verbindung 2-Phenylethanol, die ebenfalls einen sehr kleinen Dampfdruck von 0,01 mbar bei 20°C besitzt und nur als Spur vorkommt, riecht sehr angenehm und ist eine der charakteristischen Komponenten in Honig, Rose und Flieder.

In den Abbildung 8.36 bis Abbildung 8.38 sind die Frequenzänderungen der drei Struktur-Isomere 1-Pentanol, 2- bzw. 3-Methyl-1-butanol bei einer Konzentration von 200 ppm dargestellt. Bei den Porphyrinen, die im Vergleich eine geringe Frequenzänderung aufweisen, verhalten sich die drei strukturisomeren Verbindungen 1-Pentanol und 2- bzw. 3-Methyl-1-butanol im Rahmen der Messgenauigkeit sehr ähnlich.

Mit zunehmender Frequenzänderung wird jedoch das Verhältnis zu Gunsten von 2-Methyl-1-butanol gefolgt von 1-Pentanol verschoben. Dieser Trend wird bei den Porphyrinen 4, 5, 8 und 16 besonders deutlich. Interessant hierbei ist, dass kein Porphyrin die Verbindung 3-Methyl-1-butanol gegenüber den anderen beiden Analyten bevorzugt einlagert. Während die Verbindung 2-Methyl-1-butanol von den Porphyrinen 4, 5 und 8 favorisiert wird, ist die Verbindung 1-Pentanol nur von Porphyrin 19 bevorzugt. Grundsätzlich ergibt 2-Methyl-1-butanol gefolgt von 1-Pentanol die größten Sensor-Signale. Im Vergleich zu 1-Pentanol ergibt die Verbindung 3-Methyl-1-butanol mit Ausnahme von Porphyrin 18 die geringeren Sensor-Signale.

Die folgenden Abbildungen zeigen die Frequenzänderung der drei Struktur-Isomere 1-Pentanol, 2- und 3-Methyl-1-butanol sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität an.

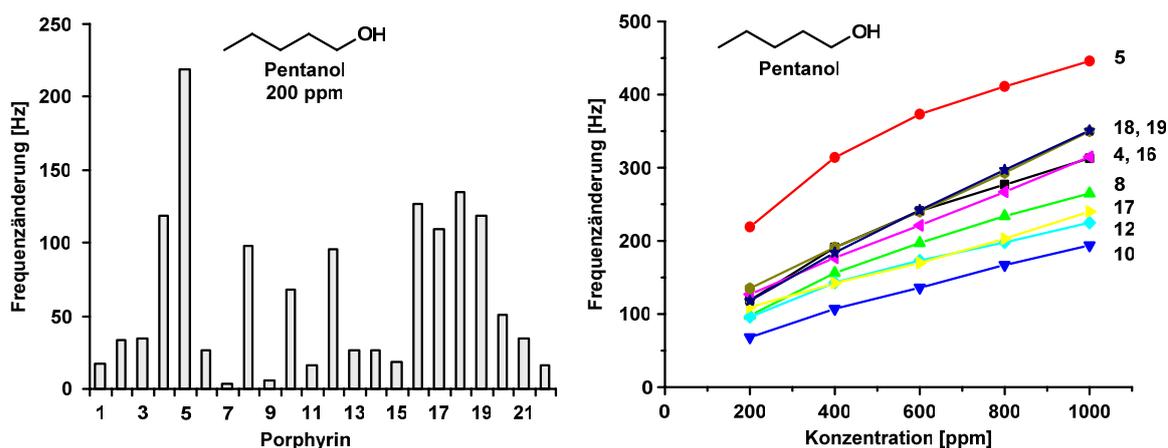


Abbildung 8.36: Frequenzänderung von 1-Pentanol bei einer Konzentration von 200 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

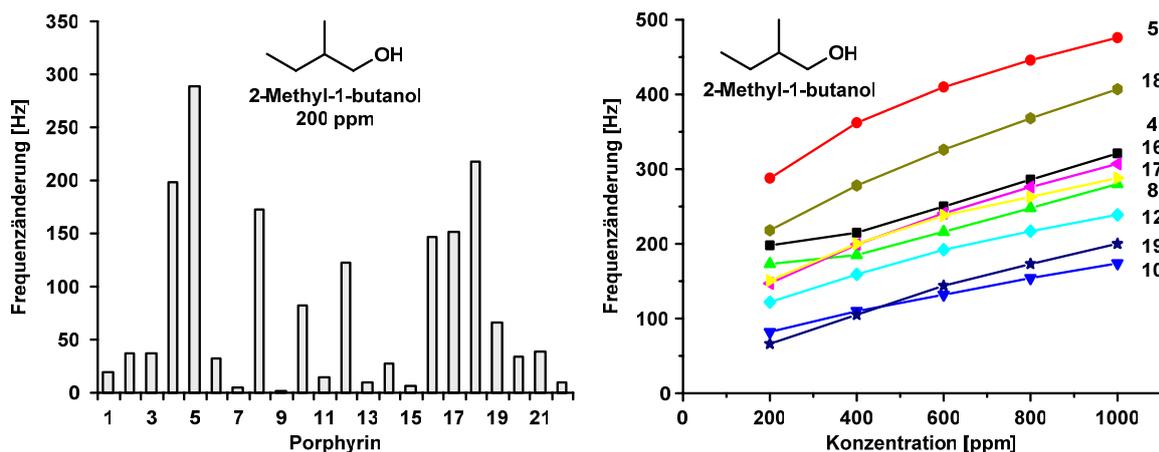


Abbildung 8.37: Frequenzänderung von 2-Methyl-1-butanol bei einer Konzentration von 200 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

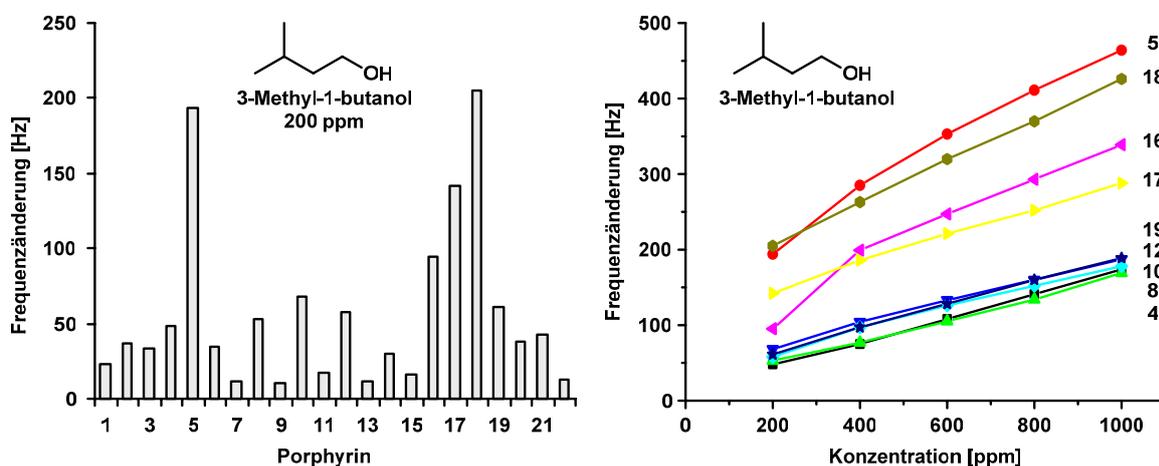


Abbildung 8.38: Frequenzänderung von 3-Methyl-1-butanol bei einer Konzentration von 200 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

Hierbei zeigt sich, dass die Porphyrine 6, 16, 17 und 18 eine gute Sensitivität aufweisen. Die zeitlichen Frequenzverläufe der Porphyrine 4, 8 und 19 offenbaren eine erheblich verlangsamte Desorptionsphase aufgrund der Wasserstoffbrückenbindungen über die OH-Substituenten. Die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität zeigen mit zunehmender Konzentration eine leichte Sättigung, die sich im Falle von 2-Methyl-1-butanol stärker auswirkt. Bei der Verbindung 3-Methyl-1-butanol sind die Isothermen der Porphyrine 4, 8, 10, 12 und 19 im Rahmen der Messgenauigkeit linear.

Ein Vergleich der Frequenzänderungen drei Struktur-Isomere bei einer Konzentration von 200 ppm wie sie in der Abbildung 8.39 dargestellt ist, verdeutlicht das unterschiedliche Adsorptionsverhalten der untersuchten Porphyrine. Mit Hilfe der Porphyrine 4, 18 und 19 wäre eine Unterscheidung dieser drei Verbindungen möglich.

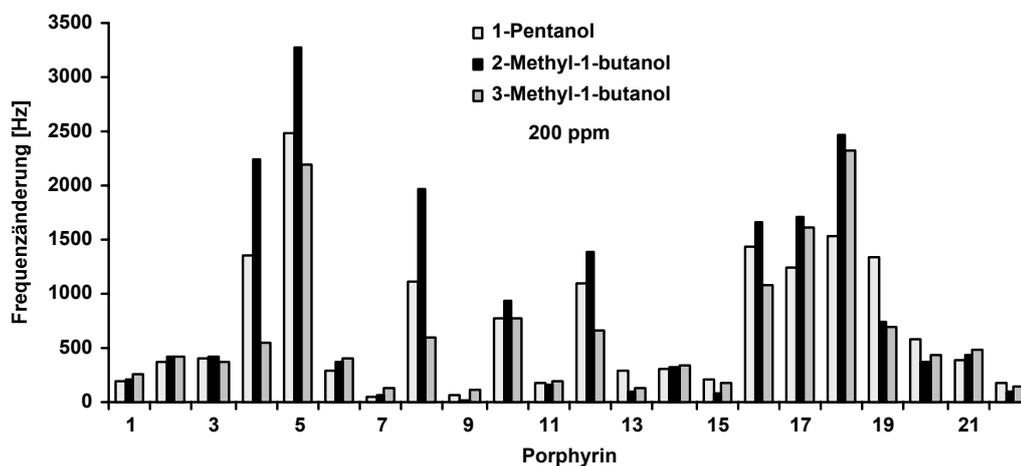


Abbildung 8.39: Vergleich der Frequenzänderungen von 1-Pentanol, 2- und 3-Methyl-1-butanol bei einer Konzentration von 200 ppm.

Die Frequenzänderungen der Verbindung 2-Methyl-1-propanol bei einer Analytenkonzentration von 500 ppm ist in Abbildung 8.40 dargestellt. Hierbei werden mit den Porphyrinen 4, 5, 8, 10, 12, 16, 17, 18 und 19 die größten Sensor-Signale erhalten. Die Isothermen zeigen analog eine leichte Sättigung.

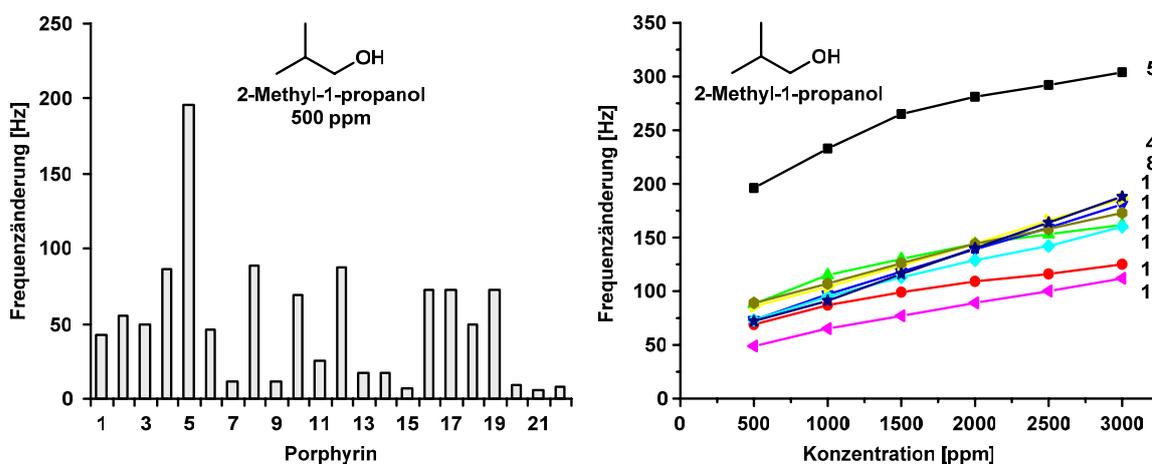


Abbildung 8.40: Frequenzänderung von 2-Methyl-1-propanol bei einer Konzentration von 500 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

Abbildung 8.41 stellt die Frequenzänderung der Verbindung 1-Octen-3-ol dar. Diese Verbindung ist für die charakteristische Pilznote der Trüffel verantwortlich. Aufgrund des niedrigen Dampfdrucks konnte diese Verbindung ebenfalls detailliert untersucht werden.

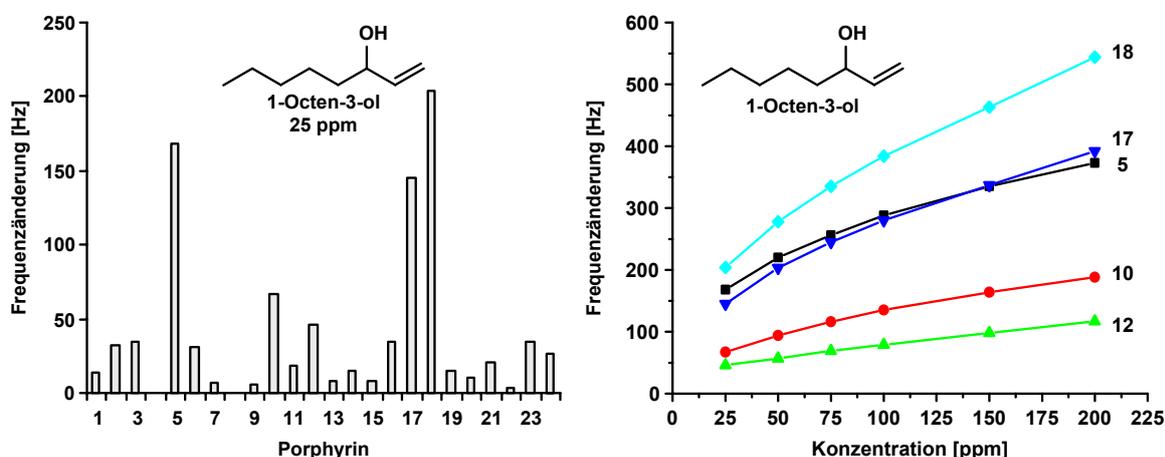


Abbildung 8.41: Frequenzänderung von 1-Octen-3-ol bei einer Konzentration von 25 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit höchster Sensitivität (rechts).

Die Porphyrine 5, 17 und 18 zeigen hierbei die stärksten Sensor-Signale. Die Porphyrine 4 und 8 konnten aufgrund einer extrem langsamen Desorption, die aus der zeitlichen Frequenzverlauf hervorgehen, nicht ausgewertet werden. Die Isothermen für die Porphyrine mit der höchsten Sensitivität, wie sie in der Abbildung 8.41 dargestellt sind, weisen mit zunehmender Konzentration des Analyten eine leichte Sättigung auf.

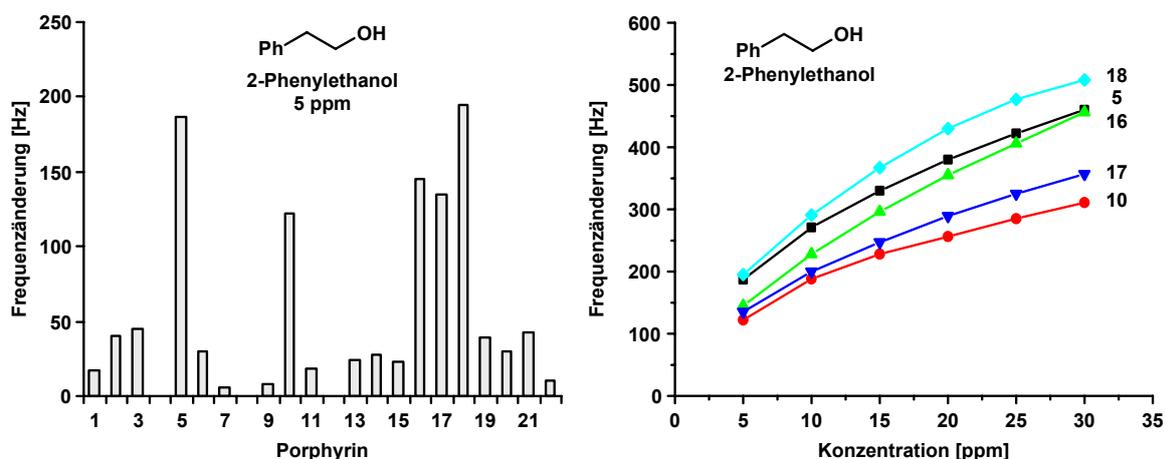


Abbildung 8.42: Frequenzänderung von 2-Phenylethanol bei einer Konzentration von 5 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit der höchsten Sensitivität (rechts).

Bei der Verbindung 2-Phenylethanol (Abbildung 8.42) konnte analog zu 1-Octen-3-ol die Daten der Porphyrine 4 und 8 nicht ausgewertet werden. Die stärksten Frequenzänderungen werden von den Porphyrinen 5, 10, 16, 17 und 18 bewirkt. Die entsprechenden Isothermen zeigen alle eine Sättigung, die im Vergleich zu den anderen Alkoholen stärker ausgeprägt ist.

Das Hauptkomponentendiagramm für die Einlagerung aller untersuchten, im Trüffelaroma enthaltenen Alkohole ist in der Abbildung 8.43 dargestellt. Um die verschiedenen Analyten miteinander vergleichen zu können, wurden die zuvor molmassenbezogenen Frequenzänderungen in Bezug auf die untersuchten Konzentrationsbereiche der Analyte normiert. Das Hauptkomponentendiagramm zeigt in Bestätigung zu den beschriebenen Ergebnissen, dass insgesamt die größten Frequenzänderungen mit den Porphyrinen 5, 10, 16, 17 und 18 erzielt werden.

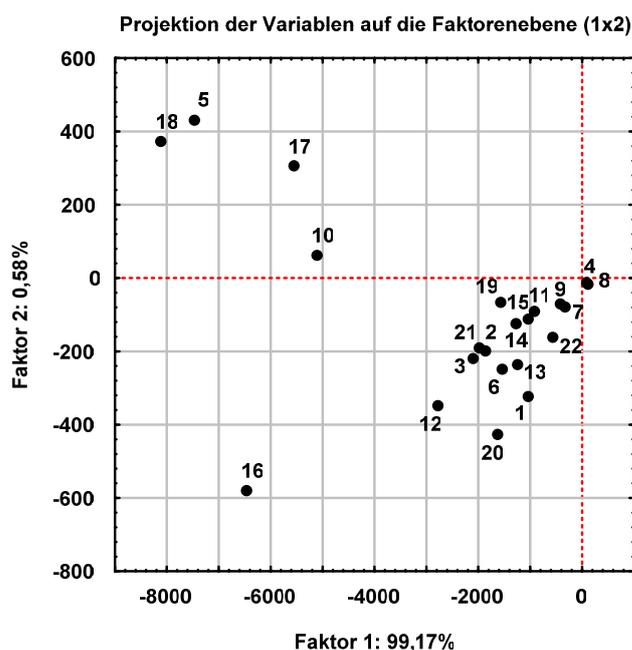


Abbildung 8.43: Hauptkomponentendiagramm der wichtigsten Alkohole, die zum Gesamtaroma der Trüffel beitragen.

8.3.4 Ketone

Die Ketone spielen im sensorischen Profil der Trüffel insgesamt eine untergeordnete Rolle. Als einzige Verbindung konnte lediglich 2-Butanon, das nach Ether riecht, detektiert werden. Die Verbindung 2,3-Butadion, die an Butter erinnert, konnte trotz eines Dampfdrucks von 50 mbar bei 20°C nicht detektiert werden. Die Verbindung 3-Hydroxy-2-butanon, die ebenfalls an Butter und Sahne erinnert, ergab ebenfalls keine brauchbaren Sensor-Signale.

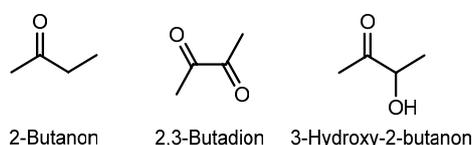


Abbildung 8.44: Übersicht der wichtigsten Ketone, die zum Gesamtaroma der Trüffel beitragen.

Abbildung 8.45 stellt die Frequenzänderung der Verbindung 2-Butanon bei 3000 ppm dar. Wie aus dem Diagramm zu entnehmen ist, zeigen nur die Porphyrine 5, 10, 12, 15, 17 und 19 auswertbare Signale. Die Isothermen erreichen mit zunehmender Konzentration eine Sättigung. Die Nachweisgrenze der Porphyrine 5, 10 und 12 liegt oberhalb von 1500 ppm, so dass erst ab dieser Konzentration Sensor-Signale resultieren.

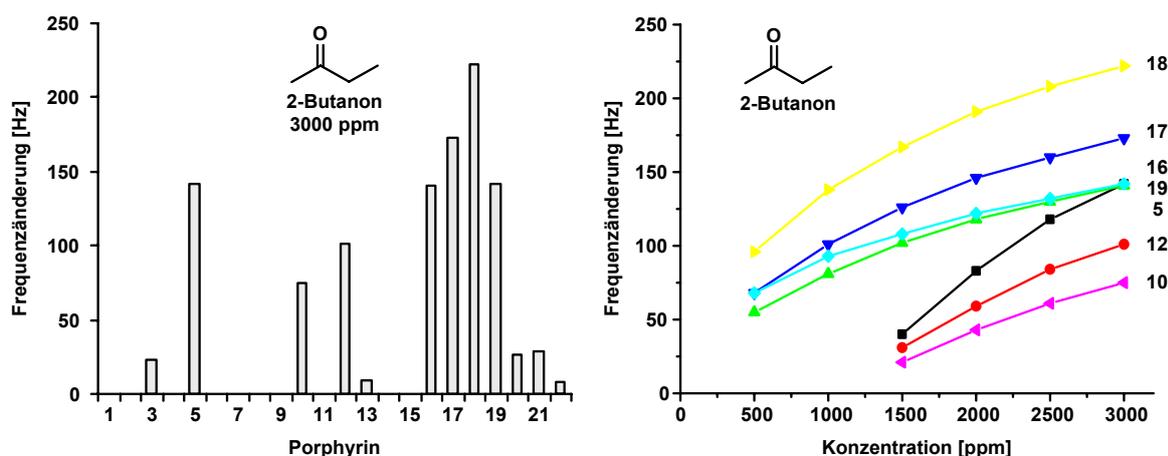


Abbildung 8.45: Frequenzänderung von 2-Butanon bei einer Konzentration von 3000 ppm (links) sowie die Isothermen der Porphyrine mit höchster Sensitivität (rechts).

8.4 Praxismessungen von Trüffel

Für die Praxismessungen wurden zwei Knollen Asia Trüffel aus China, zwei Knollen Sommer Trüffel aus Italien, eine Knolle Sommer Trüffel aus Frankreich, zwei Knollen Schwarze Trüffel aus Frankreich und zwei Knollen Weiße Trüffel aus Italien untersucht. Um genügend große Frequenzänderungen zu erhalten, wurden die Trüffelknollen je nach Größe in 4 bis 5 Proben als hauchdünne Scheibchen mit einem Gesamtgewicht von 2g in der Feststoffanlage untersucht. Die Spül- bzw. Anreicherungszeit betrug 15 Minuten. Die Messphase dauerte 20 Minuten, die anschließend mit einer Desorptionsphase von 30 Minuten beendet wurde. Im Folgenden werden die erhaltenen Ergebnisse dargestellt und diskutiert.

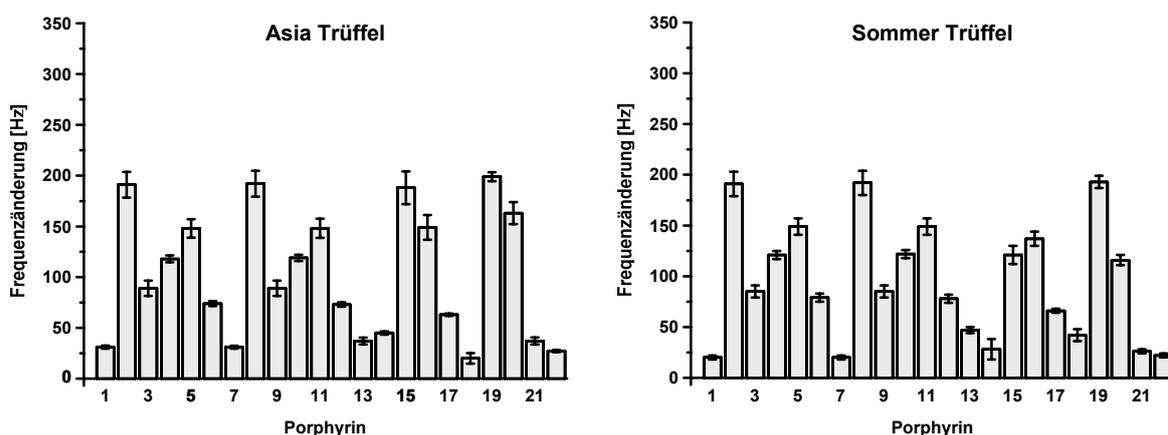


Abbildung 8.46: Durchschnittliche Frequenzänderungen der Asia (links) und Sommer Trüffel (rechts) sowie die Standardabweichung der Messungen.

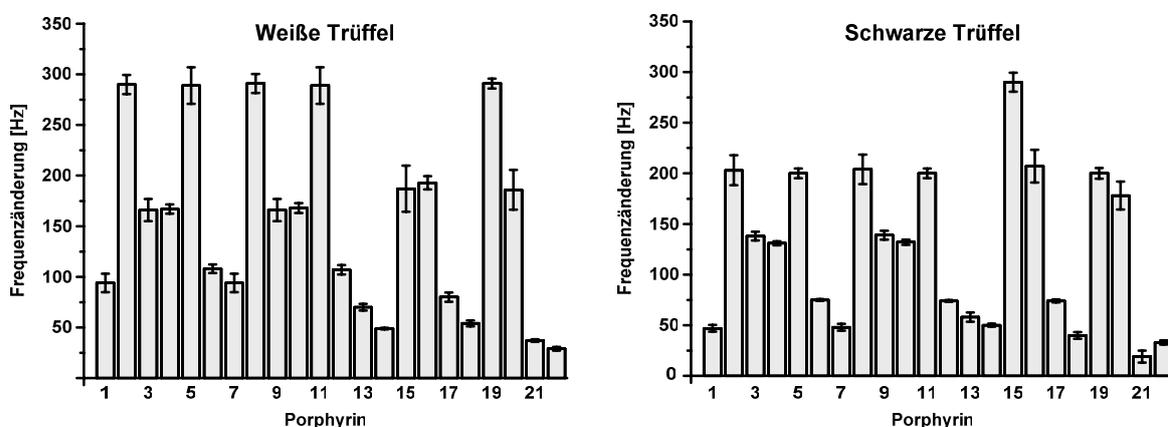


Abbildung 8.47: Durchschnittliche Frequenzänderungen der Weißen (links) und Schwarzen Trüffel (rechts) sowie die Standardabweichung der Messungen.

Die Abbildung 8.46 und Abbildung 8.47 stellen die Frequenzänderungen der verschiedenen Trüffelarten dar. Sie zeigen exemplarisch jeweils die Ergebnisse von nur einer von zwei möglichen Knollen. Jede Knolle wurde in fünf gleichwertige Proben unterteilt und gemessen. Die Balken stellen die durchschnittliche Frequenzänderung der fünf Proben mit den entsprechenden Standardabweichungen dar. Wie aus den Diagrammen zu entnehmen ist, kann die Reproduzierbarkeit der Messungen im Rahmen der Messgenauigkeit als gut bezeichnet werden. Die durchschnittliche Standardabweichung beträgt $\pm 7\%$.

Wie bereits beschrieben, besitzt die Weiße Trüffel die höchste Konzentration an leicht flüchtigen Verbindungen und damit den intensivsten Geruch. Dies wird ebenfalls durch die Diagramme bestätigt. Die Porphyrine 2, 5, 8, 11 und 19 zeigen Frequenzänderungen bis zu 300 Hz. Die Schwarze Trüffel weist im Vergleich ein geringeres Sensor-Signal auf. Hierbei beobachtet man bei den Porphyrinen 2, 5, 8, 11, 15, 16, 19 und 20 die größten Frequenzänderungen. Die Sommer oder Asia Trüffel wird im Vergleich zu den andern beiden Trüffel-Sorten als nicht so intensiv empfunden. Zudem macht sich die geringere Konzentration bzw. das Fehlen von Schwefelverbindungen im sensorischen Profil bemerkbar. Entsprechend geben sie hierbei auch die geringsten Sensor-Signale.

Wie oben ausgeführt, weist die Sommer Trüffel morphologische Ähnlichkeiten zu der Weißen Trüffel auf. Als einzige Schwefel-Verbindung konnte in der Sommer Trüffel die Verbindung Dimethyldisulfid nachgewiesen werden. Die charakteristische Verbindung in der Weißen Trüffel ist die Verbindung Bis(methylthio)methan, deren Konzentration bei einer inadäquaten Lagerung nach mehreren Tagen rapide abnimmt. Der Grund wird in einer enzymatischen Oxidation zu Dimethyldisulfid vermutet. Demnach weist eine schlecht oder zulange gelagerte Weiße Trüffel chemisch gesprochen die gleichen flüchtigen Komponenten auf wie eine Sommer Trüffel. Abbildung 8.48 zeigt die Frequenzänderung der Weißen Trüffel im frischen Zustand und im Vergleich nach einer siebentägigen Lagerung bei 4°C im Kühlschrank an. Hierbei zeigen sich deutliche Frequenzunterschiede, die auf das veränderte sensorische Profil der Weißen Trüffel während der Lagerung zurückzuführen sind.

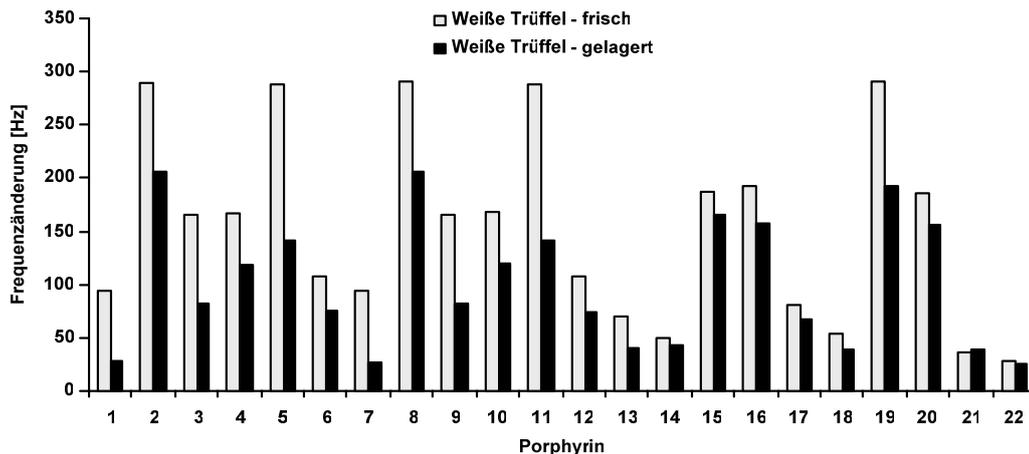


Abbildung 8.48: Frequenzänderung der Weißen Trüffel im frischen Zustand und im Vergleich bei einer siebentägigen Lagerung bei 4°C.

Für die Zusammenstellung eines geeigneten Sensor-Arrays wird mit Hilfe des Hauptkomponentendiagramms eine Auswahl an Porphyrinen gewählt, bei denen die Trüffel-Proben die größte Sensitivität aufweisen. Abbildung 8.49 zeigt das entsprechende Hauptkomponentendiagramm der Sensorreaktionen der untersuchten Trüffel-Proben mit den Porphyrinen 2, 3, 5, 8, 9, 11, 15, 16 und 20.

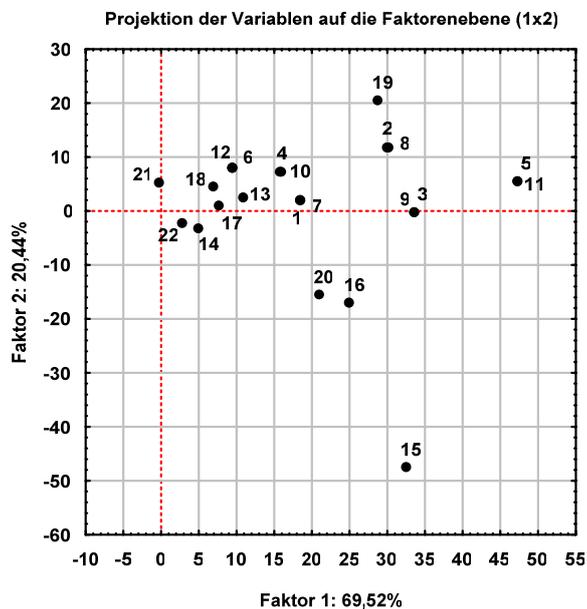


Abbildung 8.49: Hauptkomponentendiagramm der untersuchten Trüffel-Proben.

Da eine große Frequenzänderung allein noch keine Unterscheidung ermöglicht, wird eine Gegenüberstellung der zu vergleichenden Trüffel-Paare angestrebt. Abbildung 8.50 zeigt die Frequenzänderungen der Porphyrine der Weißen Trüffel im Vergleich zu der Sommer Trüffel.

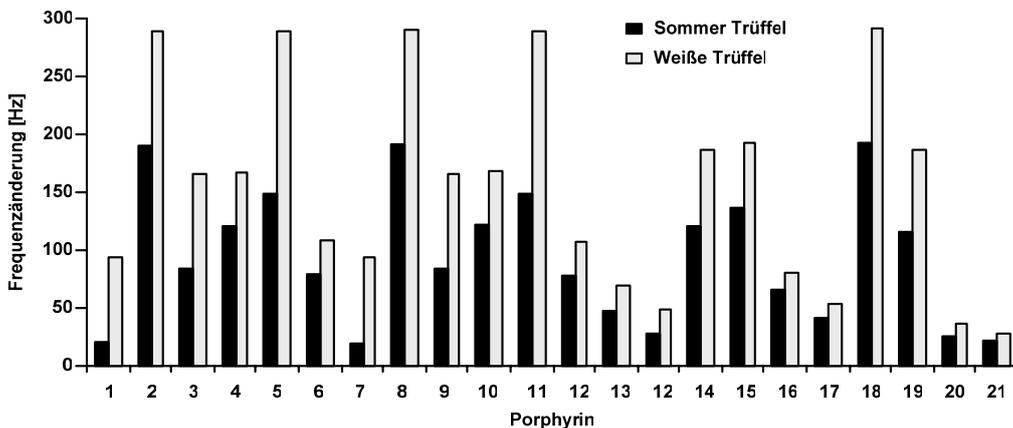


Abbildung 8.50: Frequenzänderungen der Weißen Trüffel im Vergleich zu Sommer Trüffel.

In Übereinstimmung mit dem Hauptkomponentendiagramm weisen die Porphyrine 2, 5, 8, 11 und 19 die größten Sensor-Signale auf. Die Porphyrine 1 und 7 ergeben analog den Porphyrinen 5 und 11 eine deutliche Frequenzänderung zu Gunsten der Weißen Trüffel. Interessant sind jedoch die Porphyrine 17 und 18, die als einzige ein größeres Signal bei der Sommer Trüffel aufweisen.

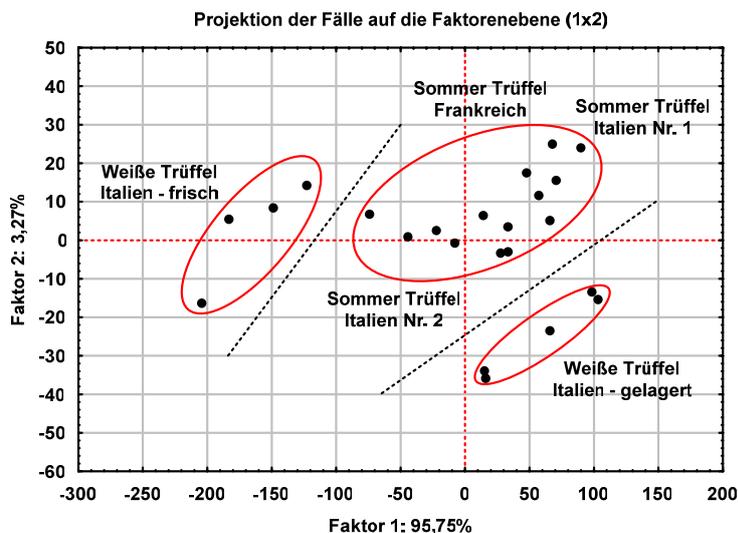


Abbildung 8.51: Hauptkomponentenanalyse der frischen bzw. gelagerten Weißen Trüffel aus Italien sowie der drei Sommer Trüffel aus Frankreich und Italien.

In Abbildung 8.51 ist die Hauptkomponentenanalyse der Weißen- bzw. Sommer Trüffel mit einem Sensor-Array bestehend aus den Porphyrinen 2, 5, 11 und 20 dargestellt. Hierbei sind sowohl die frische als auch die gelagerte Weiße Trüffel eindeutig von der Sommer-Trüffeln zu unterscheiden. Eine geographische Unterscheidung zwischen der Sommer Trüffel aus Italien und Frankreich ist mit diesem Sensor-Array nicht möglich. Die größten Ähnlichkeiten zu der frischen Weißen Trüffel zeigt die Sommer Trüffel aus Frankreich.

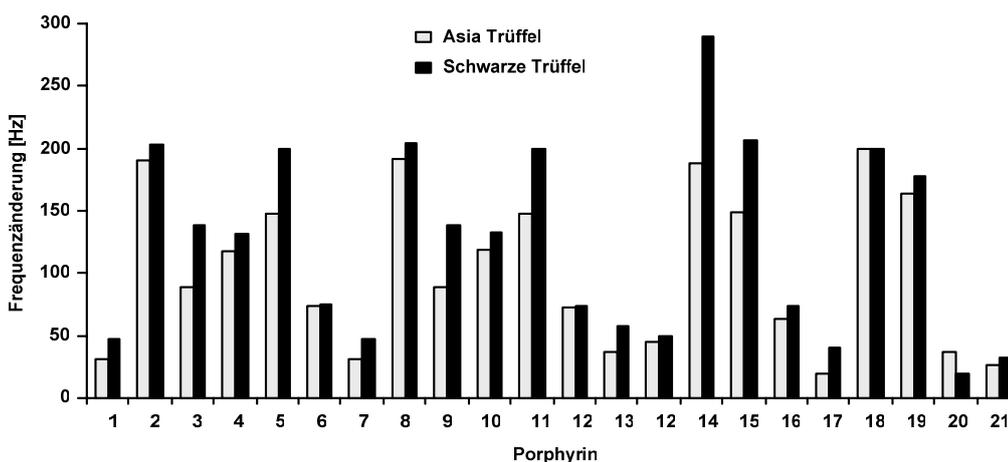


Abbildung 8.52: Frequenzänderungen der Asia Trüffel im Vergleich zur Schwarzen Trüffel.

Analog wird in der Abbildung 8.52 eine Gegenüberstellung der Schwarzen im Vergleich zur Asia Trüffel demonstriert.

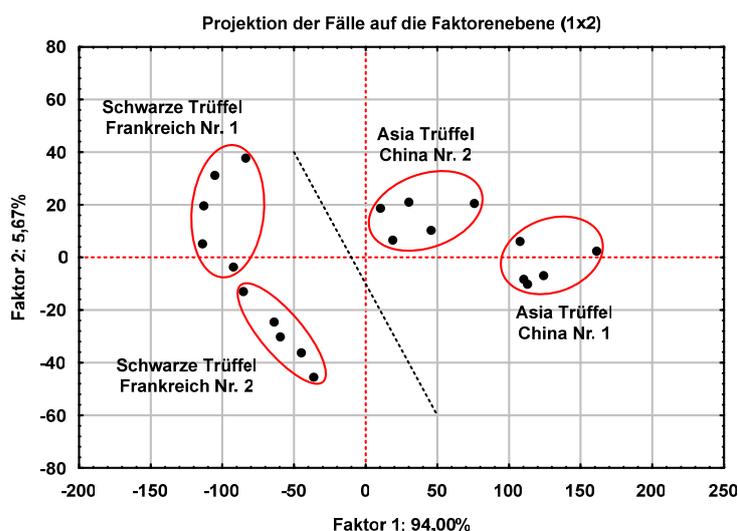


Abbildung 8.53: Hauptkomponentenanalyse der Asia Trüffel sowie der Schwarzen Trüffel.

Hierbei weisen die Porphyrine 3, 5, 9, 15 und 16 eine deutliche Frequenzänderung zugunsten der Schwarzen Trüffel auf. Die Asia Trüffel wird nur vom Porphyrin 21 bevorzugt. Abbildung 8.53 zeigt die Hauptkomponentenanalyse mit den Porphyrinen 5, 11, 15 und 16 als Sensor-Array an. Aus dem Hauptkomponentenendiagramm wird eine deutliche Unterscheidung der Schwarzen von der Asia Trüffel ersichtlich. Bei den Asia Trüffeln bilden selbst die zwei untersuchten Knollen unterschiedliche Bereiche aus.

Da die Trüffel, wie die meisten biologischen Substanzen, ebenfalls zu einem gewissen Teil aus Wasser bestehen, ist eine Untersuchung der Porphyrine im Hinblick auf ihre Sensitivität gegenüber Wasser unumgänglich. Die Frequenzänderung bei einer Wasserkonzentration von 5000 ppm sowie die entsprechenden Isothermen der sich im Sensor-Array befindlichen Porphyrine ist aus der Abbildung 8.54 zu entnehmen.

Die größten Signale werden durch das Porphyrin 5 erzielt. Die geringste Sensitivität besteht bei dem Porphyrin 2, 11 und 20. Wie aus den Diagrammen zu entnehmen ist, besteht selbst bei 20.000 ppm, was einer Luftfeuchtigkeit von ca. 100% bei 20°C entspricht, eine wesentlich geringere Frequenzänderung, als die detektierten Frequenzänderungen der Praxismessungen. Damit bestehen die erhaltenen Signale zum größten Teil aus Frequenzänderungen, die durch die leicht flüchtigen Bestandteile verursacht werden.

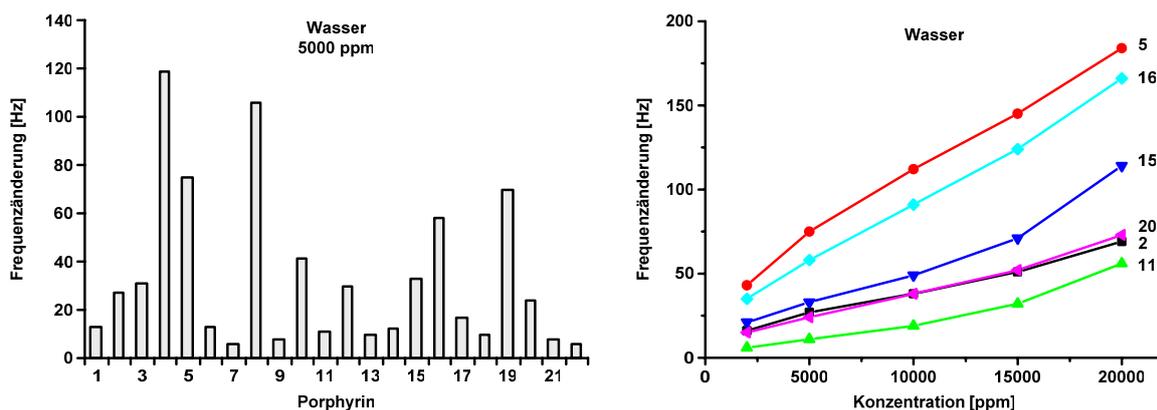


Abbildung 8.54: Frequenzänderung bei einer Wasserkonzentration von 5000 ppm sowie die entsprechenden Isothermen der sich im Sensor-Array befindlichen Porphyrine.

In Abbildung 8.55 ist schließlich die Hauptkomponentenanalyse aller untersuchten frischen Trüffel-Proben mit einem Sensor-Array bestehend aus den Porphyrinen 2, 5, 11, 15, 16, und 20 dargestellt. Dabei wurde die Probe der gelagerten Weißen Trüffel aufgrund der Übersichtlichkeit nicht berücksichtigt.

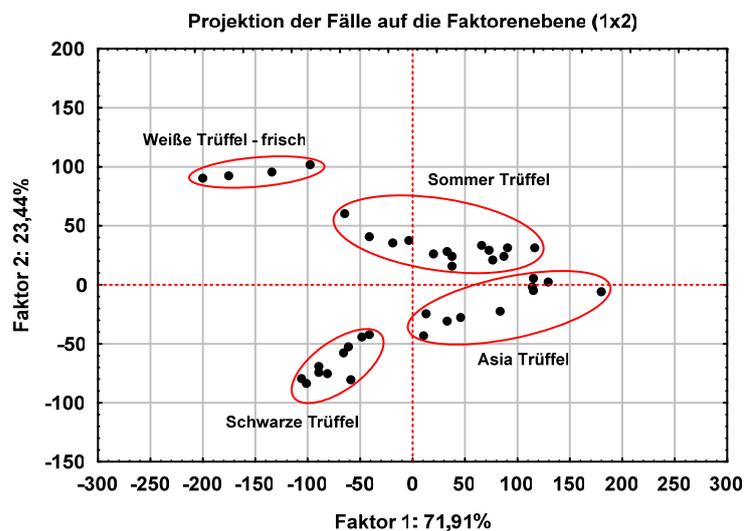


Abbildung 8.55: Hauptkomponentenanalyse der untersuchten Trüffel-Proben.

Das Diagramm zeigt vier verschiedene Bereiche stellvertretend für die vier Trüffel-Arten. Dabei sind die morphologisch ähnlichen Trüffelarten, nämlich Sommer und Weiße Trüffel sowie Asia und Schwarze Trüffel, voneinander deutlich zu unterscheiden.

Ein entsprechendes Ergebnis erhält man mit Hilfe der Cluster-Analyse. Hierbei wird die gelagerte Probe der Weißen Trüffel mitberücksichtigt. In Abbildung 8.56 ist das entsprechende Dendrogramm dargestellt. Bei einer Distanz von 50 erfolgt bereits eine Trennung der Weißen bzw. Schwarzen Trüffel von den übrigen ökonomisch erschwinglicheren Arten. Bei einer Distanz von 30 können alle Trüffelarten voneinander unterschieden werden. Die gelagerte Weiße Trüffel, die durch die inadäquate Lagerung ihr sensorisches Profil verändert hat, ist von der Asia Trüffel nicht mehr zu unterscheiden.

9 Zusammenfassung

Die chemische Sensorik auf Basis der Quarzmikrowaage vermag in einfacher Weise verschiedenste leicht flüchtige Verbindungen bis in den ppm-Bereich reproduzierbar zu detektieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurde zur Unterscheidung und Klassifizierung von verschiedenen Safran-Proben sowie unterschiedlicher Trüffelarten die Substanzklasse der Porphyrine und Metalloporphyrine als sensoraktive Schichten erforscht.

Zur Untersuchung des Einlagerungsverhaltens kamen Homologe der Verbindung Tetraphenyl-porphyrin mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen in *para*-Stellung der Phenyl-Gruppe zum Einsatz. Dadurch konnte der Einfluss dieser funktionellen Gruppe auf das Einlagerungsverhalten verifiziert werden. Ferner wurde durch die Variation des zentralen Metallatoms der Metalloporphyrine die Auswirkung auf die Wirt-Gast-Wechselwirkung untersucht.

Für die Zusammenstellung eines geeigneten Sensor-Arrays zur Unterscheidung der Safran- bzw. Trüffel-Proben wurden die Porphyrine mit den leicht flüchtigen Verbindungen, die für das sensorische Profil dieser Proben verantwortlich sind, als Reinsubstanzen in der Multikomponenten-Anlage gemessen. Durch Bestimmung der Isothermen bei verschiedenen Konzentrationen konnte die Sensitivität der Porphyrine bzw. Metalloporphyrine gegenüber den untersuchten Analyten festgestellt werden. Auf der Basis dieser Messungen konnte für Safran und Trüffel ein entsprechendes Sensor-Array zusammengestellt werden, das anschließend anhand von Praxismessungen modifiziert wurde.

Für die Praxismessungen an geeigneten Proben wurde eine spezielle Anlage zur Untersuchung von festen Proben konstruiert. Der Vorteil dieser Anlage besteht in der Integration der Messzellen in einem Kreislauf, worin sich die leichtflüchtigen Verbindungen der jeweiligen Proben entsprechend ihres Dampfdrucks anreichern. Aufgrund der meist sehr geringen Konzentrationen der charakteristischen Aromen konnte durch Variation der Anreicherungs- bzw. Einlagerungszeit die Messung bis zum Gleichgewicht verfolgt werden.

Durch die simultan ablaufende Spül- bzw. Anreicherungsphase können sensorisch empfindliche Proben wie Trüffel innerhalb von 35 Minuten untersucht werden, ohne dass eine außerordentliche Veränderung ihres sensorischen Profils stattfindet.

Auf der Basis der gewonnenen Daten konnten die entsprechenden Sensor-Arrays im Hinblick auf eine qualitative Unterscheidung modifiziert und optimiert werden. Hierbei konnte grundsätzlich gezeigt werden, dass eine Unterscheidung von verschiedenen Safran-Proben nach ihrer Qualität und geographische Herkunft mittels eines Sensor-Arrays aus entsprechend beschichteten Schwingquarzwagen möglich ist.

Ebenso konnten verschiedene Trüffelarten, die aufgrund ihrer unterschiedlichen ökonomischen Wertschätzung zum Betrug verleiten, mittels eines geeigneten Sensor-Arrays eindeutig von den erschwinglicheren Arten unterschieden werden. Da die Trüffel wie die meisten natürlichen Produkte zu einem gewissen Teil aus Wasser bestehen, wurden die Porphyrine und Metalloporphyrine ebenfalls auf ihre Sensitivität gegenüber Wasser untersucht. Dabei haben sich die Porphyrine und Metalloporphyrine als wenig sensitiv herausgestellt, was bei einem Einsatz in der Praxis sicherlich von Vorteil ist. Demzufolge kann auf einen unabhängigen Feuchtesensor auf Halbleiterbasis verzichtet werden.

10 Ausblick

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen und die daraus resultierenden Ergebnisse sind ein weiterer Beweis für die Mannigfaltigkeit der chemischen Sensoren auf Basis der Quarzmikrowaage. Die Ergebnisse zeigen deutlich, dass eine qualitative Unterscheidung von Safran- bzw. Trüffel-Proben möglich ist. Durch geeignete Praxismessungen könnten die daraus entstehenden Elektronischen Nasen innerhalb einiger Jahre zur Marktreife entwickelt werden und bei Produzenten, Importeuren, Großhändlern sowie im Zollbereich ihre Anwendung finden.

Bei der Entwicklung eines geeigneten Safran-Sensors besteht der erste Schritt darin, den Safran von anderen Produkten wie z.B. Kurkuma oder Curry, mit denen Safran üblicherweise gestreckt wird, zu unterscheiden. Mittels des eingesetzten Sensor-Arrays konnte eine entsprechende Unterscheidung erfolgen. Für eine Weiterentwicklung dieses Sensors bis zur Marktreife müssen natürlich weitere Produkte, die zur Fälschung von Safran dienen, wie z.B. Färbesaflor, ebenfalls untersucht werden.

Der zweite Schritt besteht in der Klassifizierung im Hinblick auf die Qualität oder geographische Herkunft. Es konnte gezeigt werden, dass durch ein entsprechendes Sensor-Array eine Qualitätsunterscheidung möglich ist. Die zwei qualitativ unterschiedlichen Safran-Proben aus dem Iran konnten eindeutig unterschieden werden. Ebenso konnte die zeitliche Abnahme des Safran-Aromas über 400 Minuten beobachtet und nachgewiesen werden. Eine mögliche geographische Unterscheidung der Proben, wie sie aus den Abbildung 8.17 und Abbildung 8.19 hervorgeht, kann ebenfalls aufgrund der Qualitätsunterschiede der Proben erfolgt sein und muss daher an geeigneten Proben weiter verifiziert werden.

Der letzte Schritt bei der Entwicklung eines Safran-Sensors besteht in der Validierung im Hinblick auf eine quantitative Analyse des Gesamtaromas. Die Isothermen der untersuchten Analyten ergaben mathematisch beschreibbare Kurven, die eine mögliche Kalibrierung erlauben. Alternativ können auch mit Hilfe von individuell beschichtbare SPME-Nadeln^[131, 132] die spezifisch eingelagerten Analyten identifiziert werden.

Dazu werden SPME-Nadeln mittels des beschriebenen Elektrospray-Verfahrens mit den im Sensor-Array befindlichen Porphyrinen beschichtet und der zu untersuchenden Probe ausgesetzt. Anschließend erfolgt eine detaillierte Analyse der auf den SPME-Nadeln eingelagerten Analyten mittels GC-MS. Falls die eingelagerten Analyten wie im Fall von Safran aus einigen wenigen Analyten bestehen, können diese mit einer geeigneten Gasmischanlage kalibriert werden. Dadurch wäre eine quantitative Analyse wie z.B. die Angabe des Feuchtigkeitsgehalts und des Gehalts an leicht flüchtigen Bestandteilen nach ISO/TS 3632-1^[66] möglich.

Eine Herausforderung bei der Entwicklung eines Safran-Sensors besteht weiterhin in der Identifizierung und Aufklärung der Beimischungen von gestrecktem Safran. Um geeignete Proben für die Untersuchung zu beschaffen, ist es notwendig, mit entsprechenden Behörden und Organisationen wie Landschaftsministerien oder Produzentenverbänden zusammen zu arbeiten. Der käufliche Erwerb von gestrecktem oder gefälschtem Safran war, wie man sich vorstellen kann, nicht möglich.

Ebenso ist für die Entwicklung eines Trüffel-Sensors eine große Anzahl von geeigneten Proben unumgänglich. Zum Beispiel konnte der für die Arbeit benötigte Tuber *Borchii* Vitt. nicht beschafft werden. Diese Trüffelart wird ebenfalls gerne mit der Weißen Trüffel verwechselt.

Im Rahmen dieser Arbeit war die Messung von ganzen Trüffel-Knollen nicht möglich. Diese wurden zur Standardisierung des Gewichts und damit des Gehalts an flüchtigen Komponenten in 2g schwere Probe unterteilt. Weiterhin wurde zur Steigerung der Signalintensitäten der Probenraum und damit das Volumen der gesamten Messanlage so gut wie möglich minimiert. Durch Einsatz von HFF-Quarzen²⁰ mit einer Grundfrequenz von bis zu 50-200 MHz kann eine deutliche Steigerung des Signalintensitäten erreicht werden.^[132] Dadurch wäre eine Vergrößerung des Probenraums ohne signifikante Intensitätsverluste der Sensor-Signale möglich, so dass ganze Trüffel-Knollen ohne Beschädigung innerhalb kürzester Zeit untersucht werden könnten.

²⁰ High Frequency Fundamental

11 Anhang

- 1 *meso*-Tetraphenylporphyrin
- 2 *meso*-Tetratolylporphyrin
- 3 5,10,15,20-Tetrakis-(4-methoxyphenyl)-21,23H-porphyrin
- 4 5,10,15,20-Tetrakis-(4-hydroxyphenyl)-21,23H-porphyrin
- 5 5,10,15,20-Tetrakis-(4-carboxyphenyl)-21,23H-porphyrin
- 6 5,10,15,20-Tetrakis-(4-methoxycarbonylphenyl)-21,23H-porphyrin
- 7 5,10,15,20-Tetrakis-(4-tetradecyloxymethylphenyl)-21,23H-porphyrin
- 8 5,10,15,20-Tetrakis-(3-hydroxyphenyl)-21,23H-porphyrin
- 9 5,10,15,20-Tetrakis-(2,6-dichlorophenyl)-21,23H-porphyrin
- 10 5,10,15,20-Tetrakis-(4-aminophenyl)-21,23H-porphyrin
- 11 5,10,15,20-Tetrakis-(4-bromophenyl)-21,23H-porphyrin
- 12 5,10,15,20-Tetrakis-(3-methoxy-4-hydroxyphenyl)-21,23H-porphyrin
- 13 *meso*-Tetraphenylporphyrin-V(IV)oxid
- 14 *meso*-Tetraphenylporphyrin-Fe(III)chlorid
- 15 *meso*-Tetraphenylporphyrin-Ni(II)
- 16 5,10,15,20-Tetrakis-(4-methoxycarbonylphenyl)-porphyrin-Co(II)
- 17 5,10,15,20-Tetrakis-(10-methyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4;5,8-dimethano-anthracen-9-yl)-porphyrin
- 18 5,10,15,20-Tetrakis-(10-methyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4;5,8-dimethano-anthracen-9-yl)-porphyrin-Zn(II)
- 19 5,10,15,20-Tetrakis-(4-hydroxyphenyl)porphyrin-Pt(II)
- 20 2,3,7,8,12,13,17,18-Octaethyl-21H,23H-porphyrin
- 21 2,3,7,8,12,13,17,18-Octaethyl-21H,23H-porphyrin-Ru(II)-Carbonyl
- 22 5,10,15,20-Tetrakis-(2,3,4,5,6-pentafluorophenyl)-21,23H-porphyrin
- 23 5,10,15,20-Tetrakis-(4-sulfonatophenyl)-21,23H-porphyrin
- 24 5,10,15,20-Tetrakis-(4-pyridyl)-21,23H-porphyrin
- 25 5,10,15,20-Tetrakis-(N-methyl-4-pyridyl)-21,2H-porphyrin-tetratosylat
- 26 5,10,15,20-Tetrakis-(4-N,N,N-triethylammoniomethylphenyl)-21,23H-porphyrin-bromid
- 27 5,10,15,20-Tetrakis-(N-methyl-4-pyridyl)-21,23H-porphyrin-tetrachlorid

12 Literaturverzeichnis

- [1] T. Nakamoto, H. Takagi, S. Usami, *Sensors and Actuators B*, **1992**, 8, 181-186
- [2] R. Olafsson, E. Martindotti, G. Olafsdotti, O. I. Sigfusson, J. W. Gardner, *Sensors and Sensory Systems for an E-nose* (Eds.: J. W. Gardner, P. N. Bartlett), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1992**, 257-272
- [3] S. Nelson, K. S. Johnston, S. S. Yee, *Sensors and Actuators B*, **1996**, 36-36, 187-191
- [4] J. W. Grate, S. J. Martin, R. M. White, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 940-948
- [5] J. W. Grate, S. J. Martin, R. M. White, *Anal. Chem.*, **1993**, 65, 987-996
- [6] B. Liedberg, C. Nylander, I. Lundstrom, *Sensors and Actuators*, **1983**, 4, 299-302
- [7] B. Chadwick, M. Gal, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **1993**, 32, 2716-2717
- [8] H. Nanto, M. Habara, N. Dougami, T. Mukai, H. Sugiyama, E. Kusano, A. K. Douguchi, *Tech. Digest of the 7th Inter. Meeting on Chemical Sensors*, **1988**, 695-697
- [9] J. White, J. S. Kauer, T. A. Dickinson, D. R. Walt, *Anal. Chem.*, **1996**, 2191-2202
- [10] D. S. B. Jr., D. Callahan, G. J. Maclay, J. R. Stetter, *Talanta*, **1992**, 39, (12), 1657-1667
- [11] U. Herrmann, Dissertation, Universität Bonn, **2003**
- [12] H. V. Shurmer, J. W. Gardner, H. T. Chan, *Sensors and Actuators B*, **1990**, 1, 256-260
- [13] K. S. Johnston, S. R. Karlson, C. Jung, S. S. Yee, *Mater. Chem. Phys.*, **1995**, 42, 242-246
- [14] K. Ema, M. Yokoyama, T. Nakamoto, T. Moriizumi, *Sensors and Actuators*, **1989**, 18, 291-296
- [15] W. J. Buttner, J. R. Stetter, G. J. Maclay, *Sens. Mater.*, **1990**, 2, 99-106
- [16] J. R. Stetter, *Sensors and Sensory Systems for an E-nose* (Eds.: J. Gardner, P. N. Bartlett), Kluwer Academic Publishers, **1992**, 273-301
- [17] S. C. Chang, J. R. Stetter, C. S. Cha, *Talanta*, **1993**, 40, (4), 461-467
- [18] C. G. Fox, J. F. Alder, *Techniques and mechanisms in gas sensing* (Eds.: P. T. Mosely, I. O. W. Norries, D. E. Williams), Adam Hilger, Bristol, **1991**, 324-346

- [19] H. V. Shurmer, J. W. Gardner, H. T. Chan, *Sensors and Actuators*, **1989**, *18*, 361-371
- [20] H. Abe, S. Kanaya, Y. Takahashi, S. I. Sasaki, *Anal. Chem.*, **1988**, *215*, 155-168
- [21] J. R. Stetter, W. R. Penrose, *Artificial Chemical Sensing: Proceeding of the Eight International Symposium on Olfaction and the E-nose (ISOEN 2001)*, The Electrochemical Society, Pennington, NJ, **2001**
- [22] S. Kurosawa, S. Higashi, H. Aizawa, Dae-Sang.Han., M. Yoshimoto, *Chem. Sensors*, **2000**, *16*, 37-39
- [23] S. Kurosawa, D. Tachiyuki, Das-Sang.Han, H. Aizawa, M. Yoshimoto, *Chem. Sensors*, **2000**, *16*, 103-105
- [24] T. Nakamoto, A. Fukuda, T. Moriizumi, *Sensors and Actuators B*, **1993**, *10*, 85-91
- [25] Y. Sakuraba, T. Nakamoto, T. Moriizumi, *Trans. Inst. Electron. Comm. Eng.*, **1990**, *J73D-II*, 1863-1871
- [26] J. Ede, T. Nakamoto, T. Moriizumi, *Sensors and Actuators B*, **1993**, *13-14*, 351-354
- [27] K. Ema, M. Yokoyama, T. Nakamoto, T. Moriizumi, *Sensors and Actuators B*, **1989**, *18*, 291-296
- [28] T. Nakamoto, A. Fukuda, T. Moriizumi, Y. Asakura, *Sensors and Actuators B*, **1991**, *3*, 221-226
- [29] T. Nakamoto, A. Fukuda, T. Moriizumi, *Sensors and Actuators B*, **1990**, *1*, 473-476
- [30] H. Muramatsu, E. Tamiya, I. Kaube, *Anal. Chem.*, **1990**, *63*, 399-408
- [31] K. Yokoyama, F. Ebisawa, *Anal. Chem.*, **1993**, *65*, 673-677
- [32] *Römpp Lexikon Chemie Version 2.0*, Georg Thieme Verlag, **2001**
- [33] G. Jellinek, *Sensorische Lebensmittelprüfung - Lehrbuch für die Praxis*, Verlag Doris & Peter Siegfried Pattensen, **1981**
- [34] G. Jellinek, *Sensory Evaluation of Food - Theory and Practice*, VCH Verlagsgesellschaft, **1985**
- [35] T. C. Pearce, S. S. Schiffman, H. T. Nagle, J. W. Gardner, *Handbook of Machine Olfaction - Electronic Nose Technology*, WILEY-VCH Verlag, **2003**
- [36] www.astm.org, aufgerufen am 10.11.2004
- [37] www.allured.com/websites, aufgerufen am 10.11.2004
- [38] www.sigma-aldrich.com, aufgerufen am 10.11.2004
- [39] www.leffingwell.com, aufgerufen am 10.11.2004

- [40] C. Franzke, *Allgemeines Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, Behr's Verlag, Hamburg, **1996**
- [41] P. Gründler, *Chemische Sensoren*, Springer Verlag, **2004**
- [42] IUPAC, *Pure and Applied Chemistry*, **1991**, 63, 1247-1250
- [43] IUPAC, *Pure and Applied Chemistry*, **1999**, 71, 2333-2348
- [44] F. Oehme, *Chemische Sensoren heute und morgen*, Expert Verlag, **1994**
- [45] B. Neubig, *ZVEI-Symposium*, **1985**, 51-108
- [46] B. Neubig, W. Briese, *Das Grosse Quarkochbuch*, Franzis-Verlag, Feldkirchen, **1997**
- [47] G. Sauerbrey, *Zeitschrift für Physik*, **1959**, 155, 206-222
- [48] G. Brezesinski, H.-J. Mögel, *Grenzflächen und Kolloide*, Spektra Akademischer Verlag, **1993**
- [49] G. Wedler, *Lehrbuch der physikalischen Chemie*, Verlag Chemie, **1982**
- [50] P. W. Atkins, *Physikalische Chemie*, VCH Verlag, **1990**
- [51] D. M. H. Thomson, *Developments in Food Flavours*, Elsevier Applied Science, London, **1987**
- [52] W. Franke, *Nutzpflanzenkunde*, 6 ed., Thieme Stuttgart, New York, **1989**
- [53] *Plant Systematics and Evolution*, **1977**, 128, 89
- [54] K. R. Cadwallader, H. H. Baek, M. Cai, *Spices - Flavor Chemistry and Antioxidant Properties*, ACS Symposium Series 660, (S. J. Risch, C.-T. Ho), American Chemical Society, Washington, DC, **1997**, 66-79
- [55] W. Rödel, M. Petrzika, *Journal of High Resolution Chromatography*, **1991**, 14, 771-774
- [56] N. S. Zarghami, D. E. Heinz, *Phytochemistry*, **1971**, 10, 2755-2761
- [57] N. S. Zarghami, D. E. Heinz, *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, **1971**, 4, 43-45
- [58] P. A. Tarantilis, M. G. Polissiou, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1997**, 45, 459-462
- [59] F. Freiburghaus, P. Meyer, *Naturwissenschaftlicher Rundschau*, **1998**, 51, 91-95
- [60] G. L. Alonso, M. R. Salinas, F. J. Esteban-Infantes, M. A. Sánchez-Fernández, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1996**, 44, 185-188
- [61] M. D'Auria, G. Mauriello, G. L. Rana, *Flavour and Fragrance Journal*, **2004**, 19, 17-23

- [62] P. A. Tarantilis, M. G. Polissiou, M. Manfait, *Journal of Chromatography A*, **1994**, 664, 55-61
- [63] P. A. Tarantilis, G. Tsoupras, M. Polissiou, *Journal of Chromatography A*, **1995**, 699, 107-118
- [64] P. Corti, E. Mazzei, S. Ferri, G. G. Franchi, E. Dreassi, *Phytochemical Analysis*, **1996**, 7, (4), 201-203
- [65] H. Pfander, H. Schurtenberger, *Phytochemistry*, **1982**, 21, 1039-1042
- [66] ISO/TS 3632-1:2003, *Saffron (Crocus sativus L.) - Part 1: Specification*, The International Organization for Standardization, Switzerland
- [67] ISO/TS 3632-2:2003, *Saffron (Crocus sativus L.) - Part 2: Test methods*, The International Organization for Standardization, Switzerland
- [68] ISO 928:1997, *Spices and condiments - Determination of total ash*, The International Organization for Standardization, Switzerland
- [69] ISO 930:1997, *Spices and condiments - Determination of acid-insoluble ash*, The International Organization for Standardization, Switzerland
- [70] ISO 941:1980, *Spices and condiments - Determination of cold water-soluble extract*, The International Organization for Standardization, Switzerland
- [71] ISO 1871:1975, *Agricultural food products - General directions for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method*, The International Organization for Standardization, Switzerland
- [72] ISO 5498:1981, *Agricultural food products - Determination of crude fibre content - General method*, The International Organization for Standardization, Switzerland
- [73] J. Seidemann, *Zeittafeln zur Geschichte von Gewürzen und anderen Würzmitteln*, Eigenverlag Potsdam, 2. Auflage, **1997**
- [74] H. E. Laux, H. Laux, A. Tode, *Gewürzpflanzen*, Franckh-Kosmos, Stuttgart, **1996**
- [75] R. Oberdieck, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **1991**, 87, (8), 246-252
- [76] J. Seidemann, *Pharmazeutische Zeitung Online*, **2000**, 16
- [77] J. Seidemann, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, **2001**, 97, (1), 28-30
- [78] N. Crabas, B. Marongiu, A. Piras, T. Pivetta, S. Porcedda, *Journal of Essential Oil Research*, **2003**, 15, 350-355
- [79] D. J. Meier, U. Stemmer, *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, **1999**, 90, (5), 546-552
- [80] Patent **DE19914310**

- [81] R. Claus, H. O. Hoppen, H. Karg, *Experientia*, **1981**, 37, 1178-1179
- [82] T. Talou, A. Gaset, M. Delmas, M. Kulifaj, C. Montant, *Mycological Research*, **1990**, 94, (2), 277-278
- [83] www.jmsknars.demon.co.uk/Truffle/sniffer.html, aufgerufen am 10.11.2004
- [84] D. N. Pegler, B. M. Spooner, T. W. K. Young, *British Truffles. A Revision of British Hypogeous Fungi*, Royal Botanic Garden, Kew, London, **1993**
- [85] A. Amicucci, C. Guidi, A. Zambonelli, L. Potenza, V. Stocchi, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **2002**, 82, 1391-1397
- [86] G. Zeppa, V. Gerbi, *Sciences des Aliments*, **2001**, 21, 683-695
- [87] G. Schmaus, M. Meier, *Dragoco Report*, **2001**, 48, (2), 90-104
- [88] F. Pelusio, T. Nilsson, L. Montanarella, R. Tilio, B. Larsen, S. Facchetti, J. Ø. Madsen, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1995**, 43, 2138-2143
- [89] P. Diaz, F. J. Señoráns, G. Reglero, E. Ibañez, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2002**, 50, 6468-6472
- [90] F. Bellesia, A. Pinetti, A. Bianchi, B. Tirillini, *Flavour and Fragrance Journal*, **1996**, 11, (4), 239-243
- [91] F. Bellesia, A. Pinetti, A. Bianchi, B. Tirillini, *Flavour and Fragrance Journal*, **1998**, 13, (1), 56-58
- [92] F. Bellesia, A. Pinetti, B. Tirillini, A. Bianchi, *Flavour and Fragrance Journal*, **2001**, 16, 1-6
- [93] F. Bellesia, A. Pinetti, B. Tirillini, F. Paolocci, A. Rubini, S. Arcioni, A. Bianchi, *The Journal of essential oil research*, **2002**, 14, 3-5
- [94] A. Fiecchi, M. G. Kienle, A. Scala, *Tetrahedron Letters*, **1967**, 18, 1681-1682
- [95] F. Bellesia, A. Bianchi, A. Pinetti, B. Tirillini, *Rivista Italiana Eppos Ventitresimo*, **1997**, 41-46
- [96] R. Andreotti, R. Casoli, *Industria Conserve (Parma)*, **1968**, 43, 215-219
- [97] T. Talou, M. Delmas, A. Gaset, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **1987**, 35, 774-777
- [98] T. Talou, M. Delmas, A. Gaset, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **1989**, 48, 57-62
- [99] G. Ohloff, I. Flament, W. Pickenhagen, *Food Reviews International*, **1985**, 1, 99-148

- [100] C. Bellina-Agostinone, M. D'Antonio, G. Pacioni, *Transactions of the British Mycological Society*, **1987**, *88*, 568-569
- [101] M. Schlupp, T. Weil, A. J. Berresheim, U. M. Wiesler, J. Bargon, K. Müllen, *Angewandte Chemie*, **2001**, *113*, (21), 4124-4129
- [102] M. Schlupp, Dissertation, Universität Bonn, **2002**
- [103] A. R. Battersby, C. J. R. Fookes, G. W. J. Matcham, E. McDonald, *Nature*, **1980**, *285*, 17-21
- [104] *Pure and Applied Chemistry*, **1987**, *59*, 779-832
- [105] M. O. Senge, *The Porphyrin Handbook, Vol. 1*, Academic Press, New York, **2000**
- [106] B. Franck, A. Nonn, *Angewandte Chemie*, **1995**, *107*, 1941-1957
- [107] M. K. Cyranski, T. M. Krygowski, M. Wisiorowski, N. J. R. v. E. Hommes, P. v. R. Schleyer, *Angewandte Chemie*, **1998**, *110*, 187-190
- [108] J. Braun, C. Hasenfratz, R. Schwesinger, H. H. Limbach, *Angewandte Chemie*, **1994**, *106*, 2302-2304
- [109] C. B. Strom, Y. Teklu, *Journal of American Chemical Society*, **1972**, *94*, (5), 1745-1747
- [110] W. W. Kalisch, M. O. Senge, *Angewandte Chemie*, **1998**, *110*, 1156-1159
- [111] E. Breitmaier, G. Jung, *Organische Chemie, Vol. 4. Aufl.*, Georg Thieme Verlag, **2001**
- [112] H. L. Anderson, *Chemical communications*, **1999**, 2323-2330
- [113] T. J. Marks, *Science*, **1985**, *227*, 881-889
- [114] B. A. White, R. W. Murray, *Journal of American Chemical Society*, **1987**, *109*, 2576-2581
- [115] D. Wöhrle, D. Meissner, *Advanced Materials*, **1991**, *3*, 129-138
- [116] B. Blanzat, C. Barthou, N. Tercier, J.-J. Andre, J. Simon, *Journal of American Chemical Society*, **1987**, *109*, 6193-6194
- [117] J. Friedrich, D. Haarer, *Angewandte Chemie*, **1984**, *96*, 96-123
- [118] E. D. Sternberg, D. Dolphin, C. Bruckner, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 4151-4202
- [119] B. Meunier, *Chemical Reviews*, **1992**, *92*, 1411-1456
- [120] J. A. J. Brunink, C. D. Natale, F. Bungaro, F. A. M. Davide, A. D'Amico, R. Paolesse, T. Boschi, M. Faccio, G. Ferri, *Analytica Chimica Acta*, **1996**, *325*, (1-2), 53-64

- [121] C. d. Natale, J. A. J. Brunink, F. Bungaro, F. Davide, A. D'Amico, R. Paolesse, T. Boschi, M. Faccio, G. Ferri, *Measurement science and technology*, **1996**, 7, 1103–1114
- [122] A. D'Amico, C. D. Natale, R. Paolesse, A. Macagnano, A. Mantini, *Sensors and Actuators B*, **2000**, 65, 209-215
- [123] C. D. Natale, R. Paolesse, A. Macagnano, A. Mantini, P. Mari, A. D'Amico, *Sensors and Actuators B*, **2000**, 68, 319-323
- [124] R. Paolesse, D. Monti, L. L. Monica, M. Venanzi, A. Froiio, S. Nardis, C. D. Natale, E. Martinelli, A. D'Amico, *Chemistry - A European Journal*, **2002**, 8, (11), 2476-2483
- [125] Patent **RU2156969**
- [126] R. Henrion, G. Henrion, *Multivariate Datenanalyse*, Springer-Verlag, **1995**
- [127] K. Danzer, H. Hobert, C. Fischbacher, K. U. Jagermann, *Chemometrik*, Springer-Verlag, **2001**
- [128] H. Speckmann, *Dem Denke abgeschaut - Neuronale Netze im praktischen Einsatz*, Facetten-Vieweg, **1996**
- [129] H. Henning, *Z. Psychol. Physiol. Sinnesorgane*, **1915**, 73, 161-257
- [130] L. F. D. Cesare, E. Senesi, C. Allievi, *Sciences des Aliments*, **1989**, 9, 161-168
- [131] G. Kleefisch, Dissertation, Universität Bonn, **2004**
- [132] J. Lörge, Dissertation, Universität Bonn, **2004**