



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(51) Int. Cl.³: G 01 N 33/00

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



(12) PATENTSCHRIFT A5

(11)

634 148

(21) Gesuchsnummer:	5751/77	(73) Inhaber:	Kockums Chemical Aktiebolag, Malmö (SE)
(22) Anmeldungsdatum:	09.05.1977		
(30) Priorität(en):	11.05.1976 SE 7605338	(72) Erfinder:	Mandayam Tiru, Järfälla (SE) Maj-Britt Ingegerd Tiru, Järfälla (SE)
(24) Patent erteilt:	14.01.1983		
(45) Patentschrift veröffentlicht:	14.01.1983	(74) Vertreter:	Pierre Ardin & Cie, Genève

(54) **ph-Indikatorkomposition mit geregelter Aenderung von Farbe und pH beim Gefrieren sowie Verfahren zu deren Herstellung.**

(57) Ein Regelmittel in Form eines Enzym-Substrat-Gemisches ändert die Ionenstärke und die Protonenzusammensetzung einer gefrorenen pH-Indikatorkomposition um beim Gefrieren eine pH-Verschiebung der pH Indikatorkomposition zustande zu bringen und eine bestimmte Farbänderung zu verursachen.

Man kann somit ein Gesamtbild der Temperaturverhältnissen z.B. in einem Gefrierraum erhalten.

PATENTANSPRÜCHE

1. pH-Indikatorkomposition mit geregelter Farbänderung beim Gefrieren oder bei einer gewählten Gefriertemperatur, gekennzeichnet durch (a) zumindest einen pH-Indikator in einer Menge, welche hinreichend ist, um bei pH-Verschiebung eine Farbänderung aufzuweisen, (b) eine Pufferlösung, die zumindest ein anorganisches Ion in Lösung enthält und ein pH aufweist, welches verschiebbar ist, wenn die Temperatur der Pufferlösung von einer ersten Temperatur über dem Gefrierpunkt der genannten Lösung auf eine zweite Temperatur gesenkt wird, bei der die Lösung gefroren ist, und (c) ein Regelmittel in Form eines Enzym-Substrat-Gemisches, welches Regelmittel imstande ist, die Ionenstärke und die Protonenzusammensetzung der gefrorenen pH-Indikatorkomposition zu ändern, um beim Gefrieren eine pH-Verschiebung der pH-Indikatorkomposition zustande zu bringen, wobei das genannte Regelmittel in einer hinreichenden Menge vorhanden ist, damit die pH-Indikatorkomposition bei einer gewählten Temperatur unter dem Gefrierpunkt eine Farbe aufweist, welche dieselbe ist, wie die Farbe der genannten pH-Indikatorkomposition bei einer Temperatur über dem Gefrierpunkt

2. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Pufferlösung eine wässrige Lösung ist.

3. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 2, dadurch gekennzeichnet, dass der pH-Indikator in einen Wert geändert wird, der kleiner ist als bei dem genannten pK-Wert in der genannten pH-Indikatorkomposition, und dass das Regelmittel in einer wirksamen Menge vorliegt, um eine Änderung der Protonenzusammensetzung herbeizuführen, so dass (a) für eine beim Gefrieren saurer werdende pH-Indikatorkomposition die genannte Protonenzusammensetzung in einen über dem genannten pK-Wert liegenden Wert geändert wird, und (b) für eine beim Gefrieren mehr alkalisch werdende pH-Indikatorkomposition die genannte Protonenzusammensetzung in einen Wert geändert wird der grösser ist als bei dem genannten pK-Wert.

4. pH-Indikatorkomposition nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Regelmittel ein Alkohol oder ein Vorläufer dafür ist.

5. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Regelmittel zumindest eine Hydroxylgruppe umfasst und unter Methanol, Äthanol, Glykolen, Glycerin und Kohlenhydraten gewählt ist.

6. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 5, dadurch gekennzeichnet, dass das Kohlenhydrat unter Saccharose, Sorbitol und Dextrose gewählt ist.

7. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 3, dadurch gekennzeichnet, dass für eine pH-Indikatorkomposition, die beim Gefrieren saurer wird, das Regelmittel ein Stoff ist, der ein Ion eines starken Alkalis und ein Ion einer schwachen Säure umfasst.

8. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Regelmittel ein Salz einer Carbonsäure ist.

9. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Carbonsäure zumindest eine Carboxylgruppe aufweist und eine alipathische oder aromatische Carboxylsäure, Keto-, Hydro- oder Aminocarbonsäure ist.

10. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 9, dadurch gekennzeichnet, dass die Carbonsäure Ameisensäure, Essigsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure oder Glutaminsäure ist.

11. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 3, dadurch gekennzeichnet, dass für eine pH-Indikatorkomposition, die beim Gefrieren mehr alkalisch wird, das Regelmittel ein Stoff ist, der ein Ion eines schwachen Alkalis und ein Ion einer starken Säure umfasst.

12. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1, dadurch

gekennzeichnet, dass das Enzym-Substrat-Gemisch durch enzymatische Reaktion das Regelmittel erzeugt.

13. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Enzym-Substrat-Gemisch aus Phosphatase/Glucose-6-phosphat, Phosphatase/ β -Glycerophosphat, Esterase/Äthylbutyrat und Lipase/Triglycerid besteht.

14. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Komposition in wässriger Form vorliegt und (a) Chlorphenolrot als pH-Indikator, (b) Na_2HPO_4 als Puffer, und (c) Glycerin als Regelmittel enthält.

15. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 14, dadurch gekennzeichnet, dass die wässrige Komposition etwa 50 ml 0,4 M wässriger Lösung von $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 100 ml 0,5%iger Chlorphenollösung, 9 ml Glycerin (99,5%), 20 ml n-Butanol als wahlfreies Schutzmittel, destilliertes Wasser zur Bereitung von 1 Liter, und 1 N HCl zur Einregelung des pH auf 7,5 enthält.

16. pH-Indikatorkomposition nach Anspruch 1 und 15, dadurch gekennzeichnet, dass sie ausserdem 3,56 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ und 5 ml Glycerin (99,5%) enthält.

17. Verfahren zur Herstellung einer Komposition nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man Bestandteile auflöst zwecks Herstellung einer Pufferlösung, welche wenigstens ein anorganisches Ion enthält, wobei die Pufferlösung ein pH aufweist, das sich abändert, wenn die Temperatur der Lösung von einer Temperatur über dem Gefrierpunkt auf eine Temperatur unter dem Gefrierpunkt, bei welcher die Lösung gefroren ist, gesenkt wird, dass man zur Pufferlösung wenigstens ein pH-Indikator zugibt, in einer Menge, welche hinreichend ist, um bei Abänderung des pH eine Farbänderung aufzuweisen, dass man die Pufferlösung derart rührt, dass der pH-Indikator gleichmässig in die Lösung verteilt wird, dass man ein Regelmittel oder ein Vorläufer eines Regelmittels zusetzt, welches, wenn es der Pufferlösung und dem pH-Indikator zugegeben ist, eine Änderung der ionischen Kraft und der Protonenzusammensetzung der Lösung im gefrorenen Zustand verursacht und somit nach Gefrieren eine Änderung des pH der erhaltenen Lösung verursacht, dass man das Regelmittel der Pufferlösung und dem pH-Indikator zugibt, um eine flüssige pH-Indikatorkomposition zu bilden, welche eine Farbe unter dem Gefrierpunkt aufweisen kann, wobei diese Farbe derjenigen der pH-Indikatorkomposition bei einer Temperatur über dem Gefrierpunkt entspricht, und dass man diese flüssige pH-Indikatorkomposition derart rührt, dass das Regelmittel gleichmässig in die Komposition verteilt wird.

18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass das Regelmittel einer wässrigen Pufferlösung zugesetzt wird.

19. Verfahren nach Anspruch 17 und 18, dadurch gekennzeichnet, dass das Regelmittel in einer wirksamen Menge zugesetzt wird, um eine Änderung der Protonenzusammensetzung herbeizuführen, so dass (a) für eine beim Gefrieren saurer werdende pH-Indikatorkomposition die genannte Protonenzusammensetzung in einen Wert geändert wird, der kleiner ist als bei dem genannten pK-Wert des pH-Indikators, und (b) für eine beim Gefrieren mehr alkalisch werdende pH-Indikatorkomposition die genannte Protonenzusammensetzung in einen Wert geändert wird der grösser ist als bei dem genannten pK-Wert des pH-Indikators.

20. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass als Regelmittel ein Alkohol zugesetzt wird.

21. Verfahren nach Anspruch 17 und 20, dadurch gekennzeichnet, dass als Regelmittel ein Alkohol zugesetzt wird, der zumindest eine Hydroxylgruppe aufweist, beispielsweise Methanol, Äthanol, Glykolen oder Glycerin ist.

22. Verfahren nach Anspruch 17 und 21, dadurch gekennzeichnet, dass als Regelmittel ein Kohlenhydrat zugesetzt wird,

beispielsweise Saccharose, Sorbitol oder Dextrose.

23. Verfahren nach Anspruch 17 und 19, dadurch gekennzeichnet, dass die pH-Indikatorkomposition beim Gefrieren saurer wird und dass als Regelmittel ein Stoff zugesetzt wird, der ein Ion eines starken Alkalis und ein Ion einer schwachen Säure umfasst.

24. Verfahren nach Anspruch 17 und 23, dadurch gekennzeichnet, dass als Regelmittel ein Salz einer Carbonsäure zugesetzt wird.

25. Verfahren nach Anspruch 17 und 24, dadurch gekennzeichnet, dass die Carbonsäure mindestens eine Carboxygruppe aufweist und eine aliphatische und aromatische Carbonsäure, Keto-, Hydroxyl- oder Aminocarbonsäure ist.

26. Verfahren nach Anspruch 17 und 25, dadurch gekennzeichnet, dass die Carbonsäure Ameisensäure, Essigsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure oder Glutaminsäure ist.

27. Verfahren nach Anspruch 17 und 19, dadurch gekennzeichnet, dass die pH-Indikatorkomposition beim Gefrieren mehr alkalisch wird, und dass als Regelmittel ein Stoff zugesetzt wird, der ein Ion eines schwachen Alkalis und Ion einer starken Säure umfasst.

28. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass als Regelmittel ein Enzym-Substrat-Gemisch zugesetzt wird, das durch enzymatische Reaktion das Regelmittel erzeugt.

29. Verfahren nach Anspruch 17 und 28, dadurch gekennzeichnet, dass das Enzym-Substrat-Gemisch ein Phosphatase/Glucose-6-phosphat, Phosphatase/ β -Glycerophosphat, Esterase/Äthylbutyrat und Lipase/Triglycerid ist.

Die Erfindung bezieht sich allgemein auf eine pH-Indikatorkomposition mit geregelter Farbänderung beim Gefrieren oder bei einer gewählten Gefriertemperatur. Ausserdem betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung dieser Komposition. Gemäss den bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung wird die Regelung der Farbänderung dazu ausgenutzt, um neue Kompositionen zur Temperatur- oder Zeit-Temperatur-Anzeige zustande zu bringen, im Bereich vom Gefrierpunkt der Komposition bis auf etwa 90 °C oder niedriger. Unter «Gefrieren» ist im vorliegenden Zusammenhang der Übergang der Komposition von Flüssigkeit zu festem Stoff oder Aufschlammung gemeint, zum Unterschied von Unterkühlung, die in gewissen Fällen eintreten kann, wenn die Temperatur gesenkt wird. Um zu verhindern, dass eine Unterkühlung eintritt, können der Komposition gewisse anorganische Salze, wie KCl NaCl usw., zugesetzt werden. Es sei ferner betont, dass für die Erfindung wässrige Systeme zwar bevorzugt werden, dass die Erfindung aber nicht hierauf beschränkt ist, sondern auch bei nicht wässrigen Systemen oder Gemischen aus wässrigen und nicht wässrigen Systemen anwendbar ist.

pH-Indikatoren, die kurz gesagt aus einem Säure-Basenpaar bestehen, wo die Säure eine andere Farbe als die Base hat, werden allgemein dazu ausgenutzt, um den pH-Wert von Lösungen zu bestimmen oder zumindest eine Auffassung von diesem Wert zu vermitteln. Ein Nachteil dieser pH-Indikatoren ist, dass sie den pH-Wert nicht genau festlegen, da sie ein Umschlagsintervall für die Farbänderung Säureform-Basenform von 1–2 pH-Einheiten haben. U.a. aus diesem Grunde sind die pH-Indikatoren in den letzten Jahren immer mehr durch pH-Messer ersetzt worden, die auf elektrischem Wege den pH-Wert einer Lösung genauer messen. Ein bedeutender Nachteil, mit dem sowohl die pH-Indikatoren wie auch die pH-Messer behaftet sind, ist, dass man mit ihnen nicht den pH-Wert von gefrorenen Lösungen messen kann, d.h. in festem Zustand.

Der Grund, weshalb sich pH-Indikatoren normalerweise nicht zur pH-Anzeige von gefrorenen Lösungen verwenden lassen, ist, dass die Farbe des pH-Indikators nicht stabil ist, sondern dazu neigt, sich zu ändern, wenn die Lösung gefriert.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung hat man das Verhalten dieser Farbänderung beim Gefrieren untersucht und dabei feststellen können, dass sie üblicherweise von Basenfarbe zu Säurefarbe zu verlaufen scheint. Liegt also der pH-Wert der Lösung nahe oder kurz über dem Umschlagsintervall des Indikators (d.h. auf der alkalischen Seite des Umschlagsintervalls), so erhält man beim Gefrieren der Lösung eine Änderung von Basenfarbe in Lösung zu Säurefarbe in gefrorenem Zustand. Eine Voraussetzung der Farbänderung ist, dass die Lösung einen Stoff enthält, der sowohl zur Ionenstärke der Lösung wie auch zu deren Protonenzusammensetzung (d.h. dem Verhältnis $H^+ : OH^-$) beiträgt. Derartige Stoffe sind Puffer, die zumindest ein anorganisches Ion geben und unter anorganischen Puffern, wie z.B. Phosphatpuffern, gewählt werden können, sowie Salze organischer Säuren. In Puffersystemen, deren Basenteil stärker ist als der Säureteil (entweder in Form eines stärkeren Basenions oder einer grösseren Anzahl Basenionen als Säureionen, beispielsweise Alkalisalz einer organischen Säure, basischer Aminosäuren oder anderer Amine, Amide oder Aminoverbindungen), kann die Farbänderung beim Gefrieren in der entgegengesetzten Richtung erfolgen, d.h. von Säurefarbe zu Basenfarbe.

Ein weiteres Problem, welches von den obengenannten Nachteilen unabhängig erscheinen mag, ist, dass man bisher über keine einfache und wirksame Vorrichtung verfügt hat, um in einer leicht erkennbaren Weise die Temperatur- oder Temperatur-Zeitbedingungen, wie die Temperaturverteilung in einem Gefrierraum, anzeigen zu können. Somit hat man beispielsweise in Gefrierhäusern oder in Tiefkühltruhen gewöhnliche Thermometer oder temperaturempfindliche, elektrische Glieder zur Temperaturanzeige benutzt. Diese bekannten Temperaturmessglieder sind jedoch mit dem Nachteil behaftet, dass sie die Temperatur nur an einem einzigen Punkt des infragestehenden Raumes fühlen. Man erhält somit kein Gesamtbild der Temperaturverhältnisse im Gefrierraum, und ausserdem kann man oft ein falsches Bild der Verhältnisse bekommen, falls das Fühlglied, wie dies öfters der Fall ist, im kältesten Teil des Gefrieres angebracht ist, beispielsweise am Kaltlufttritt eines Kühlraumes.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, die obengenannten Nachteile der pH-Indikatoren im Zusammenhang mit gefrorenen Lösungen zu beseitigen und eine Anzeige der pH-Werte von sowohl flüssigen als auch gefrorenen Lösungen zu ermöglichen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäss dadurch gelöst, dass die pH-Indikatorkomposition gekennzeichnet ist durch (a) zumindest einen pH-Indikator in einer Menge, welche hinreichend ist, um bei pH-Verschiebung eine Farbänderung aufzuweisen, (b) eine Pufferlösung, die zumindest ein anorganisches Ion in Lösung enthält und ein pH aufweist, welches verschiebbar ist, wenn die Temperatur der Pufferlösung von einer ersten Temperatur über dem Gefrierpunkt der genannten Lösung auf eine zweite Temperatur gesenkt wird, bei der die Lösung gefroren ist, und (c) ein Regelmittel in Form eines Enzym-Substrat-Gemisches, welches Regelmittel imstande ist, die Ionenstärke und die Protonenzusammensetzung der gefrorenen pH-Indikatorkomposition zu ändern, um beim Gefrieren eine pH-Verschiebung der pH-Indikatorkomposition zustande zu bringen, wobei das genannte Regelmittel in einer hinreichenden Menge vorhanden ist, damit die pH-Indikatorkomposition bei einer gewählten Temperatur unter dem Gefrierpunkt eine Farbe aufweist, welche dieselbe ist, wie die Farbe der genannten pH-Indikatorkomposition bei einer Temperatur über dem Gefrierpunkt.

Das Verfahren zur Herstellung einer solchen Komposition ist dadurch gekennzeichnet, dass man Bestandteile auflöst zwecks Herstellung einer Pufferlösung, welche wenigstens ein anorganisches Ion enthält, wobei die Pufferlösung ein pH aufweist, das sich abändert, wenn die Temperatur der Lösung von einer Temperatur über dem Gefrierpunkt auf eine Temperatur unter dem Gefrierpunkt, bei welcher die Lösung gefroren ist, gesenkt wird, dass man zur Pufferlösung wenigstens ein pH-Indikator zugibt, in einer Menge, welche hinreichend ist, um bei Abänderung des pH eine Farbänderung aufzuweisen, dass man die Pufferlösung derart rührt, dass der pH-Indikator gleichmässig in die Lösung verteilt wird, dass man ein Regelmittel oder ein Vorläufer eines Regelmittels zusetzt, welches, wenn es der Pufferlösung und dem pH-Indikator zugegeben ist, eine Änderung der ionischen Kraft und der Protonenzusammensetzung der Lösung im gefrorenen Zustand verursacht und somit nach Gefrieren eine Änderung des pH der erhaltenen Lösung verursacht, dass man das Regelmittel der Pufferlösung und dem pH-Indikator zugibt, um eine flüssige pH-Indikatorkomposition zu bilden, welche eine Farbe unter dem Gefrierpunkt aufweisen kann, wobei diese Farbe derjenigen der pH-Indikatorkomposition bei einer Temperatur über dem Gefrierpunkt entspricht, und dass man diese flüssige pH-Indikatorkomposition derart rührt, dass das Regelmittel gleichmässig in die komposition verteilt wird.

Durch die vorliegende Erfindung hat man also die mit der Farbanzeige in gefrorenem Zustand verknüpften Probleme lösen können, indem man einer einen pH-Indikator und eine Pufferlösung mit zumindest einem anorganischen Ion in der Lösung enthaltenden pH-Indikatorkomposition ein Regelmittel zusetzt, das sowohl die Ionenstärke als auch die Protonenzusammensetzung der Komposition ändert. Hierdurch hat man auch die Voraussetzungen für das Zustandebringen eines Indikators zur einfachen und leicht erkennbaren Anzeige der Temperaturverhältnisse geschaffen, wie im folgenden näher erläutert ist.

Die erfindungsmässige Komposition kann als wahlfreie, jedoch bevorzugte Zusatzmittel auch ein Schutzmittel, beispielsweise n-Butanol enthalten.

Wie eingangs erwähnt, ist die Erfindung nicht auf wässrige Systeme beschränkt, obgleich diese bevorzugt werden. Ausser wässrigen Systemen kann man Alkohol, wie Methanol, Äthanol und Dodecanol benutzen. Selbstverständlich müssen Indikator, Puffer und Regelmittel im gewählten Medium löslich sein.

Ohne die Erfindung an eine besondere Theorie zu binden, meint man, dass die oben beschriebene Farbänderung des pH-Indikators beim Gefrieren darauf zurückzuführen ist, dass die Protonenzusammensetzung beim Gefrieren radikal geändert wird, eine Änderung, die in zwei Teile unterteilt werden kann. Erstens nimmt die gesamte Leitfähigkeit beim Gefrieren der Lösung ab, da die Beweglichkeit der verschiedenen Ionen, einschliesslich H^+ und OH^- , in der Lösung stark abnimmt. Zweitens dürfte die Beweglichkeit oder die Zugänglichkeit von OH^- stärker abnehmen als für H^+ , d.h. das Verhältnis $H^+ : OH^-$ (die Protonenzusammensetzung) nimmt beim Gefrieren der Lösung (scheinbar) zu. Dies bedeutet, dass die gefrorene Lösung einen (scheinbar) niedrigeren oder saureren pH-Wert als die flüssige Lösung hat. Da der Farbzustand des pH-Indikators gerade vom Verhältnis $H^+ : OH^-$ (d.h. pH) abhängig ist, wird sich also der Farbzustand des pH-Indikators von Basenfarbe zu Säurefarbe ändern, vorausgesetzt, dass die Änderung des Verhältnisses $H^+ : OH^-$ hinreichend ist, damit beim Gefrieren der Lösung das Umschlagsintervall des pH-Indikators passiert wird. Untersuchungen haben gezeigt, dass die Änderung des Verhältnisses $H^+ : OH^-$ beim Gefrieren im allgemeinen einer Verschiebung des pH-Werts nach der sauren Seite hin um etwa 2–5 Einheiten entspricht, und zwar in Abhängigkeit vom gewählten pH-Indikator. Falls also die ursprüngliche, flüssige

Lösung auf einen pH-Wert von etwa 2–5 Einheiten über dem pK-Wert des pH-Indikators alkalisiert wird oder schon von Anfang an einen solchen pH-Wert hat, ändert der pH-Indikator nicht die Farbe beim Gefrieren der Lösung.

Die oben angedeutete Erklärung der Farbänderung des pH-Indikators beim Gefrieren bedeutet somit, dass der pH-Wert der Lösung gegen einen saureren Wert verschoben wird. Da man die Lösung alkalisieren muss, um die pH-Verminderung beim Gefrieren auszugleichen, wird das pH-Wert der flüssigen Lösung gegen einen mehr alkalischen Wert verschoben. Man kann dies als eine scheinbare Verschiebung des pK-Werts (Umschlagsintervalls) des pH-Indikators gegen einen mehr alkalischen Wert infolge des Gefrierens betrachten, und diese Betrachtungsweise ist u.a. in den nachstehenden Ausführungsbeispielen benutzt worden.

Es hat sich nun gezeigt, dass die Farbänderung des pH-Indikators bei Gefrieren hauptsächlich nur vom Übergang von flüssiger Phase zu fester Phase abhängig und im übrigen von der Temperatur hauptsächlich unabhängig sein dürfte, d.h. dass wenn sich die Farbe des Indikators einmal infolge des Gefrierens der Lösung geändert hat, keine weitere Farbänderung bei fortgesetzter Temperatursenkung unter dem Gefrierpunkt erfolgt.

Ferner wurde festgestellt, dass die Konzentration der Lösung an demjenigen Stoff (anorganischem Puffer oder Salz einer organischen Säure), der zur Ionenstärke und Protonenzusammensetzung der Lösung beiträgt, eine solche Wirkung hat, dass die Lösung beim Gefrieren um so saurer wird, je höher die Konzentration des Stoffes (des Puffers) in der Lösung ist.

Wie schon erwähnt, wird das mit der Verschiebung des Umschlagintervalls beim Gefrieren verknüpfte Problem dadurch gelöst, dass man ein Regelmittel zusetzt, welches die Ionenstärke und die Protonenzusammensetzung der gefrorenen Lösung ändert und sowohl der Verminderung der Leitfähigkeit als auch der Änderung des Verhältnisses $H^+ : OH^-$ (d.h. des pH-Werts) der Lösung infolge des Gefrierens entgegenwirkt. Es sei bemerkt, dass das Regelmittel selbst nicht die Protonenzusammensetzung zu ändern braucht; wichtig ist, dass die Wirkung des Regelmittels eine solche ist, dass die Protonenzusammensetzung der gefrorenen Lösung eingeregelt wird.

Hierzu lassen sich verschiedene Regelmittel gebrauchen, welche beispielsweise das pH der Lösung ändern oder oberflächenaktive Wirkung haben. Insbesondere hat man gefunden, dass Alkohole und Carbonsäuren wirksame Regelmittel sind.

Als Alkohole kommen organische Verbindungen und vor allem sowohl einwertige als auch mehrwertige Alkohole, wie Methanol, Äthanol, verschiedene Glykole, Glycerine sowie Kohlenhydrate in Frage, als Carbonsäuren vor allem Mono- und Di- als auch Polycarbonsäuren, aliphatische wie aromatische Keto-, Hydroxy- und Aminocarbonsäuren, einschl. der Amide und Salze dieser Säuren.

In der Praxis werden die reinen Carbonsäuren nicht als Regelmittel benutzt, da dies eine unerwünschte Senkung des pH der Lösung herbeiführen würde. Statt dessen wird das Carbonsäure-Regelmittel, bevor es der Lösung zugesetzt wird, beispielsweise durch Zugabe von NaOH auf denselben pH-Wert wie die Lösung eingeregelt. Dies bedeutet, dass das zugesetzte Carbonsäure-Regelmittel im wesentlichen einer Lösung der freien Säure und deren Salze entspricht. Alternativ und bevorzugt kann man als Carbonsäure-Regelmittel direkt ein Salz der Säure gebrauchen, zweckmässigerweise ein Alkalimetall- oder Ammoniumsalz, wobei das pH beispielsweise mit Hilfe von HCl eingestellt wird.

Erfindungsgemäss kann man als Regelmittel zur Änderung der Ionenstärke und der Protonenzusammensetzung auch ein Enzym-Substrat-Gemisch benutzen, das durch die Einwirkung des Enzyms auf das Substrat den erforderlichen Stoff erzeugt.

Die obengenannten Regelmittel eignen sich für Systeme,

die beim Gefrieren sauer werden.

Allgemein gilt, dass ein Regelmittel für ein System, das beim Gefrieren sauer wird, ein Stoff ist, der ein Ion einer starken Base und ein Ion einer schwachen Säure umfasst, während ein Regelmittel für ein System, das bei Gefrieren mehr alkalisch wird, ein Stoff ist, der ein Ion einer schwachen Base und ein Ion einer starken Säure umfasst. Es sei bemerkt, dass Alkohole als Regelmittel für beide Systemtypen benutzt werden können.

Der genaue Mechanismus der Wirkung des Regelmittels ist nicht klargelegt, aber was z.B. Glycerin betrifft, vermutet man, dass dieses Regelmittel dadurch wirkt, dass es imstande ist, Wassermoleküle anzuziehen, wahrscheinlich zusammen mit dem pH-Indikator, wodurch dieser seine Farbe bewahrt. Ausserdem hat Glycerin ein hohes Protonenbindevermögen, was zu einer reduzierten Beweglichkeit oder Zugänglichkeit von H^+ im Verhältnis zu OH^- führt, d.h. einem (scheinbar) mehr alkalischen pH-Wert. Diese Verschiebung des pH-Wertes gegen einen mehr alkalischen pH-Wert wirkt derjenigen Verschiebung des pH-Wertes gegen einen saureren Wert entgegen, welche, wie vorher erklärt, in der gefrorenen Lösung ohne Zusatz von Regelmittel auftritt. Durch sein Protonenbindevermögen ändert somit Glycerin scheinbar den pH-Wert der gefrorenen Lösung gegen einen mehr alkalischen Wert.

Für die Carbonsäure-Regelmittel gilt, dass sie selbst eine wirkliche Änderung der Leitfähigkeit herbeiführen, und zwar sowohl der gesamten Leitfähigkeit wie auch des gegenseitigen Verhältnisses $H^+ : OH^-$ (Protonenzusammensetzung).

In Abhängigkeit davon, ob das gewählte Carbonsäure-Regelmittel mit dem besonderen Puffersystem zusammenwirkt, kann man der Umschlagsverschiebung des pH-Indikators beim Gefrieren entweder entgegenwirken oder diese Umschlagsverschiebung noch weiter akzentuieren.

Bei der Verwendung der obengenannten Regelmittel wurde festgestellt, dass sie die unerwartete Wirkung besitzen, dass sie die Farbänderung des pH-Indikators beim Gefrieren temperaturabhängig machen, d.h. die Farbänderung braucht nicht im unmittelbaren Anschluss an das Gefrieren zu erfolgen, sondern kann bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt der Lösung bewirkt werden. Für die Alkoholregelmittel gilt dies in Gegenwart eines anorganischen Puffers oder eines Salzes einer organischen Säure, während dies für die Carbonsäure-Regelmittel auch in Abwesenheit eines anorganischen Puffers (Carbonsäure + Alkalisalz der Carbonsäure bilden selbst ein Puffersystem) gilt. Man hat ferner festgestellt, dass die Temperaturabhängigkeit des Farbumschlags des pH-Indikators auf dem Gehalt des zugesetzten Regelmittels sowie auf dem Ausgangs-pH der flüssigen Lösung beruht. Somit gibt ein zunehmender Gehalt an Regelmittel eine niedrigere Farbumschlagstemperatur bei konstantem pH, während ein mehr alkalischer Ausgangs-pH der flüssigen Lösung eine niedrigere Umschlagstemperatur bei konstantem Gehalt an Regelmittel gibt. Man hat hierdurch, ausser dem Entgegenwirken einer Farbänderung des pH-Indikators beim Gefrieren durch das Regelmittel, ein «Farbthermometer» geschaffen, das infolge der Temperaturabhängigkeit des Farbumschlags des pH-Indikators eine Farbe über der «Umschlagstemperatur» (Basenfarbe) und eine andere Farbe unter der «Umschlagstemperatur» (Säurefarbe) zeigt. Dieser Farbumschlag kann sehr klar gemacht werden, so dass das Farbthermometer eindeutig so geringe Temperaturunterschiede wie 1–2 °C anzeigt. Indem man ein langgestrecktes Rohr mit einer Komposition der oben geschilderten Art gemäss der Erfindung füllt, schafft man somit ein langgestrecktes Farbthermometer, das, falls es an der Wand eines Kühl- oder Gefriertraumes angebracht wird, anzeigt, unter welcher Höhe die Temperatur hinreichend niedrig bzw. über welcher Höhe die Temperatur zu hoch ist.

Anstatt, wie oben erwähnt, die Lösung in ein langgestrecktes Rohr zu füllen, kann man auch einen langgestreckten Strei-

fen mit in regelmässigem Abstand voneinander angeordneten, durchsichtigen Kammern herstellen, die alle mit der Lösung gefüllt sind. Diese Ausbildung ist praktischer als die Ausbildung des langgestreckten Rohres, da der Streifen leicht zwischen den Kammern getrennt werden kann, um Streifen erwünschter Länge zu schaffen. Ferner können die Kammern mit verschiedenen Lösungen gefüllt werden, die einen Farbumschlag bei verschiedenen Temperaturen unter dem Gefrierpunkt herbeiführen. Hierdurch wird ein Thermometer geschaffen, das durch seine Farbe in einfacher und leicht erkennbarer Weise die vorherrschende Temperatur anzeigt. Eine weitere Anwendung des beschriebenen Farbthermometers besteht darin, dass man eine Kapsel herstellt, die mit solcher Lösung gefüllt ist, welche bei einer gewissen Temperatur, beispielsweise –18 °C, einen Farbumschlag bietet, und diese Kapsel an einer tiefgefrorenen Ware befestigt. Die die Indikatorflüssigkeit enthaltende Kapsel wird dann zu jedem Zeitpunkt während der Handhabung der tiefgefrorenen Ware anzeigen, ob die Temperatur über oder unter der gewählten Temperatur (beispielsweise –18 °C) liegt. Es sei bemerkt, dass jedes besondere Farbthermometer einen Farbumschlag nur bei einer besonderen Temperatur gibt, die für die gewählte Kombination von Indikatorlösung, pH-Wert und Gehalt des Regelmittels kennzeichnend ist, das man aber durch zweckdienliche Kombination dieser Faktoren ein Farbthermometer schaffen kann, welches bei wahlfreier Temperatur einen Farbumschlag gibt. Der pH-Indikator ist typisch in einer Menge von etwa 0,01–0,05 Gew.-%/Vol.% enthalten.

Es sei auch betont, dass das oben beschriebene Farbthermometer reversibel ist, d.h. es kann erneut benutzt werden, um Temperaturänderungen an der besonderen Farbtemperatur vorbei anzuzeigen, die für das gewählte Farbthermometer spezifisch ist.

Die Erfindung ist nun im folgenden anhand einiger Ausführungsbeispiele näher erläutert.

Beispiel 1

Dieses Beispiel zeigt den Farbumschlag zweier verschiedener pH-Indikatoren, Nitrazingelb und Bromthymolblau, beim Gefrieren.

Die Indikatorlösungen waren mit 0,02 M Na_2HPO_4 (pH = 9,4) gepuffert. Die Einregelung des pH-Wertes erfolgte mit 1 N HCl. Die Ergebnisse sind in Tafel 1 gezeigt.

Aus Tafel 1 geht klar hervor, dass sowohl Nitrazingelb als auch Bromthymolblau in mit dem anorganischen Puffer Na_2HPO_4 gepufferter Lösung eine Verschiebung des Umschlagsintervalls beim Gefrieren aufweist.

Entsprechende Vergleichsversuche wurden angestellt, jedoch unter Verwendung von Indikatorlösungen, die mit 0,02 M des anorganischen Puffers Tris(hydromethyl)aminomethan (Tris) gepuffert waren. Eine nennenswerte Verschiebung der Umschlagsintervalle entstand nicht, was auch zu erwarten war, da Tris eine im wesentlichen undissoziierte, organische Verbindung ist, welche nicht nennenswert zur Protonenleitfähigkeit beiträgt.

Um zu zeigen, dass der Dissoziationsgrad dafür unwichtig ist, ob das Umschlagsintervall verschoben wird oder nicht, wurden auch Versuche mit Indikatorlösungen vorgenommen, die mit Tris-Puffer gepuffert waren und denen ausserdem NaCl zugesetzt war, d.h. ein Stoff, der nur die Ionenstärke, jedoch nicht die Protonenzusammensetzung ändert. Wie aus Tafel 1 hervorgeht, entstand auch in diesem Falle keine nennenswerte Verschiebung der Umschlagsintervalle.

Beispiel 2

In diesem Beispiel wurden Versuche mit einer grossen Anzahl verschiedener pH-Indikatoren ausgeführt, und es wurde festgestellt, dass sämtliche Indikatoren eine Verschiebung des Umschlagsintervalls beim Gefrieren herbeiführten. In Tafel 2

sind die verschiedenen geprüften pH-Indikatoren und deren normale Umschlagsintervalle bei +20 °C (volle Linie) sowie bei –20 °C (gestrichelte Linie) zusammengestellt. In sämtlichen Fällen waren die Indikatorlösungen mit 0,02 M Na₂HPO₄ gepuffert. Das pH wurde mit 1 N HCl oder 1 M NaOH eingeregelt.

Beispiel 3

Bei diesem Beispiel wurden Versuche mit Zusatz von Glycerin zu verschiedenen pH-Indikatorlösungen angestellt, die mit Phosphatpuffer gemäss Obigem gepuffert waren. Die Mes-

sungen erfolgten bei +20 °C bzw. –18 °C, und der pH-Wert wurde bei 7,0 konstant gehalten. Sämtliche Proben waren bei –18 °C gefroren. Die Ergebnisse sind aus Tafel 3 ersichtlich. Es sei bemerkt, dass die angegebenen Glycerinkonzentrationen sich auf eine 87%ige Glycerinerinlösung beziehen.

Beispiel 4

Dieses Beispiel zeigt die Einwirkung von pH, Temperatur und Glyceringehalt auf die Farbänderung von Bromkresolgrün. Die Indikatorlösung enthielt wie vorher 0,02 M Na₂HPO₄. Die Ergebnisse gehen aus Tafel 4 hervor.

Tafel 1
0,02 M Na₂HPO₄-Puffer

pH (+20 °C)	Nitrazingelb Farbe bei		Bromthymolblau Farbe bei	
	+20 °C	–20 °C	+20 °C	–20 °C
9,40	dunkelviolet		blau	gelb
9,00	dunkelviolet	grünbraun	blau	gelb
8,50	dunkelviolet	gelbrot	blau	gelb
8,00	dunkelviolet	gelbrot	blau	gelb
7,50	dunkelviolet	gelbrot	blaugrün	gelb
7,00	violet	gelbrot	grün	gelb
6,50	braun	gelbrot	grün	gelb
6,00	braunrot	gelbrot	gelbgrün	gelb
5,50	rotgelb	gelbrot	gelb	gelb
5,00	gelbrot	gelbrot	gelb	gelb
4,60	gelbrot	gelbrot	gelb	gelb

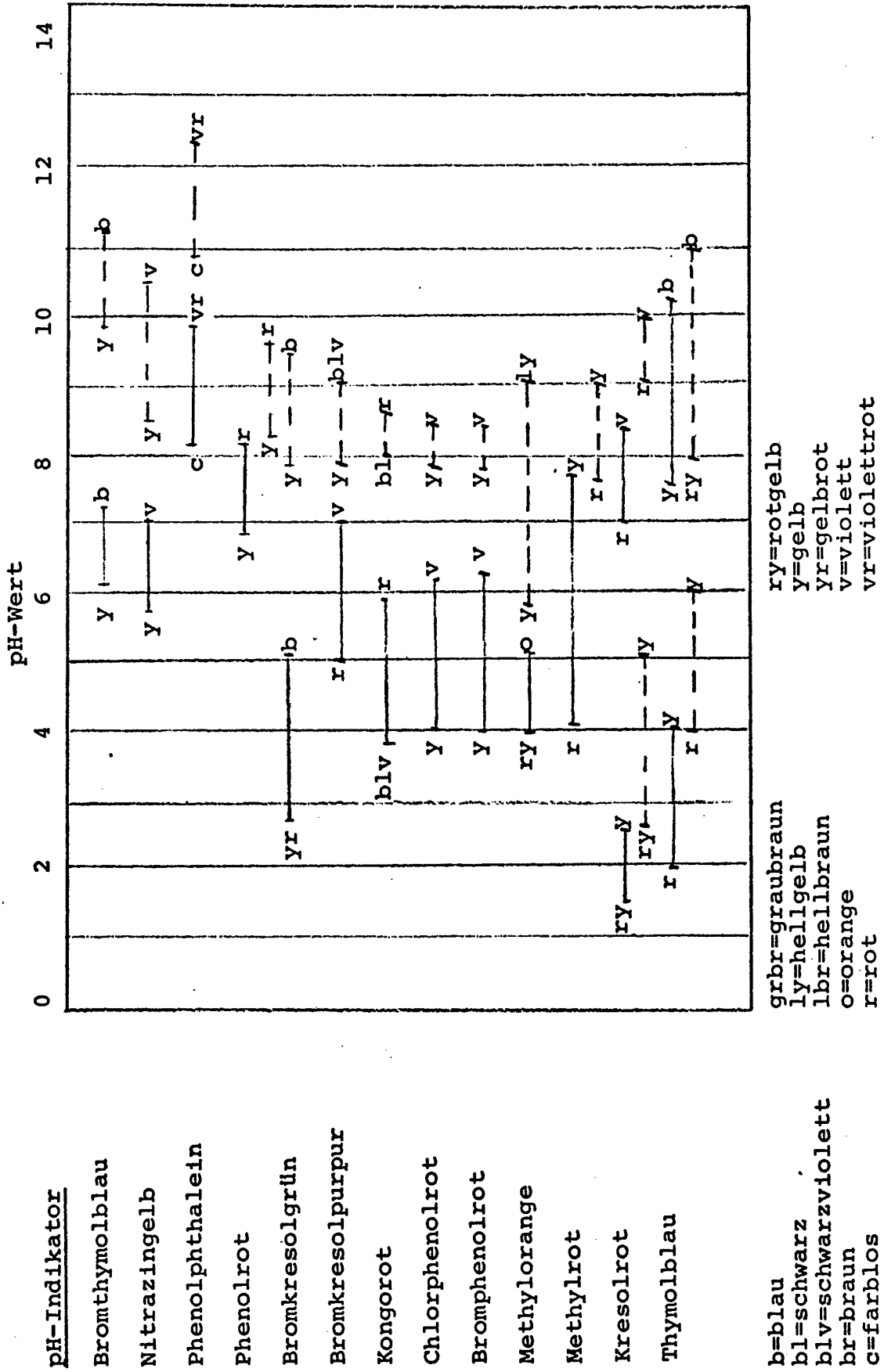
0,02 M Tris-Puffer

pH (+20 °C)	Nitrazingelb Farbe bei		Bromthymolblau Farbe bei	
	+20 °C	–20 °C	+20 °C	–20 °C
9,40	dunkelviolet	dunkelviolet	blau	blau
9,00	dunkelviolet	dunkelviolet	blau	blau
8,50	dunkelviolet	dunkelviolet	blau	blaugrün
8,00	dunkelviolet	dunkelviolet	blau	grün
7,50	dunkelviolet	dunkelviolet	blaugrün	grüngelb
7,00	violet	violet	grün	gelb
6,50	braun	hellviolet	grün	gelb
6,00	braunrot	gelbbraun	gelbgrün	gelb
5,50	rotgelb	gelbrot	gelb	gelb
5,00	gelbrot	gelbrot	gelb	gelb
4,60	gelbrot	gelbrot	gelb	gelb

0,02 M Tris-Puffer + 0,1 M NaCl

pH (+20 °C)	Nitrazingelb Farbe bei		Bromthymolblau Farbe bei	
	+20 °C	–18 °C	+20 °C	–20 °C
9,4	violet	violet	blau	hellblau
9,0	violet	violet	blau	hellblau
8,5	violet	violet	blau	hellblau
8,0	violet	violet	blau	hellblau
7,5	violet	violet	grünblau	blaugrau
7,0	hellviolet	violet	grün	graugrün
6,5	lilabraun	violet	grün	gelbgrau
6,0	braun	hellbraun	gelbgrün	gelb
5,5	–	–	gelb	gelb
5,0	gelb	gelbrot	gelb	gelb

Tafel 2



Tafel 3

pH-Indikator	Glyceringehalt		5%	10%	20%	0-Kontrolle	Farbe bei Zimmertemp. (alle)
	1%	2%					
Chlorphenolrot	gelb mit etwas rot	rot	rot	rot	rot	gelb	violett
Bromkresolgrün	blaugrün	blaugrün	blau	blau	blau	grün	blau
Kongorot	braunrot	dunkelrot	rot	rot	rot	schwarz	rot

Tafel 4

Temperatur °C	pH 4,0 0,5% Glycerin	pH 5,0 1,0% Glycerin	pH 6,0 0,5% Glycerin
-14	Blaugrün	Blaugrün	Blaugrün
-16	Gelb	Grüngelb	Gelbgrün
-18	Gelb	Gelbgrün	Gelbgrün
-20	Gelb	Gelbgrün	Gelb
-22	Gelb	Gelb	Gelb

Beispiel 5

Dieses Beispiel zeigt die Einwirkung von pH, Temperatur und Glyceringehalt auf die Farbänderung von Chlorphenolrot. Die Indikatorlösung enthielt wie vorher 0,02 M Na_2HPO_4 . Die Ergebnisse gehen aus Tafel 5 hervor.

Tafel 5

Temperatur °C	pH 5,0 1,0% Glycerin	pH 5,5 0,5% Glycerin	pH 6,0 0,5% Glycerin
-14	Violett	Violett	Violett
-16	Gelbrot	Rot	Gelb
-18	Gelbrot	Gelb	Gelb
-20	Gelb	Gelb	Gelb
-22	Gelb	Gelb	Gelb

Tafel 6

Regelmittel (Gew./Vol.%)	Chlorphenolrot +20 °C -18 °C		Bromkresolgrün +20 °C -18 °C	
0=Kontrolle (nur Phosphat-Puffer)	Rot	Gelb	Blau	Gelb
Dextrose (5%)	Rot	Gelbrot	Blau	Gelbgrün
Sorbitol (5%)	Rot	Gelbrot	Blau	Gelbgrün
Saccharose (5%)	Rot	Gelbrot	Blau	Grüngelb
Tween 80	Rotgelb	Gelbrot	Grün	Grün
(oberflächenaktives Mittel enthaltend Polyoxyäthyl- (20) sorbitanmono-oleat (10%))				
Glycerin (8,7%)	Rot	Rot	Blau	Blau
Äthylenglykol (10%)	Rot	Rot	Blau	Blau
Polyäthylenglykol (5%)	Rot	Rot	Blaugrün	Blau
Cellosolve (5%)	Rot	Rot	Blaugrün	Blau
Methanol (5%)	Rot	Gelbrot	Blaugrün	Grün
Äthanol (5%)	Rot	Gelbrot	Blaugrün	Blau
Natriumglutamat (5%)	Rot	Rot	Blaugrün	Blau
Natriumsuccinat (5%)	Rot	Gelbrot	Blaugrün	Grün
Natriumacetat (5%)	Rot	Rot	Blaugrün	Hellgrün
Natriumcitrat (5%)	Rot	Rot	Blaugrün	Grün
Ammoniumformiat (5%)	Rot	Rot	Blaugrün	Blau

Beispiel 6

Dieses Beispiel veranschaulicht die einer Farbänderung entgegenwirkende Wirkung verschiedener Regelmittel gemäss der Erfindung. Die Indikatorlösungen bestanden aus Chlorphenolrot bzw. Bromkresolgrün in wässriger Lösung, die mit 0,02 M Na_2HPO_4 gepuffert war. Der pH-Wert der Lösungen wurde mit HCl auf 6,0–6,5 eingeregelt. Die Ergebnisse gehen aus Tafel 6 hervor.

Beispiel 7

Dieser Versuch zeigt teils die Verschiebung des Umschlagsintervalls eines pH-Indikators (Kongorot) beim Gefrieren, und teils dass diese Verschiebung bei fortgesetzter Temperatursenkung unter dem Gefrierpunkt nicht weiterläuft, d.h. so lange sich die Indikatorkomposition entweder in der flüssigen oder in der festen Phase befindet, so ist das Umschlagsintervall temperaturunabhängig, vorausgesetzt, dass ein Regelmittel gemäss der Erfindung, wie Glycerin, nicht zugesetzt worden ist. Die Ergebnisse gehen aus Tafel 7 hervor.

Tafel 7

Farbe von Kongorot-Indikator in wässriger Lösung, gepuffert mit 0,02 M Na_2HPO_4

pH (±20°C)	-20°C	-15°C	-6°C	+5°C	+10°C	+20°C
9,9	rot	rot	rot	rot	rot	rot
9,15	rot	rot	rot	rot	rot	rot
8,5	rot	rot	rotbraun	rot	rot	rot
8,0	schwarz	schwarz	schwarz	rot	rot	rot
7,5	schwarz	schwarz	schwarz	rot	rot	rot
7,0	schwarz	schwarz	schwarz	rot	rot	rot
6,5	schwarz	schwarz	schwarz	rot	rot	rot
6,0	schwarz	schwarz	schwarz	rot	rot	rot
	fest			flüssig		

Beispiel 8

Um zu zeigen, dass die Carbonsäure-Regelmittel das Umschlagsintervall des pH-Indikators im gefrorenen System auch ohne Puffer temperaturabhängig machen können, wurde ein Versuch mit einer Lösung angestellt, die 5% Natriumsuccinat (Carbonsäure-Regelmittel) und Chlorphenolrot als pH-Indikator enthielt. Die Farbe des Indikators wurde bei +20 °C sowie drei verschiedenen Temperaturen unter dem Gefrierpunkt beobachtet, wobei folgendes festgestellt wurde

Temperatur (°C)	Farbe
+20	rot
-6	rot
-10	gelbrot
-18	gelbrot

Die zwischen -6°C und -10°C stattgefundene Farbänderung zeigt eine Änderung des Umschlagsintervalls des Ph-Indikators an.

Beispiel 9

In Tafel 8 sind verschiedene Beispiele von Enzym-Substrat-Kombinationen gezeigt, welche Vorläufer des erwünschten Regelmittels sind und durch enzymatische Reaktion das erwünschte Regelmittel erzeugen. Es leuchtet ein, dass die gezeigten Kombinationen nur einige erläuternde Beispiele verwendbarer Vorläufer sind und dass der Fachmann unzählige andere Enzym-Substrat-Kombinationen wählen kann, die durch enzymatische Reaktion das erwünschte Regelmittel erzeugen.

Tafel 8

Enzym	Substrat	Regelmittel	Übrige Produkte
Phosphatase	Glucose-6-Phosphat	Glucose	Phosphat
Phosphatase	β -Glycerophosphat	Glycerin	Phosphat
Esterase	Äthylbutyrat	Äthanol	Butyrat
Lipase	Triglycerid	Glycerin	Fettsäuresalz

Beispiel 10

Eine Kombination zur Verwendung als «Farbthermometer» gemäss der Erfindung wurde folgendermassen hergestellt.

Zu 2 l einer wässrigen Lösung, die 142,5 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ enthielt, wurden 350 ml 99,5% Glycerin, 4 l 10,5% Lösung von Chlorphenolrot und 800 ml n-Butanol (Schutzmittel) zugesetzt, wonach das Ganze mit destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 40 l verdünnt wurde. Die erhaltene Lösung wurde dann mit 1 N HCl auf pH 7,5 eingeregelt.

Die so erhaltene Lösung wurde in durchsichtige Kammern auf einem Streifen gefüllt, wie früher beschrieben. Hierdurch erhielt man ein Farbthermometer, das bei Prüfung violette Farbe bei Temperaturen über etwa -18°C und gelbe Farbe bei Temperaturen unter etwa -18°C zeigte.

Beispiel 11

10 l der in Beispiel 10 hergestellten Farbthermometerlösung wurden durch Zugabe von 35,6 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sowie 50 ml 99,5% Glycerin modifiziert. Der pH-Wert der Lösung wurde auf 7,96 gemessen.

Bei Verwendung dieser Lösung als Farbthermometer in der oben beschriebenen Weise erhielt man einen Umschlag von violetter Farbe zu gelber Farbe, als die Temperatur unter etwa -24°C gesenkt wurde.