

$$[\nu] = \frac{1}{s} \quad [c] = \frac{m}{s} \quad \begin{matrix} 21:25 - \\ 22:10 \end{matrix}$$

1.  $E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{c}{\lambda}$

$[\lambda] = m$

①

Je länger die Welle, desto geringer die Energie

$$\nu = \frac{c}{\lambda}$$

• NMR (Radiowellen)

Die Radiowellen bewirken, dass die Kernspins der Moleküle, mit unterschiedlicher Anzahl von Neutronen und Protonen, in verschiedene Energieniveaus aufgespalten werden. Die Eigenschaft der zu untersuchenden Moleküle wurde bereits genannt, sie müssen eine unterschiedliche Anzahl von Protonen und Neutronen besitzen (H, <sup>13</sup>C, ...).

Bsp: EPO, dessen Struktur über NMR aufgeklärt werden kann

• IR (IR-Strahlung)

Die infrarote Strahlung erzeugt Konformationsänderungen der Moleküle, die zu Schwingungen ähnlich einem Feder-Masse-System führen. ~~Diese Änderungen sind~~ Um IR-aktive Moleküle müssen sie zur erfolgreichen Detektion entweder einen permanenten oder induzierbaren Dipol besitzen.

Bsp: Tryptophan

• UV Fluoreszenzspektroskopie

• UV-Vis Spektroskopie

Die Wechselwirkungen der beiden Spektroskopie sind ähnlich, weshalb sie hier gemeinsam beschrieben werden können. Es treten elektronische Übergänge in den Molekülorbitalen (hauptsächlich  $\pi \rightarrow \pi^*$ ) auf, die zur Absorption führen. Daneben treten aber auch Schwingungen und Rotationen der Moleküle auf.

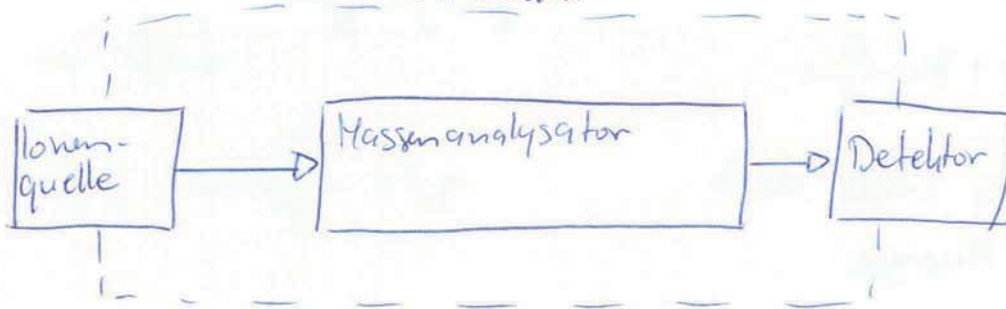
Bsp: DAPI → Fluoreszenz

DNA → UV

## 2. MS

Vakuum

a,



① Ionenquelle: Hier entscheidet sich wo fliegen darf, denn nur ionisierte Moleküle können im elektrischen Feld beschleunigt werden.

② Massenanalysator: Die verschiedenen Massenanalysatoren haben ein Ziel, und zwar, dass die Moleküle entsprechend ihres Verhältnisses ~~von~~ von Masse zu Ladung aufgetrennt werden.

③ Detektor: Die ankommenden Moleküle müssen detektiert werden um eine sinnvolle Auswertung ~~anfertigen~~ ausführen zu können.

④ Vakuum: Ohne Vakuum geht nix, weil ansonsten die Moleküle auf ihrem Weg zum Detektor durch herum schwimmende Gasmoleküle abgelenkt, gebremst oder zerstört werden.

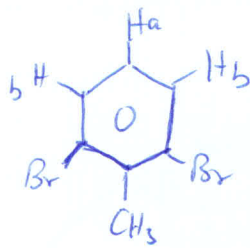
b, Die Ionenquelle! Biopolymere können erst sinnvoll untersucht werden, seit sie ohne Fragmentierung ionisiert werden. Es haben sich dazu 2 Methoden herauskristallisiert, die beide erlauben, dass Biopolymere intakt in den Massenanalysator gelangen:

ESI, MALDI

MALDI bietet sich an, da durch die Größe der Moleküle die Nadel/Kapillare der ESI verstopfen kann

3,

(2)



a, Aromatische Protonen :  $\delta = 9,5 \text{ ppm}$

(~~para~~ Ar-CH<sub>3</sub> 7,2 - 2,8 ppm  
 Inherentrechnung:

$$\delta_a = (7,26 + 0,11 - 0,17) \text{ ppm} = \underline{7,20 \text{ ppm}}$$

$$\delta_b = (7,26 + 0,17 - 0,09 - 0,06) = \underline{7,28 \text{ ppm}}$$

b, Für Ha und Hb können Multipletts erwartet werden, obwohl die Vorhersage bei Aromaten nicht leicht ist.

Ha hat zwei Nachbarn  $\Rightarrow$  Triplett (1:2:1)

Hb hat jeweils 1 Nachbar  $\Rightarrow$  Duplett (1:1) aber 2x

c, 6xH

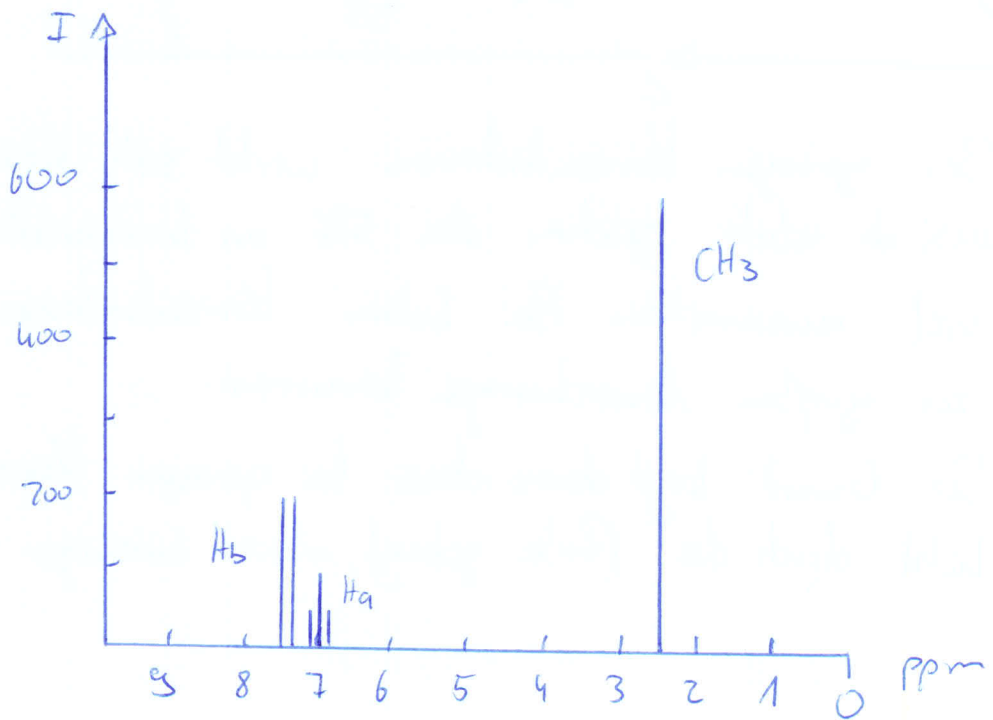
I<sub>c</sub> 1200

CH<sub>3</sub>: I = 600

Ha : I = 200

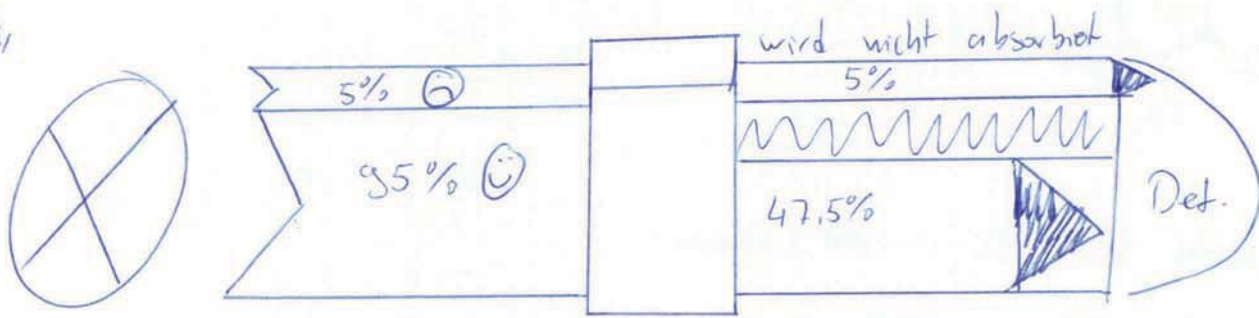
Hb : I = 400

Stickspektrum, so dass die Höhe der Peaks auch der Intensität entspricht, Eigentlich entspricht die Intensität der Fläche.



# 4, AAS

a,

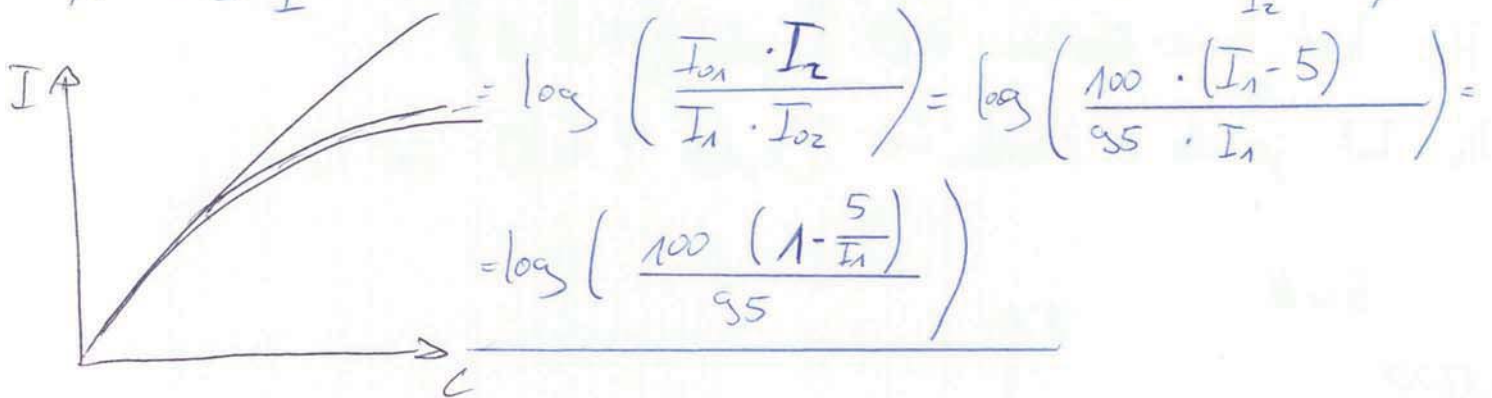


mit Fehler  $A = \log \frac{I_0}{I} = \log \frac{100}{52.5} = 0,2798$

ohne Fehler  $A = \log \left( \frac{95}{47.5} \right) = 0,301$

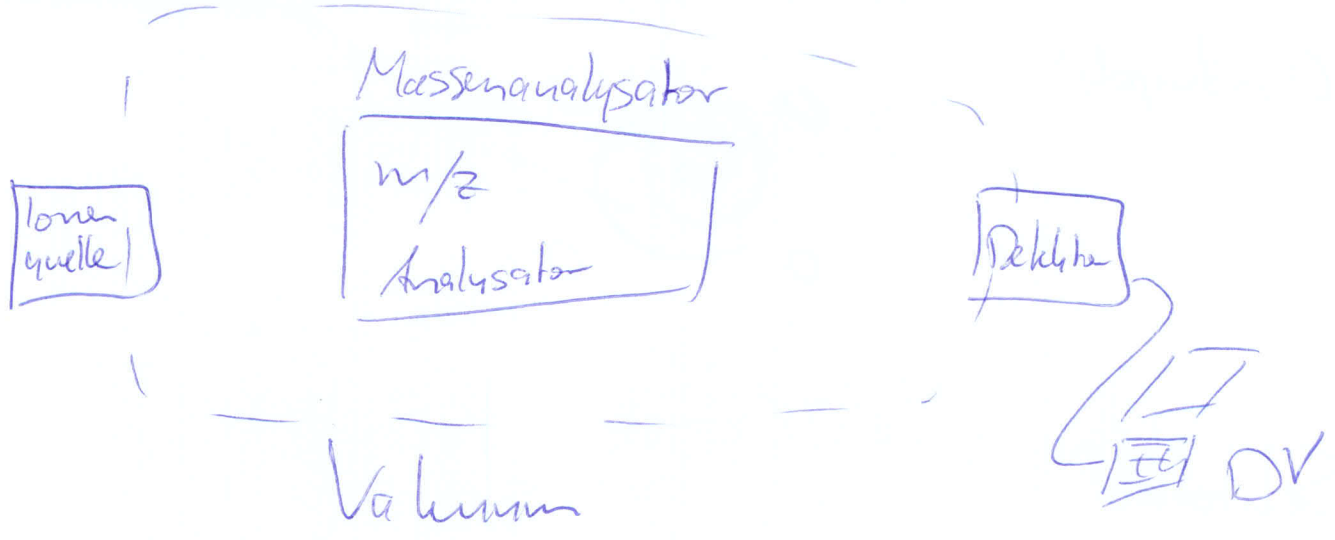
⇒ Die ~~Absorption~~ Absorption erhöht sich ohne den kontinuierlichen Anteil.

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad \Delta A = \log \left( \frac{I_{01}}{I_1} \right) - \log \left( \frac{I_{02}}{I_2} \right) = \log \left( \frac{\frac{I_{01}}{I_1}}{\frac{I_{02}}{I_2}} \right) =$$



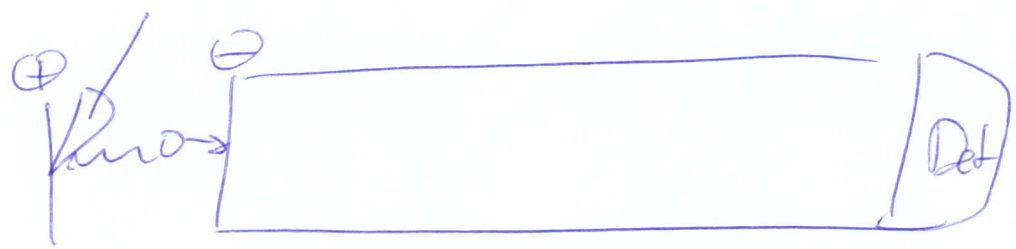
b, Bei geringen Konzentrationen wirkt sich dieser Effekt geringer aus, da relativ gesehen die 5% an kontinuierlichem Licht nicht viel ausmachen. Bei hohen Konzentrationen kann es hier zu großen Abweichungen kommen.

Der Grund liegt darin, dass bei geringen Konzentrationen mehr Licht durch die Probe geht, also weniger absorbiert wird!



TOF

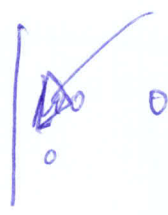
Quadrupol, TOF,



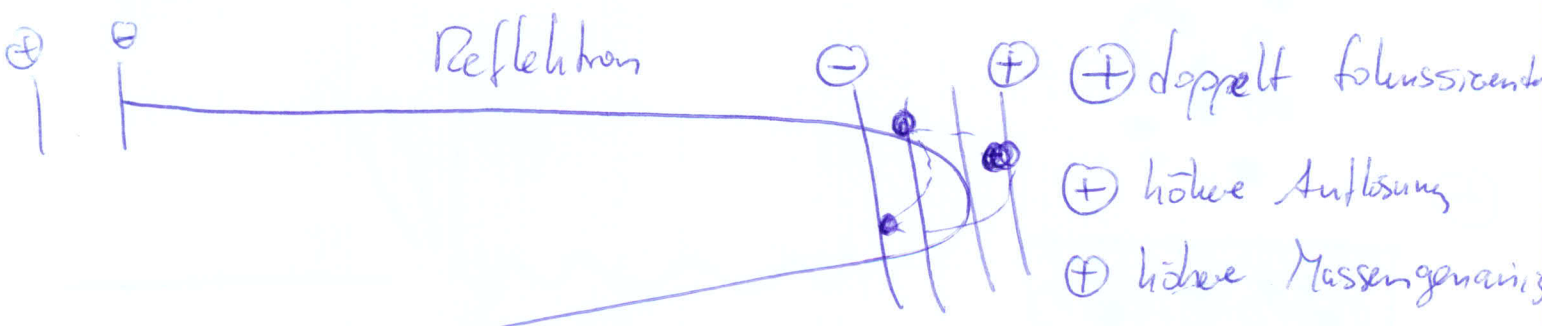
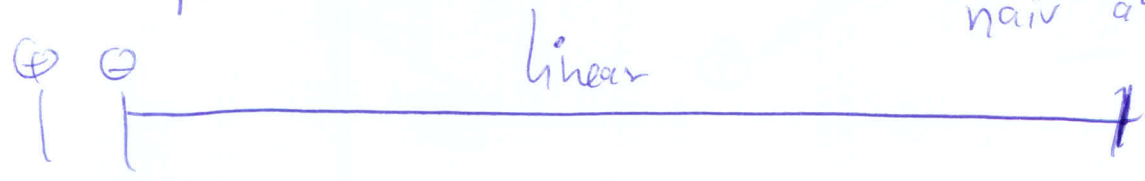
$$E_{kin} = e \cdot U \cdot z = \frac{m}{2} \cdot v^2$$

$$\frac{m}{z} = \frac{z \cdot e \cdot U}{v^2} = \frac{z \cdot e \cdot U}{L^2} \cdot t^2$$

$\underbrace{\hspace{10em}}_K$



linear aber robust

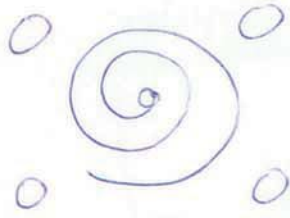


- ⊕ höhere Auflösung
- ⊕ höhere Massengenauigkeit

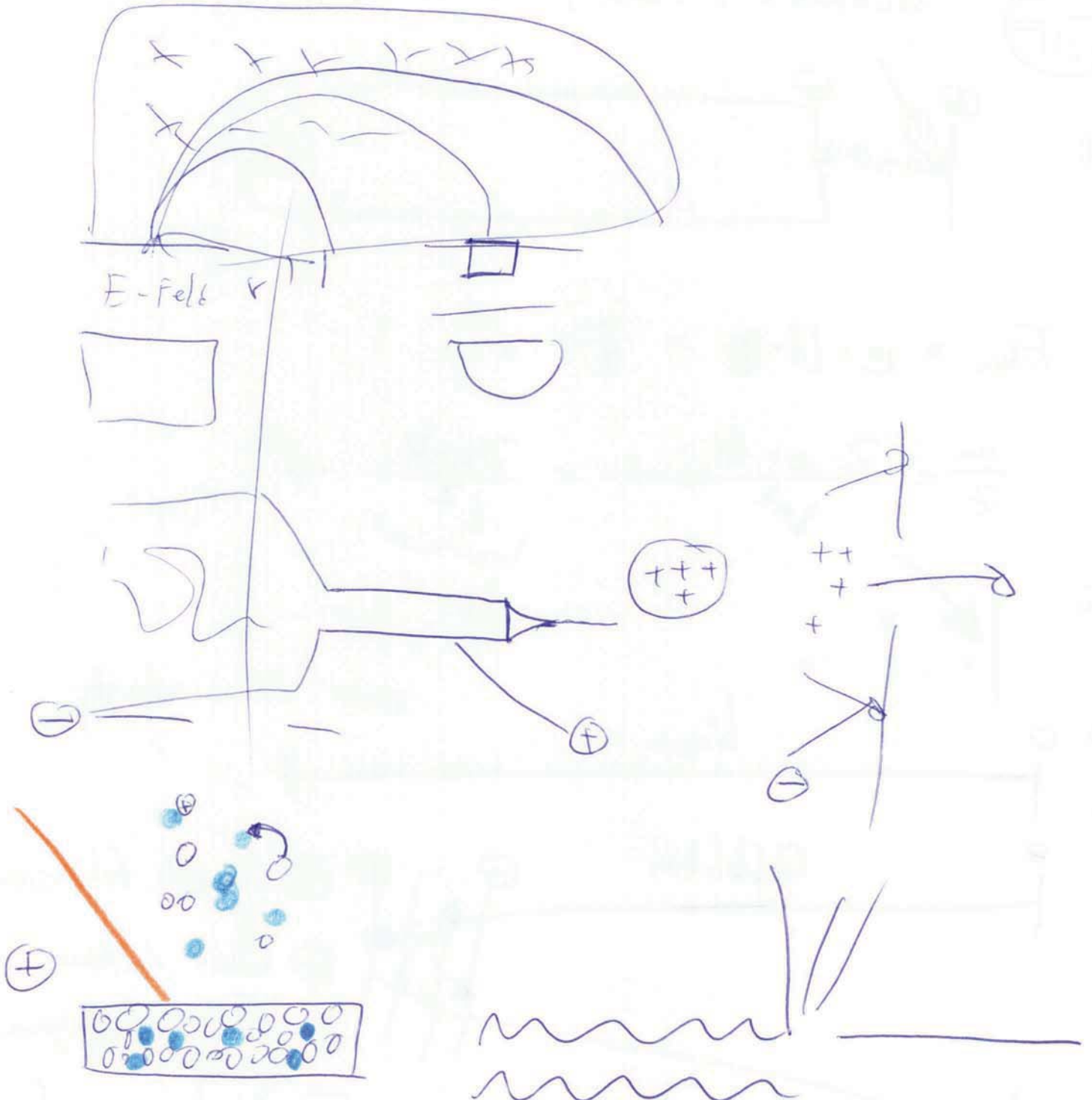
Det.

- ⊖ Zerstörung der Probe

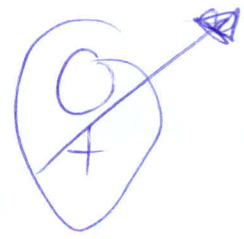
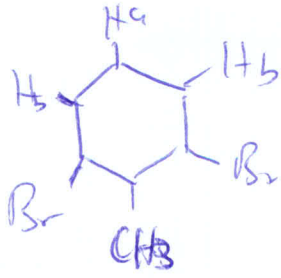
Quadrupol:



Schubfeld



3,



~~Nutzen~~

NO MA'AM

a) ~~Aromatische Protonen:~~

$$\text{Ar-CH}_3 \approx 2.5 \text{ ppm}$$

$$\delta(\text{H}_a) = (7.26 - 2 \cdot 0.11 - 0.17) \text{ ppm} = 6.87 \text{ ppm}$$

$$\delta(\text{H}_b) = (7.26 + 0.17 - 0.09 - 0.06) = 7.28 \text{ ppm}$$

b, kein Nachbar  $\rightarrow$  Singulett (CH<sub>3</sub>)

1 Nachbar  $\rightarrow$  Duplett (1:1)

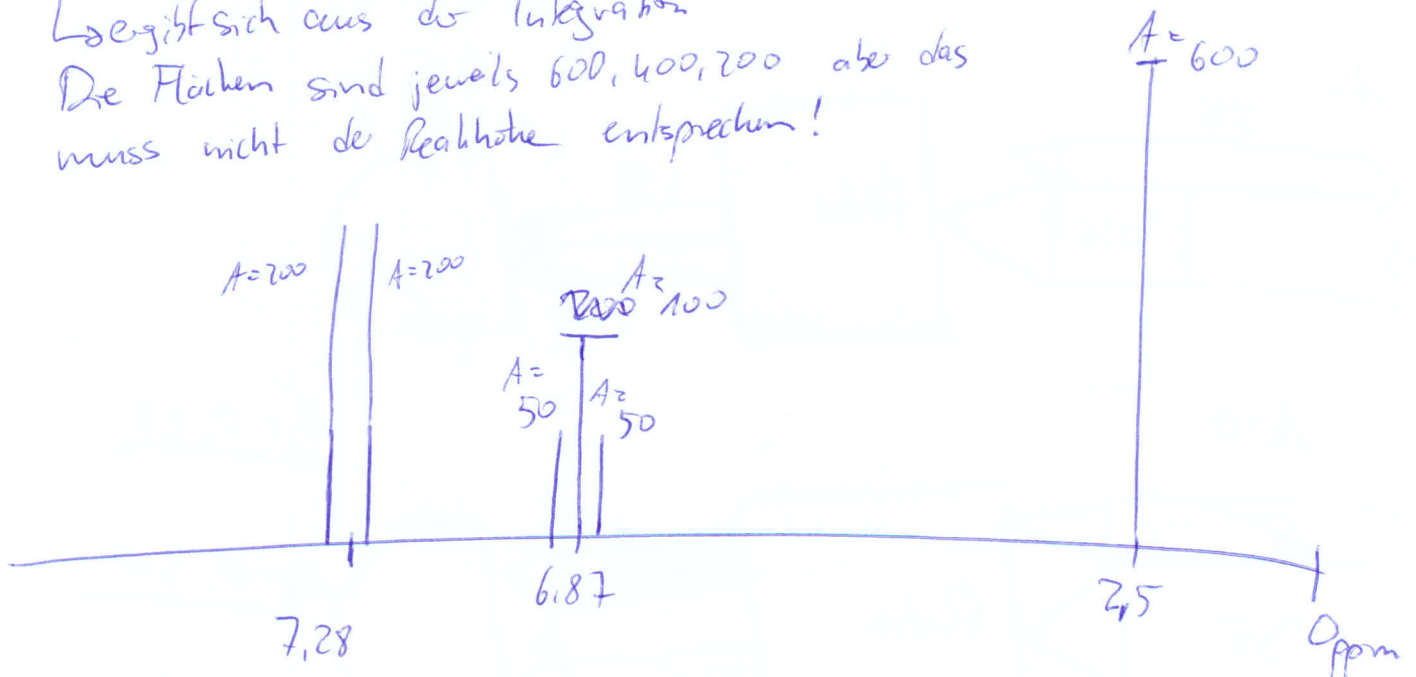
2 Nachbarn  $\rightarrow$  Triplet (1:2:1)

c, CH<sub>3</sub>  $\rightarrow$  600      200  $\rightarrow$  H<sub>a</sub>      400 H<sub>b</sub>

Signal verkleinert sich bei Multipletts

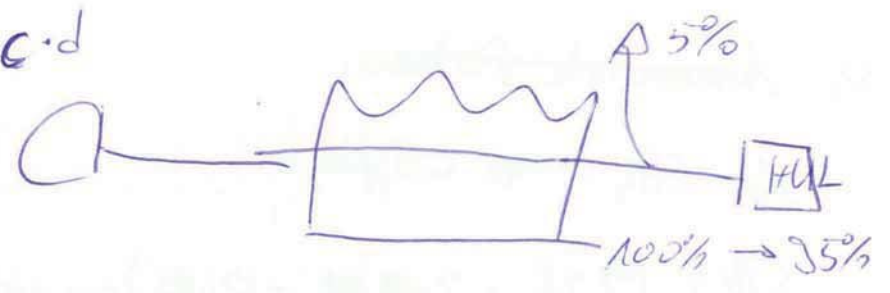
↳ ergibt sich aus der Integration

Die Flächen sind jeweils 600, 400, 200 aber das muss nicht der Peakhöhe entsprechen!



4, mit Fehler 95% von  $I_0$  liegen im richtigen Wellenlängenbereich  
 5% liegen außerhalb

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot c \cdot d$$

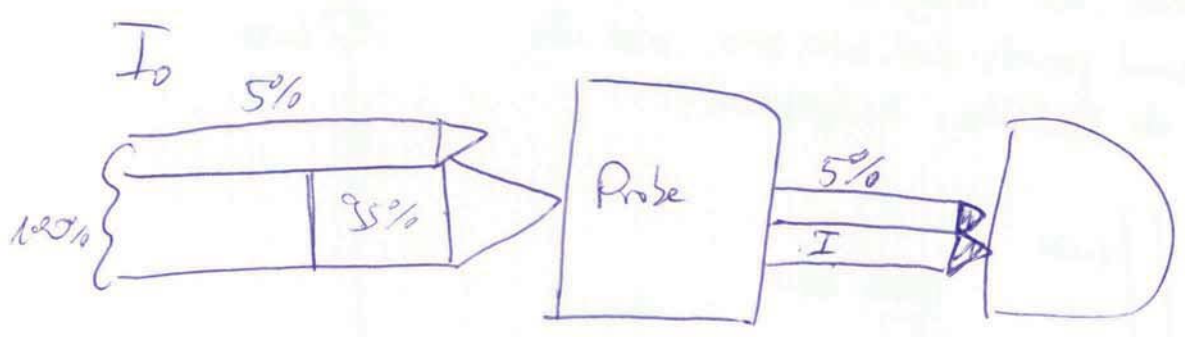
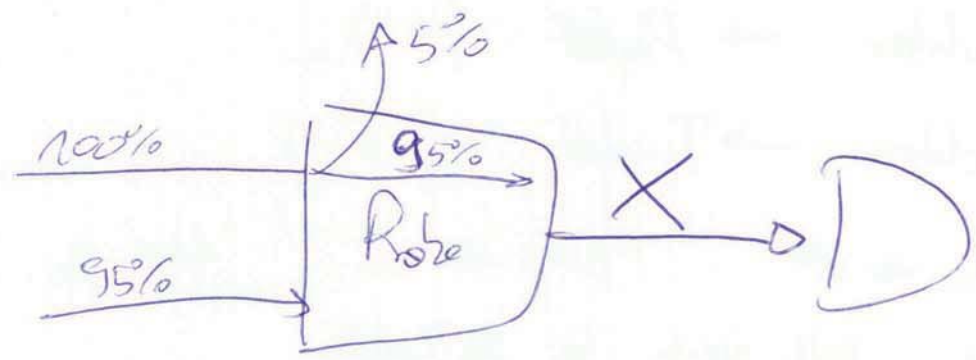


$$I_0 \hat{=} 100\%$$

$$I = 0,95 \cdot I_0$$

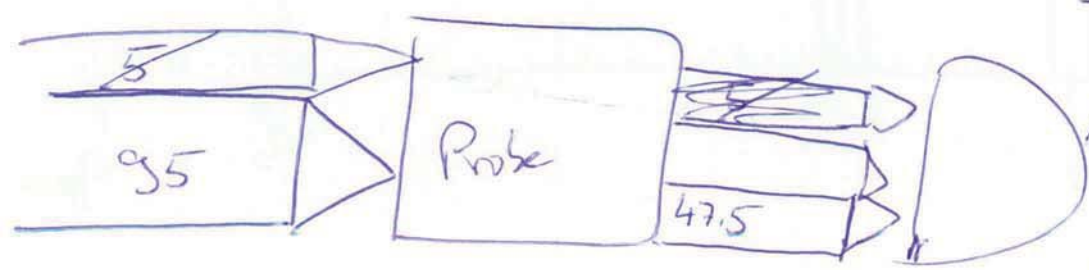
$$I \hat{=} 95\%$$

$$I \hat{=} 95\%$$



100

$$A_1 = 0,28$$



$$A_2 = 0,30$$

$$A_2 > A_1$$

1, Größe der ausgetauschten Energiequanten,  
bzw.: Wieviel Energie brauche ich für die Anregung?

$$E = h \cdot \nu \quad h = \text{Plancksches Wirkungsquantum}$$

$$\nu = \text{Frequenz } \left[ \frac{1}{s} \right]$$

Zusammenhang zwischen Frequenz und Wellenlänge

$$c = \lambda \cdot \nu \quad \lambda = \frac{c}{\nu}$$

$$\Rightarrow E = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad E \sim \frac{1}{\lambda}$$

je kürzer die Wellenlänge, desto höher die Energie!

IR: infrarote Strahlung  $800 \text{ nm} - 1000 \cdot 10^3 \text{ nm}$

UV: ultraviolette Strahlung  $100 - 400 \text{ nm}$ , meist  $190 - 400 \text{ nm}$

NMR: Radiowellen  $10 \text{ cm} - 100 \text{ m}$

Fluoreszenz: meist im UV/VIS-Bereich  $190 - 800 \text{ nm}$

$\Rightarrow$  UV, Fluoreszenz, IR, NMR

Wechselwirkungen:

UV/VIS: elektronische Übergänge von  $\pi \rightarrow \pi^*$  Molekülorbitale  
in konjugierten Systemen oder Molekülen mit freien  
Elektronenpaaren

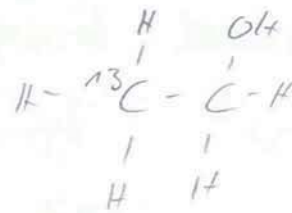
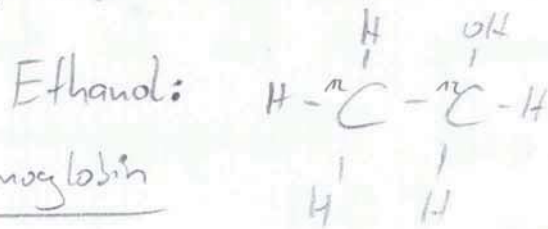
+ Rotations-, Schwingungsübergänge

Fluoreszenz: ähnlich UV-VIS

IR: Konformationsänderungen durch eingestrahlte Energie, vergleichbar  
Feder-Masse-System.

NMR: Anregung des Kernspins, was zur Aufspaltung in verschiedene  
Energielevels führt

NMR: nahezu jedes Molekül, das eine ungerade Anzahl an Neutronen und Protonen besitzt ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ )



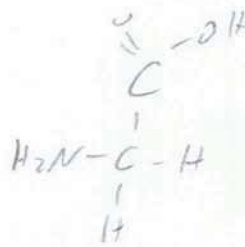
oder Hämoglobin

Proteinstrukturanalyse

$^1\text{H}$ -NMR

$^{13}\text{C}$ -NMR

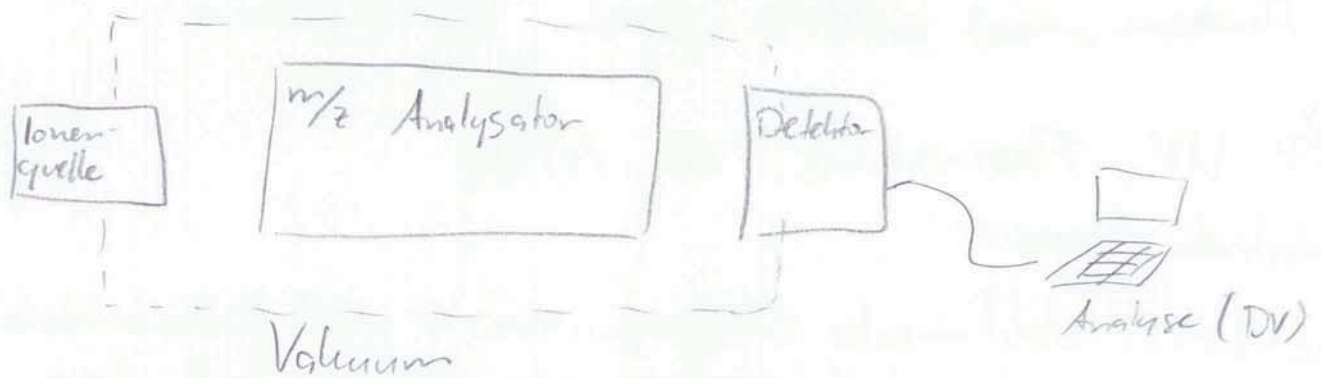
IR: Glycin



UV: DNA

Fluoreszenz: DAPI, Chlorophyll, GFP,

?, Aufbau eines MS



**Ionenquelle:** hier werden die Proteinmoleküle ionisiert, damit sie anschließend in einem elektrischen Feld beschleunigt werden können.

**$m/z$ -Analysator:** hier findet die Auftrennung nach dem  $\frac{m}{z}$ -Verhältnis statt

**Vakuum:** im  $m/z$ -Analysator dürfen keine Gasteilchen vorhanden sein, damit keine Fragmentierung stattfindet, bzw. Ablenkung

**Detektor:** Die ankommenden Proteinionen erzeugen ein elektrisches Signal, das in ...

## b<sub>1</sub> Messung von Biopolymeren

(2)

Dynamik: die Fähigkeit über viele Größenordnungen hinweg Moleküle detektieren zu können.

⇒ Detektor ist entscheidend!

Frage nicht ganz klar: könnte auch darauf abzielen, was bei Biopolymeren generell beachtet werden muss!

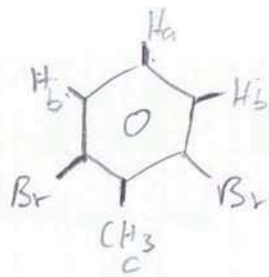
⇒ Die Ionenquelle

Die Gefahr bei Biopolymeren ist, dass sie leichter fragmentieren können als kleine Naturstoffmoleküle. Bei Ionenquellen, die sehr hohe Energien benötigen, um Ionen zu erzeugen liegt diese häufig über derjenigen der Bindungsenergien. Aus diesem Grund muss eine schonende Ionisation erreicht werden.

⇒ MALDI

Das Biopolymer ist in eine organische Matrix eingebettet und wird zusammen mit der Matrix nach Laserbeschuss freigesetzt ohne zu fragmentieren. Somit können mit MALDI intakte Biopolymere gemessen werden.

### 3, H-NMR



a) Abschätzung der chemischen Verschiebungen

- Protonen der Methylgruppe:  $\approx 2,5 \text{ ppm}$
- aromatische Protonen  $6 \text{ ppm} - 9,5 \text{ ppm}$

$$\delta(H_a) = (7,26 - 0,11 - 0,11 - 0,17) \text{ ppm} = 6,87 \text{ ppm}$$

$$\delta(H_b) = (7,26 + 0,17 - 0,00 - 0,06) \text{ ppm} = 7,37 \text{ ppm}$$

$$\delta(H_c) \approx 2,5 \text{ ppm}$$

b) Multipllettstruktur

Für H<sub>a</sub> und H<sub>b</sub> können Multipllettstrukturen erwartet werden. In einem Aromaten ist es nicht einfach die Multipllettstrukturen zu vorherzusagen, da der Ring zusätzlichen Einfluss auf die Kopplung hat. Geht man aber vom einfachen Fall aus, dass keine lang-range Kopplungen oder des Ringsystems auftreten, ergeben sich folgende Multipllettstrukturen:

H<sub>a</sub> : 2 Nachbarn  $\Rightarrow N+1$  Peaks = 3 Peaks Triplet

H<sub>b</sub> : 1 Nachbar  $\Rightarrow 2$  Peaks Duplett