

1. Quantitative Messung von
 $\text{H}_3\text{C} - \text{S} - \text{CH}_3$ DMS über einem Fermente

a, H-NMR: Die 6 Protonen könnten in der H-NMR gut detektiert werden, da die eingestrahlte Radiofrequenz (Larmorfrequenz) die Kernspins der Protonen in verschiedene Energieniveaus aufspalten könnte.

VIS: Bei VIS-Spektroskopie treten hauptsächlich elektronische Übergänge von $\pi - \pi^*$ Molekülorbitalen auf, die bei DB oder freien Elektronenpaaren zu finden sind. Es ist jedoch anzunehmen, dass in diesem Fall die Energie groß genug ist, um die 2 freien Elektronenpaare auf eine höhere Quantenstufe zu bringen.

IR: Die Struktur lässt vermuten, dass asymmetrische Streckvibrationen und Biegeschwingungen zu einem temporären Dipolmoment führen können, das dann eine Detektion in der IR erlaubt.

MALDI: Ermittlung der m/z -abhängigen Flugzeit (TOF), Ablenkung im β -Feld (Schiefelfeld) oder Messfrequenz (Quadrupol)

b,

H-NMR \rightarrow sehr empfindlich aber sehr sehr teuer

VIS \rightarrow vermutlich kein Signal, da farblose Substanz

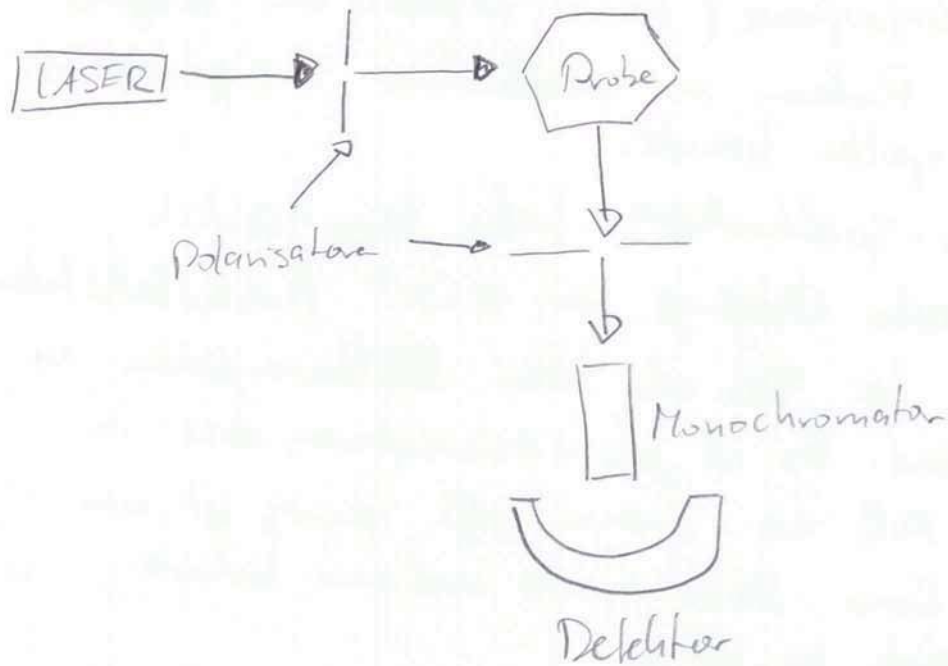
IR \rightarrow günstiger Apparat, Detektierbarkeit sollte vorhanden sein

MALDI \rightarrow Molekül zu klein, Matrix fliegt bis 0,1 μm mit!

Die IR :

- günstig
- einfacher Aufbau
- quantitative Messung über internen oder externen Standard möglich

2,



Monochromatisches Licht dringt in den Probenraum ein und regt fluoreszente Moleküle an. Bei der Relaxation emittieren die Moleküle Licht, das in einem weiteren Monochromator selektiert wird bevor es den Detektor erreicht.

Ein grundsätzlicher Unterschied zu einem UV-Detektor ist, dass bei Fluoreszenz nicht die absorbierte, sondern die emittierte Strahlung erfasst wird. Aus diesem Grund werden auch der Monochromator nachgeschaltet.

b) Fluoreszenz ist sehr empfindlich und erlaubt über extrinsische Fluorophore die Markierung von Biomolekülen. Bei der Messvorbereitung muss darauf geachtet werden, dass die Probe stark verdünnt sein muss und das Lösemittel nicht absorbiert, ansonsten würde nichts.

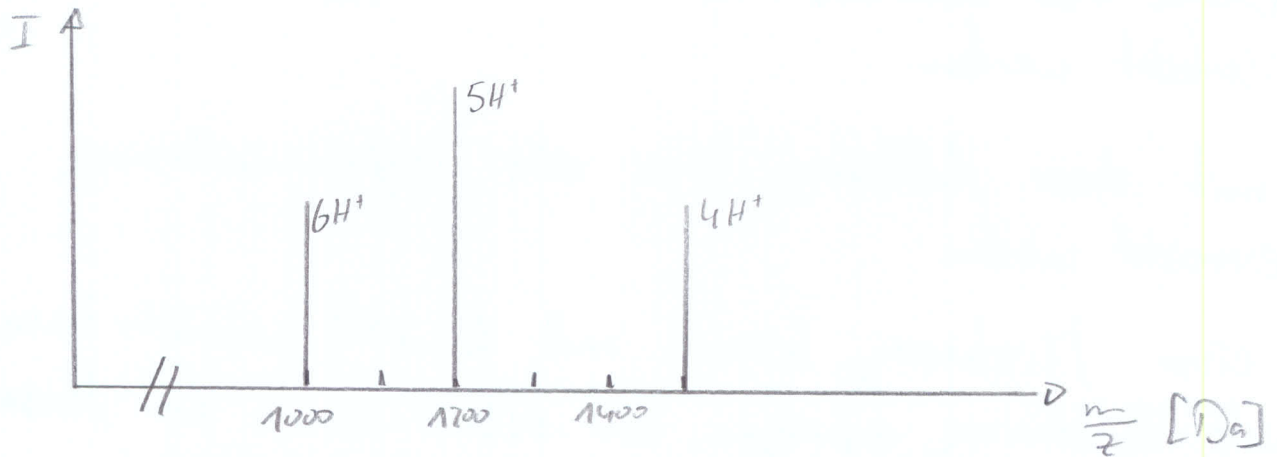
3a, ESI-Spektrum

$M = 6000 \text{ Da}$

$\frac{m}{z} (5H^+) \approx 1200 \text{ Da}$ (Basispeak)

$\frac{m}{z} (4H^+) \approx 1500 \text{ Da}$

$\frac{m}{z} (6H^+) \approx 1000 \text{ Da}$



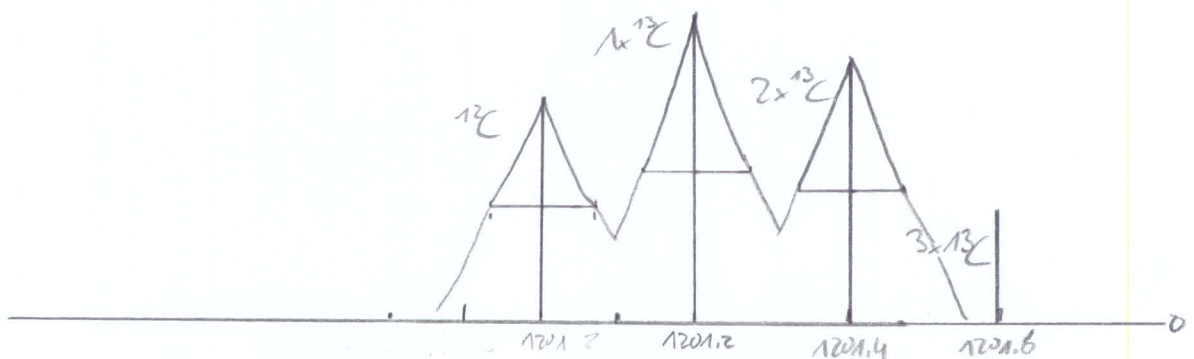
b, Ausschnitt

$M = 6000 \text{ Da} \rightarrow$ Annahme, dass monoisotopische nicht Basispeak

Annahme = nur Isotope von C spielen eine Rolle

$$6000 \text{ Da} + 5 \text{ Da} =$$

$$6005 \text{ Da}$$



monoisotopischer Peak bei $\frac{m}{z} = \frac{6000 \text{ Da} + 5 \text{ Da}}{5} = 1201 \text{ Da}$

1. Isotopenpeak bei $\frac{m}{z} = \frac{6001 \text{ Da} + 5 \text{ Da}}{5} = 1201.2 \text{ Da}$

$\Delta M = 0.2 \text{ Da}$ wegen
fünftacher Protonierung

$$a, R = 1000 = \frac{1200 \text{ Da}}{\text{FWHM}}$$

$$\text{FWHM} = \frac{1200}{100} = 1,2 \text{ Da}$$

$$b, R = 10000 = \frac{1200 \text{ Da}}{\text{FWHM}}$$

$$\text{FWHM} = 0,12 \text{ Da}$$

a, \rightarrow um mit dieser Auflösung die Peaks unterscheiden zu können, müsste die Peakbreite 1,2 Da betragen, das würde aber bedeuten, dass dadurch schon 6 Isotopenpeaks überdeckt werden

b, \rightarrow mit dieser Auflösung kann eine Isotopenauflösung erreicht werden

In einer Mischung könnte mit $R = 1000$ sicherlich keine exakte Zuordnung erfolgen, vor allem wenn die Massen eng beieinander liegen. Mit $R = 10000$ soll eine sinnvolle Auswertung möglich sein.

$$4, a) \quad \epsilon = 139500 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$V = 500 \text{ l}$$

$$A = 0,67$$

$$VF = 200$$

$$d = 1 \text{ cm}$$

$$A = \epsilon \cdot c \cdot d$$

$$c = \frac{A}{\epsilon \cdot d} \quad (\text{verdünnt})$$

$$c (\text{unverdünnt}) = 200 \cdot \frac{A}{\epsilon \cdot d}$$

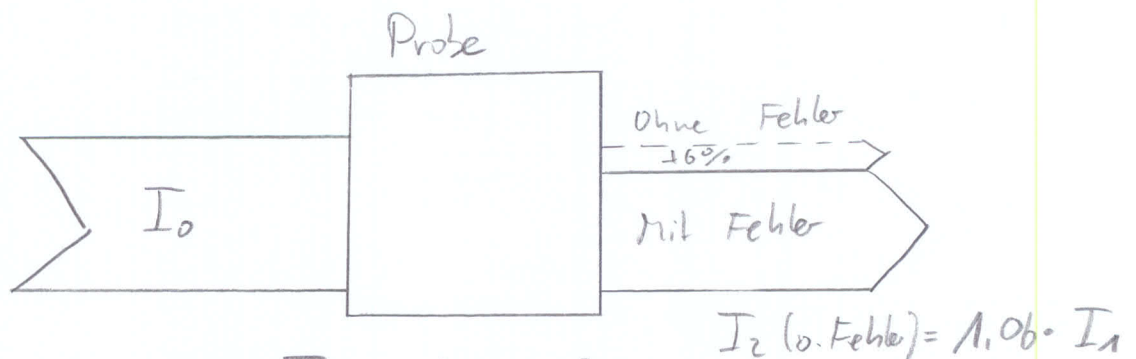
$$n (\text{unverdünnt}) = 200 \cdot \frac{A}{\epsilon \cdot d} \cdot 500 \text{ l} =$$

$$= \underline{480,3 \text{ mmol}}$$

$$c = \frac{n}{V}$$

$$n = c \cdot V$$

b,



$\Rightarrow I$ wird größer

$$A = \log \frac{I_0}{I} \quad 10^A = \frac{I_0}{I} \quad I_0 = 10^A \cdot I = \text{konst}$$

$$10^{A_1} \cdot I_1 = 10^{A_2} \cdot 1,06 \cdot I_1 \quad \parallel \log$$

$$A_1 = A_2 + \log(1,06) \quad A_2 = A_1 - \log(1,06) = 0,64$$

$$\Rightarrow n (\text{unverdünnt}) = \underline{458,8 \text{ mmol}}$$

$$\Delta n = (n_1 - n_2) = 21,5 \text{ mmol}$$

Die Konzentration ohne den bekannten systematischen Fehler ist um 21,5 mmol geringer.