

①

quantitative Messung (online)

a, $^1\text{H-NMR}$: Die Protonen und die OH-Gruppe des Moleküls können mit der $^1\text{H-NMR}$ untersucht werden, bzw. detektiert werden, da deren δ Kernspins in unterschiedliche Energieniveaus aufgespalten werden können.

UV: Mit UV werden elektronische Übergänge von Molekülorbitalen ($\pi \rightarrow \pi^*$) detektiert, die vor allem bei konjugierten Doppelbindungen und freien Elektronenpaare auftreten. Außerdem kann durch UV ein Molekül zu Rotationen und Schwingungen angeregt werden. Im Falle von Ethanol ist die Detektierbarkeit nicht gegeben, da keine DB vorhanden sind.

IR: Alkohole liefern in der IR sehr starke und charakteristische Signale, die aufgrund von temporären Dipolen durch Schwingungen entstehen.

Fluoreszenz: Die Ursachen der Fluoreszenz sind ähnlich der ~~paare~~ für UV-Detektion. Jedoch benötigen fluoreszente Moleküle eine Vielzahl Substituenten mit konjugierten Doppelbindungen und ~~Aromatis~~ Aromaten, weshalb im Falle von Ethanol keine Detektion möglich ist.

	geeignet	ungeeignet
$^1\text{H-NMR}$	<ul style="list-style-type: none"> • sehr gute Detektierbarkeit von Ethanol • sehr hohe Empfindlichkeit 	<ul style="list-style-type: none"> • sehr, sehr teuer • hoher apparativer Aufwand • weniger für quantitative Messungen
UV	<ul style="list-style-type: none"> • günstig • einfache Versuchsdurchführung • gut für Quantifizierung 	<ul style="list-style-type: none"> • in diesem Fall keine Detektion • breite Banden erschweren Interpretation / Analyse
IR	<ul style="list-style-type: none"> • sehr gute Detektierbarkeit • Messung online möglich 	<ul style="list-style-type: none"> • anfällig für H_2O-Dampf • Fremdsubstanzen stören die Messung
Fluoreszenz	<ul style="list-style-type: none"> • sehr empfindlich • einfacher apparativer Aufwand 	<ul style="list-style-type: none"> • kein Signal bei Ethanol

Da UV und Fluoreszenz kein Signal geben werden, empfiehlt sich aus Rücksicht auf die Finanzen der IR-Detektor.

c) Falls in einem Nachbarlabor eine $^1\text{H-NMR}$ steht, dann kann diese für eine Messreihe (offline) verwendet werden, aber da zur Detektion von Ethanol die IR völlig ausreicht, muss keine Änderung der Analysemethode vorgenommen werden.

2. a, Magnet wird verwendet um ein homogenes und sehr starkes Magnetfeld zu erzeugen, damit die anfangs ungeordneten Kernspins entlang des von B_0 orientiert werden können (parallel oder antiparallel). (2)

Ein Schwingkreis liefert die nötige notwendige Larmor-Frequenz (Radiowellen), die zur Aufspaltung der Kernspins in verschiedene Energieniveaus führt.

b, Bei einem FT-H-NMR-Gerät wird durch ein gepulstes Radiowellensignal erreicht, dass alle Kernspins in der Probe von verschiedenen Kernen auf einmal angeregt werden. Die Relaxation kann anschließend erfasst werden und geht in das FID (Free induction decay) ein, ~~das~~ das dann über FT in eine Frequenzdomäne umgewandelt werden kann.

Bei „continuous-wave“ NMR wird nur immer jeweils eine Wellenlänge auf die Probe geschickt um dann ~~in~~ ~~Einzel~~ die Relaxation zu bestimmen, was aber sehr aufwändig ist, wenn man viele Frequenzen durchlaufen will.

c, Bei der H-NMR misst man die Abschirmung oder Entschirmung des Kerns aufgrund von benachbarten Molekülen im Vergleich zum Standard (TMS). Hintergrund ist, dass die Elektronen um den Kern ein eigenes ~~Magnetfeld~~ Magnetfeld erzeugen, dass durch die angesprochenen Abschirmungs-/Entschirmungseffekt verstärkt oder abgeschwächt wird.

Der Grad der Abschirmung/Entschirmung wird „chemische Verschiebung“ genannt, die aufgrund von chemischen Einflüssen das Signal des Moleküls zu ~~höherem~~ höherem oder tieferem Feld verschoben wird. Die chemische Verschiebung setzt das Verhältnis der Larmorfrequenzen des Standards und der Probe ins Verhältnis.

$$\delta = \left(\frac{\omega_s - \omega_0}{\omega_0} \right) \cdot 10^6 \text{ ppm}$$

$$\nu_0 = \omega_0 = 300 \cdot 10^6 \frac{1}{s}$$

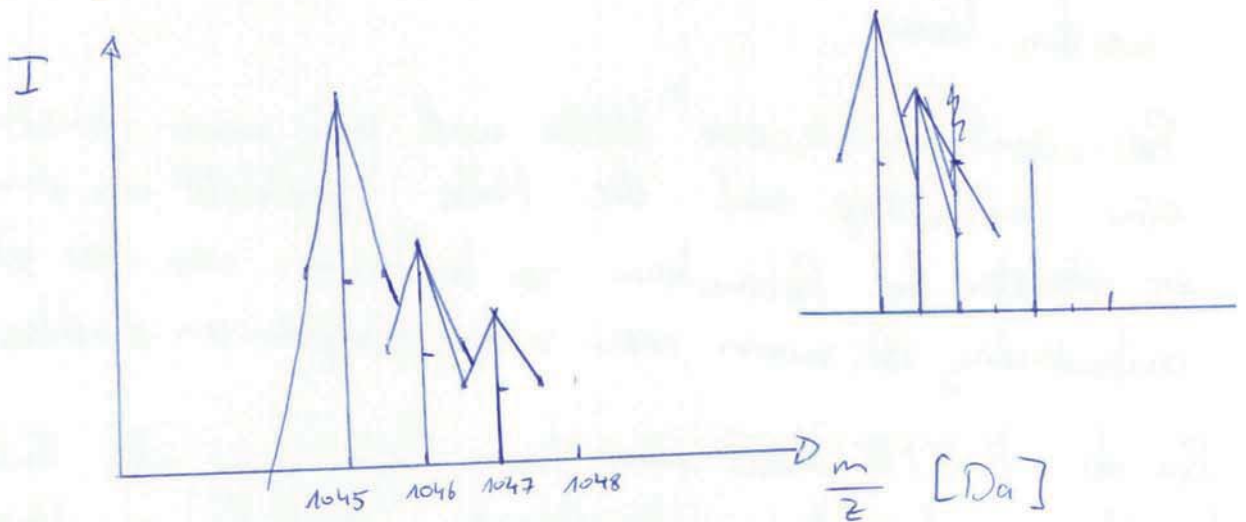
$$\delta = 10 \cdot 10^{-6}$$

$$\delta = \frac{\Delta \nu}{\nu_0}$$

$$\Delta \nu = \delta \cdot \nu_0 = 3000 \frac{1}{s} = \underline{3000 \text{ Hz}}$$

$$3, \quad M_{\text{mon}} = 1045 \text{ Da}$$

a) $n(C) < \infty \Rightarrow$ monoisotopischer Peak ist Basispeak



$$b) \quad R = 1000 \quad R = \frac{m}{z} \quad \text{FWHM} = \frac{m}{R} = 1,045 \text{ Da}$$

Isotopenmuster gerade noch erkennbar

$$M \cdot z = 2090 \text{ Da} \quad \text{also doppelte Ladung} \rightarrow \frac{m}{z} = \frac{2090 \text{ Da}}{2} = 1045 \text{ Da}$$

Es ~~wäre~~ Die Isotopen hätten nun einen Abstand von 0,5 Da, statt 1 Da, wegen der doppelten Ladung. ~~FWHM =~~ Aber

c) Insulin sollte die Probe nicht beeinflussen, außer es treten Fragmentierungen von Insulin auf, deren Fragmentgröße im Bereich von Angiotensin II liegt.

(3)

4, $M = 18000 \text{ Da}$

$$\epsilon (\lambda = 580 \text{ nm}) = 15000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

a, $c = 0,5 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \quad \lambda = 580 \text{ nm} \quad d = 0,1 \text{ cm}$

Das ~~absorb~~ absorbierte Licht entspricht der Farbe komplementären Farbe von Rot \rightarrow Türkis ($\lambda \approx 500 \text{ nm}$).

$$c_m = 0,5 \frac{\text{g}}{\text{L}} \cdot \frac{1}{18000 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 2,778 \cdot 10^{-5} \frac{\text{mol}}{\text{L}} = 27,778 \frac{\mu\text{mol}}{\text{L}}$$

$$A = \epsilon \cdot c \cdot d = 0,0417 \approx \underline{0,042}$$

Transmission $T = \frac{I}{I_0} \quad A = -\log_{10} \frac{I}{I_0} = -\log_{10} T$

$$T = 10^{-A} = 0,9085 \approx \underline{90,85\%}$$

b, Bei 280 nm absorbieren die aromatischen Ringe der Aminosäuren, wie Tryptophan oder Phenylalanin.

$$A=1 \text{ falls } c = 1 \frac{\text{g}}{\text{L}} \text{ und } d = 1 \text{ cm} \quad c = \frac{1}{18000} \frac{\text{g}}{\text{mol}}$$

$$A = \epsilon \cdot c \cdot d \quad \epsilon = \frac{A}{c \cdot d} = 18000 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$$

$$\Rightarrow A = -\log_{10} T \quad T = 10^{-(\epsilon \cdot c \cdot d)} = 0,8913 \approx \underline{89,13\%}$$

Transmission $T_1 = 0,9085$
 $T_2 = 0,8913$
 $F = \frac{T_1}{T_2} = F = \frac{T_2}{T_1} = 0,981 \approx \underline{0,98}$

T_2 ist um den Faktor 0,98 kleiner als T_1 . Messung 2 ist also empfindlicher, d.h. kleine Probe hier zu mehr absorbieren Licht

$$c, \quad \lambda_1 = 580 \text{ nm} \quad \lambda_2 = 280 \text{ nm}$$

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

$$[\nu] = \frac{1}{s}$$

$$[c] = \frac{m}{s}$$

$$[\lambda] = m$$

$$E_1 = h \cdot \frac{c}{\lambda_1}$$

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

$$E_2 = h \cdot \frac{c}{\lambda_2}$$

$$\frac{E_1}{E_2} = \frac{h \cdot \frac{c}{\lambda_1}}{h \cdot \frac{c}{\lambda_2}} = \frac{\lambda_2}{\lambda_1} = 0,483$$

$$E_1 = 0,483 \cdot E_2 \approx 0,48 \cdot E_2$$

Die Energie E_1 ist um den Faktor 0,48 kleiner als E_2 .