

Optische Methoden

Inhaltsverzeichnis

1. Einführung.....	2
1.1 Elektromagnetische Wellen.....	2
1.2 Lichtabsorption und Farbe.....	2
1.3 Anwendung optischer Verfahren.....	2
2. Atomspektroskopie.....	3
2.1 Grundlagen.....	3
2.2 Atomemissionsspektroskopie (AES).....	3
2.3 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS).....	3
2.3.1 Flammen-AAS.....	4
2.3.2 Graphitrohrföfen-Technik.....	4
2.3.3 Hydrid-Technik.....	4
2.3.4 Kaltdampf-Technik.....	4
3. Molekülspektroskopie.....	5
3.1 UV/Vis-Spektroskopie.....	5
3.1.1 Grundlagen.....	5
3.2 Fluorimetrie.....	6
3.3 IR-Spektrometrie (IR).....	7
3.4 Nahinfrarot-Spektrometrie (NIR).....	8
4. Polarimetrie.....	8
5. ¹ H-NMR-Spektroskopie.....	9
6. Massenspektrometrie (MS).....	10
6.1 Prinzip.....	10
6.2 Klassische Ionisationsmethoden.....	10
6.2.1 Elektronenstoß-Ionisation (EI).....	10
6.2.2 Chemische Ionisation (CI).....	11
6.3 Schonende Ionisation.....	11
6.3.1 Elektrospray-Ionisation (ESI).....	11
6.3.2 Matrix-unterstützte-Laser-Desorption (MALDI).....	11
6.4 Analysator.....	11
6.4.1 Quadrupol-Analysator.....	11
6.4.2 Flugzeit-Analysator.....	11

1. Einführung

1.1 Elektromagnetische Wellen

- Ausbreitungsgeschwindigkeit im Vakuum = Lichtgeschwindigkeit
- Wellen unterscheiden sich in der Wellenlänge λ bzw. in der Frequenz ν [Zahl der Schwingungen pro Sekunde]
- $$\text{Ausbreitungsgeschwindigkeit } c = \lambda \cdot \nu$$
- $$c_0 = \lambda_0 \cdot \nu \quad [c_0: \text{Ausbreitungsgeschwindigkeit im Vakuum}; \lambda_0: \text{Wellenlänge im Vakuum}]$$
- $$\text{Wellenzahl } \tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda} \quad [\text{cm}^{-1}] \text{ Anzahl der Wellenlängen pro cm}$$
 - proportional zur Frequenz
 - antiproportional zur Wellenlänge
- elektromagnetische Strahlung besteht aus Teilchen: Lichtquanten bzw. Photonen
- *PLANCK'sche Gleichung:*
 - $$E = h \cdot \nu \quad \text{bzw.} \quad E = \frac{h \cdot c}{\lambda} \quad [E: \text{Energie eines Lichtquants}; h: \text{Proportionalitätsfaktor}; \nu: \text{Frequenz}]$$
 - ⇒ Energie der Lichtquanten ist von der Frequenz abhängig; je größer ν , umso größer E
 - ⇒ je größer λ , umso geringer E

1.2 Lichtabsorption und Farbe

- Gemisch aller Wellenlängen → weiß
- wird ein Stoff von Licht getroffen, so wird ein Teil absorbiert, der Rest reflektiert; das Auge sieht die Komplementärfarbe des absorbierten Lichts
- Absorption = Energieaufnahme
- Emission = Energieabgabe

1.3 Anwendung optischer Verfahren

1. Strukturaufklärung
 - eine vorher noch nie untersuchte Substanz wird analysiert
2. a) Identifizierung
 - Substanz gehört zu den bereits bekannten Substanzen und wird mit diesen verglichen, um eine qualitative Aussage machen zu könnenb) Wiedererkennung
 - es ist bekannt, welche Substanz vorliegen soll; man überprüft durch Vergleichen, ob es sich auch tatsächlich um die Substanz handelt
3. Quantifizierung

2. Atomspektroskopie

2.1 Grundlagen

- durch Einwirken von Strahlungsenergie/Wärme werden die Atome angeregt (Zustand hält ca. 10^{-7} Sekunden)
- Rückkehr in den Grundzustand unter Abgabe von Wärmeenergie oder Strahlung
- qualitative und quantitative Bestimmung von Metallen und Halbmetallen möglich
- hohe Selektivität bzw. Spezifität
- $$\Delta E = E_B - E_A = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$
- Atome absorbieren nur Licht, das ihrem Energiezustand entspricht
- Übergänge des Valenzelektrons verantwortlich für sichtbare Spektrallinien
- Rotations- und Schwingungszustände für atomspektrometrische Verfahren unwichtig
⇒ Atomspektren = Linienspektren

2.2 Atomemissionsspektroskopie (AES)

- Messung der Atomemission
- die Temperatur der Flamme muss an das Atom angepasst werden
- Ionisation ist unerwünscht, da die Ionen auf einer anderen Wellenlänge emittieren als die Atome
- 2 Atomisierungseinrichtungen:
 - Flammen-AES → Bestimmung von hauptsächlich (Erd)alkalimetallen
 - Emissionsspektroskopie mit Plasmaanregung:
 - ◆ da die Elektronendichte hier sehr hoch ist, findet keine Ionisation statt, obwohl die verwendete Temperatur so hoch ist, dass sie es könnte
 - ◆ Bestimmung von allen Metallen und Halbmetallen; P, S
 - ◆ Nachweisgrenze geringer als bei Flammen-AES
- Intensität des emittierten Lichtes sollte eine lineare Funktion ihrer Konzentration sein, ist es aber auf Grund von Störungen in der Flamme nicht → Kalibrierung notwendig

2.3 Atomabsorptionsspektroskopie (AAS)

- Messung der Atomabsorption
- Prinzip:
 1. Lösungen von Metallsalzen werden in einer Flamme verdampft
 2. durch Einstrahlung von Licht werden die gebildeten Atome angeregt
 3. man misst die absorbierte Lichtintensität
- verfügt im Aufbau im Gegensatz zur AES über eine Strahlungsquelle:
 - Hohlkathodenlampe (HKL):
 - ◆ Anlegen eines Stroms an die als Strahlungsquelle verwendete Hohlkathodenlampe → Ionisation des Füllgases → Kationen des Gases schlagen Atome aus der Oberfläche der Kathode heraus → teilweise Anregung der ausgeschlagenen Atome → Emittierung des Lichts
 - ◆ $\text{Ne} \rightarrow \text{Ne}^+ \rightarrow \text{Pb}^* \rightarrow \text{Pb}$
 - Elektrodenlose Entladungslampe (EDL):
 - ◆ Bestimmung von leicht verdampfenden Elementen, z. B. As, Se, Sb, Na, K, Pb
- als Strahlungsquelle dient das gleiche Element, das man bestimmen möchte

- man verwendet eine Emissionslinie des selben Elements, das man analysieren will, wodurch man den gleichen Elektrodenübergang anregt → Resonanzlinie
- es gilt das LAMBERT-BEER'sche Gesetz (*siehe 3.1.1*), wobei c nicht aus A errechnet werden kann und b in der Flamme keine konstante Größe ist
- Analyse sehr kleiner Mengen möglich: ppm- und ppb-Bereich
- hohe Selektivität

2.3.1 Flammen-AAS

- *Spektrale Störungen:*
 - Untergrundabsorption:
 - ◆ Minderung der Strahlungsintensität der Strahlungsquelle durch Nebeneffekte aus Begleitsubstanzen
 - Untergrundkompensation:
 - ◆ Methode zur Ausschaltung der Untergrundabsorption
 - ◆ abwechselnde elektronische Erfassung der Absorption eines Linienstrahlers (HKL) und der eines Kontinuumstrahlers (D₂-Lampe)
 - ◆ $A(\text{HKL}) - A(\text{D}_2) = \text{reine Atomabsorption}$
 - Überlappung von Atomlinien:
 - ◆ Emission anderer Elemente auf annähernd gleicher Wellenlänge wie Analyselinie
 - ◆ Abhilfe: Wechsellicht → Emission kommt auch in den Lichtpausen beim Detektor an
- *nicht spektrale Störungen:*
 - führen generell zu einer Veränderung der Zahl der Atome im Absorptionsvolumen
 - Verdampfungsinterferenzen:
 - ◆ Abhilfe: Zusatz von Abfangreagenzien
 - Gasphaseninterferenzen:
 - ◆ vor allem Ionisationsstörungen
 - ◆ Abhilfe: Zugabe leicht ionisierbarer Verbindungen (Ionisationspuffer) ⇒ auf Grund erhöhten Elektronendrucks wird die Gleichgewichtsreaktion zwischen Atom und Ion in der Flamme in Richtung Atom verschoben
 - Transportinterferenzen:
 - ◆ physikalische Störungen
 - ◆ Abhilfe: Standardadditionsmethode zur Kalibrierung

2.3.2 Graphitrohrofen-Technik

- durch ein bestimmtes Temperaturprogramm werden die Begleitsubstanzen von der Probe abgetrennt
- Bestimmung von allen Metallen (außer Ce, Th) und den Halbmetallen B und Si

2.3.3 Hydrid-Technik

- selektive Abtrennung bestimmter Substanzen durch Bildung gasförmiger Hydride mit naszierendem H
- Bestimmung von As, Sb, Se, Sn, Bi, Te

2.3.4 Kaltdampf-Technik

- Bestimmung von Hg durch Einleiten von NaBH₄-Lösung

3. Molekülspektroskopie

3.1 UV/Vis-Spektroskopie

3.1.1 Grundlagen

- die Energie des sichtbaren und ultravioletten Lichts (Strahlungsenergie) wird von bestimmten organischen Molekülen teilweise absorbiert und regt π - und n-Elektronen an
- man bestimmt in einem Absorptionsspektrophotometer den durch die Moleküle absorbierten Anteil an eingestrahlt Lichtintensität und registriert ihn in Abhängigkeit von der Wellenlänge in Form des Absorptionsspektrums
- Elektronenanregung:
 - organische Moleküle enthalten drei Arten von Valenzelektronen:
 - ◆ σ -Elektronen des Molekülgerüsts
 - ◆ π -Elektronen der Doppel- und Dreifachbindungen
 - ◆ nichtbindende n-Elektronenpaare von Sauerstoff-, Schwefel- und Stickstoffatomen
 - diese Elektronen können durch die Energie des Lichts angeregt werden
 - ◆ $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$; $n \rightarrow \sigma^*$ oder $n \rightarrow \pi^*$
 - ◆ $\sigma \rightarrow \sigma^*$ braucht viel Energie
 - ◆ $\pi \rightarrow \pi^*$ ist leichter anzuregen als $\sigma \rightarrow \sigma^*$, in konjugierten Systemen ist die benötigte Energie sogar noch kleiner
 - ◆ $n \rightarrow \sigma^*$ oder $n \rightarrow \pi^*$ ist leicht anzuregen

- Absorption:

- $$A = \log_{10} \frac{I_0}{I}$$
 [I_0 : eingestrahlte Lichtintensität; I : Intensität des austretenden Lichts]

- LAMBERT-BEER'sches Gesetz:

- $$A = \epsilon(\lambda) \cdot c \cdot b$$
 [A : Absorption; $\epsilon(\lambda)$: molarer Absorptionskoeffizient; c : Konzentration [mol/l]; b : Schichtdicke [cm]]

- spezifische Absorption:

- $$A_{1\text{cm}}^{1\%} \triangleq \text{Absorption einer Lösung mit 1\% Stoff und } b = 1\text{ cm}$$

- $$A_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{A}{c \cdot b}$$
 [c : Konzentration [g/100 ml]]

- Chromophor:

- Teil eines Moleküls, der für die Absorption verantwortlich ist

-

Chromophor	Übergang	λ_{max}	ϵ
C—H	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	122 nm	10^4
C—C	$\sigma \rightarrow \sigma^*$	130 nm	10^4
—O—	$n \rightarrow \sigma^*$	z.B. 167 nm für H ₂ O	≈ 2000
C=C	$\pi \rightarrow \pi^*$	165 nm	≈ 15000
C≡C	$\pi \rightarrow \pi^*$	173 nm	≈ 8000
C=O	$n \rightarrow \pi^*$	≈ 273	≈ 15

- Alkene, Polyene:

- ◆ mit zunehmender Zahl von Doppelbindungen verlängert sich die Wellenlänge (**Rotverschiebung** bzw. **bathochrome Verschiebung**), da das HOMO in ein immer höheres und das LUMO in ein immer niedrigeres Energieniveau gelangt, wodurch die Energiedifferenz zwischen den beiden kleiner wird

- ◆ ist das System konjugierter Doppelbindungen lang genug, so wird das Absorptionsmaximum bis in den sichtbaren Bereich hinein verschoben
- ◆ Substituenten am chromophoren System verschieben das Absorptionsmaximum ebenfalls in den längerwelligen Bereich
- Polymethinfarbstoffe:
 - ◆ an beiden endständigen Kohlenstoffatomen eines konjugierten Polyens mit ungerader C-Zahl befindet sich jeweils ein Stickstoffatom
 - ◆ die beiden Stickstoffatome agieren als Elektronendonator bzw. -akzeptor für das π -Elektronensystem
 - ◆ starke Verringerung der Anregungsenergie
 - ◆ Absorptionsmaximum wird in den sichtbaren Bereich verschoben \Rightarrow Substanzen sind farbig
- Gesättigte Carbonylverbindungen:
 - ◆ Anregung des $\pi \rightarrow \pi^*$ Übergangs erfordert so viel Energie, dass das Maximum unterhalb von 200 nm liegt \Rightarrow über 200 nm zeigt die Verbindung nur ein dem $n \rightarrow \pi^*$ Übergang entsprechendes Maximum
- Ungesättigte Carbonylverbindungen:
 - ◆ durch die Erniedrigung von ΔE (siehe 2.2) sowohl für $\pi \rightarrow \pi^*$ als auch für $n \rightarrow \pi^*$ Übergänge, verschieben sich die Maxima in den Bereich um 240nm bzw. 320nm
 - ◆ mit zunehmender Zahl an Doppelbindungen kann es zu einer Überdeckung der $n \rightarrow \pi^*$ Bande durch die $\pi \rightarrow \pi^*$ Bande kommen, da diese sich schneller verschiebt

3.2 Fluorimetrie

- Methode der Emissionsspektroskopie, bei der Moleküle durch Licht zur Fluoreszenz gebracht werden
- die Elektronen befinden sich nach der Anregung in verschiedenen Schwingungsniveaus ($v = 0, 1, 2$ usw.) der Elektronenanregungszustände S_1, S_2 usw.; normalerweise fallen sie strahlungslos direkt wieder zurück in die Schwingungszustände ($v = 0, 1, 2$ usw.) des Grundzustandes S_0 , bei fluoreszierenden Substanzen fallen jedoch alle Elektronen zunächst strahlungslos in den Schwingungszustand $v = 0$ des Anregungszustandes S_1 und danach unter Fluoreszenz in die verschiedenen Schwingungszustände ($v = 0, 1, 2$ usw.) des Grundzustandes S_0
- 3 Möglichkeiten für die Rückkehr eines Elektronensystems aus dem Anregungszustand in den Grundzustand:
 1. **Strahlungslose Inaktivierung**; nicht wirklich strahlungslos, aber da die Energie in Wärmeenergie (IR-Strahlung) umgewandelt wird, ist sie nicht sichtbar
 2. **Fluoreszenz** durch Umwandlung der Elektronenanregungsenergie in Lichtenergie unter Emission von Fluoreszenzlicht; schneller Vorgang
 3. **Phosphoreszenz** durch strahlungslosen Übergang der Elektronen aus dem Singulett- ($\uparrow\downarrow$) in den Triplett- ($\uparrow\uparrow$) Zustand und danach unter Lichtemission in den Grundzustand; dauert nach der Anregung noch messbar an
- STOKES'sche Regel:
 - $\lambda_{\text{Absorption (Anregung)}} < \lambda_{\text{Emission}}$ die Anregung der Elektronen erfordert mehr Energie als bei der Fluoreszenz in Form von Strahlungsenergie wieder frei wird
- das LAMBERT-BEER'sche Gesetz gilt nicht!
- wenn Absorption stattfindet, kommt es auch immer zu einer Fluoreszenz, die allerdings nicht immer zu sehen ist

- Fluoreszenzintensität:
 - $I_F = \Phi_k \cdot I_0 \cdot \epsilon \cdot c \cdot b$ [Φ_k : Quantenausbeute (Bruchteil an Anregungslichtenergie, der in Fluoreszenzlicht umgewandelt wird), wenn $\Phi_k > 0 \Rightarrow$ Fluoreszenz]
- $I_F \sim c \Rightarrow$ Konzentrationsbestimmung möglich
- $I_F \sim I_0 \Rightarrow$ Erhöhung der Lichtintensität erhöht die Emission und damit die Intensität des messbaren Lichtes \rightarrow geringere Konzentrationen erfassbar (geringere Bestimmungsgrenze, bessere Nachweisgrenze)
- Fluoreszenzunterdrücker („Quencher“): Cl^- , OH^-
- Blindwert (BL) = Restfluoreszenz, nachdem der Analyt chemisch so verändert worden ist, dass er nicht mehr fluoresziert
- Fluoreszenz ist häufig bei starren Molekülen vorzufinden, da bei ihnen der angeregte Zustand am kurzweiligsten ist, z. B.:
 - aromatische Systeme
 - Verbindungen mit konjugierten Doppelbindungen
 - Carbonylverbindungen
 - kondensierte Heterocyclen wie Chinolin, Isochinolin, Indol u. a.
- Fluorophor = der für die Fluoreszenz verantwortliche Teil des Moleküls
- Lösungsmittel:
 - dürfen keine Eigenabsorption und keine Eigenfluoreszenz aufweisen
 - müssen photostabil sein
 - unpolare LM werden bevorzugt eingesetzt

3.3 IR-Spektrometrie (IR)

- Prinzip der IR-Spektroskopie:
 - durch Absorption von Strahlung des infraroten Spektralbereichs werden in Molekülen mechanische Schwingungen der Atome erzeugt (Valenz-, Beuge- und Torsionsschwingungen)
 - die Molekülschwingungen bestimmter Atomgruppen sind besonders charakteristisch
- ausgezeichnete Methode zur Prüfung der Identität von Arzneistoffen
- quantitative Bestimmung durchführbar, aber auf Grund der schwierigen Auswertungen nur zweite Wahl
- Frequenz der absorbierten Strahlung im wesentlichen abhängig von der Bindungsstärke und der Masse der schwingenden Atome
 - leichte Atome schwingen mit hohen Frequenzen, schwere mit niedrigerer Frequenz
 - einfach gebundene Atome schwingen langsamer als doppelt gebundene, diese langsamer als dreifach gebundene
- Voraussetzung: Vorhandensein eines Dipols (z. B. H_2O) oder die Dipolveränderung als Folge der Schwingung (z. B. CO_2)
- Verwendung von Küvetten aus NaCl, da Quarz und Glas im Messbereich ($4000 - 667 \text{ cm}^{-1}$) eine starke Eigenabsorption haben
- Aufnahmetechniken:
 - a) Feststoffpräparation:
 - ◆ 1 mg Probe mit 300 mg trockenem (!) KBr fein zerreiben und zu einem Pressling formen (lichtdurchlässig)
 - ◆ gut aufgelöste Banden
 - ◆ keine Störsignale des LMs
 - b) Flüssigkeiten:
 - ◆ 1 Tropfen der Flüssigkeit wird zwischen zwei NaCl-Plättchen als dünner Film verteilt
 - ◆ echte Lösungen (Konzentration 5-10%) schwieriger zu vermessen, da die

- Eigenabsorption des Lösungsmittels kompensiert werden muss
- ♦ die meisten Lösungsmittel stören in den wichtigen Bereichen \Rightarrow a) besser
- Auswertung:
 - Vergleich des Spektrums des untersuchten Stoffes mit einer Referenzsubstanz (CRS)
 - 2 Substanzen sind identisch, wenn
 - ♦ ihre Signale bei der selben Wellenzahl liegen
 - ♦ die relative Intensität der Signale übereinstimmt
 - von besonderer Bedeutung ist der „Fingerprint“-Bereich ($1500 - 667 \text{ cm}^{-1}$)
 - stimmen die Spektren nicht überein, kann die Identität sicher ausgeschlossen werden
- $4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ = Valenzschwingungsbereich
- $3500 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ = einziger Bereich, in dem H erfasst wird, ein in diesem Bereich auftretendes Signal kann nur von H kommen
- $1500 - 600 \text{ cm}^{-1}$ = „Fingerprint“-Bereich; Deformationsschwingungen
- $|\text{N}\equiv\text{N}|$ und $|\text{O}=\text{O}|$ sind IR-inaktiv, da kein Dipol vorliegt; würden in den Messungen stören, da sie in der Luft enthalten sind
- OH-Gruppen haben ein breites Erscheinungsbild, da sie Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden
- IR für leicht flüchtige Stoffe ungeeignet

3.4 Nahinfrarot-Spektrometrie (NIR)

- im NIR-Bereich liegt $\tilde{\nu}$ zwischen 12500 und 4000 cm^{-1} (entsprechend 800 bis 2500 nm) \rightarrow nahe am sichtbaren Bereich
- es wirken höhere Energiebeträge auf die Moleküle ein als im MIR-Bereich \Rightarrow es werden hauptsächlich schwerer anregbare Oberschwingungen der X-H-Valenzgrundschwingungen zwischen $3500-1600 \text{ cm}^{-1}$ beobachtet
- Messung durch diffuse Reflexion (Reflexion in alle Richtungen gleich):
 - $$R' = \frac{R_{\text{Probe}}}{R_{\text{Standard (Au)}}$$
- Lösungsmittel muss H frei sein, z. B. CCl_4 , CS_2 , C_2F_6
- Vorteil:
 - konkurrenzlos **zeitsparende** Methode
 - konkurrenzlos **günstige** Methode
- Nachteil:
 - relativ hoher Kalibrationsaufwand

4. Polarimetrie

- Licht ist als elektromagnetische Welle eine Transversalwelle, d. h. der elektrische Feldvektor („Lichtvektor“) schwingt in einer Ebene senkrecht zur Fortpflanzungsrichtung
- im Allgemeinen ist keine Richtung bevorzugt \rightarrow nicht polarisiert
- durch Polarisatoren kann Licht ausgesondert werden, dessen Lichtvektor in nur einer Richtung schwingt \rightarrow linear polarisiert
- beim Durchgang von linear polarisiertem Licht durch sog. optisch aktive Körper wird die durch den elektrischen Feldvektor und die Ausbreitungsrichtung festgelegte Schwingungsebene des Lichtes gedreht
- Zuckerlösungen (aus natürlichem gewonnenem Zucker) sind optisch aktiv:
 - zeigen Mutarotation (Wert für die optische Drehung stellt sich erst langsam ein),

- NH₃ verhindert dies
 - lineare Polarisation entsteht durch die Überlagerung von rechts und links polarisierten Lichtes
 - verantwortlich für die Drehung ist das asymmetrische Kohlenstoffatom
- spezifische Drehung:
 - $$\{\alpha\}_D^{20^\circ} = \frac{100 \cdot \alpha}{c} \cdot l$$
 [α : experimentell ermittelter Drehwinkel; c : Konz. in [g/100 ml]; l : Schichtdicke in [dm]]
 - bei Zuckern konzentrationsunabhängig → Gehaltsbestimmung möglich
 - bei vielen optisch aktiven Verbindungen ist die spezifische Drehung konzentrationsabhängig, bei einigen tritt sogar Inversion ein
- der Drehwinkel α ist abhängig von:
 - der Wellenlänge → je kürzer λ , desto größer wird α
 - der Konzentration → je kleiner c , desto kleiner wird α
 - der Temperatur → mit steigender Temperatur sinkt α (Flüssigkeit dehnt sich mit steigender T aus ⇒ Konzentration sinkt ⇒ α wird kleiner)
 - dem Lösungsmittel; Messwerte aus Messungen mit unterschiedlichen Lösungsmitteln können nicht verglichen werden
- NICOL'sches Prisma:
 - ein unpolarisierter Lichtstrahl, der auf das Prisma aus Kalkspat (CaCO₃) fällt, wird in zwei Strahlen geteilt, den
 - ◆ ordentlichen Strahl, der relativ stark gebrochen wird
 - ◆ außerordentlichen Strahl, der schwächer gebrochen wird
 - beide Strahlen sind senkrecht zueinander polarisiert und haben die gleiche Intensität (beide Intensitäten zusammen ergeben die einfallende Intensität)
 - der ordentliche Strahl wird durch die Totalreflexion entfernt → der außerordentliche Strahl wird zur Messung verwendet

5. ¹H-NMR-Spektroskopie

- NMR = nuclear magnetic resonance (Kernresonanz-Spektroskopie)
- Verhalten von Atomkernen in Magnetfeldern
- H-Kern dreht sich um seine Längsachse; durch das Einbringen in ein magnetisches Feld erhält er einen Anstoß, der zusätzlich zu einer torkelnden Bewegung (**Präzessionsbewegung**) führt
- 2 Arten von H-Kernen im Molekül auf Grund der unterschiedlichen Orientierungen des Spins im magnetischen Feld (Kern-Zeeman-Niveaus): energieärmere (parallele Anordnung) und energiereichere; die energieärmeren H-Kerne können durch Einwirken elektromagnetischer Strahlung in den energiereicheren Zustand gehoben werden, die anschließende Rückkehr in den energieärmeren Zustand geschieht unter Energieabgabe (Relaxation), die messtechnisch ermittelt werden kann
- die Kerne nehmen die Energie nur auf, wenn diese groß genug ist, um sie in den energiereicheren Zustand zu heben
- NMR-aktiv sind nur Atome, bei denen Ordnungs- und Massenzahl nicht gleichzeitig gerade sind (g/g), g/u, u/g und u/u sind aktiv
- günstige Voraussetzungen für NMR:
 - hohe natürliche Häufigkeit
 - Spinquantenzahl = 1/2
- hohes magnetisches Moment

- die relative Entfernung eines Signals der Substanz vom Signal eines Standards bezeichnet man als **chemische Verschiebung**:

$$\delta(\text{ppm}) = \frac{\nu(\text{Substanz}) - \nu(\text{TMS})}{\nu(\text{Gerät})} \cdot 10^6$$

- Beeinflussung der chemischen Verschiebung:

links	rechts
hohe Frequenz	niedrige Frequenz
entschirmt	abgeschirmt
niedrige e ⁻ -Dichte	hohe e ⁻ -Dichte
niedrige Feldstärke	höhere Feldstärke
elektronenziehender Rest	elektronenschiebender Rest

- Kopplungskonstante J:
 - Abstand der Aufspaltungslinien eines Signals
 - geräteunabhängig
 - J der Kopplungspartner ist identisch
- Integrale:
 - die Fläche unter den Signalen ist proportional zu der Anzahl der sie erzeugenden Kerne

6. Massenspektrometrie (MS)

6.1 Prinzip

- Moleküle werden in positive oder negative Ionen überführt (**Ionisation**)
- instabile Moleküle Ionen zerfallen danach in geladene und ungeladene Bruchstücke (**Fragmentierung**)
- die geladenen Bruchstücke werden nach ihrer Masse getrennt (**Massen-Fokussierung**)
- Darstellung der Massen und relativen Intensitäten in einem **Massenspektrum**, Auftragen des Masse-Ladungsverhältnis m/z gegen die relative Intensität, das Signal mit der größten Massenzahl entspricht in 80 – 90% aller Substanzen der relativen Molmasse
- sehr kleine Mengen bestimmbar: 0,5 mg bis 10 µg, bei Kopplung mit GC oder HPLC sogar nur ca. 1 µg bis 0,5 pg
- hohe Substanzspezifität

6.2 Klassische Ionisationsmethoden

6.2.1 Elektronenstoß-Ionisation (EI)

- Beschuss der Moleküle mit e⁻:
 1. $M + e^- \rightarrow M^+ + 2e^-$ ein Elektron wird aus dem Molekül herausgeschlagen oder
 2. $M + e^- \rightarrow M^-$ ein Elektron wird aufgenommen
- die Radikalanionenbildung ist wesentlich seltener
- Fragmentierungsmechanismus [siehe Rücker S. 307]
- da Moleküle meist nur an bestimmten Stellen gespalten werden können, erhält man für jede Substanz ein charakteristisches Massenspektrum

6.2.2 Chemische Ionisation (CI)

- Probe wird mit einem großen Überschuss eines Reaktand-Gases, z. B. Methan in den EI gebracht
 - zuerst ionisiert das Gas; die Methanionen übertragen dann durch Zusammenstöße mit nicht ionisierten Methanmolekülen Protonen auf selbige
 - die gebildeten CH_5^+ -Kationen übertragen Protonen auf die Probemoleküle:
 $\text{CH}_5^+ + \text{M} \rightarrow \text{MH}^+ + \text{CH}_4$
 - die MH^+ fragmentieren und können dann im Spektrum dargestellt werden

6.3 Schonende Ionisation

6.3.1 Elektrospray-Ionisation (ESI)

- Probeaerosol wird mit N_2 begast und in ein Spannungsfeld gebracht
- durch Verdampfen des LMs schrumpfen die Tröpfchen \Rightarrow die Oberfläche wird für die Particalladung zu klein \Rightarrow Explosion der Kügelchen \Rightarrow Ionen werden freigesetzt

6.3.2 Matrix-unterstützte-Laser-Desorption (MALDI)

- die Probe wird mit einer Matrix im Verhältnis 1:10 000 gemischt und auf ein Target gebracht
- man bestrahlt die Matrix mit Laserstrahlung \Rightarrow Matrixsubstanzbestandteile der Oberfläche werden angeregt \Rightarrow Übertragung von Protonen auf die Probe oder umgekehrt \Rightarrow Ionen werden frei
- Probe-Matrix-Würfel auf Jahre beständig

6.4 Analysator

6.4.1 Quadrupol-Analysator

- Ionenstrahl der Analysensubstanz wird in Längsrichtung zwischen vier parallel angeordnete Metallstäbe geleitet
- durch bestimmte Arten der Anlegung von Spannung, können nur Ionen einer bestimmten Masse hindurch

6.4.2 Flugzeit-Analysator

- durch Messung der Flugzeit t eines Teilchens auf einer feldfreien Flugstrecke kann dessen Masse m berechnet werden
- leichte Teilchen erreichen den Detektor eher als schwere