



EUROPA-FACHBUCHREIHE  
für Chemieberufe

# Instrumentelle Analytik

## Theorie und Praxis

**3. überarbeitete und erweiterte Auflage**

Heinz Hug

VERLAG EUROPA-LEHRMITTEL · Nourney, Vollmer GmbH & Co. KG  
Düsselberger Straße 23 · 42781 Haan-Gruiten  
**Europa-Nr.: 72116**

---

**Autor:**

Dr. rer. nat. Heinz Hug      Oberstudienrat a. D., Diplom-Chemiker    Wiesbaden

**Verlagslektorat:**

Dr. Astrid Grote-Wolff

**Bildbearbeitung:**

Grafische Produktionen Jürgen Neumann, 97222 Rimpar  
Zeichenbüro des Verlags Europa-Lehrmittel, 73760 Ostfildern

**Umschlaggestaltung:**

Michael M. Kappenstein, 60594 Frankfurt

3. Auflage 2015  
Druck 5 4 3 2 1

Alle Drucke derselben Auflage sind parallel einsetzbar, da sie bis auf die Behebung von Druckfehlern untereinander unverändert sind.

ISBN 978-3-8085-7216-0

Alle Rechte vorbehalten. Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwendung außerhalb der gesetzlich geregelten Fälle muss vom Verlag schriftlich genehmigt werden.

© 2015 by Verlag Europa-Lehrmittel, Nourney, Vollmer GmbH & Co. KG, 42781 Haan-Gruiten  
<http://www.europa-lehrmittel.de>

**Satz:** Grafische Produktionen Jürgen Neumann, 97222 Rimpar

**Druck:** M. P. Media-Print Informationstechnologie GmbH, 33100 Paderborn

## Vorwort

Die Entwicklung moderner, hoch wirksamer Pharmazeutika, leistungsfähiger Werkstoffe, speziell wirkender Pflanzenschutzmittel und zahlreicher anderer spezialisierter Chemieprodukte setzt nicht nur eine effiziente Forschung sowie Entwicklung aufwändiger Synthesetechniken und Trennmethoden voraus. Sie stellt auch hohe Ansprüche an die Methoden der instrumentellen Analytik, denn immer komplexere Molekülstrukturen müssen aufgeklärt und gesichert werden. Auch ist die Messung von Ultraspuren im Submikrogrammbereich innerhalb kürzester Zeit Voraussetzung für die kontinuierliche Qualitätssicherung hoch spezialisierter Produkte (z. B. Halbleiter für Computerchips) und unabdingbar für eine moderne, zeitgemäße Umweltpolitik.

Mit den stetig steigenden Anforderungen an chemische und pharmazeutische Produkte geht eine rasante Weiterentwicklung der instrumentellen Analytik einher. Bestehende Analysemethoden werden verfeinert, neue Methoden entwickelt, und durch moderne Gerätetechnik werden innerhalb kurzer Zeit genaue Informationen über die Zusammensetzung einer Probe erzielt. Wegen der anspruchsvollen Aufgabenstellung muss sich der Mitarbeiter eines chemisch-analytischen Labors auf seinem fundierten Grundwissen aufbauend permanent aktuelles Fachwissen aneignen, um den an ihn gestellten Anforderungen gerecht zu werden.

Das vorliegende Buch „**Instrumentelle Analytik – Theorie und Praxis**“ richtet sich an **Studierende an Fachschulen, Schwerpunkt Chemietechnik**, sowie an **Hochschulen**. Darüber hinaus ist es für den im Beruf stehenden **Praktiker** bestens geeignet, der sich einen Überblick über die Methoden der modernen instrumentellen Analytik verschaffen will oder auch sich eingehend in einen Teilbereich einarbeiten möchte.

Aufgrund seiner an der beruflichen Praxis ausgerichteten Struktur und der besonderen didaktischen Darstellungsweise eignet sich das Buch auch gut zum **Selbststudium**. Eine **reichhaltige vierfarbige Bebilderung, zahlreiche Merksätze, Tabellen und Musteraufgaben** tragen dabei zum Verständnis und zum Lernerfolg der oftmals anspruchsvollen naturwissenschaftlich-technischen Zusammenhänge bei. **Zahlreiche Übungsaufgaben mit vollständigen Lösungen** im Anhang ermöglichen das Vertiefen und praktische Anwenden des erlernten Stoffes. Aufgrund des **umfangreichen Sachwortverzeichnisses** stellt das Buch darüber hinaus einen wertvollen aktuellen Wissensspeicher dar. Fachbegriffe können zügig nachgeschlagen werden. Dadurch kann Fachwissen im Hinblick auf konkrete Aufgabenstellungen in der beruflichen Praxis zielgerichtet wieder aufgefrischt werden.

**Schwerpunktthemen** des Buches sind: UV/Vis-Spektroskopie, IR-Spektroskopie, NMR-Spektroskopie, Massenspektrometrie, Atomspektroskopie, Elektroanalytik sowie Chromatographie. Auch solche Themen werden behandelt, die oft wegen ihrer Komplexität gemieden werden: die präzise Unterscheidung von kontinuierlichen Spektren, Linien- und Bandenspektren, das *Jablonski*-Schema, die *Fourier*-Transformation, die Faltung und die Auswahlregeln in der Spektroskopie. Ziel des Autors ist es, ein fundiertes und umfassendes Verständnis für die **Theorie der instrumentellen Analytik** zu schaffen. Auch der **Praxis der instrumentellen Analytik** kommt in dem Buch eine große Bedeutung zu. Deshalb wird auf die Schritte der **Probenvorbereitung** genauso intensiv eingegangen wie auf die Prinzipien der **Qualitätssicherung** und ihre gesetzlichen Grundlagen (z. B. GLP). Aufbau und Funktion klassischer Apparate, aber auch von Neuentwicklungen wie das Orbitrap-Massenspektrometer, werden eingehend beschrieben. Zusätzlich vermittelt eine Auswahl moderner, marktgängiger Geräte im Anhang des Buches dem Leser einen guten Überblick über die **aktuelle Gerätetechnik**.

In der **3. Auflage** wurden Leserhinweise aufgegriffen und Text sowie Bilder nach gründlicher Durchsicht optimiert. Darüberhinaus wurde ein Kapitel zur *Raman*-Spektroskopie ergänzt.

Wir wünschen unseren Leserinnen und Lesern viel Erfolg und Freude beim Einstieg und der Vertiefung der aktuellen instrumentellen Analytik. Hinweise und Ergänzungen, die zur Verbesserung und Weiterentwicklung des Buches beitragen, werden unter der Verlagsadresse oder per E-Mail (lektorat@europa-lehrmittel.de) dankbar entgegengenommen.

|          |   |            |
|----------|---|------------|
| <b>1</b> | <b>Emission/Absorption elektromagnetischer Strahlung</b>            | <b>9</b>   |
| 1.1      | Entstehung elektromagnetischer Strahlung und Influenz               | 9          |
| 1.2      | Frequenz, Wellenlänge, Lichtgeschwindigkeit und Wellenzahl          | 11         |
| 1.3      | Das Quantenprinzip und die <i>Plancksche Strahlungsgleichung</i>    | 15         |
| 1.4      | Fotometrische Grundgrößen   | 19         |
| 1.5      | Das <i>Bouguer-Lambert-Beersche Gesetz</i>                          | 20         |
| 1.6      | Spektrenarten   | 26         |
| 1.6.1    | Linienspektren  | 27         |
| 1.6.2    | Bandenspektren  | 29         |
| 1.6.3    | Kontinuierliche Spektren  | 29         |
|          | <b>Übungen zu Kapitel 1</b>   | <b>30</b>  |
| <b>2</b> | <b>UV/Vis-Spektroskopie</b>   | <b>32</b>  |
| 2.1      | Elektronenübergänge in Molekülen                                    | 32         |
| 2.2      | UV/Vis-Spektren   | 35         |
| 2.3      | Chromophore, Auxochrome und Lösemittelleinflüsse                    | 37         |
| 2.4      | Fotometrie als quantifizierende UV/Vis-Spektrometrie                | 41         |
| 2.5      | Funktion und Aufbau von Spektralapparaten                           | 44         |
| 2.5.1    | Das Auflösungsvermögen dispersiver Spektralapparate                 | 50         |
| 2.6      | Küvetten und Lösemittel   | 51         |
| 2.7      | Detektoren in der UV/Vis-Spektrometrie                              | 52         |
| 2.8      | Vorgänge nach der Absorption  | 58         |
| 2.9      | Fluoreszenz-Spektrometrie und Trübungsmessung                       | 61         |
|          | <b>Übungen zu Kapitel 2</b>   | <b>64</b>  |
| <b>3</b> | <b>Infrarot-Spektroskopie</b>                                       | <b>68</b>  |
| 3.1      | Rotationsspektroskopie und Rotationsquantenzahl                     | 69         |
| 3.2      | Schwingungs-Rotationsspektroskopie                                  | 74         |
| 3.2.1    | Schwingungsquantenzahl  | 76         |
| 3.2.2    | Feinstruktur von Schwingungs-Rotations-Spektren                     | 79         |
| 3.2.3    | Kombinationen und Wechselwirkungen von Molekülschwingungen          | 82         |
| 3.2.4    | Bandenbreite und Faltung  | 84         |
| 3.3      | Spektrometer im Mikrowellen- und IR-Bereich                         | 87         |
| 3.3.1    | Mikrowellenspektrometer   | 87         |
| 3.3.2    | Dispersive IR-Spektrometer  | 88         |
| 3.3.3    | Strahlungsquellen   | 91         |
| 3.3.4    | Detektoren in der IR-Spektroskopie                                  | 92         |
| 3.3.5    | Präparationsmethoden  | 93         |
| 3.3.6    | Nichtdispersive IR-Spektrometrie (NDIR)                             | 94         |
| 3.3.7    | <i>Fourier</i> -Transform-Infrarotspektrometer (FT-IR-Spektrometer) | 98         |
| 3.3.7.1  | <i>Fourier</i> -Transformation                                      | 98         |
| 3.3.7.2  | <i>Michelson</i> -Interferometer                                    | 100        |
| 3.3.7.3  | Signalverarbeitung in einem FT-IR-Spektrometer                      | 103        |
| 3.3.7.4  | Vorteile der FT-IR-Spektrometer                                     | 106        |
| 3.4      | Interpretation von IR-Spektren                                      | 106        |
| 3.4.1    | Kurze Anleitung zur IR-Spektreninterpretation                       | 108        |
| 3.5      | Quantifizierende IR-Spektrometrie                                   | 113        |
| 3.6      | IR-Emissionsspektroskopie   | 115        |
| 3.7      | Ferninfrarotspektroskopie (FIR)                                     | 117        |
| 3.8      | NIR-Spektroskopie   | 117        |
|          | <b>Übungen zu Kapitel 3</b>   | <b>122</b> |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| <b>4</b> | <b>Raman-Spektroskopie</b>   | <b>128</b> |
| 4.1      | Strahlungslose Relaxation, <i>Stokes</i> -Verschiebung, <i>Rayleigh</i> -Streuung und <i>Raman</i> -Effekt | 128        |
| 4.2      | <i>Raman</i> -Verschiebung und <i>Raman</i> -Spektrum  | 130        |
| 4.3      | Auswahlregeln der <i>Raman</i> -Spektroskopie  | 133        |
| 4.4      | Interpretation von <i>Raman</i> -Spektren  | 137        |
| 4.5      | Steckbrief der <i>Raman</i> -Spektroskopie   | 141        |
| 4.6      | <i>Raman</i> -Spektrometer   | 143        |
| 4.6.1    | Dispersive <i>Raman</i> -Spektrometer  | 144        |
| 4.6.2    | <i>Fourier</i> -Transform- <i>Raman</i> -Spektrometer  | 147        |
| 4.7      | Anwendungen der <i>Raman</i> -Spektroskopie  | 148        |
| 4.7.1    | Strukturaufklärung und Identifikation  | 148        |
| 4.7.2    | <i>Raman</i> -Mikroskopie  | 150        |
| 4.7.3    | <i>Raman</i> -Diagnostik in der Medizin  | 151        |
| 4.7.4    | Untersuchung von Molekülschwingungen   | 151        |
| 4.7.5    | Anwendungen in der Industrie   | 152        |
| 4.7.6    | UV- <i>Raman</i> -Resonanz-Spektroskopie   | 153        |
|          | <b>Übungen zu Kapitel 4</b>  | <b>155</b> |
| <b>5</b> | <b>Kernresonanz-Spektroskopie</b>  | <b>156</b> |
| 5.1      | Physikalische Grundlagen der Kernresonanz  | 156        |
| 5.1.1    | Resonanzbedingungen  | 158        |
| 5.1.2    | Besetzungshäufigkeit, Auflösung und Empfindlichkeit  | 160        |
| 5.2      | Chemische Verschiebung   | 162        |
| 5.3      | NMR-Spektrometer   | 166        |
| 5.3.1    | CW-NMR-Spektrometer  | 166        |
| 5.3.2    | FT-NMR-Spektrometer  | 169        |
| 5.3.3    | Relaxation, FID-Kurve und Fourier-Transformation   | 170        |
| 5.3.4    | Faltung des NMR-Spektrums  | 174        |
| 5.3.5    | Vorteile der FT-NMR-Spektroskopie  | 175        |
| 5.4      | NMR-Spektren   | 175        |
| 5.4.1    | Spin-Spin-Kopplung (Skalare Kopplung, <i>J</i> -Kopplung)  | 178        |
| 5.4.2    | Lösemittel und Lösemitteleffekte   | 182        |
| 5.4.3    | Aromatenprotonen   | 184        |
| 5.4.4    | Äquivalente Kerne und stereochemische Einflüsse  | 186        |
| 5.4.5    | Skalare Kopplung und NMR-Spektrenordnung   | 190        |
| 5.4.6    | Maßnahmen bei Spektren höherer Ordnung   | 195        |
| 5.5      | Kern-Overhauser-Effekt   | 197        |
| 5.6      | <sup>13</sup> C-NMR-Spektroskopie  | 199        |
| 5.7      | Zweidimensionale FT-NMR-Spektroskopie  | 204        |
| 5.8      | Anwendungsbeispiele der Kernresonanz   | 207        |
|          | <b>Übungen zu Kapitel 5</b>  | <b>210</b> |
| <b>6</b> | <b>Massenspektrometrie</b>   | <b>214</b> |
| 6.1      | Aston-Massenspektrometer   | 215        |
| 6.2      | Klassifizierung der Massenspektrometer entsprechend der Analysatoren                                       | 216        |
| 6.2.1    | Einfach fokussierende Massenspektrometer   | 217        |
| 6.2.2    | Doppelfokussierende Massenspektrometer   | 218        |
| 6.2.3    | Quadrupol-Massenspektrometer   | 219        |

|       |   |     |
|-------|---|-----|
| 6.2.4 | Flugzeit-Massenspektrometer (TOF-MS) . . . . .  | 221 |
| 6.2.5 | Ioneneinfang-Analysator. . . . .  | 223 |
| 6.2.6 | Fourier-Transform-Massenspektrometer (FT-MS und FT-ICR-MS) . . . . .                  | 224 |
| 6.2.7 | Orbitrap-Analysator. . . . .  | 227 |
| 6.3   | Ionisierung . . . . .   | 229 |
| 6.3.1 | Elektronenstoßionisation, Elektronenionisierung (EI) . . . . .                        | 229 |
| 6.3.2 | Chemische Ionisierung im Vakuum (CI) . . . . .  | 231 |
| 6.3.3 | Vergleich harter und weicher Ionisierungsarten. . . . .                               | 231 |
| 6.3.4 | Elektrospray-Ionisation (ESI) . . . . .   | 232 |
| 6.3.5 | Chemische Ionisierung unter Atmosphärendruck (APCI) . . . . .                         | 233 |
| 6.3.6 | MALDI. . . . .  | 235 |
| 6.3.7 | Fast Atomic Bombardement (FAB) und Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS) . . . . . | 238 |
| 6.3.8 | Feldionisation (FI) und Felddesorption (FD) . . . . .                                 | 239 |
| 6.4   | Probenzuführung . . . . .   | 241 |
| 6.5   | Detektoren . . . . .  | 242 |
| 6.6   | Vergleichende Übersicht der Massenspektrometer (MS) . . . . .                         | 245 |
| 6.7   | Tandem- und Hybrid-Massenspektrometer. . . . .  | 246 |
| 6.8   | Interpretation von Massenspektren . . . . .   | 248 |
|       | <b>Übungen zu Kapitel 6 . . . . .</b>   | 254 |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| <b>7</b> | <b>Atomspektrometrie. . . . .</b>  | <b>256</b> |
| 7.1      | Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) . . . . .   | 256        |
| 7.1.1    | Physikalische Grundlagen der Atomabsorption . . . . .                                    | 256        |
| 7.1.2    | Aufbau des Atomabsorptionsspektrometers . . . . .  | 259        |
| 7.1.3    | Strahlungsquellen . . . . .  | 261        |
| 7.1.3.1  | Hohlkathodenlampe (HKL) . . . . .  | 261        |
| 7.1.3.2  | Elektrodenlose Entladungslampen . . . . .  | 262        |
| 7.1.3.3  | Kontinuierliche Strahlungsquellen. . . . .   | 262        |
| 7.1.4    | Atomisierung . . . . .   | 263        |
| 7.1.4.1  | Atomisierung in der Flamme (F AAS) . . . . .   | 263        |
| 7.1.4.2  | Elektrothermische Atomisierung (ET AAS, GF AAS) . . . . .                                | 264        |
| 7.1.4.3  | Atomisierung durch Kaldampftechnik (CV AAS) . . . . .                                    | 265        |
| 7.1.4.4  | Atomisierung durch Hydridbildung (HG AAS) . . . . .                                      | 265        |
| 7.1.5    | Monochromatoren. . . . .   | 266        |
| 7.1.6    | Systematische Fehler und Störungen der AAS-Messung . . . . .                             | 267        |
| 7.1.7    | Korrektur der Untergrundabsorption und Kalibrierung . . . . .                            | 268        |
| 7.1.8    | Hochauflösende Atomabsorptionsspektrometrie mit Kontinuumstrahlern (HR-CS AAS) . . . . . | 271        |
| 7.2      | Optische Emissionsspektrometrie (OES) . . . . .  | 273        |
| 7.2.1    | Flammenfotometrie. . . . .   | 274        |
| 7.2.2    | Plasma-Emissionsspektrometrie (ICP-OES) . . . . .  | 275        |
| 7.2.2.1  | Plasmabrenner und optische Emission . . . . .  | 276        |
| 7.2.2.2  | Polychromatoren in der ICP-OES . . . . .   | 278        |
| 7.2.3    | Vergleich AAS und ICP-OES . . . . .  | 278        |
| 7.3      | Plasmabrenner und Massenspektrometer (ICP-MS) . . . . .                                  | 279        |
| 7.4      | Röntgenfluoreszenz (RFA) . . . . .   | 280        |
| 7.4.1    | Röntgenröhre und Bremsspektrum . . . . .   | 281        |
| 7.4.2    | Röntgenspektrallinien und Röntgenfluoreszenz . . . . .                                   | 281        |
| 7.4.3    | Röntgenfluoreszenzspektrometer . . . . .   | 283        |
| 7.4.4    | Quantifizierung mittels RFA . . . . .  | 285        |
|          | <b>Übungen zu Kapitel 7 . . . . .</b>  | 287        |

|          |  |            |
|----------|--|------------|
| <b>8</b> | <b>Elektroanalytik</b>   | <b>289</b> |
| 8.1.     | Physikalisch-chemische Grundlagen der Elektroanalytik              | 289        |
| 8.1.1    | Elektrolyse  | 289        |
| 8.1.2    | Elektrochemische Spannungsreihe und freie Enthalpie ( $\Delta G$ ) | 291        |
| 8.1.3    | Elektrolyse, Polarisation und Überspannung                         | 296        |
| 8.1.4    | Nernstsche Gleichung   | 300        |
| 8.1.5    | Leitfähigkeit von Elektrolytlösungen                               | 304        |
| 8.1.5.1  | Ionenbeweglichkeit, Ionenleitfähigkeit und Grenzleitfähigkeit      | 308        |
| 8.1.5.2  | Überführung  | 310        |
| 8.1.6    | Physikalisch-chemischer Steckbrief der Elektroanalytik             | 311        |
| 8.2      | Elektrogravimetrie   | 312        |
| 8.3      | Potentiometrie   | 314        |
| 8.3.1    | Bezugselektroden   | 314        |
| 8.3.2    | Indikatorelektroden und Messelektroden                             | 317        |
| 8.3.3    | Potentiometrische Titration  | 320        |
| 8.4      | Konduktometrie   | 322        |
| 8.5      | Voltammetrie und Voltammetrie                                      | 324        |
| 8.5.1    | Voltammetrie oder die Polarisationsspannungsindikation             | 324        |
| 8.5.2    | Polarographie – ein voltammetrisches Verfahren                     | 227        |
| 8.5.2.1  | Messtechniken in der Polarographie                                 | 331        |
| 8.5.2.2  | Anwendungen der Polarographie                                      | 332        |
| 8.5.3    | Zyklische Voltammetrie (Cyclovoltammetrie)                         | 333        |
| 8.5.4    | Voltammetrische Sensoren   | 335        |
| 8.5.5    | Dead-Stop-Titration  | 336        |
| 8.5.6    | Coulometrie  | 338        |
|          | <b>Übungen zu Kapitel 8</b>  | <b>342</b> |
| <b>9</b> | <b>Trennmethoden der Instrumentellen Analytik</b>                  | <b>344</b> |
| 9.1      | Wurzeln der Chromatographie und erste Grundbegriffe                | 344        |
| 9.2      | Physikalisch-chemische Grundlagen der Chromatographie              | 347        |
| 9.2.1    | Adsorptionsgleichgewicht und Adsorptionsisotherme                  | 348        |
| 9.2.2    | Das Henry-Dalton-Gesetz  | 349        |
| 9.2.3    | Nernstscher Verteilungssatz  | 350        |
| 9.3      | Craig-Verteilung und Flüssig-Flüssig Chromatographie               | 352        |
| 9.4      | Chromatogramm  | 356        |
| 9.4.1    | Inneres und äußeres Chromatogramm                                  | 356        |
| 9.4.2    | Retention  | 357        |
| 9.4.3    | Verteilungskonstante und Retentionsfaktor                          | 360        |
| 9.4.4    | Trennfaktor  | 361        |
| 9.4.5    | Peakauflösung, Trennvermögen und Zahl der Trennstufen              | 362        |
| 9.4.6    | Lineargeschwindigkeit und Bandenbreite                             | 366        |
| 9.5      | Merkmale stationärer Phasen  | 368        |
| 9.6      | Merkmale mobiler Phasen  | 370        |
| 9.7      | Gradientenelution  | 371        |
| 9.8      | Wege zur verbesserten Auflösung                                    | 374        |
| 9.9      | Peaksymmetrie, Peakschiefe   | 375        |
| 9.10     | Detektoreigenschaften  | 376        |
| 9.11     | Qualitative Analyse  | 378        |
| 9.12     | Quantitative Analyse   | 378        |
| 9.12.1   | Methode des externen Standards                                     | 380        |
| 9.12.2   | Methode der 100%-Normierung  | 382        |

|           |   |            |
|-----------|---|------------|
| 9.12.3    | Quantifizierung mittels internen Standards . . . . .                      | 383        |
| 9.12.4    | Additionsverfahren . . . . .  | 384        |
| 9.13      | Papierchromatographie . . . . .   | 385        |
| 9.14      | Dünnschichtchromatographie . . . . .                                      | 386        |
| 9.14.1    | Stationäre und mobile Phasen in der DC . . . . .                          | 388        |
| 9.14.2    | Zweidimensionale Entwicklung . . . . .                                    | 390        |
| 9.14.3    | Detektion in der DC . . . . .   | 390        |
| 9.14.4    | Quantifizierung in der DC . . . . .                                       | 392        |
| 9.14.5    | Gängige Anwendungen der Dünnschichtchromatographie . . . . .              | 394        |
| 9.15      | Gaschromatographie. . . . .   | 395        |
| 9.15.1    | Auswahlkriterien für Trägergase . . . . .                                 | 396        |
| 9.15.2    | Probeneinlasssysteme in der Gaschromatographie. . . . .                   | 397        |
| 9.15.3    | Trennsäulen in der Gaschromatographie . . . . .                           | 400        |
| 9.15.4    | Temperaturprogramm statt Fließmittelgradient. . . . .                     | 406        |
| 9.15.5    | Detektoren in der Gaschromatographie . . . . .                            | 406        |
| 9.15.6    | Make-up-Gas . . . . .   | 410        |
| 9.15.7    | Anwendungsbeispiele der Gaschromatographie . . . . .                      | 410        |
| 9.16      | Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) . . . . .                 | 412        |
| 9.16.1    | Eluentförderung bei der HPLC . . . . .                                    | 414        |
| 9.16.2    | Säulen in der HPLC . . . . .  | 416        |
| 9.16.3    | Detektoren in der HPLC. . . . .   | 418        |
| 9.17      | Anwendungsbeispiele der HPLC . . . . .                                    | 423        |
| 9.18      | Spezielle chromatographische Methoden. . . . .                            | 424        |
| 9.19      | Klassische Elektrophorese . . . . .                                       | 430        |
| 9.20      | Kapillarelektrophorese . . . . .  | 433        |
|           | <b>Übungen zu Kapitel 9 . . . . .</b>                                     | 437        |
| <b>10</b> | <b>Probenbehandlung und Qualitätsmanagement in der Analytik . . . . .</b> | <b>442</b> |
| 10.1      | Probenahme. . . . .   | 443        |
| 10.2      | Probenvorbereitung . . . . .  | 446        |
| 10.3      | Qualitätsmanagement in der Analytik. . . . .                              | 450        |
| 10.3.1    | Gute Laborpraxis (GLP). . . . .   | 452        |
| 10.3.2    | Auditierung, Zertifizierung, Akkreditierung. . . . .                      | 454        |
| 10.3.3    | LIM-Systeme (LIMS) . . . . .  | 455        |
| 10.4      | Qualitätssicherung und Statistik . . . . .                                | 456        |
| 10.4.1    | Lageparameter. . . . .  | 458        |
| 10.4.2    | Streuparameter . . . . .  | 459        |
| 10.4.3    | Vertrauensbereich des Mittelwerts . . . . .                               | 461        |
| 10.4.4    | Ausreißertests . . . . .  | 463        |
| 10.5      | Methodenvalidierung . . . . .   | 465        |
| 10.5.1    | Präzision und Richtigkeit. . . . .  | 466        |
| 10.5.2    | Linearität, Arbeitsbereich . . . . .                                      | 468        |
| 10.5.3    | Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze. . . . .                             | 469        |
| 10.5.4    | Robustheit . . . . .  | 470        |
| 10.5.5    | Spezifität und Selektivität . . . . .                                     | 471        |
| 10.6      | Regelkarten . . . . .   | 472        |
|           | <b>Übungen zu Kapitel 10 . . . . .</b>                                    | 475        |
|           | <b>Anhang . . . . .</b>   | <b>478</b> |
|           | Auswahl marktgängiger Geräte 2015 . . . . .                               | 478        |
|           | Lösungen zu den Übungsaufgaben . . . . .                                  | 501        |
|           | <b>Sachwortverzeichnis . . . . .</b>                                      | <b>536</b> |

## 2.5 Funktion und Aufbau von Spektralapparaten

Wäre im 19. Jahrhundert, als die entscheidenden Entdeckungen gemacht wurden, die instrumentelle Analytik schon präsent gewesen, würde man möglicherweise unter der Spektroskopie die Aufzeichnung der Extinktion oder einer vergleichbaren Größe in Abhängigkeit von der Wellenlänge verstehen und unter der Spektrometrie die Quantifizierung von Analyten mittels elektromagnetischer Strahlung. So aber kam es anders. Die Physiker definierten die **Spektrometrie** als quantitative Messung strahlungsphysikalischer oder lichttechnischer Größen (vgl. Tabelle 1c, S. 20) in Abhängigkeit von der Wellenlänge. Wohingegen die **Spektroskopie** die einfache visuelle Beobachtung und Aufzeichnung des Spektrums ist.

1860/61 entdeckten *Gustav Kirchhoff* (1824–1887) und *Robert Bunsen* (1812–1899) im Dürkheimer Mineralwasser Rubidium und Cäsium. Der **Spektralapparat**, den sie benutzten (Bild 1), enthielt Bausteine, die auch heute noch in vielen Geräten zu finden sind. Das *Kirchhoff-Bunsen*-Spektroskop besteht aus drei Röhren mit unterschiedlichen Funktionen (Bild 2). Vor einem Rohr befindet sich eine Brennerflamme, mit der die zu untersuchenden Metallsalze (z. B. die von Li, Ca oder Cs) zum Leuchten angeregt werden. Da die von der Flamme emittierte Strahldichte  $L_{e\lambda}$  nach dem **Planckschen Strahlungsgesetz** (s. Gl. 1.8) in alle Raumrichtungen geht, müssen die Strahlen in etwa parallel ausgerichtet werden. Dies geschieht mittels eines **Eingangskollimators**, der aus einem Spalt und einer **Kollimatorlinse** besteht (Bild 2). Die Form des schmalen Spalts bestimmt übrigens die charakteristischen Linien des beobachteten Spektrums. Als **Dispersionseinrichtung**, mit der das Licht spektral zerlegt wird, besitzt das *Kirchhoff-Bunsen*-Spektroskop ein **Prisma**. Rechts davon befindet sich ein weiteres, von einer Kerze rückseitig beleuchtetes Rohr mit einer graduierten Skala. Diese wird auf die Austrittsseite des Prismas projiziert und dort total reflektiert (Spiegelung!). Dadurch bedingt, sieht der Beobachter über das dritte Rohr gleichzeitig die Spektrallinien und die wellenlängen-kalibrierte Messskala.

Mithilfe des Spektroskops in Bild 1 und 2 beobachteten *Kirchhoff* und *Bunsen* die im Bild 3 gezeigten Spektren von K (damals Ka), Na, Li, Sr, Ca und Ba.

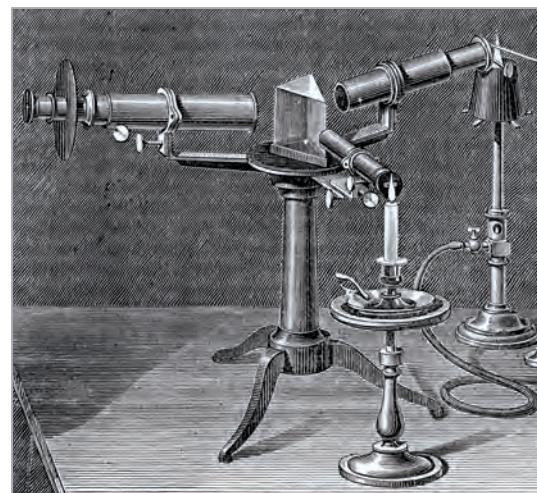


Bild 1: Spektroskop (ullstein bild – heritage)

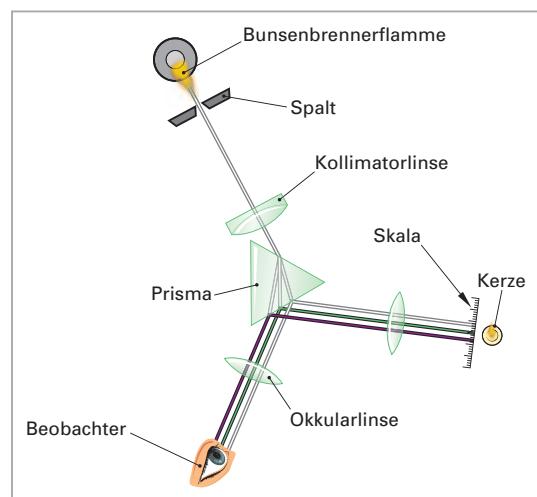


Bild 2: Aufbau des *Kirchhoff-Bunsen*-Spektroskops

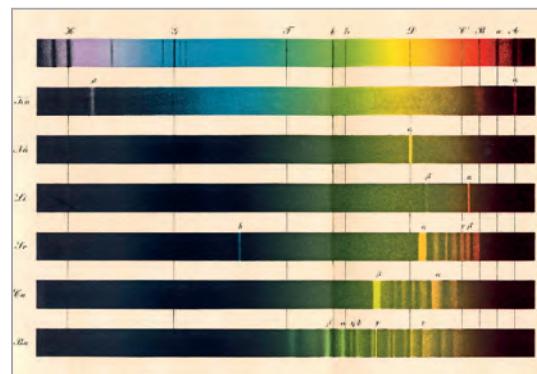
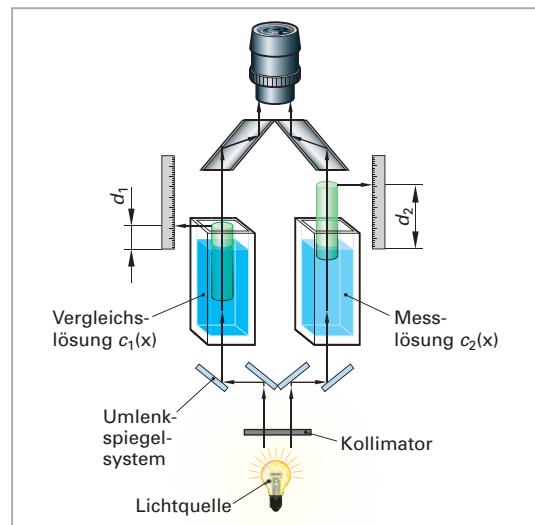


Bild 3: Linienspektrum

Das *Kirchhoff-Bunsen-Spektroskop* diente nur der qualitativen Beobachtung der Spektren. Zur einfachen quantitativen Bestimmung von Analyten nutzt man die **Kolorimetrie**, die sich anfangs auf den visuellen Vergleich gefärbter Lösungen beschränkte. In ihrer einfachsten Ausübung wurden Reagenzgläser mit unterschiedlichen Analytkonzentrationen als Standard angesetzt und diese mit der Farbtiefe der zu bestimmenden Lösung verglichen. Eine Weiterentwicklung war das *Dubosq-Kolorimeter* (Bild 1). Hierbei wird wie immer bei der Kolorimetrie keine elektrische Messgröße erfasst, sondern nur visuell beobachtet. In diesem Fall werden zwei plan geschliffene Glaszyliner in die Messlösung und Vergleichslösung so weit eingetaucht, bis vom Beobachter Farbgleichheit registriert wird. Da damit die Extinktion in beiden Fällen gleich ist, folgt aus dem *Bouguer-Lambert-Beer-Gesetz*:

Bild 1: Kolorimeter nach *Dubosq*

$$\frac{c_1(X)}{c_2(X)} = \frac{d_2}{d_1}$$

|                       |     |
|-----------------------|-----|
| $c$                   | $d$ |
| mol · L <sup>-1</sup> | cm  |

Gl. 2.3

**M 2.5**

Zur Bestimmung von Kupfer als Kupfer(II)-tetramminkomplex mit einem *Dubosq-Kolorimeter* wurde eine Vergleichslösung mit  $c_1(\text{Cu}^{2+}) = 1,5 \text{ mmol/L}$  angesetzt. Die Eintauchtiefe des Prismas in der Vergleichslösung betrug  $d_1 = 2,8 \text{ cm}$ . Bei Farbgleichheit tauchte das Prisma in der Messlösung  $d_2 = 3,4 \text{ cm}$  ein. Wie hoch ist die Kupferkonzentration in der unbekannten Lösung?

$$\text{Lösung: } c(\text{Cu}^{2+}) = c_2 = \frac{c_1 \cdot d_1}{d_2} = \frac{1,5 \text{ mmol/L} \cdot 2,8 \text{ cm}}{3,4 \text{ cm}} = 1,24 \text{ mmol/L}$$

Die Kolorimetrie ist nicht allzu empfindlich. Dennoch ist sie in abgewandelter Form heute noch von Bedeutung. Mit geeigneten Reagenzien können Analytlösungen angefärbt werden und mit vorgegebenen Farbskalen visuell verglichen werden. Mit einem solchen kommerziellen **Testkit** lassen sich beispielsweise zwischen 0,01 und 0,25 mg Kupfer in 1 L Wasser quantifizieren.

Die Kolorimetrie hat einen entscheidenden Nachteil. Sie beschränkt sich auf weißes Licht, womit eine wesentliche Empfindlichkeitsminderung verbunden ist, wie aus dem Bild 2 hervorgeht. Bei Verwendung von weißem Licht (400 bis 800 nm) werden nämlich nur ca. 30 % durch die Absorptionsbande „abgedeckt“. Die Verwendung eines Filters zwischen 611 und 662 nm bringt bereits ca. 70 % „Abdeckungsgrad“.

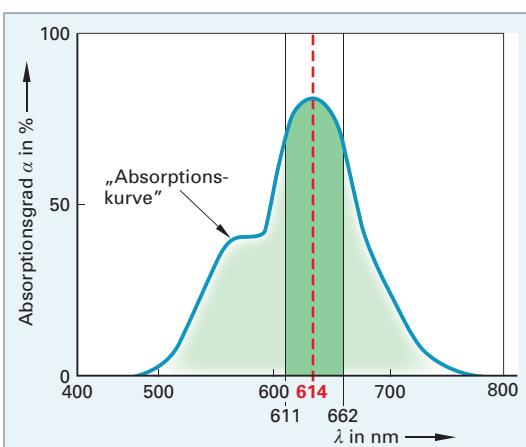
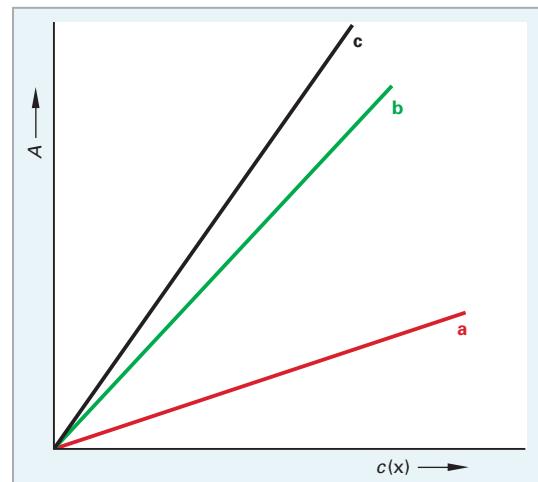


Bild 2: Absorption einer Absorptionsbande durch weißes („gesamte Rechteckfläche“), gefiltertes und monochromatisches Licht

Am günstigsten ist die Verwendung eines Monochromators, der die Messung auf das Maximum der Absorptionsbande bei der Wellenlänge von 614 nm beschränkt. In diesem Fall absorbiert der Analyt ca. 80 % des eingestrahlten Lichts.

Im **Bild 1** sind die Kalibriergeraden aufgetragen, die sich für ein und dieselbe Substanz bei unterschiedlicher Arbeitsweise gemäß Bild 2, S. 45, ergeben. Erwartungsgemäß besitzt die Kalibrierkurve für weißes Licht (Kolorimetrie) die geringste Steigung und damit auch kleinere Extinktionen bei höheren Konzentrationen.

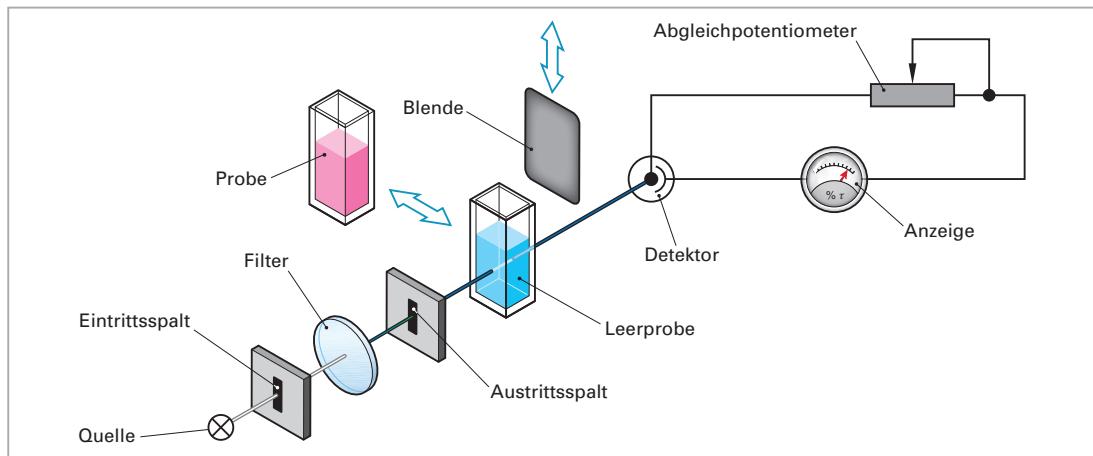
In der **Fotometrie** wird entweder mit einem Filter oder noch besser mit monochromatischem Licht gearbeitet. Die Messung erfolgt im Extinktionsmaximum der zu untersuchenden Substanz. Dadurch werden die größte Empfindlichkeit und die niedrigste Bestimmungsgrenze gewährleistet.



**Bild 1:** a) Kalibrierkurve bei Verwendung von weißem Licht, b) Kalibrierkurve bei Einsatz eines Filters, c) Kalibrierkurve bei Verwendung von monochromatischem Licht

Bei den Messgeräten unterscheidet man:

- den **nichtdispersiven Spektralapparat** (Aussortierung spektraler Bereiche mithilfe von Filtern),
- den **dispersiven Spektralapparat** (Erzeugung von Spektren mittels Prismen oder Gittern),
- den **Interferenzspektralapparat**<sup>1</sup>, bei dem die spektrale Zerlegung mit einem Interferometer erfolgt.



**Bild 2:** Einstrahlfotometer mit Filter

**Bild 2** zeigt ein Einstrahlfotometer, das, mit einem Filter ausgerüstet, zu den nichtdispersiven Spektralapparaten zählt. Es handelt sich um ein robustes Gerät für einfache Messungen. Nach Einsetzen eines geeigneten Filters wird zunächst die Leerprobe (früher Blindwert oder Blindprobe) in den Strahlengang gebracht. Sie besteht nur aus den verwendeten Lösemitteln und den Reagenzien. Nach Abschirmung des Detektors mit einer Blende wird die Transmission mit dem Abgleichpotentiometer auf  $\tau = 0\%$  eingestellt und nach Entfernung derselben auf  $\tau = 100\%$ .

<sup>1</sup> Interferenzspektralapparate spielen eine besonders wichtige Rolle in der IR-Spektroskopie.

## 2.5 Funktion und Aufbau von Spektralapparaten

Durch diese Vorgehensweise wird die Eigenabsorption der Küvette, des Lösemittels und der Reagenzien berücksichtigt. Nach Austausch der Leerprobenküvette durch die Probenküvette bestimmt man deren Transmission abzüglich der genannten Eigenabsorption. Je nach Kalibrierung des Messgeräts kann auch die Probenabsorption  $\alpha$  oder deren Extinktion  $A$  abgelesen werden.

Die Funktion des Filters beruht auf dem Prinzip der **Komplementärfarbe**. Das Konzept ist recht alt und geht ursprünglich auf *Thomas Young* zurück, der 1807 eine Theorie über die Farbwahrnehmung des menschlichen Auges postulierte. Nach seiner Dreifarbentheorie kann jede beliebige Farbe aus den Lichtstrahlen dreier Primärfarben (Rot, Grün, Blau) gemischt werden. Die Theorie war fast in Vergessenheit geraten, als sie vierzig Jahre später vom Physiker *Hermann von Helmholtz* (1821–1894) weiter entwickelt wurde. Demnach gilt:

Die Farben zweier Lichtstrahlen, die sich zu weißem Licht ergänzen, heißen **Komplementärfarben**. Subtrahiert man umgekehrt von weißem Licht eine bestimmte Farbe, verbleibt deren Komplementärfarbe. Vom Auge wird nicht die absorbierte Farbe eines Körpers, sondern die diffus gestreute oder nicht absorbierte Komplementärfarbe wahrgenommen. Dementsprechend gelangt auf den Detektor eines Fotometers nur die konzentrationsabhängig mehr oder minder abgeschwächte Komplementärfarbe der Analytlösung.

Eine um 520 nm (grünblau) absorbierende Lösung lässt Licht der komplementären Wellenlänge von 656 nm (rot) passieren. Die Lösung ist daher rot gefärbt (Bild 1). Zur Empfindlichkeitssteigerung des Fotometers wählt man ein Filter, das bevorzugt den Wellenlängenbereich um 520 nm (grünblau) durchlässt (vgl. Bild 2, S. 45). Umgekehrt wird zur Messung einer grünblau gefärbten Analytlösung ein rotes Filter verwendet.

In der instrumentellen Analytik wird ein **Fotometerfilter** stets so gewählt, dass es die Komplementärfarbe der Lösungseigenfarbe durchlässt.

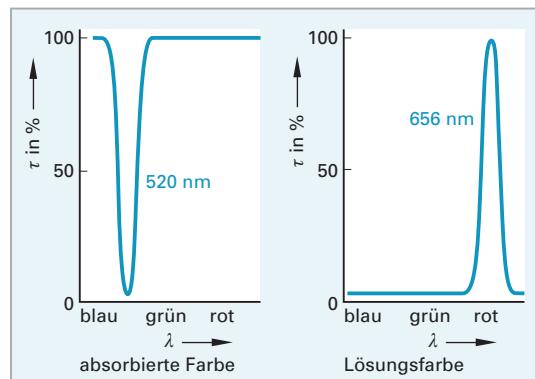


Bild 1: Qualitatives Transmissionsspektrum einer rot erscheinenden Probenlösung

Monochromatische Filter sind selten. Meist verwendet man **Interferenzfilter**, die nur einen schmalen Wellenlängenbereich (effektive Bandbreite von 1,5 bis 4,5 nm) durchlassen. Häufiger sind preisgünstigere **Absorptionsfilter** in Gebrauch, die eine effektive Bandbreite zwischen 30 und 250 nm besitzen. In der **Tabelle 2c** ist zur vereinfachten Orientierung der Zusammenhang zwischen Lösungsfarbe und Farbe des zu wählenden Filters (Komplementärfarbe) wiedergegeben.

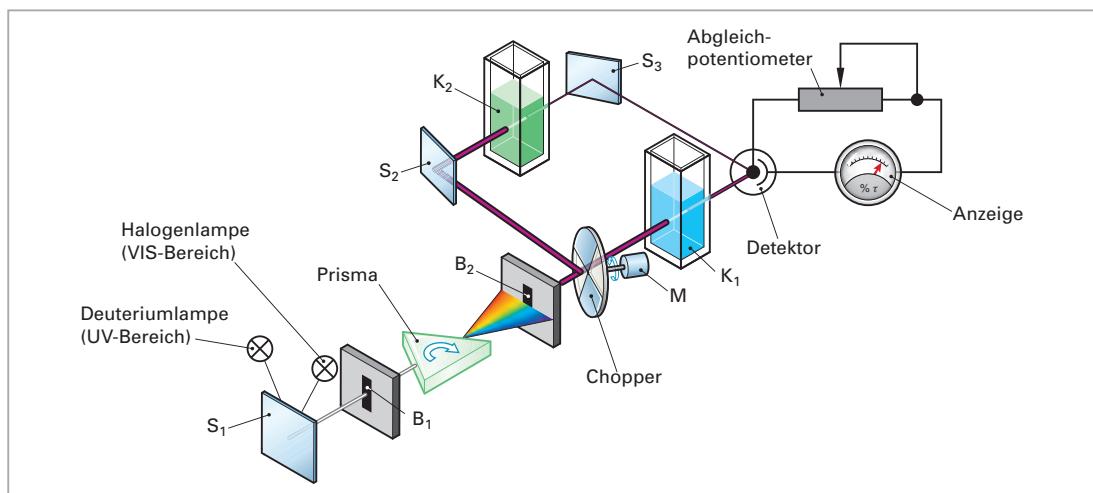
Tabelle 2c: Lösungsfarbe, Filterfarbe (Komplementärfarbe) und zugehöriger Wellenlängenbereich

| Farbe der Lösung  | $\lambda$ Lösungsfarbe | Filterfarbe (Durchlass) | $\lambda$ Absorption (Filterfarbe) |
|-------------------|------------------------|-------------------------|------------------------------------|
| blau, blauviolett | 420 nm ... 480 nm      | gelb, gelborange        | 580 nm ... 620 nm                  |
| blaugrün          | 490 nm ... 520 nm      | rot                     | 620 nm ... 680 nm                  |
| grün              | 500 nm ... 560 nm      | rotviolett              | 680 nm ... 780 nm                  |
| gelb, orange      | 595 nm ... 610 nm      | grünblau                | 440 nm ... 470 nm                  |
| rot               | 610 nm ... 680 nm      | blaugrün                | 470 nm ... 500 nm                  |

Das im Bild 2, S. 46, abgebildete Einstrahlfotometer mit Filter reagiert empfindlich auf Spannungsschwankungen der Lichtquelle. Auch unterliegt der Detektor Ermüdungserscheinungen, wobei solche Störungen besonders dann zu Messfehlern führen, wenn sie während des Küvettenwechsels zwischen der Leerprobenmessung und Probenmessung auftreten.

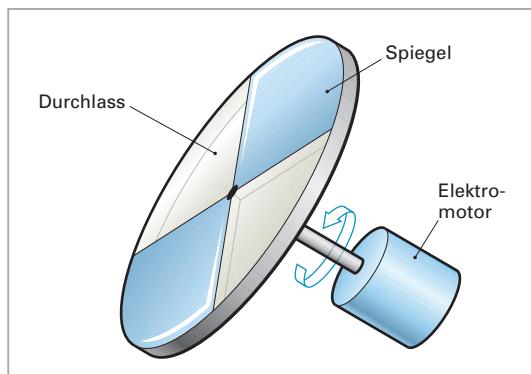
Der Einfluss dieser Fehlerquellen lässt sich stark reduzieren, wenn man ein Zweistrahlfotometer benutzt. Diese können wie die Einstrahlfotometer mit einem Filter ausgestattet sein. Oftmals ist es aber wünschenswert oder sogar notwendig, dass beim spektroskopischen Arbeiten die Wellenlänge über einen größeren Wellenlängenbereich variiert werden kann. Erfolgt dies kontinuierlich, so bezeichnet man den Vorgang als **Scannen** oder auch als Abtasten des Spektrums. Im **Bild 1** ist ein hierfür geeignetes **Zweistrahlfotometer** vereinfacht skizziert, das mit einem **Prismenmonochromator** ausgerüstet zu den **dispersiven** Spektralapparaten gehört.

2

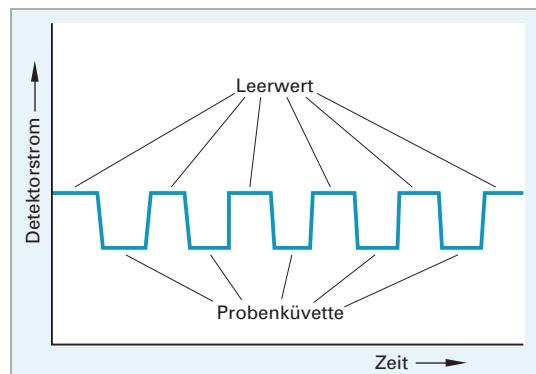


**Bild 1:** Dispersives Zweistrahlfotometer mit Prismenmonochromator

Das Gerät besitzt als Lichtquellen eine **Deuteriumlampe** für den UV-Bereich und eine **Halogenlampe** für den Vis-Bereich. Moderne Geräte sind mit einer kontinuierlich emittierenden **Xenonlampe** (vgl. S. 28) ausgestattet, die beide Spektralbereiche überdeckt, sodass ein Lampenwechsel entfällt. Über den Spiegel  $S_1$  und die Blende  $B_1$  gelangt das **polychromatische** Licht zum drehbar gelagerten Prisma, wo die Strahlung wellenlängenaufgelöst dispergiert wird. Die Blende  $B_2$  lässt nur den gewünschten Wellenlängenbereich durch. Dieser wird von einer rotierenden **Sektorspiegelblende (Chopper)** (s. **Bild 2**) abwechselnd durch die Leerprobenküvette ( $K_1$ ) und über den Spiegel  $S_2$  durch die Probenküvette ( $K_2$ ) geleitet. Von dort wird die Strahlung über den Spiegel  $S_3$  zu einer Photozelle als Detektor geleitet. Durch die Rotation des Choppers bedingt, gelangt auf den Detektor ein „Wechsellicht“. In der Photozelle entsteht dadurch ein Wechselstrom (**Bild 3**), dessen alternierende Größe von der Analytkonzentration in der Probenlösung abhängt.



**Bild 2:** Rotierende Sektorspiegelblende (Chopper)



**Bild 3:** Elektrisches Signal des Detektors

## 2.5 Funktion und Aufbau von Spektralapparaten

In dem Zweistrahlfotometer (Bild 1, S. 48) ist ein Bunsenscher Prismenmonochromator lediglich schematisch wiedergegeben. Wie aus dem nebenstehenden Bild 1 hervorgeht, ist der tatsächliche Aufbau etwas komplizierter. Vorab erzeugt der Eingangsspalt eine schmale rechteckige Abbildung der kontinuierlichen Strahlungsquelle. Da die Lichtstrahlen gemäß der Planckschen Strahlungsgleichung (s. Gl. 1.8, S. 18) nicht parallel verlaufen, folgt nach dem Spalt eine Kollimatorlinse zur Unterdrückung von Streustrahlung. Im Prisma wird das Licht in die einzelnen Wellenlängenbereiche zerlegt und passiert danach eine Fokussierlinse, wo es wellenlängenaufgelöst wieder gebündelt wird. Die Strahlung mit der Wellenlänge  $\lambda_1$  in Bild 1 passiert den Ausgangsspalt und gelangt danach in die Kuvette. Hervorzuheben ist, dass in einem Prisma kurzwelliges blaues Licht stärker als rotes gebrochen wird, sodass  $\lambda_2 > \lambda_1$  ist.

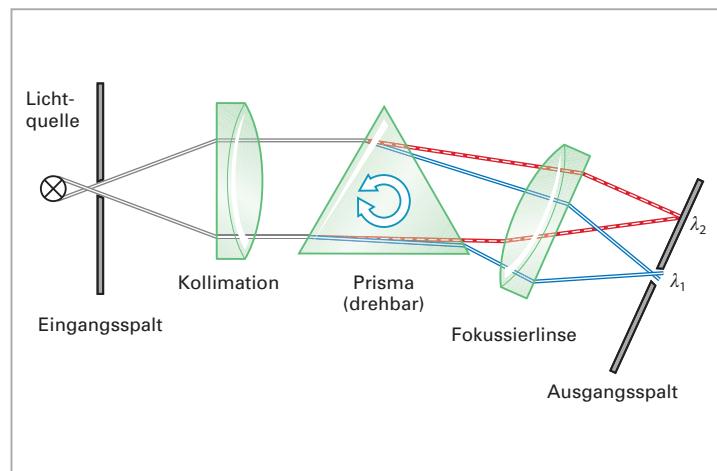


Bild 1: **Bunsenscher Prismenmonochromator**

Ein Monochromator besteht aus einem Eingangs- und Ausgangsspalt, einer Einrichtung zur Zerlegung der elektromagnetischen Strahlung (Dispersionselement) sowie einer Kollimations- und einer Fokussivvorrichtung. Die Wellenlänge der Strahlung, die den Ausgangsspalt verlässt, wird durch Drehen des Dispersionselementes kontinuierlich verändert. Die Breite des Ausgangsspaltes entscheidet über die Auflösung des Spektralapparats.

Während die meisten dispersiven Spektralapparate früher mit Prismen ausrüstet waren, baut man heutzutage in kommerzielle Geräte meist **Gittermonochromatoren** ein. Diese sind, durch die moderne Lasertechnik bedingt, billiger herzustellen als Prismenmonochromatoren und bieten neben einer höheren Auflösung (Wellenlängenauf trennung) einen wesentlich verbesserten Lichtdurchsatz. Im Bild 2 wird die durch den Eintrittsspalt gelangende Strahlung zunächst durch einen konkaven Kollimatorspiegel parallel ausgerichtet und dann durch ein drehbares Reflexionsgitter zerlegt. Ein weiterer Hohlspiegel bündelt die Strahlung wellenlängenabhängig. Welcher Wellenlängenbereich den Ausgangsspalt passiert und anschließend durch die Kuvette geht, hängt von der Stellung des drehbaren Gitters ab. Während in einem Prisma die kurzwelligere Strahlung (z. B. blaues Licht) stärker gebrochen wird, wird dieselbe Strahlung durch ein Gitter schwächer gebogen. Weil sich beide Fälle also genau umgekehrt zueinander verhalten, ist sowohl im Bild 1 als auch im Bild 2 die Wellenlänge  $\lambda_2$  größer als  $\lambda_1$ .

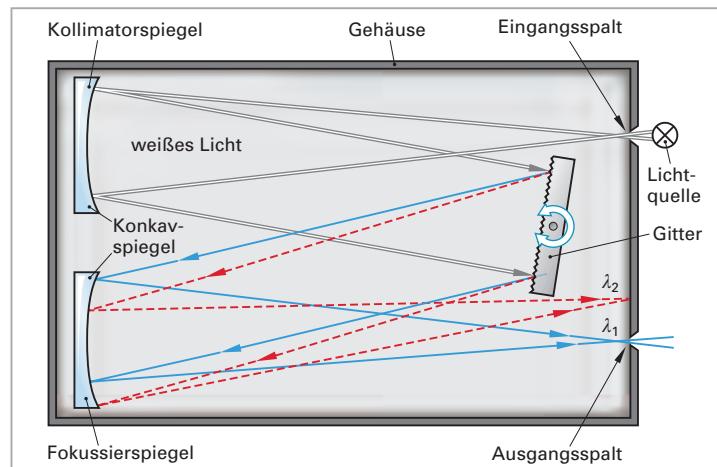


Bild 2: **Gittermonochromator nach Czerny-Turner**

## 2.5.1 Das Auflösungsvermögen dispersiver Spektralapparate

Neben der **Breite des Monochromatorausgangsspalts** entscheidet die **Wahl des Dispersionselement**s über das Auflösungsvermögen. Beim Prisma kommt die Zerlegung weißen Mischlichts dadurch zustande, dass das Material für jede Spektralfarbe einen anderen **Brechungsindex** besitzt. So beträgt dieser beim Flintglas für Dunkelrot ( $\lambda = 760,8 \text{ nm}$ )  $n = 1,603$  und für Violett ( $\lambda = 396,8 \text{ nm}$ )  $n = 1,645$ . Folglich wird in einem Prisma kurzwelliges Licht stärker gebrochen als langwelligeres (s. **Bild 1**). Bei einem Gitter kommt es durch Beugung und Interferenz zur Zerlegung des polychromatischen Lichts (s. a. Lehrbücher der Physik). Dabei wird, wie im **Bild 2a** und **2b** veranschaulicht, das kurzwelligere blaue Licht schwächer abgelenkt als das langwelligere rote Licht. Außerdem erhält man mehrere Spektren, wobei die höherer Ordnung ( $m > 1$ ) stärker aufgelöst sind (breitere Farbbänder im **Bild 2c**). Eigentlich überlagern sich die Spektren unterschiedlicher Ordnung. Der besseren Unterscheidbarkeit halber sind sie versetzt gezeichnet.

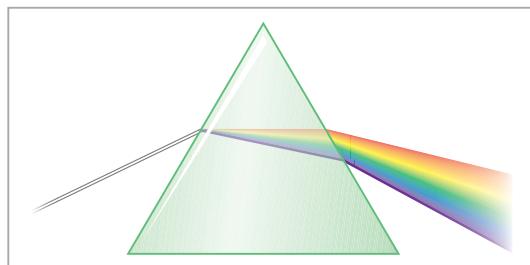


Bild 1: Dispersion des Lichts beim Prisma

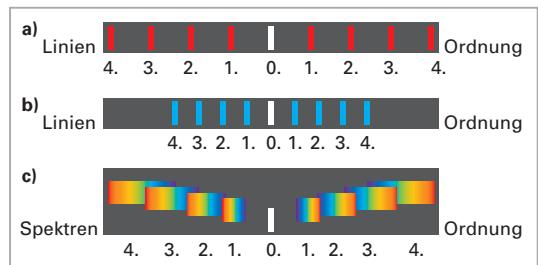


Bild 2: Dispersion (Beugung) des Lichts beim Gitter

Das **Auflösungsvermögen  $R$**  ist in der Spektroskopie definiert als das Verhältnis der **Wellenlänge  $\lambda$**  zum zugehörigen **kleinsten auflösbaren Wellenlängenabstand  $\delta\lambda$** :

$$R = \frac{\lambda}{\delta\lambda}$$

$$\begin{array}{c|c|c} R & \lambda & \delta\lambda \\ \hline 1 & m & m \end{array}$$

Gl. 2.4

Gibt man die **Dispersion** als  $\Delta n / \Delta \lambda$  und die **Basisbreite** des Glaskörpers mit  $b$  an, so gilt für das Auflösungsvermögen beim Prisma:

$$R = \frac{\lambda}{\delta\lambda} = b \cdot \frac{\Delta n}{\Delta \lambda}$$

$$\begin{array}{c|c|c|c|c|c} R & \lambda & \delta\lambda & b & \Delta n & \Delta \lambda \\ \hline 1 & m & m & m & 1 & m \end{array}$$

Gl. 2.5

Wie aus dem **Bild 2c** hervorgeht, sind beim Gitter Spektren höherer Ordnung stärker aufgelöst als solche niedrigerer Ordnung ( $m$ ). Deshalb wird diese Größe neben der **Anzahl der nutzbaren Perioden** („**Strichzahl**“)  $N_r$  bei der Berechnung der Auflösung des Gitters berücksichtigt:

$$R = \frac{\lambda}{\delta\lambda} = m \cdot N_r$$

$$\begin{array}{c|c|c|c|c} R & \lambda & \delta\lambda & m & N_r \\ \hline 1 & m & m & 1 & 1 \end{array}$$

Gl. 2.6

### M 2.6

Wie groß ist die kleinste unterscheidbare Wellenlänge  $\delta\lambda$  eines Spektrometers bei der Wellenlänge  $\lambda = 556 \text{ nm}$ , wenn die Anzahl der nutzbaren Perioden des Gitters  $N_r = 90\,000$  beträgt und ein Spektrum 2. Ordnung verwendet wird?

Lösung: Umstellen von Gl. 2.6 nach  $\delta\lambda$ :

$$\delta\lambda = \frac{\lambda}{m \cdot N_r} = \frac{556 \text{ nm}}{2 \cdot 90\,000} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ nm}$$

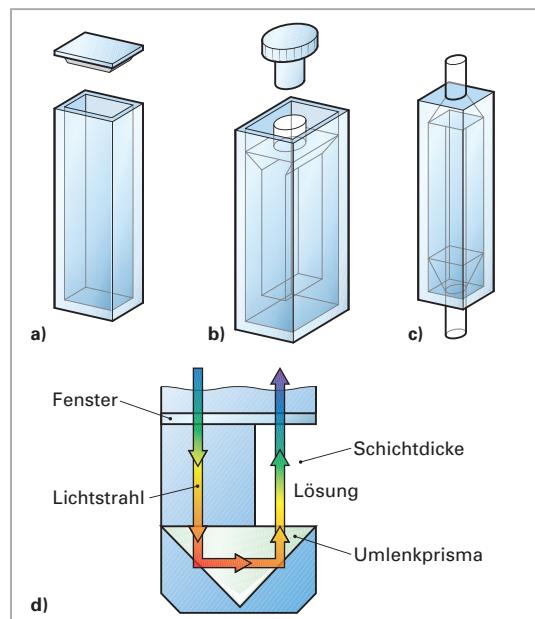
## 2.6 Küvetten und Lösemittel

Der Begriff „Küvette“ stammt aus dem Französischen und bedeutet wörtlich übersetzt Waschschüssel. In der instrumentellen Analytik sind damit planparallele, quaderförmige zweiseitig polierte Behälter gemeint. Das Licht geht durch die gegenüberliegenden klaren Fenster, die nicht mit den Fingern angefasst werden dürfen, um zusätzliche Absorptionen durch Verschmutzung zu vermeiden.

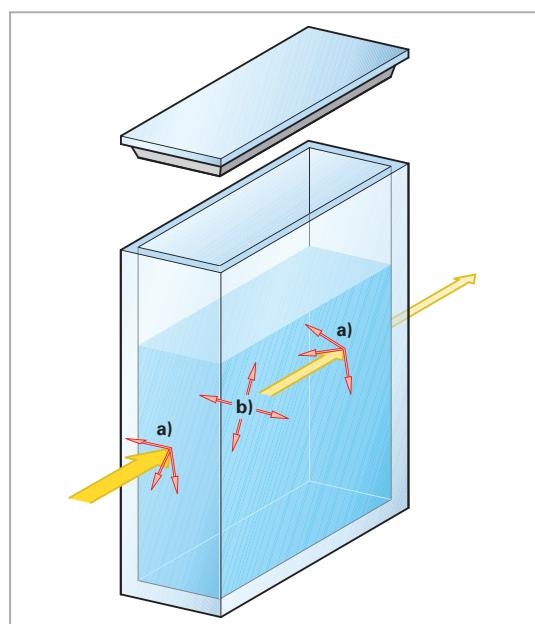
**Standard-Rechteck-Küvetten** werden mit Schichtdicken von 1 mm bis 100 mm und Volumina von 0,4 mL bis 35,0 mL angeboten (**Bild 1a**). Die meist verwendeten besitzen eine Schichtdicke von 10 mm. Die externe Höhe variiert von 45 mm bis 100 mm. **Mikro-Spektrometer-Küvetten** (**Bild 1b**) haben eine verstärkte Wandung, sodass das Volumen entsprechend minimiert wird. Von besonderer Bedeutung sind **Durchflussküvetten** (**Bild 1c**), die eine kontinuierliche Online-Messung erlauben und hauptsächlich in der Chromatographie eingesetzt werden. Besondere Bauarten für die HPLC (s. Kap. 8.16.3) besitzen ein Volumen von 1 bis 10  $\mu$ L bei einer Lichtweglänge von 2 bis 10 mm. Eine Besonderheit ist die in **Bild 1d** dargestellte **Tauchsonde**, bei der die Messung durch Eintauchen in die Flüssigkeit erfolgt.

Trotz aller Maßnahmen (planparallele Wandung, polierte Flächen) kommt es zu unvermeidbaren Strahlungsverlusten, die nicht nur auf der Eigenabsorption des Lösemittels und der verwendeten Reagenzien beruhen. Wie in **Bild 2** dargestellt, handelt es sich dabei hauptsächlich um a) Reflexions- und b) Streuverluste. Letztere werden von winzigen Partikeln in der Lösung verursacht. Reflexionsverluste entstehen an den Grenzflächen (Übergang von Luft in Glas, von Glas in die Lösung, von der Lösung in das Glas und schließlich wieder vom Glas in die Luft). Auf diese Art und Weise verliert ein gelber Lichtstrahl beim Durchqueren einer mit Wasser gefüllten Küvette etwa 8,5 % seiner eintretenden Strahlungsleistung  $\Phi_0$ .

Von entscheidender Bedeutung ist die Auswahl der richtigen Küvettenmaterialien, von denen einige in **Tabelle 2d** aufgelistet sind.



**Bild 1:** a) Standard-Rechteck-Küvette; b) Mikro-Spektrometer-Küvette; c) Durchflussküvette; d) Tauchsonde (Tauchküvette)



**Bild 2:** Verluste durch a) Reflexion und b) Streuung

**Tabelle 2d: Küvettenmaterialien**

| Material                      | CsI            | KBr            | NaCl           | CaF <sub>2</sub> | LiF           | Kunststoff    | Glas          | Quarz         |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Durchlässigkeitsbereich in nm | 160 ... 55 000 | 210 ... 38 000 | 200 ... 16 000 | 130 ... 9 000    | 120 ... 7 000 | 220 ... 9 000 | 350 ... 3 000 | 180 ... 3 500 |

Cäsiumiodid, Kaliumbromid, Natriumchlorid, Calciumfluorid, Lithiumchlorid werden in der UV/Vis-Spektroskopie kaum verwendet, dafür haben die Materialien große Bedeutung in der IR-Spektroskopie. Weil Kunststoffküvetten besonders preiswert sind und den meisten Ansprüchen genügen, haben diese heutzutage die Glasküvette vielfach verdrängt. Für Messungen im UV-Bereich sind sie allerdings weniger geeignet. Hierfür werden Quarzküvetten benötigt.

Die Eigenabsorption der verwendeten Lösemittel sollte möglichst gering sein. Dies ist bei aromatischen Lösemitteln wie Toluol im UV-Bereich unterhalb von ca. 300 nm nicht gegeben. Andererseits genügt für sehr viele Anwendungen Wasser, das erst unter 240 nm nennenswert absorbiert. Um die Eignung eines Lösemittels für den UV-Bereich abzuschätzen, vergleicht man seine Absorption mit der des Wassers. Dabei wird als **untere Wellenlänge** diejenige festgelegt, bei der eine 1 cm dicke Schicht die Extinktion von  $A = 1$  besitzt. In der **Tabelle 2e** sind einige gebräuchliche Lösemittel mit ihren unteren Wellenlängen angegeben.

**Tabelle 2e: Lösemittel für die UV/Vis-Spektrometrie**

| Lösemittel               | n-Pentan | Acetonitril | Ethanol | Methanol | Cyclohexan | Dichlormethan | Ethyl-ethanoat |
|--------------------------|----------|-------------|---------|----------|------------|---------------|----------------|
| Untere Wellenlänge in nm | 190      | 191         | 200     | 205      | 205        | 232           | 255            |

## 2.7 Detektoren in der UV/Vis-Spektrometrie

Während beim historischen Kolorimeter nach *Dubosq* noch das Auge als Detektor (Messbereich ca. 420 nm bis 750 nm) infrage kommt, genügt dies modernen Ansprüchen bei weitem nicht. Auch die früher verwendeten Fotoplatten oder fotografischen Filme finden keine Anwendung mehr. Die heute in der instrumentellen Analytik eingesetzten Detektoren liefern üblicherweise elektrische Ausgangssignale, wobei ein idealer Detektor folgende Eigenschaften haben sollte:

- hohe **Empfindlichkeit**  $s = Y / X$  ( $Y$ : **Detektorausgangsgröße**,  $X$ : **Detektoreingangsgröße**)
- konstante Ansprechempfindlichkeit über einen weiten Wellenlängenbereich,
- großes Signal-/Rauschverhältnis ( $S/N$  = Signal-to-Noise-Ratio).

Außerdem soll das elektrische Signal ( $S$ ) proportional zur auftreffenden Strahlungsleistung  $\Phi_e$  sein:

$$S = k \cdot \Phi_e$$

|                   |                       |               |
|-------------------|-----------------------|---------------|
| $S$<br>mV oder mA | $k$<br>mV/W oder mA/W | $\Phi_e$<br>W |
|-------------------|-----------------------|---------------|

**Gl. 2.7**

Die Größe  $k$  in Gl. 2.7 ist nach IUPAC die **Kalibrierungsempfindlichkeit**.

Detektoren reagieren auf Eingangsgrößen ( $X$ ) wie z. B. den Lichtstrom  $\Phi_v$  in lm. Da die von ihnen gelieferten **absoluten** elektrischen Ausgangsgrößen ( $Y$ ) wie  $U$  in mV oder  $I$  in mA zur Analytquantifizierung von untergeordneter Bedeutung sind, gibt man in der Instrumentellen Analytik und vor allem in der Chromatographie die **relative** Größe eines Signals ( $S$ ) bei Flächen in **Counts** (cts), ansonsten in **Units** oder **AU (Absorbance Units)** an.

Sieht man von den speziell zur Messung ionisierender Strahlung (Radioaktivität) genutzten Detektoren ab, so unterscheidet man bei den Strahlungsdetektoren:

- **Quantendetektoren**,
- **thermische Detektoren**.

Thermische Detektoren (z. B. Bolometer) spielen in der IR-Spektroskopie eine Rolle (vgl. Kap. 3.3.4). In der UV/Vis-Spektrometrie werden hauptsächlich **Quantendetektoren** eingesetzt, deren Messprinzip auf dem quantenmechanischen Fotoeffekt beruht. Einige dieser Detektoren basieren

**Bildern 1 bis 3** wiedergegebenen charakteristischen  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren. Besonders auffallend sind parasubstituierte Benzolderivate, bei denen, wie im **Bild 3** gezeigt, immer ein zweifaches Dublett gefunden wird.

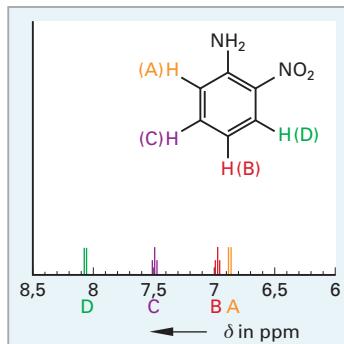


Bild 1:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 2-Nitroanilin

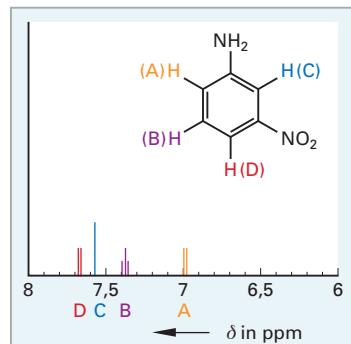


Bild 2:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 3-Nitroanilin

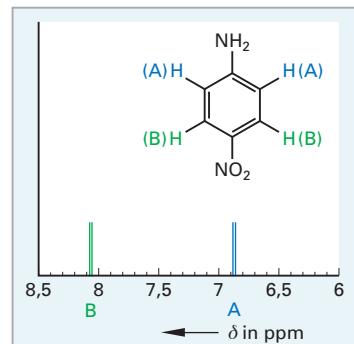


Bild 3:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 4-Nitroanilin

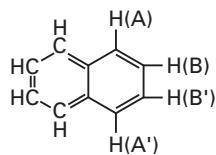
#### 5.4.4 Äquivalente Kerne und stereochemische Einflüsse

Bislang wurde allgemein von „äquivalenten“ Protonen gesprochen (Gl. 5.15 in Kap. 5.4.1). Tatsächlich ist zwischen chemisch und magnetisch äquivalenten Protonen zu unterscheiden.

5

Atomkerne sind **chemisch äquivalent**, wenn sie sich in gleicher chemischer Umgebung befinden und dieselbe chemische Verschiebung aufweisen. **Chemisch äquivalente** Kerne sind zusätzlich auch **magnetisch äquivalent**, wenn sie mit allen anderen resonanzfähigen Kernen in dem Molekül die gleiche Spin-Spin-Kopplung eingehen. Weil dies keineswegs immer der Fall ist, sind chemisch äquivalente Kerne nicht notwendigerweise auch magnetisch äquivalent.

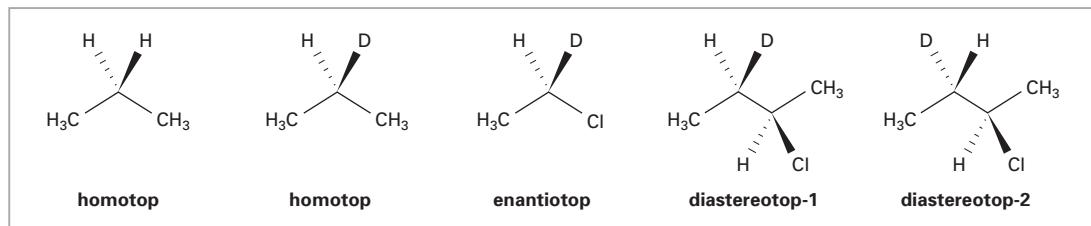
Kopplungen zwischen magnetisch äquivalenten Kernen untereinander sind im Spektrum nicht zu erkennen. Entscheidend für die Zuordnung der magnetischen und chemischen Äquivalenz ist, ob bei gleicher Resonanzfrequenz auch identische Spin-Spin-Kopplungen bestehen oder nicht. Beispielsweise sind die beiden Kerne H(A) und H(A') im Naphthalinmolekül chemisch äquivalent, weil sie sich in gleicher Umgebung befinden und bei gleicher Frequenz ( $\delta = 7,841$  ppm) absorbieren. Magnetisch sind sie nicht äquivalent, weil sie relativ zu dem Kern H(B) unterschiedlich angeordnet sind und deshalb verschieden mit ihm koppeln. Auch die bei 7,474 ppm absorbierenden Kerne H(B) und H(B') sind untereinander chemisch äquivalent. Da H(B) und H(B') mit den Kernen H(A) bzw. H(A') jeweils anders koppeln, sind sie magnetisch nicht äquivalent.



Kerne, die unter den jeweiligen Untersuchungsbedingungen die gleiche Resonanzfrequenz aufweisen, werden als **isochron** bezeichnet. Dies trifft beispielsweise auf die Protonen H(A) und H(A') im Naphthalinmolekül zu. Die Kerne H(A) und H(B) besitzen dagegen verschiedene Resonanzfrequenzen und sind deshalb **anisochron**. Grundsätzlich sind Kerne dann magnetisch äquivalent, wenn sie unter den gegebenen experimentellen Bedingungen isochron sind und ihre Kopplungskonstanten zu jedem beliebigen weiteren Kern jeweils gleich groß sind.

## 5.4 NMR-Spektren

Prinzipiell ist die NMR-Spektroskopie eine achirale Methode und kann deshalb Enantiomere nicht unterscheiden. Dennoch wird die Zahl der in einem Spektrum auftretenden Kernresonanzsignale durch die **Symmetrie** des untersuchten Moleküls bestimmt. Dabei unterscheidet man **homotope**, **enantiotope** (spiegelbildliche chemische Umgebung) und **diastereotope** Protonen. Das Prinzip wird erkennbar, wenn wie im **Bild 1** illustriert, bei bestimmten Molekülen ein Proton durch ein Deuterium (D) ersetzt wird. Bei einer Methylengruppe ( $\text{CH}_2$ ) ergeben sich folgende Möglichkeiten:

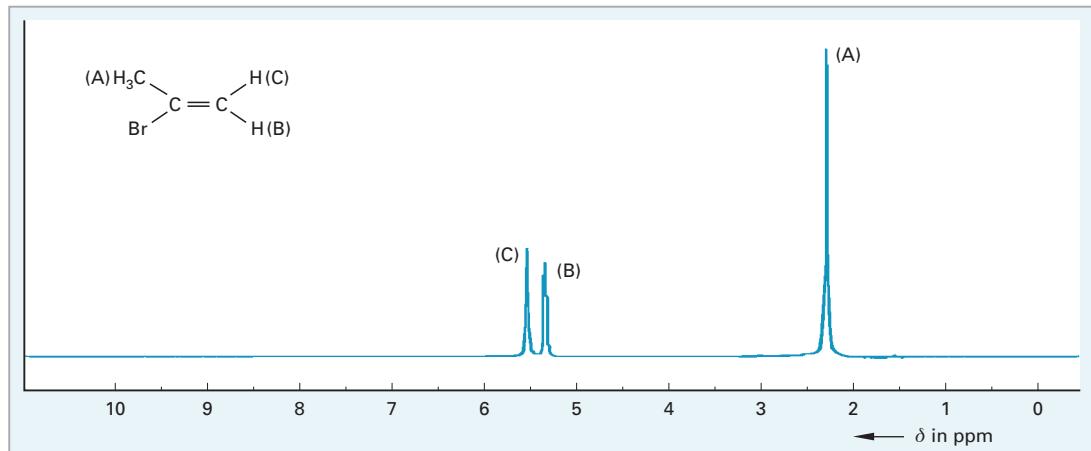


**Bild 1: Homotope, enantiotope und diastereotope Methylengruppen**

Allgemein besitzen **homotope** Gruppen ***n*-zählige Drehachsen ( $\text{C}_n$ )** und können durch eine Drehung um  $360^\circ/n$  in sich selbst überführt werden. Der einfachste Fall im **Bild 1** ist das nicht-deuterierte Propan (linke Formel in **Bild 1**). Es besitzt eine zweizählige Drehachse ( $\text{C}_2$ ) und kann durch eine Drehung um  $360^\circ/2 = 180^\circ$  in sich selbst überführt werden. Das daneben stehende deuterierte Propan besitzt eine einzählige Drehachse ( $\text{C}_1$ ) und ist deshalb ebenfalls **homotop**. **Enantiotope** Gruppen sind mittels einer **Drehspiegelung** zur Deckung zu bringen. Dies trifft auf das deuterierte Ethylchlorid (dritte Formel von links in **Bild 1**) zu. Es hat vier verschiedene Liganden und entspricht dem in der **Stereochemie** allgemein verwendeten Begriff der **enantiomeren Moleküle**. **Diastereotope** Gruppen, wie die deuterierte Methylengruppe in **Bild 1**, sind durch keine Symmetrieeoperationen zur Deckung zu bringen. Damit ergibt sich die folgende Regel:

**Homotope Protonen** sind sowohl chemisch als auch magnetisch äquivalent und ergeben ein Signal. **Enantiotope Protonen** verhalten sich unterschiedlich. In achiralen Lösungsmitteln ergeben sie ein Signal. In chiralen Lösungsmitteln gehen Moleküle mit enantiotopen Protonen eine Wechselwirkung mit dem Solvens ein und präsentieren zwei  $^1\text{H}$ -NMR-Signale. **Diastereotope Protonen** sind chemisch nicht äquivalent und ergeben deshalb mindest zwei Signale.

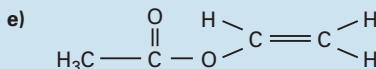
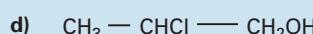
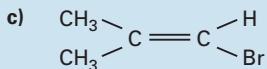
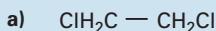
Besonders eingängig wird das Prinzip der **diastereotopen** Protonen, wenn man ungesättigte Verbindungen wie 2-Brompropen untersucht. Die beiden enantiotopen Protonen der Verbindung im **Bild 1** absorbieren bei 5,346 ppm [H(B)] und bei 5,540 ppm [H(C)].



**Bild 2:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von 2-Brompropen mit zwei diastereotopen Protonen**

M 5.10

Wie viele Absorptionssignale sind bei den folgenden Verbindungen ohne Berücksichtigung der Aufspaltung durch Spin-Spin-Kopplung zu erwarten?

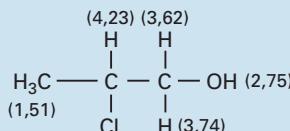


Lösung: a) Die  $\text{CH}_2$ -Gruppen sind chemisch äquivalent und ergeben nur ein Signal bei 3.73 ppm.

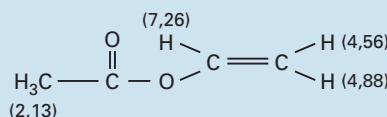
b) Die  $\text{CH}_3$ -Gruppe und die beiden  $\text{CH}_2$ -Gruppen sind chemisch nicht äquivalent. Das Proton der OH-Gruppe ergibt ein eigenes Resonanzsignal. Deshalb sind vier Signale zu erwarten:  $\delta(\text{OH}) = 2,26$ ;  $\delta(\text{CH}_3) = 0,94 \text{ ppm}$ ;  $\delta(\text{CH}_2) = 1,57 \text{ ppm}$ ;  $\delta(\text{CH}_2) = 3,58 \text{ ppm}$

c) Es handelt sich um eine Verbindung mit diastereotopen Protonen. Deshalb sind drei Signale zu erwarten, wobei sich die Resonanzfrequenzen der beiden  $\text{CH}_3$ -Gruppen nur geringfügig unterscheiden:  $\delta(\text{CH}_3) = 1,78 \text{ ppm}$ ;  $\delta(\text{CH}_3) = 1,75 \text{ ppm}$ ;  $\delta(\text{H}) = 5,76 \text{ ppm}$

d) Die Verbindung besitzt vier diastereotope Protonen. Deshalb sind einschließlich der OH-Gruppe fünf Signale zu erwarten (die chemische Verschiebung steht neben den Protonen):

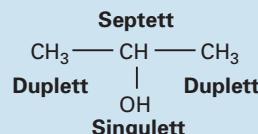
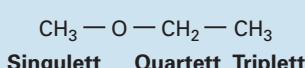


e) Die Verbindung Vinylacetat hat vier diastereotope Protonen (die chemische Verschiebung steht neben den Protonen):



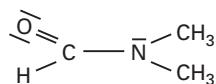
## M 5.11

Welche Multiplettaufspaltung ist für Methylmethylether und welche für 2-Propanol zu erwarten?  
Lösung:

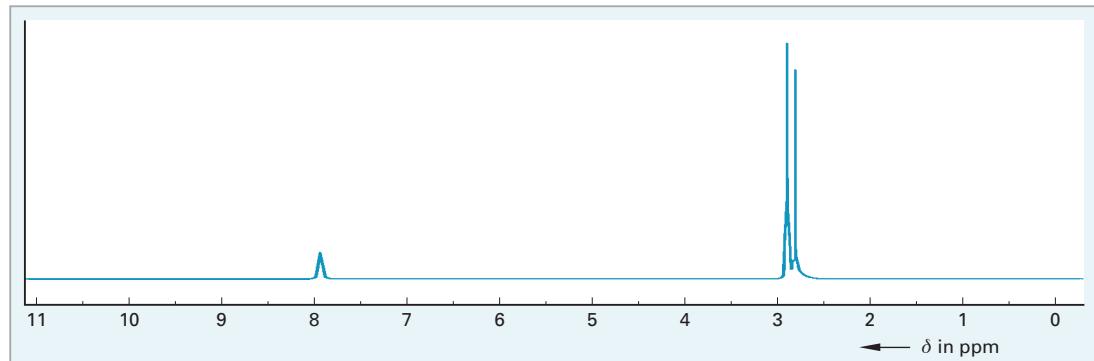


## 5.4 NMR-Spektren

Ein interessanter Fall ist das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des N,N-Dimethylformamids (DMF):



Aufgrund der Strukturformel erwartet man ein Singulett für die beiden Methylgruppen und ein weiteres Singulett um 9 ppm für das Proton an der Formylgruppe. Tatsächlich findet man, wie aus dem Spektrum im **Bild 1** hergeht, ein Singulett bei 2,970 ppm und ein weiteres bei 2,883 ppm. Das Proton der Formylgruppe ist etwas stärker abgeschirmt und erscheint bei 8,019 ppm statt bei 9 ppm.



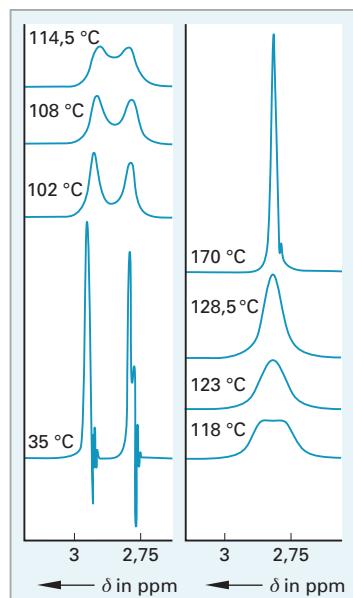
**Bild 1:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von N,N-Dimethylformamid (DMF)

Die Erklärung für diesen Befund liefert die Betrachtung der mesomeren Grenzstrukturen:



Demnach ist die freie Drehbarkeit um die C-N-Bindung durch einen „partiellen Doppelbindungscharakter“ etwas eingeschränkt. Eine Eigenschaft, welche die Verbindung mit den Peptiden gemeinsam hat. Die Folge ist, dass beide Methylgruppen **chemisch nicht äquivalent** sind. Sie verhalten sich vielmehr **diastereotop**, wodurch die zu erwartende Entartung aufgehoben ist und die Protonen bei unterschiedlichen Frequenzen absorbieren.

Erhöht man die Temperatur, kommt es aufgrund der gestiegenen kinetischen Energie und der damit verbundenen Kollisionen zur Rotation um die C-N-Bindung:



**Bild 2:** Temperaturabhängigkeit des  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrums des DMF

Wie aus dem **Bild 2** hervorgeht, entarten die  $^1\text{H}$ -NMR-Signale der beiden Methylgruppen bei Temperaturerhöhung und präsentieren ab dem sogenannten **Koaleszenz-Punkt** ein Signal. Die Auswertung der Temperaturabhängigkeit ergibt für die Rotation um die C-N-Achse eine Energiebarriere von  $\Delta H \approx 90 \text{ kJ/mol}$ .

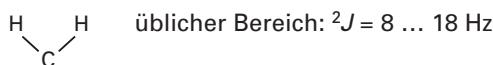
## 5.4.5 Skalare Kopplungsmöglichkeiten und NMR-Spektrenordnung

Ein NMR-Spektrum wird ganz entscheidend von den unterschiedlichen Kopplungsmöglichkeiten zwischen den NMR-aktiven Kernen geprägt.

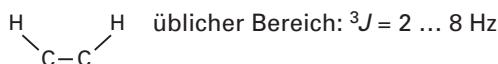
Zur Beschreibung der Kommunikation der Kerne über Atombindungen hinweg gibt es eine eigene Nomenklatur. Die **Zahl der koppelnden Bindungen** wird mit  $n$  angegeben und als Exponent dem Symbol der **Kopplungskonstanten (J)** vorangestellt (allgemein formuliert:  $nJ$ ).

Folgende Fälle sind von Bedeutung:

- Die  $^1J$ -Kopplung entspricht der direkten Kopplung zweier miteinander verbundener Kerne (z. B. H-H). Sie spielt in der  $^1H$ -NMR-Spektroskopie keine Rolle, ist aber in der  $^{13}C$ -NMR-Spektroskopie von großer Bedeutung, wo C-H-Kopplungen beobachtet werden.
- Die relativ seltene  $^2J$ -Kopplung wird auch als **geminale Kopplung** bezeichnet.



- Die  $^3J$ -Kopplung entspricht der im Kapitel 4.4.1 beschriebenen Spin-Spin-Kopplung. Sie ist der wichtigste Kopplungstyp in der  $^1H$ -NMR-Spektroskopie. Obwohl sie über drei Bindungen hinweg geht, wird sie etwas irreführend als **vicinale Kopplung** bezeichnet (lat. vicinus, Nachbar).



Höhere Kopplungen über mehr als drei Bindungen hinweg ( $^4J$ ,  $^5J$  usw.) werden als **Fernkopplungen** bzw. als **Long-Range Kopplungen** bezeichnet. Sie sind meist vernachlässigbar außer bei einigen speziellen Systemen.

Obwohl man es aus gutem Grund annehmen könnte, werden in folgenden Fällen **keine** Kopplungen beobachtet:

- Bei magnetisch äquivalenten Kernen, die zufällig oder aufgrund der Symmetrie (z. B. homotope Protonen) identische chemische Verschiebungen ( $\delta$ ) aufweisen
- Über Etherbrücken (-O-) hinweg
- Über quartäre C-Atome hinweg
- Von Aromatenprotonen ausgehend in die Seitenkette hinein
- Über Carbonylgruppen (C=O) hinweg
- Wenn austauschende Protonen vorliegen wie beispielsweise bei den funktionellen Gruppen -COOH, -NH<sub>2</sub> und -OH
- Bei Halogenen, die weder mit  $^1H$  noch mit  $^{13}C$  koppeln (Ausnahme:  $^{19}F$ )

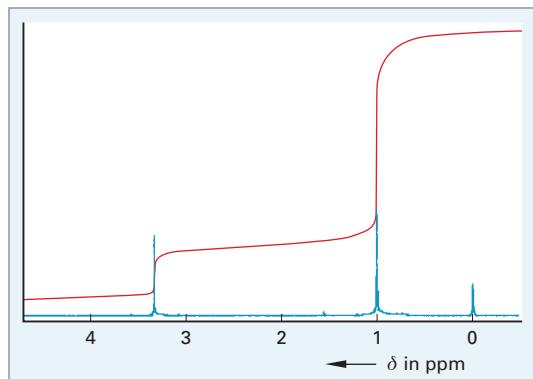


Bild 1:  $^1H$ -NMR-Spektrum von 1-Chlor-2,2-dimethylpropan

Die **Ordnung** eines  $^1H$ -NMR-Spektrums hängt entscheidend von der **Multiplettaufspaltung** und von dem Betrag der damit einhergehenden **Kopplungskonstanten** ab. Die einfachsten Spektren sind solche **nullter Ordnung** (0. Ordnung). Sie bestehen nur aus Singulett-Signalen.

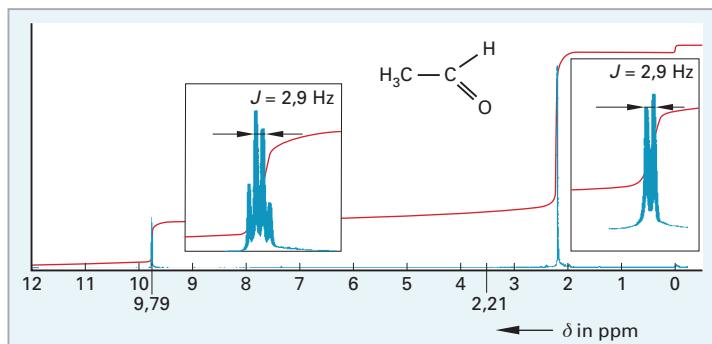
Das  $^1H$ -NMR-Spektrum von 1-Chlor-2,2-dimethylpropan in Bild 1 ist ein solches Spektrum nullter Ordnung. Das Singulett bei  $\delta = 1,02 \text{ ppm}$  stammt von den neun Protonen der tert. Butylgruppe und das bei  $\delta = 3,32 \text{ ppm}$  von den zwei Protonen der Methylengruppe.

## 5.4 NMR-Spektren

Unterscheiden sich die chemischen Verschiebungen nur geringfügig, werden die Spektren zunehmend unübersichtlicher. Deshalb ordnet man sie danach, wie nahe beieinander die beobachteten Resonanzsignale liegen. Zur Vorbeugung von Missverständnissen ist an dieser Stelle hervorzuheben, dass mit „X“ und „Y“ nicht, wie in der organischen Chemie üblich, ein Halogen oder ein beliebiger Substituent gemeint ist. Vielmehr werden mit „X“ und „Y“ Protonen gekennzeichnet, deren Resonanzsignale weiter von denen der A-, B-... Protonen entfernt liegen. Allerdings kann X auch für  $^{13}\text{C}$  stehen. Darauf basiert folgende **Spektren-Nomenklatur**:

Protonen, die **stark gekoppelt** sind, unterscheiden sich in der **chemischen Verschiebung** nur geringfügig. Man bezeichnet sie als A-, B-, C-Protonen (**AB-Systeme**). Bei größeren Unterschieden der **chemischen Verschiebung** verwendet man im Alphabet weiter auseinander liegende Buchstaben. Die Kopplung von A-, B- oder C-Protonen mit X-, Y- und Z-Protonen werden allgemein als **AX-Systeme** charakterisiert. **A-Kernen** ordnet man im Spektrum meist die kleinere und **X-Kernen** die größere chemische Verschiebung zu. Koppelnde Spinsysteme, an denen „m“ **isochrome Kerne** A und „n“ **chemisch und magnetisch äquivalente Kerne** X beteiligt sind, werden bei größeren Frequenzunterschieden als  **$\text{A}_m\text{X}_n$ -System** bezeichnet. Bei näher beieinander liegenden chemischen Verschiebungen spricht man von  **$\text{A}_m\text{M}_n$ -** und bei noch geringeren Frequenzunterschieden von  **$\text{A}_m\text{B}_n$ -Systemen**. Die Übergänge sind fließend!

Die Ethylgruppe ( $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ ) im Spektrum des Ethansäureethylesters (Bild 1, S. 184) ist beispielsweise ein typisches  $\text{A}_2\text{X}_3$ -System. Ethanal, dessen  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum im **Bild 1** wiedergegeben ist, zählt zu den  $\text{AX}_3$ -Systemen. Das Signal des Protons (A) der Aldehydgruppe ( $\delta = 9,79$  ppm) wird durch die schwachen Felder der Protonen der Methylgruppe ( $\text{X}_3$ ) zu einem Quartett aufgespalten, während das einzelne Proton der CHO-Gruppe die Resonanzabsorption der  $\text{CH}_3$ -Gruppe bei  $\delta = 2,21$  ppm zu einem Dublett auftrennt. Die Kopplungskonstanten betragen  $J_{\text{AX}} = 2,9$  Hz.



**Bild 1:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Ethanal (Acetaldehyd) mit hervorgehobenen Multipletts

### M 5.12

Wie groß ist das Verhältnis der Resonanzfrequenzdifferenz zur Kopplungskonstanten  $J_{\text{AX}} = 2,9$  Hz im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des Ethanals, wenn mit einem 300-MHz-Spektrometer gemessen wurde?

Lösung: Die Differenz der chemischen Verschiebung beträgt lt. **Bild 1**  $\Delta\delta = (9,79 - 2,21)$  ppm = 7,58 ppm. Da bei einem 300 MHz-Spektrometer die chemischen Verschiebung von  $\delta = 1$  ppm einer Frequenz von 300 Hz entspricht, beträgt die Frequenzdifferenz  $\Delta\nu = \Delta\delta \cdot 300 \text{ Hz/ppm} = 7,58 \text{ ppm} \cdot 300 \text{ Hz/ppm} = 2274 \text{ Hz}$ . Das gesuchte Verhältnis ist  $\Delta\nu/J_{\text{AX}} = 2274 \text{ Hz}/2,9 \text{ Hz} = 784$

Ein Spektrum **erster Ordnung** (1. Ordnung) liegt vor, wenn die **Kopplungskonstante J** im Verhältnis zur **chemischen Verschiebungsdifferenz Δν** klein ist:  $\Delta\nu/J > 10$  bzw.  $\Delta\nu > 10 J$ . Es handelt sich in der Regel um einfache  $\text{A}_m\text{X}_n$ -Systeme oder auch um  $\text{A}_m\text{M}_n$ -Systeme mit einer  $^3J$ -Kopplung, bei der die **Multiplizität M** dem einfachen Gesetz  $M = n + 1$  gehorcht. Das Flächenintegral über den Multipletts entspricht dabei der relativen Protonanzahl.

**Chemisch äquivalente** Protonen, die aber **magnetisch nichtäquivalent** sind, werden durch Apostrophe gekennzeichnet. Je nach Zahl der koppelnden Protonen ergibt sich folgende Nomenklatur:

- Zweispinsysteme (z. B. AB-, AX-Systeme),
- Dreispinsysteme (z. B.  $\text{AX}_2$ -,  $\text{AB}_2$ -,  $\text{AK}_2$ -,  $\text{AMX}$ -,  $\text{ABX}$ -Systeme),
- Vierspinsysteme (z. B.  $\text{AA}'\text{XX}'$ - und  $\text{AA}'\text{BB}'$ -Systeme).

Bestimmend für die Einordnung ist letztendlich neben der Zahl der koppelnden Protonen die Frequenzdifferenz ( $\Delta\nu$ ) im Verhältnis zur Kopplungskonstanten  $J$ . Unterschieden werden:

- stark koppelnde AB-Systeme:  $\Delta\nu \approx 0,5 J$ ,
- mittelstark koppelnde  $\text{AK}_2$ -Systeme:  $\Delta\nu \approx 5 J$  und
- schwächer koppelnde AX-Systeme:  $\Delta\nu \geq 10 J$  (Spektren erster Ordnung).

Bei einem ABX-System koppelt das A-Proton mit dem B-Proton, aber auch mit dem X-Proton. Außerdem wird eine Kopplung zwischen dem B-Proton und dem X-Proton gefunden. Da aber immer nur die Kopplungen zweier Protonen miteinander verglichen werden, kennzeichnet man die Kopplungskonstanten dementsprechend:  $J_{AB}$ ,  $J_{AX}$  und  $J_{BX}$ .<sup>1</sup> Da sowohl A mit B und B mit A in Wechselwirkung tritt, gilt gleichzeitig  $J_{AB} = J_{BA}$ .

AA'-Protonen weisen unterschiedliche Kopplungen zu den anderen Kernen im Molekül auf. Dies ist z. B. beim unsubstituierten Naphthalinmolekül der Fall (vgl. S. 186). Bezeichnet man die Protonen H(A) mit A und H(B') mit A' sowie H(B) mit B und H(B') mit B', dann kann das Molekül als AA'BB'-System klassifiziert werden. Obwohl beim unsubstituierten Naphthalin die Protonen H(B) und H(B') in 1-Stellung stehen und beide bei 7,841 ppm absorbieren, sind sie, wie bereits hervorgehoben wurde, nicht **magnetisch äquivalent**. Deshalb ist  $J[(\text{H(A)}, \text{H(B)})] = J_{AB} = 8,3 \text{ Hz}$  und  $J[(\text{H(A')}, \text{H(B')})] = J_{A'B} = 1,2 \text{ Hz}$ .

5

Die **Multiplettaufspaltung** entsteht aus dem Zusammenspiel von **äußerem Feld  $B_0$** , **Abschirmung  $\sigma$**  sowie der  $\alpha$ - bzw. der  $\beta$ -Orientierung wechselwirkender Nachbarspins. Gegenüber der Resonanzfrequenz ohne Kopplung verursacht die Spin-Spin-Kopplung dadurch eine Verschiebung der **Larmor-Frequenzen** um  $+\frac{1}{2} J$  bzw.  $-\frac{1}{2} J$  (vgl. Bild 2, S. 178). Anschaulich kann die Kopplung, wie im **Bild 1** dargestellt, mithilfe von **Aufspaltungsdiagrammen** beschrieben werden. Bei dem  $\text{A}_2\text{X}$ -System des  $\text{ClCH}_2\text{-CHCl}_2$  wird das Signal der A-Protonen bei  $\delta(\text{A}) = 3,960 \text{ ppm}$  durch die  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Orientierung des X-Protons zweifach aufgespalten. Es resultiert ein **Dublett**.

Die baumartige Struktur der Triplettaufspaltung des X-Protonensignals bei  $\delta(\text{A}) = 5,762 \text{ ppm}$  in **Bild 1** entsteht, indem zunächst das erste der beiden A-Protonen das Signal des X-Protons zu einem Dublett aufspaltet. Nun kommt das zweite A-Proton ins Spiel. Dieses besitzt ebenfalls eine  $\alpha$ - bzw.  $\beta$ -Orientierung und spaltet das erste Dublett wiederum zu einem **Dublett** auf. Dadurch entsteht ein **Triplet** als Überschneidung von einem **Dublett** mit einem **Dublett**.

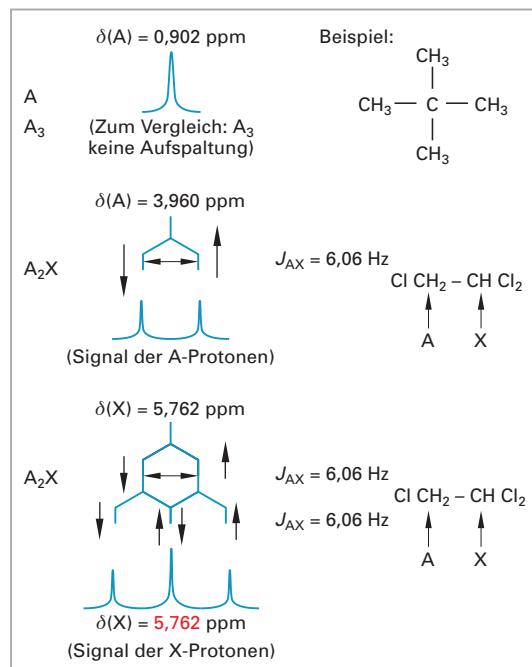


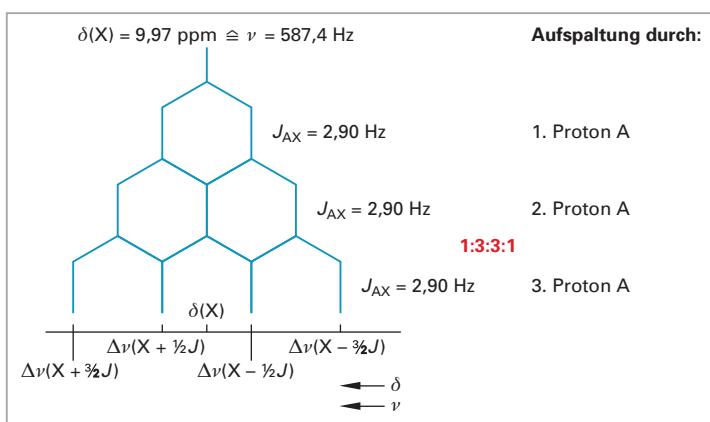
Bild 1: Aufspaltungsdiagramme eines  $\text{A}_2\text{X}$ -Systems

<sup>1</sup> Die Schreibweisen werden nicht einheitlich gebraucht. Gelegentlich findet man die koppelnden Kerne in Klammer gesetzt, beispielsweise  $J(\text{AB})$ , oder man schreibt in die Klammer die chemische Formel wie z. B.  $J(\text{C}_2\text{H}_5)$ . Ergänzend kann auch die Zahl der Bindungen, über die hinweg gekoppelt wird, hinzugefügt werden wie beispielsweise  $^3J(\text{C}_2\text{H}_5)$  oder  $^3J_{\text{AX}}$ .

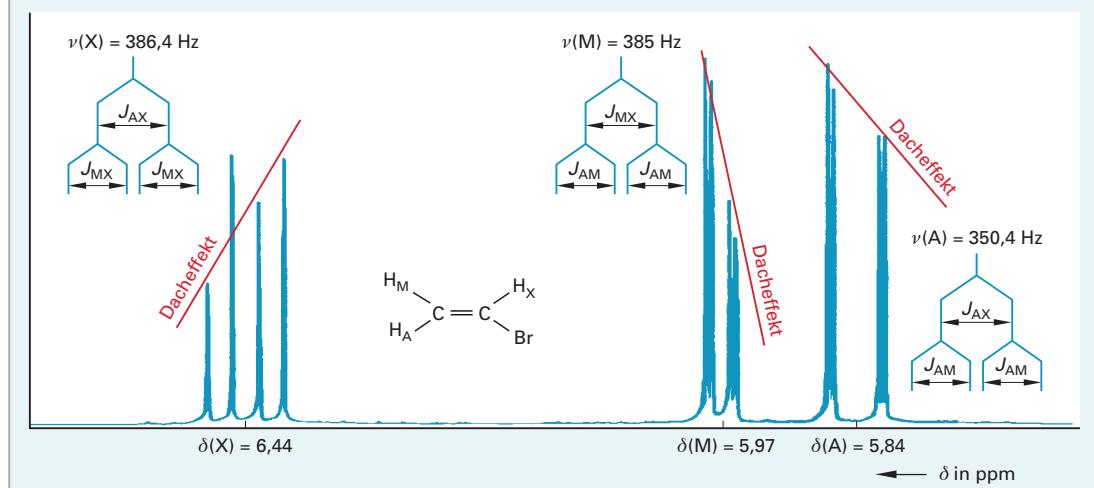
## 5.4 NMR-Spektren

Im Ergebnis resultiert durch die Spin-Spin-Kopplung je zusätzlich aufspaltendes Proton ein weiteres Dublett. So entsteht, wie aus dem **Bild 1** ersichtlich, das Quartettsignal des Aldehydprotons X von Ethanal bei  $\delta(X) = 9,79$  ppm (vgl. a. Bild 1, S. 191) infolge dreimaliger Dublettaufspaltung durch die drei A-Protonen der Methylgruppe. Im Gegensatz zur Triplettaufspaltung beim  $A_2X$ -Moleköl im Bild 1, S. 192, kann man das Grundsignal des Aldehydprotons bei 9,79 ppm im Aufspaltungsdiagramm nicht auf den ersten Blick identifizieren. Man erkennt lediglich die um Beträge von  $J_{AX}$  verschobenen Multipletts. Dies gilt allgemein: Bei gerader Multiplettanzahl (Dublett, Quartett usw.) liegt die Resonanzfrequenz bzw. die chemische Verschiebung des Protons zwischen den beiden mittleren Multipletts. Bei ungerader Anzahl der Multipletts (Triplet, Quintett usw.) entspricht das mittlere Signal dem Resonanzsignal ohne jegliche Aufspaltung.

Schwieriger wird es, wenn die Resonanzsignale der Kerne näher beieinander liegen, wie das im Spektrum der relativ einfachen Verbindung Vinylbromid im **Bild 2** der Fall ist. Es handelt sich um ein AMX-Spinsystem, wobei A die geringste, M die mittlere und X die höchste chemische Verschiebung aufweist. Gäbe es keinerlei Kopplung, wären drei Singulets zu erwarten. So aber koppelt der X-Kern mit dem A-Kern. Dadurch wird das Signal des X-Protons bei 6,44 ppm zunächst durch Kopplung mit dem A-Proton ( $J_{AX} = 14,94$  Hz) zu einem Dublett aufgespalten. Da das X-Proton aber auch mit dem M-Proton koppelt ( $J_{MX} = 7,12$  Hz), resultiert durch nochmalige Aufspaltung ein Quartett. Analog werden die Signale des A- und des M-Protons ebenfalls je zu einem Quartett aufgespalten, wobei als weitere Kopplungskonstante  $J_{AM} = -1,86$  Hz ins Spiel kommt.



**Bild 1:** Quartettaufspaltung des X-Protonensignals beim Ethanal  
(Frequenzangabe für 60 MHz-Spektrometer bei  $\delta(\text{TMS}) = 0$  Hz)<sup>1</sup>



**Bild 2:**  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Vinylbromid (Frequenzangabe für 60 MHz-Spektrometer bei  $\nu(\text{TMS}) = 0$  Hz)

<sup>1</sup> Da die Kopplungskonstanten  $J$  in Hz angegeben werden, ist die chemische Verschiebung ebenfalls in Hz anzugeben. Dabei muss beachtet werden, dass sich in den Beispielen die Angaben in Hz auf ein 60-MHz-Spektrometer beziehen, wobei das TMS-Signal mit  $\nu(\text{TMS}) = 0$  Hz gesetzt wurde. Bsp.:  $\nu(X) = 60\ 000\ 587,4$  Hz –  $60\ 000\ 000$  Hz = 587,4 Hz

Der im Bild 2, S. 193, rot gekennzeichnete **Dacheffekt** ist charakteristisch für den Übergang von Spektren **1. Ordnung** in Spektren **höherer Ordnung**. Beim Dacheffekt entsprechen die relativen Intensitäten der Multiplettsignale nicht mehr den Binomialkoeffizienten des **Pascalschen Dreiecks**.

Eine weitere Komplikation resultiert, wenn die **Kopplungskonstanten**  $J$  in der Größenordnung der **Verschiebungsdifferenzen** ( $\Delta\nu$ ) liegen. Dies führt zu einer starken Kopplung, bei der sich die einzelnen Multiplettsignale immer schwerer unterscheiden lassen. Wie aus dem **Bild 1** hervorgeht, kann bei einem AMX-System das Dublett (d) von einem Dublett (d) sogar zu einem **Pseudotriplett** (pt) verschmelzen, wenn die Kopplungskonstanten zufällig gleich groß sind:  $J_{MA} = J_{MX}$ .

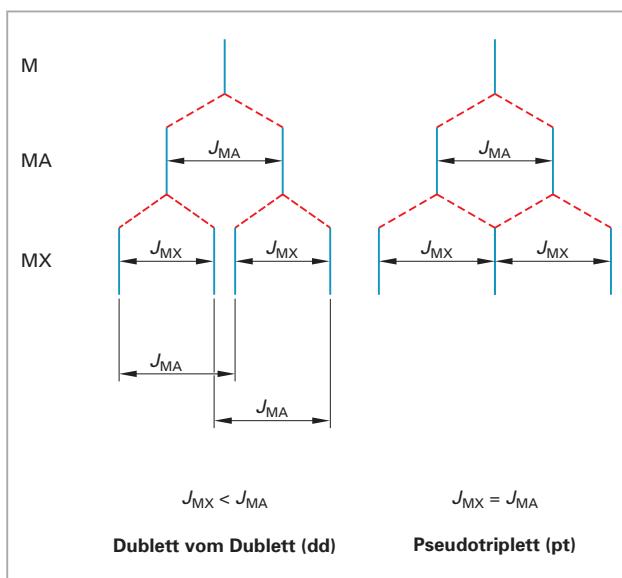


Bild 1: Doppeldublett und Pseudotriplett

## 5

**Pseudotriplets** werden häufig im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von aromatischen Verbindungen wie dem Benzonitril gefunden. Bei der Verbindung handelt es sich um ein AA'BB'C-System. Das berechnete Strichspektrum im **Bild 2a** entspricht einem Spektrum 1. Ordnung, bei denen die Protonen gemäß der  $n+1$ -Regel koppeln (vgl. Gl 5.15). Das gemessene  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum im **Bild 2b** belegt eindeutig, dass aber ein Spektrum höherer Ordnung vorliegt. Dem Integral gemäß stammt die Resonanz bei  $\delta = 7,6$  von 2 Protonen, nämlich von H(B) und H(B'), die mit H(A) bzw. H(A') und dem Proton H(C) koppeln. Die **Kopplungskonstanten** zwischen diesen Protonen betragen:  $J_{AB} = J_{BC} = J_{A'B'} = J_{B'C} = 7,5$  Hz. Entsprechend den **Aufspaltungsdiagrammen** von H(B) und H(B') bildet sich ein **Pseudotriplett**. Das Multiplett bei 7,7 ppm stammt von drei Protonen und ist noch komplexer. Die weitergehende Analyse des Spektrums soll an dieser Stelle nicht erfolgen, denn sie geht über den Rahmen eines einführenden Lehrbuchs in instrumenteller Analytik hinaus.

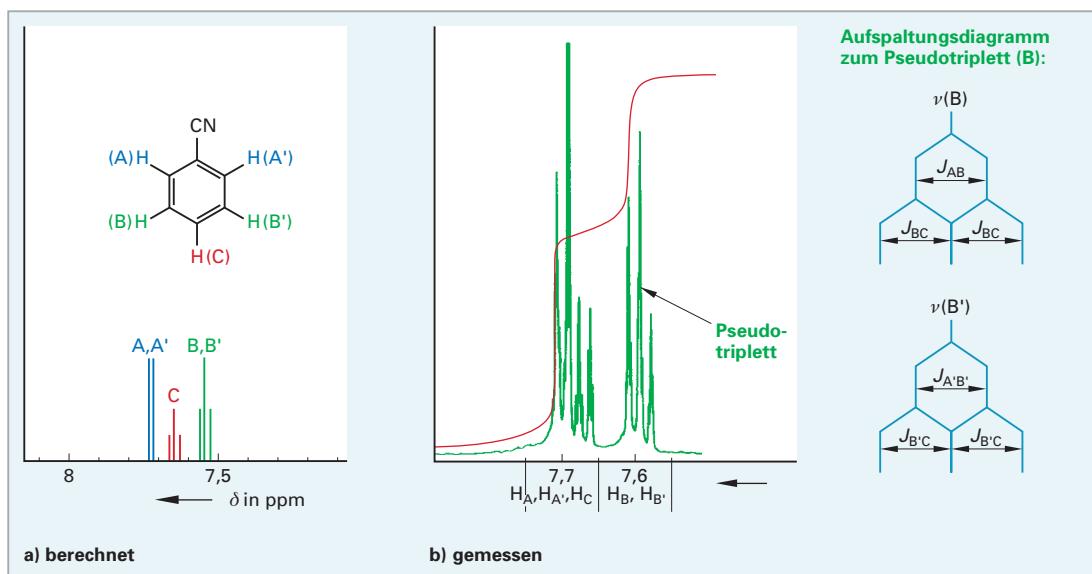


Bild 2:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum von Benzonitril mit Pseudotriplett

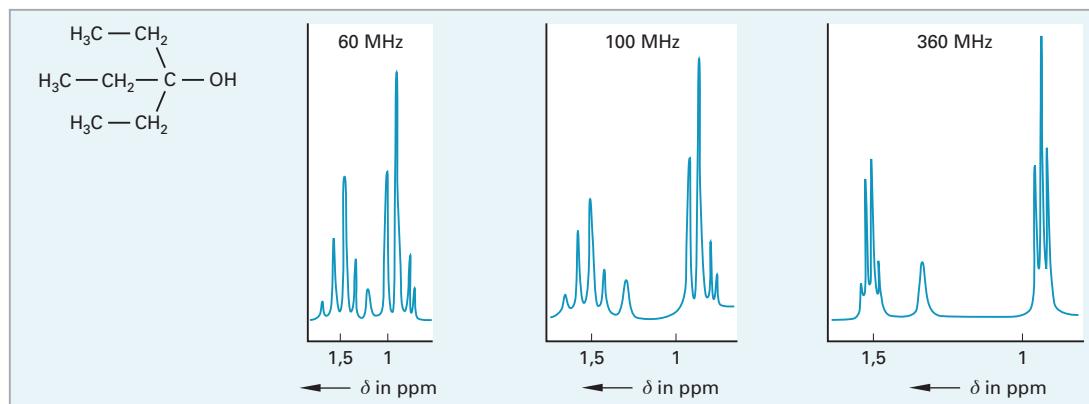
Bei  **$^1\text{H-NMR}$ -Spektren höherer Ordnung** beträgt  $\Delta\nu/J < 10$  bzw.  $\Delta\nu < 10 J$  und die Intensitäten der einzelnen Multiplettlinien gehorchen nicht der einfachen Binomialverteilung (Pascalsches Dreieck). Spektren dieser Art werden bei AB-,  $\text{AB}_2$ -, ABX-, AA'XX'-, AA'MM'X- und AA'BB'C-Systemen beobachtet, wobei der Übergang zu den Spektren 1. Ordnung fließend verläuft, die vor allem bei AX,  $\text{AX}_2$ ,  $\text{AX}_3$ ,  $\text{A}_2\text{X}_3$  und AMX-Systemen gefunden werden.

## 5.4.6 Maßnahmen bei Spektren höherer Ordnung

Glücklicherweise überwiegen bei einfacheren Molekülen die Spektren 1. Ordnung, die mit relativ geringem Aufwand interpretierbar sind. Spektren höherer Ordnung sind schwer auswertbar und auf dem „Fußweg“ kaum zu lösen. Allerdings gibt es verschiedene Möglichkeiten, ein Spektrum höherer Ordnung in ein Spektrum 1. Ordnung zu wandeln oder es anderweitig zu interpretieren. Infrage kommen:

### ■ Messung bei höheren Feldstärken

Wie im Kapitel 5.1.2 beschrieben, ist die Auflösung von der **magnetischen Flussdichte  $B_0$**  bzw. der **Messfrequenz  $f$**  abhängig. Deshalb kann ein Spektrum **höherer Ordnung** gelegentlich durch Änderung der genannten Messparameter in ein **Spektrum 1. Ordnung** gewandelt werden. Ein Beispiel hierfür ist das Spektrum von 3-Ethylpentan-3-ol in **Bild 1**. Für die drei Methylgruppen ( $\text{CH}_3$ ) wird ein Quartett, für die drei Methylgruppen ( $\text{CH}_2$ ) ein Triplet und für die Hydroxylgruppe ein Singulett erwartet. Bei 60 MHz liegen die Peaks so nahe beieinander, dass das Singulett der OH-Gruppe kaum von den Multiplets der anderen Protonen unterscheidbar ist. Bei 100 MHz ist die Auflösung wesentlich besser und bei 360 MHz sind die Signale deutlich voneinander getrennt.



**Bild 1:**  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von 3-Ethylpentan-3-ol bei verschiedenen Messfrequenzen

### ■ Spektrenbibliotheken

Die Software eines modernen NMR-Spektrometers enthält Datenbanken mit einschlägigen Parametern. Darauf basierend werden vom Arbeitsplatzrechner nach der Messung des NMR-Spektrums mögliche Strukturformeln angeboten.

### ■ Spektrensimulation bzw. Spektrenberechnung

Mittels Computerprogramme lassen sich NMR-Spektren mithilfe eines **Substituenten-Inkrementensystems** berechnen. Dies ist besonders in der präparativen Chemie von Vorteil, weil dadurch das Spektrum der Zielverbindung vorher berechnet und anschließend mit dem gemessenen verglichen werden kann. Bereits 2007 standen hierzu Datenbanken mit ca. 800 000 chemischen Verschiebungen ( $\delta$ ) von Protonen und mehr als 180 000 H,H-Kopplungskonstanten ( $^nJ$ ) zur Verfügung. Will man eine unbekannte Substanz identifizieren, gibt man zunächst die vermutete Strukturformel mithilfe eines Zeichenprogramms ein. Der Rechner schlägt daraufhin ein  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum vor. In vielen Fällen ist damit das Problem bereits gelöst. Stimmt das