

**1) Geben Sie jeweils 2 Beispiele für selektive bzw. universelle Detektoren in der GC! Erläutern Sie Aufbau und Funktionsweise dieser Detektoren und geben Sie deren Charakteristika an:**

Universell: *Wärmeleitfähigkeitsdetektor*: Misst Wärmeleitfähigkeitsänderung mit Vergleich zur Referenz in 2 Kammern in einem thermostatisierten Metallblock (mit einem Heizdraht erhitzt) Änderung des Widerstandes messbar (Wheatstone'sche Brücke). Hoher LDR, relativ unempfindlich, zerstörungsfrei, billig und robust.

*Flammenionisationsdetektor*: Probe in ein H<sub>2</sub>/Luft-Plasma geleitet und elektrisch gezündet. Es entstehen Carbeniumionen, deren Anzahl ist proportional zur Menge. Die Elektronen werden von der Anode aufgenommen und detektiert. (empfindlich, hoher LDR, zerstörend, nur oxidierbare C-Verb.)

Selektiv: *NPD*: Modifizierter FID: Rubidiumsalzperle im Brennraum, Entstehung von Carbeniumionen unterdrückt es entstehen stattdessen Stickstoff oder phosphorhaltige Anionen die freie Elektronen freisetzen die detektiert werden. (Empfindlich gegen Kontamination, zerstörend, bei Pflanzenschutzmittelanalyse eingesetzt)

*FPD*: Ein Photomultiplier detektiert die Photonen die Stickstoff bei 526nm und Schwefel bei 394nm nach Anregung emittiert. Gas wird mit H<sub>2</sub>-Flamme verbrannt. Empfindlichkeit für Phosphor gut, für Schwefel mittel, Schwefel hat eine nicht-lineare Response (< 10<sup>3</sup> LDR)

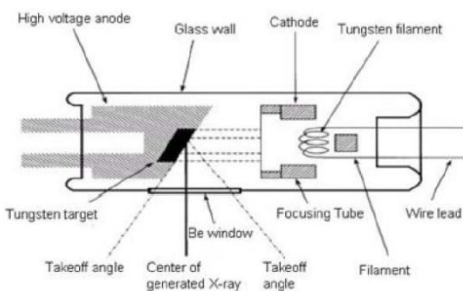
**2) Differenzieren Sie intrinsische und extrinsische Fluoreszenz. Beschreiben Sie ein Beispiel für Biolumineszenz:**

Intrinsische Fluoreszenz: Verbindung selbst fluoresziert bei einer bestimmten Wellenlänge, hat fluorophore Gruppen.

Extrinsische Fluoreszenz: Die Verbindung muss erst durch Reaktion mit fluoreszierenden Markern (z.B. Fluorescamin) fluoreszierend gemacht werden, Gemessen wird dann bei der Wellenlänge des entsprechenden Reagens.

Bsp. für Biolumineszenz: Glühwürmchen: enzymatische Oxidation, durch Metallionen, Oxidasen und Substrate katalysiert.

**3) Prinzip der RFA, Unterschiede WD-RFA / ED-RFA, Röntgenstrahlung generiert:**



*Entstehung von XR* siehe links, Elektronen werden zur Anode beschleunigt und emittieren beim Abbremsen Röntgenstrahlen (Bremsstrahlung sichtbar durch Be-Fenster)

*WD-RFA*: es werden immer nur die parallelen Fluoreszenzstrahlen durchgelassen, durch Drehbarkeit des Spiegels und der Probe kann jede Wellenlänge einzeln gemessen werden (höhere Auflösung und Empfindlichkeit, aber mehr Zeit + Geld) *ED-RFA*: Alle Wellenlängen

gleichzeitig mit einem Halbleiterdetektor detektiert. Den Wellenlängen können Energien zugeordnet werden. Alle Elemente können in kurzer Zeit detektiert werden.

*Prinzip*: Probe mit Röntgenstrahlen beschossen, kernnahe Elektronen herausgeschlagen, Elektronen höherer Energieniveaus fallen in diese Löcher zurück und emittieren dabei Strahlung (Konkurrenzreaktion: Abgabe eines Auger-Elektrons)

**4) Selektivität, Spezifität, Sensitivität, Reversibilität, Stabilität, Arten von Bio- und Chemosensoren.** Halbleiter, Polymer, Supramoleküle, Biologische Sensorschichten.

## Analytik 2 Fragen:

Von links nach rechts steigende, Selektivität, Spezifität und Sensitivität allerdings abnehmende Stabilität und Reversibilität.

*Halbleiter*: billig, stabil, inert, bei gasförmigen Analyten, durch Dotierung partiell selektiv, Wechselwirkung beruht auf Physisorption. Hohe Temperaturen möglich.

*Polymere*: In der Chromatographie, können Analytmoleküle festhalten. (MIP: sind mit dem Analyten im Polymer hergestellt worden → herauslösen → Nur Analyt kann in die entsprechenden Lücken aufgenommen werden)

Diese beiden sind sehr reversibel und stabil: Reaktion kann umgekehrt werden.

*Supramoleküle*: Spezielle Strukturen werden synthetisiert die selektiv Analytmoleküle aufnehmen, kann sogar spezifisch sein (nur 1 Reaktion möglich)

*Biologische Schichten*: sehr gute Selektivität bzw. Spezifität allerdings leicht zerstörbar, müssen regeneriert werden. (Enzym – Substrat, Antikörper – Antigen)

Bei letzteren beiden ist die Selektivität (Auswahl einer Reaktion aus mehreren) und die Sensitivität (entspricht der Steigung der Kalibrierkurve, große Sensitivität: starke Änderung des Signals bei kleiner Änderung der Parameter)

### 5) Transmission in der UV/Vis-Spektroskopie und Lambert-Beer'sches Gesetz. 3 Typen

#### Spektrometer + Filterfluorometer:

Transmission ist das Verhältnis zwischen eingestrahler Lichtintensität und Ausgangsintensität.

$$T = I / I_0 \rightarrow \text{Absorption} = -\log(T) = \text{Extinktion} = \log(1/T) = \log(I_0/I)$$

$$\text{Lambert-Beer'sches Gesetz: } A = \log(I_0/I) = e * c * d$$

Gültigkeit: Licht streng monochromatisch, linearer Bereich zwischen 0,2 und 0,7 (Absorption), Brechungsindex unabhängig vom Analyten (geringe c), keine photochemische Reaktion, homogene Verteilung des Analyten, absorbierende Moleküle voneinander unabhängig. 3 Typen: Einstrahl, Zweistrahl, DAD. Filter:

#### 6) Beschreiben Sie drei Anwendungen der RFA:

Elektronik und Elektrotechnik, mechanischen Fertigung, Gesundheit und Medizin, Lebensmittelindustrie. zB. Edelmetallanalyse, Lebensmittelkontrolle etc.

#### 7) Was sind digitale und was analoge Filter und wie werden sie realisiert? Vorteile digitaler Filter.

##### Filterordnung, rekursive Filter; Verstärkungsfilter, Mittelwertfilter:

Analog-Filter: Tiefpassfilter eliminiert hochfrequentes Rauschen bei halbwegs konstantem Signal. Als Hochpassfilter, entfernt niederfrequentes Rauschen (zB Flackerrauschen) aus schnell sich ändernden Signal. Analoge Filter werden mit passiven elektronischen Bauelementen wie Kondensatoren, Spulen, Widerständen oder aktiv mit Operationsverstärkern aufgebaut.

Digitale Filter werden in Form eines sequentiellen Programmes aufgebaut. Ihr Vorteil liegt darin, dass man sie bearbeiten und einstellen kann ohne an der Hardware etwas zu ändern.

Filterordnung bei digitalen Filtern: Wieviele vorhergehende Werte zur Berechnung nötig sind ( $x_{n-1} = 1$ ,  $x_{n-2} = 2$  hier ist die Ordnung trotzdem 2 selbst wenn man  $x_{n-1}$  nicht explizit benötigt.)

Filter m. Ordnung:  $y_n = a_0x_1 + a_1x_{n-1} + \dots + a_mx_{n-m} = a_m = \text{Filter-Koeffizienten.}$

Rekursive Filter nutzen im Gegensatz zu nicht-rekursiven Filtern nicht nur die  $x_n$  sondern auch die vorigen  $y_n$ -Werte. Verstärkungsfilter:  $y_n = K * x_n$  ( $K = \text{const.}$ ) (simple gain filter)

Analytik 2 Fragen:

Mittelwertfilter:  $y_n = (x_n + x_{n-1})/2$  (two term average filter)

**8) Trennstufenmodell und dynamische Theorie. Welche Eigenschaften lassen sich mit welchem Modell erklären. Bedeutung der Größen der Van-Deemter-Gleichung:**

Trennstufenmodell: Trennstufe: kleiner Abschnitt in dem Gleichgewichtseinstellung erfolgen kann. Eine theoretische Trennstufe besitzt eine gewisse Höhe  $H = N/L$ . Trennung passiert durch Übergang in die nächste Trennstufe und erneute Gleichgewichtseinstellung. Damit kann die gaußsche Form der Peaks erklärt werden. Effizienz nimmt mit steigender Zahl der Trennstufen und sinkender Höhe zu.

Kinetische Theorie: Verschiedene Stoffe durchwandern die Trennstrecke in unterschiedlicher Zeit aber der eigentlich Stofftransport (Flussgeschwindigkeit) ist konstant. Durch unterschiedliche Verweildauern, unterschiedliche Adsorption kommt es zu Retentionszeiten.

Dynamische Theorie: Sie erklärt Peakverbreiterungen als Folge von Diffusionsvorgängen in Abhängigkeit der Strömungsgeschwindigkeit. Die Bewegungen der Moleküle werden als zufällige Abfolge von Aufenthalten und Wanderungen durch die Säule aufgefasst. Peakverbreiterung hat folgende Ursachen: Eddy-Diffusion (Streudiffusion), Longitudinaldiffusion, Stoffübergangswiderstand.

$H_i(u) = A + B/u + (C+D)*u$ : große  $u \rightarrow$  GGW erfolgt nicht ausreichend.

A-Term: Eddy-Diffusion:  $2*\lambda*d$  ( $2*$ statistische Unregelmäßigkeit \* Korndurchmesser)

B-Term: Longitudinaldiffusion:  $2\gamma D_{i,m}$  ( $2*$ Labyrinthfaktor)

C = Diffusion in mob. Phase (Mitte einer laminaren Strömung), D = Diff. in stat. Phase (Krater)

Bei Kapillarsäulen ist  $A = 0$  (keine Packung).

**9) Vgl. Größenausschlusschromatographie und Gelelektrophorese: Trennprinzip, Umsetzung, Informationsgehalt und Anwendungsbereich:**

*Gelpermeationschromatographie*: stat. Phase: Silica-Gel mit nm-Poren in die kleine Moleküle eindringen können  $\rightarrow$  eluieren langsamer als große Moleküle. (CPG controlled pore glass) Aus der Retentionszeit kann auf die Molekülgröße und das Molekulargewicht geschlossen werden.

Anwendung: Bestimmung von Molekulargewicht und Polymerisationsgradverteilung (Polymere), oder Bestimmung von Molekulargewicht von Biomolekülen.

*Gelelektrophorese*: Gel: Polyacrylamid-Gel (PAGE). Gel mit der Pufferlösung entweder auf einer Kunststoffunterlage oder in einem Automaten mit zahlreichen Taschen. Probe wird mit Stempeln in diese injiziert. Anwendung: Trennung von Proteinen (DNA, RNA). Zum Trenneffekt der Elektrophorese (Prinzip: Wanderung von Kationen zur Kathode und Anionen zur Anode im Feld) kommt der Siebeffekt des Gels hinzu, manchmal Ladung durch Tenside abgeschirmt. Sehr viele Trennungen auf einmal möglich (bis zu 60)

Röhrchen oder Flachbrettanordnung, nach Trennung mit Farbbad fixiert  $\rightarrow$  entfärbt  $\rightarrow$  blaue Streifen

**10) Atomisierung im Graphitrohr:**

Probe kann flüssig oder fest eingebracht werden, wenn sie Carbide bildet auch Tantalschiffchen möglich. Durch Anlegen von Spannung und dem Widerstand des Graphits hohe Temperaturen  $\rightarrow$  Lösungsmittel verdampft  $\rightarrow$  Probe verascht  $\rightarrow$  Atomisierung  $\rightarrow$  Messung entlang der Längsachse des Rohrs. Diese Technik ist empfindlicher als Flammen-AAS allerdings aufwendiger. (Kein HTP)

**11) Auflösung: Definition + Gleichungen + Skizze. Von was hängt die Auflösung ab. Totzeit, Retentionszeit und Kapazitätsfaktor, Zusammenhang?**

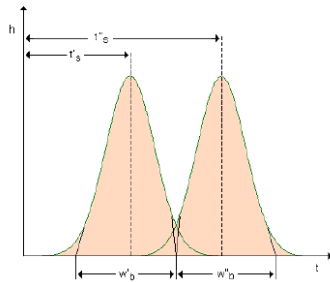
Auflösung R (resolution) zweier Peaks mit den Retentionszeiten  $t_{Ri}$  und  $t_{Rj}$  gegeben durch:

$$R = \frac{t_{Rj} - t_{Ri}}{W_b}$$

oder:

$$R = \frac{t_{Rj} - t_{Ri}}{4 \sigma_{Ri}}$$

Graphische Darstellung der Auflösung:



Totzeit: Zeit die das Flussmittel braucht um die Trennstrecke zu durchlaufen. Retentionszeit: Zeit die ein Analyt braucht um die Trennstrecke zu durchlaufen (am höchsten Punkt der Kurve). Kapazitätsfaktor:

$$R_{ij} = (\alpha - 1) / \alpha * k' / k' + 1 * \text{sqrt}(N) / 4$$

$$\text{Kapazitätsfaktor } k' = K * V_s / V_m = K / \beta$$

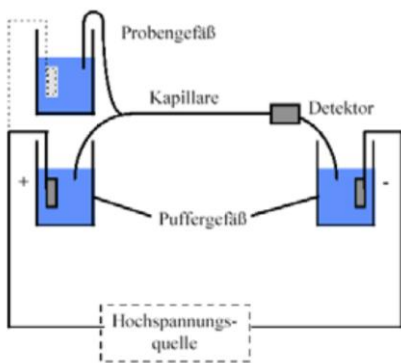
$$\text{Retentionszeit: } t_R = L / u * (1 + k')$$

$$k' = t_r / t_m$$

Die Auflösung kann also am besten durch steigende

Trennstufenanzahl verbessert werden da  $k'$  fast nichts ändert und  $\alpha$  nicht modifizierbar ist.

**12) Gelelektrophorese und Kapillarelektrophorese vergleichen:**



Gelelektrophorese siehe oben. CE = viel höhere Spannung (bis zu 30kV) Kapillaren aus unbeschichtetem Quarz. 0,01-0,1mm ID und 20-100cm Länge. Detektion mit UV/Vis-Detektor. Durch den Widerstand der Kapillare entsteht Joule'sche Wärme, geringer Durchmesser führt diese besser ab. Mit der CE werden meist kleine bis mittlere organische oder anorganische Ionen getrennt, mit der Gel-Elektrophorese trennt man Proteine. Bei der Gel-Elektrophorese sind sehr viele Trennungen auf einmal möglich, bei CE nicht.

**13) Erklären Sie die Unterschiede in den Absorptionsspektren von Analyten in den drei Aggregatzuständen:**

UV/Vis Absorption: gasförmig: Linienspektrum, keine Wechselwirkung mit der Matrix sehr hohe schmale Peaks weil nur geringe Wechselwirkungen zwischen den Analytmolekülen.

Flüssig: Bandenspektrum aufgrund der Matrixwechselwirkung (Schwingungs und Rotationsanregung)

fest: noch breitere Banden.

**14) TRFA, Aufbau, Vorteile, Wie wird Röntgenstrahlung generiert:**

Röntgenstrahlung siehe oben. TRFA =

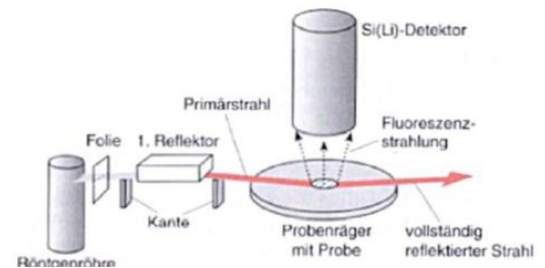
Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse: Röntgenstrahlen

werden in sehr flachem Winkel auf die Probe gestrahlt:

Dadurch wird der Röntgenstrahl vollständig reflektiert und es trifft

NUR die Fluoreszenzstrahlung auf den Detektor auf: Bessere

Empfindlichkeit, größerer LDR, Geringere Matrixeffekte.



**15) Vier integrierte Komponenten eines Sensors: optischer und massensensitiver Transducer.**

Vier Komponenten: Transducer, Sensorschicht, Elektronik/Verstärker, Datenverarbeitung/Computer.

Bsp: extrinsischer optischer Transducer: gekreuztes Glasfaserkabel für den Transport der Strahlung, Fluorophormoleküle können sich an der Membran darunter anlagern und emittieren Strahlung die über die Glasfaser zur Elektronik geleitet wird.

## Analytik 2 Fragen:

Bsp. Massensensitiver Transducer: Schwingquarze ein in Resonanz schwingender Kristall reagiert auf Veränderungen der Massenbelastung oder Bsp. Cantilever: frei schwingender sehr kleiner Hebel dessen Frequenz auf Massenbelastung reagiert (Messung mit Laserreflexion).

### 16) Flüssigkeitschromatographie (LC) und CE vergleichen. Tabellarisch:

	LC	CE
Analysierbare Proben / Anwendungsbereich	In der mob. Phase lösliche Substanzen. In Analytik aber auch präparative Anwendung.	Anorganische und organische Ionen ohne Größenlimit. In biochemischer und klinischer Analytik.
Trennprinzip	Adsorption an der stationären Phase bzw. WW mit mobiler Phase.	Wanderung von Ionen in einem elektrischen Feld abhängig von Ladung und Radius. (Kationen zur Katode Anionen zur Anode)
Instrumentelle Realisierung	HPLC: 1-4mm ~30cm Säulen. 400bar druck 3-10µm d <sub>p</sub> LC: 10-50mm ID auch längere Säulen vor allem niedrigerer Druck (< 2bar) und 100-200µm Injektion bei der HPLC mit 6-Ventil-Injektor da durch den Druck keine direkte Injektion möglich ist.	0,01-0,1mm ID 20-100cm Kapillaren mit Elektrolytlösung. Durch EOF kantenförmiges Fließprofil. Injiziert wird < 1µl Probe.
Detektion	Mittels UV/Vis-Detektor oder Brechungsindexdetektor (keine Gradientenelution)	UV-Detektoren, Leitfähigkeitsdetektor.
Trennleistung	Trennstufenanzahl, Trennstufenhöhe, Säulenlänge, Kapazitätsfaktor, chemische Selektivität (siehe oben)	Die Trennleistung hängt von der Ladung und vom hydrodynamischen Radius des hydratisierten Ions ab.

### 17) Input-Wert, Output-Wert und Beispiel

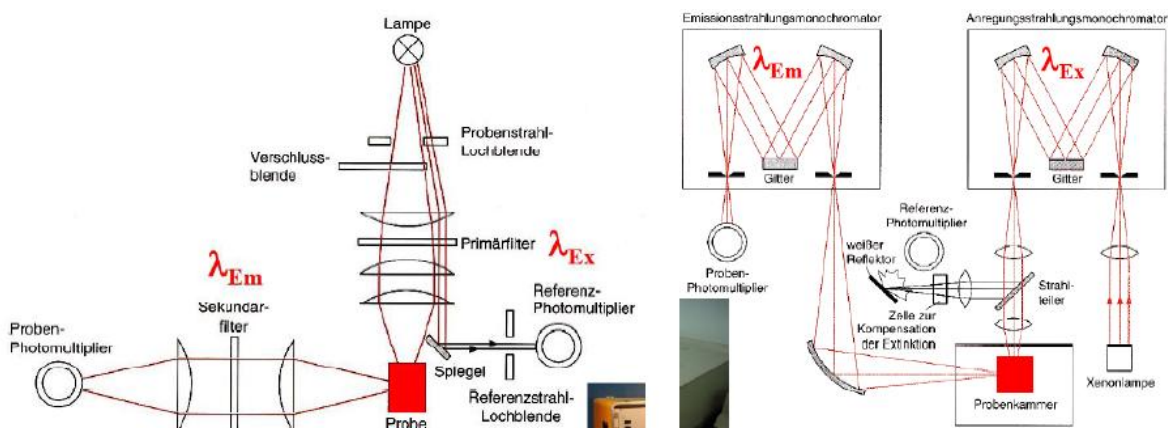
$y_n = \text{Output-Wert}$ ,  $x_n = \text{Input-Wert}$ . Bsp für einen digitalen Filter:  $y_n = (x_n + x_{n-1}) / 2 = \text{two term average filter}$  = Tiefpassfilter mit dem hochfrequentes Rauschen eliminiert werden kann.

### 18) Prinzip: Fluoreszenz, Chemilumineszenz, Biolumineszenz, Fluoreszenzintensität, fluoreszenzmodulierende Faktoren (???). Filter und Spektralfluorophotometer, intrinsische und extrinsische Fluoreszenz:

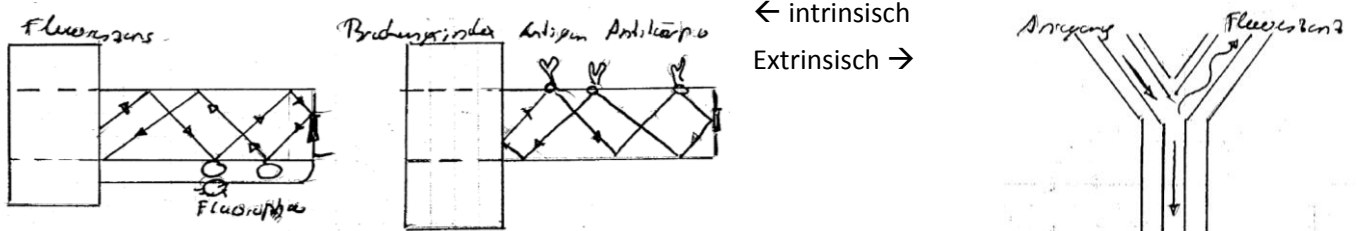
Intrinsisch und extrinsisch siehe Frage 4.

Prinzip Fluoreszenz: Absorption von Strahlung → Anregung → Schwingungsrelaxation → Emission von Strahlung höherer Wellenlänge. Chemilumineszenz: Anregung durch chemische Reaktion (Oxidation zB.) Biolumineszenz: Anregung durch enzymatische Reaktion (kaltes Leuchten)

$F = I_0 * \phi * (e * c * d) * 2,303 \rightarrow \text{Intensität}$ .  $\Phi = \text{emittierte Photonen} / \text{absorbierte} < 1$



**19) Im Detail extrinsische und intrinsische optische Transducer: Vor und Nachteile.**



*Extrinsisch:* Siehe Frage 15. Vorteile: einfacher Aufbau, inert, thermisch stabil, geeignet für in vivo Anwendung.

*Intrinsisch:* Die Analytmoleküle fluoreszieren nicht sondern verändern die optischen Eigenschaften des totalreflektierten Lichts innerhalb des Transducers. Der Unterschied zum Referenzsignal gibt Aussage über die Analytmenge an. Vorteile: Grenzflächeneffekte bei dünnen Filme beobachtbar, Parameter bestimmbar durch Struktur des Lichtwellenleiters und dem Analyten an der Grenzschicht. Örtliche Auflösung möglich. Bessere Strahlungsausbeute.

**20) Erläutern sie vier Methoden wie Atome und Ionen in einem AS generiert werden:**

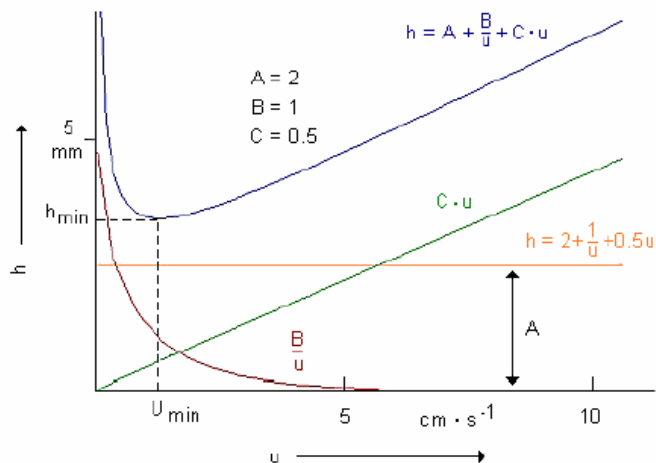
**Flamme:** Thermische Anregung, Lösungsmittel verdampft, Analyt wird atomisiert. Vorher muss der Analyt zerstäubt werden (als Aerosol in Flamme). Hierfür gibt es Pneumatische, Ultraschall und Hydraulische Hochdruckzerstäuber (Achtung: Memory-Effekt)

**Induktiv gekoppeltes Plasma:** Nur für Emission: höhere Temperatur (bis 8000K) Argonionen durch Hochfrequenzspule (27 Mhz) auf Kreisbahn geleitet (Widerstand → thermische Energie)

**Graphitrohr:** siehe Frage 10.

**Hydridtechnik:** Für Hydridbildende Elemente (As, Se, Sb, Pb, Ge):  $\text{NaBH}_4$  und HCl reagieren mit der Probe zu  $\text{H}_2\text{Se}$  (z.B.). Da das Hydrid gasförmig ist → in beheizte Küvette (Hydride zerfallen bei 800-1000°C in Atome) → Messung

**21) Theorie der Chromatographie: Skizze der Van-Deemter-Gleichung: Bedeutung der Parameter bei Gas- bzw. Flüssigkeitschromatographie. Welchen Einfluss haben Säulen und Partikeldurchmesser?**



Es gibt eine optimale Fließgeschwindigkeit bei der die Trennstufenhöhe minimal wird. Bei Gas-Chromatographie (meist Kapillaren):  $A = 0$  also nur  $B, C, D$ , nehmen Einfluss. Kleinerer Partikeldurchmesser erhöht die Trennstufenanzahl und senkt somit die Trennstufenhöhe. Geringerer Säulendurchmesser verringert die Bandenbreite ebenfalls.

**22) a) Arten von Trennsäulen in der GC:**

Gepackte Säulen: 1-3mm ID, 2-6mm AD, 0,5-3m  
 Mikrogepackte Säulen: 0,1-0,5mm ID, <1,5m L  
 Kapillaren: 0,1-0,5mm: 10-100m (30m normal)

## Analytik 2 Fragen:

Es gibt WCOT (Dünnschichtkapillarsäulen) und Kapillaren aus Quarz mit beschichtetem Trägermaterial (SCOT) diese jedoch 0,2-0,5mm ID.

### b) Kovats-Indices.

Index:  $100 \cdot z + 100 \cdot \log(\text{tr}) - \log(\text{tr}z+1) / \log(\text{tr}z+1) - \log(\text{tr}z) = 1146,6$

$\text{tr} = 11,21 - 1,56 = 9,65$  //  $\text{tr}z = 10,48 - 1,56 = 8,92$  //  $\text{tr}z+1 = 10,56$ .

Geschwindigkeit des Laufmittels =  $30 / 1,56 = 19,23 \text{ m/min}$

Geschwindigkeit der Substanz =  $30 / 11,21 = 2,68 \text{ m/min}$

### 23) Wichtigsten Arten von instrumentellem Rauschen:

*Thermisches Rauschen*, Johnson Rauschen:  $\text{Wurzel}(4kTR\Delta f) = U_{\text{rms}}$

Tritt auf weil Elektronen zufällige ungerichtete Bewegungen in Leitern machen. Verschwindet nur am abs. Nullpunkt. *Schrotrauschen* (beim Überwinden einer Potentialbarriere) =  $I_{\text{rms}} = \text{Wurzel}(2Ie\Delta f)$

*Pink-noise*, Flackerrauschen, durch Fehlstellen im Halbleiter oder kosmische Strahlung.  $1/f = I$

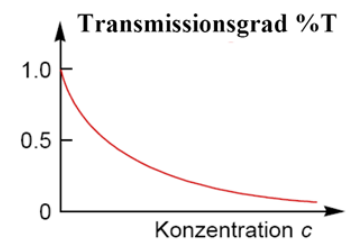
Kann mit Tiefpassfilter entfernt werden, bei hoher Frequenz nicht mehr vorhanden.

*Umgebungsrauschen*, kann durch Schirmung und Erdung gut entfernt werden. Ähnlich dem Flackerrauschen.

### 24) Transmissionsgrad in Prozent, wenn Analytkonzentration steigt, Quantifizierung einer Substanz mittels UV/Vis-Photometrie:

$T = I/I_0$  in Prozent  $I/I_0 \cdot 100$

Quantifizierung: z.B. Biuret-Assay für Proteine:  $\text{Cu}^{2+}$  bildet mit den Peptidbindungen der Proteine/Peptide einen Komplex dessen Absorption man bei 550nm messen kann. Benannt nach der Reaktion von Biuret(Carbamoylharnstoff) mit Kupfer, auch Tyrosinreste komplexieren. Man kann mit Standards eine Proteinprobe dadurch quantifizieren.

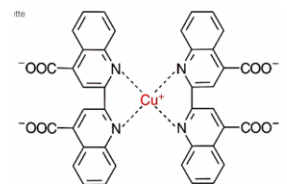


### 25) Bicinchoninsäure-Assay und Bradford-Assay. Vor und Nachteile von UV/Vis Fluoreszenz/Chemi/Biolumineszenz:

*BCA*: 2-wertige Cu-Ionen reagieren quantitativ mit Proteinen zu einwertigem Cu → ergeben einen violette Farbstoff → photometrische Auswertung (650nm)

*Bradford*: Coomassie-Brillant-Blue gibt in saurer Lösung einen Umschlag des Maximums von 465-595nm nach Stabilisierung des unprotonierten Farbstoffs (hydrophobe Wechselwirkungen mit dem Protein). Reagiert mit basischen und aromatischen Aminosäureresten.

*Vor/Nachteile*: UV/Vis geringer instrumenteller Aufwand, Einfache Handhabung, HTP-Technik, Kurze Analysenzeit, Breite Einsetzbarkeit, Hohe Richtigkeit, Strukturspezifisch (selektiv); Geringe Selektivität, Komplexe Probenvorbereitung, Eingeschränkte Linearität, Komplexe Matrix.



### 26) Wie hängt v mit u und k' und β. Wie k' mit t<sub>r</sub> und t<sub>m</sub> zusammenhängt.

$k' = t_r/t_m$  und  $v = u \cdot 1/(1+c_s \cdot V_s/c_m \cdot V_m)$  und  $K = c_s/c_m$  also  $k' = K \cdot V_s/V_m = K / \beta$  und  $\beta = V_m/V_s$

Ist  $\beta$  klein also  $V_s$  groß das bedeutet der Analyt bleibt lange in der Säule. Umso größer  $k'$  ist, umso länger wird der Analyt zurückgehalten.

### 27) Detektoren der HPLC:

Brechungsindexdetektor: Zwei Messzellen, eine mit Referenz (Lösungsmittel) und einem mit Eluat. Lichtstrahl wird gebrochen, gespiegelt und aus dem Brechungswinkel kann auf den Brechungsindex

## Analytik 2 Fragen:

geschlossen werden. Abhängig vom Brechungsindex des Analyten und der Konzentration. Keine Gradientenelution möglich. Analyten mit sehr ähnlichen Brechungsindizes schwer zu detektieren. Lichtstrahl wird entweder von einer Photodiode oder von einem DAD der die Verschiebung misst detektiert.

UV/Vis-Detektor: Festwellenlänge: Monochromator der eine Wellenlänge herausfiltert → hohe Lichtstärke, gutes SNR aber keine spektrale Information.

DAD: 3D-Chromatogramme, alle Wellenlängen werden zugleich detektiert aber geringere Empfindlichkeit und schlechteres SNR.

### **28) Motivationen zur Skalierung von Trennverfahren, UPLC, Substanzmenge in der HPLC steigern, Welches Verfahren eignet sich zur Miniaturisierung?**

Skalierung um: Trennung verbessern, Trennung beschleunigen, Kapazität erhöhen.

UPLC: höhere Drücke, dadurch kleiner Partikeldurchmesser und bessere Trennleistung (Kleineres H)

In der HPLC gibt es Volumsüberladung wenn die Probe schlecht löslich ist (viel Lösungsmittel mit niedriger Konzentration Analyt) oder Konzentrationsüberladung wenn die Probe gut löslich ist (höhere Konzentration an Analyt in gleichbleibendem Volumen).

Miniaturisierung: CE, Lab-on-a-chip auf einem Mikrochip. Dies ist einfacher da man für GC/HPLC die Pumpen miniaturisieren müsste, was nicht trivial ist. Außerdem verschlechtert sich bei der Elektrophorese anders als bei der Chromatographie die Trennleistung nicht durch eine Verkürzung der Kapillare.

### **29) Prinzip der F-AES und F-AAS.**

Probe wird mit einem Zerstäuber als Aerosol in die Flamme eingeführt, Lösungsmittel verdampft, Probe wird atomisiert. Die Atome emittieren (AES) oder absorbieren Strahlung aus der Strahlungsquelle (AAS) dahinter wird mit einem Monochromator (Gitter, Prisma, Echelle-Gitter) eine Wellenlänge herausgefiltert und vom Detektor (Photomultiplier) detektiert. Atome absorbieren spezifische Strahlung, dadurch qualitative Bestimmung möglich, durch Standards auch Quantifizierung möglich.

### **30) optischer, massensensitiver und kalorimetrischer Transducer.**

Siehe Frage 15. Kalorimetrischer Transducer: Reaktionswärmen führen zu einer Temperaturerhöhung → bei kleinen, auch zum Teil mikrostrukturierten Thermoelementanordnungen →

Temperaturänderung kann gemessen werden → Nachweis enzymatisch gesteuerter Reaktionen

### **31) numerische Filter:**

Verstärkungsfilter:  $y_n = Kx_n$  (Verstärkung des Signals)

Filter 2. Ordnung:  $y_n = (x_n + x_{n-1} + x_{n-2})/3$  (Tiefpassfilter)

Gleitendes Mittelwertfilter:  $y_n = (x_n + x_{n-1})/2$  (Tiefpassfilter)

Rekursives Filter:  $y_n = x_n + y_{n-1}$

### **32) CE und Isotachophorese vergleichen:**

CE siehe Frage 12 und 16. Isotachophorese: Prinzip: Probe wird auf die Grenzfläche zweier Elektrolytlösungen (Leading Electrolyte, Terminating Electrolyt) wobei der erstere eine höhere Ionenbeweglichkeit hat. Wenn man nun Spannung anlegt trennen sich die Analyten aufgrund ihrer Ionenbeweglichkeit zwischen den 2 Lösungen auf. Sie ordnen sich entsprechend ihrer



## Analytik 2 Fragen:

Ionenbeweglichkeit in scharfen Grenzen an. Detektiert wird ein Potentialsprung bei Wechsel des Elektrolyts (Durch Länge des Signals auch Quantifizierung möglich) Die Strömungsgeschwindigkeit ist, im Gegensatz zur CE gleich für alle Analyten. Aufbau: Kapillarsäule 0,5-1mm ID bis 1m Länge.

Leading-Electrolyt zB.  $\text{OH}^-$  terminating zB.  $\text{Tartrat}^-$ . Injiziert werden 0,1-100 $\mu\text{l}$ .

Empfindlichkeit  $10^{-9}$ - $10^{-10}$  mol/L. Verwendung: Biochemie, Pharmaindustrie, Lebensmittelindustrie.

### 33) HPLC stationäre Phasen:

NP-HPLC: polares Kieselgel oder  $\text{Al}_2\text{O}_3$  als stat. Phase, apolare Lösungsmittel, Polare Teilchen werden stärker zurückgehalten, Wassergehalt des Analyten spielt eine große Rolle  $\rightarrow$  heutzutage von der GC großteils abgedeckt aber noch präparative Anwendung.

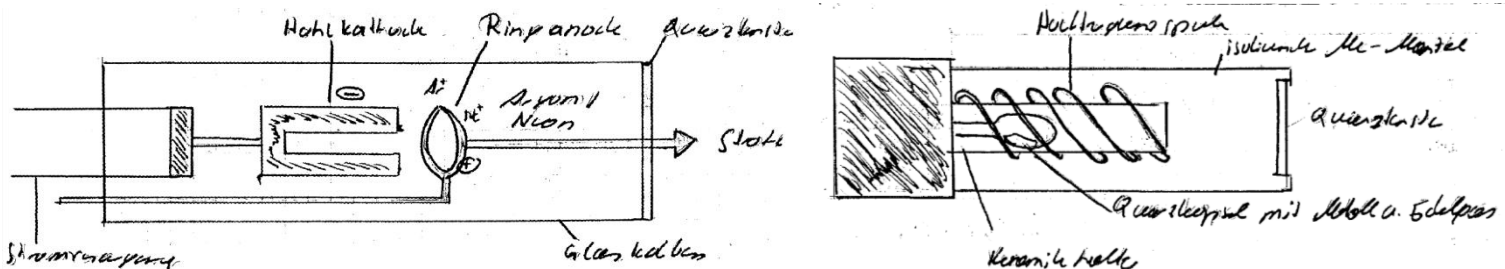
RP-HPLC: modifiziertes Kieselgel (mit Alkyl, Phenylresten apolar gemacht:  $\text{C}_2$ - $\text{C}_{18}$  große Reste) dadurch polare Lösungsmittel, Wasser, Acetonitril, Methanol Gemische. Wassergehalt hat kaum Einfluss. Trend für Partikeldurchmesser geht hin zu kleineren Partikeldurchmesser, da dadurch die Trennleistung verbessert wird (mehr Trennstufen/kleiner Trennstufenhöhe)

(Skizze der Elutionsreihenfolge und Formel der Auflösung einfügen)

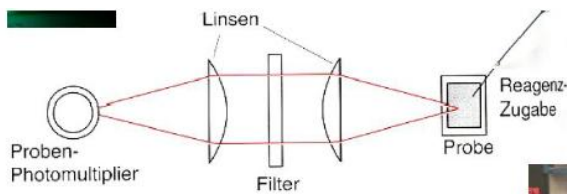
### 34) HKL und EDL in der AAS:

HKL: Ringförmige Anode und massive Metallkatode (dieses bestimmt die Strahlung). Die gesamte Lampe ist mit Argongas gefüllt welches beim Anlegen von Spannung ionisiert wird. Die Argonionen beschleunigen zur Katode, schlagen Metallatome heraus, regen die Metallatome an, diese emittieren Strahlung die durch die Ringanode durch ein Quarzfenster zur Probe kommt.

EDL: Kleine Menge Metall in einer Quarzröhre unter Vakuum mit Argon gefüllt. Diese Röhre ist von Hochfrequenzspulen umgeben, diese ionisieren wiederum das Argon und das Metall emittiert nach der Anregung beim Übergang in den Grundzustand wieder Strahlung.



### 35) Chemilumineszenzphotometer und Reaktion von Luminol (??):



### 36) Vier unterschiedliche Konzepte eines Transducers:

Optischer, kalorimetrischer, massensensitiver, Frage 15&30.

4. Elektrochemischer Transducer: Erkennen teilchenspezifische Änderungen von Strömen, frequenzabhängigen Leitfähigkeiten, Grenzflächenpotentialen, Spannungen, Gleichstromwiderstände oder Kapazitäten  $\rightarrow$  Prinzipien basieren alle auf der Änderung der jeweiligen Messgröße bei Ankunft eines Analyten

Analytik 2 Fragen:

**37) Vor- und Nachteile der Flammen-AAS, flüssige und feste Proben einführen:**

Einfache Technik, robustes Verfahren, HTP-Technik, geringe Störanfälligkeit, Automatisierbarkeit.

Geringe Empfindlichkeit, Hoher Probenbedarf, geringe Zerstäubungseffizienz.

Flüssige Proben können mit Zerstäubern in die Flamme eingeführt werden, feste Proben als Aufschlammung (slurry-technik) ebenfalls, andere Möglichkeit: Graphitrohrtechnik siehe Frage 10.

Bei hydridbildenden Atomen auch Hydridtechnik möglich (sehr einfach, da diese in Atome zerfallen und schon gasförmig sind) siehe Frage 20.

**38) Was lässt sich aus der Van-Deemter-Gleichung ableiten und welchen Einfluss hat die stat.**

**Phase auf das Trennergebnis:**

Aus der Van-Deemter-Gleichung kann die optimale Fließgeschwindigkeit des Lösungsmittels  $u$  bestimmt werden die zur niedrigstmöglichen Trennstufenhöhe  $H(u)$  führt. Die stationäre Phase hat durch den Partikeldurchmesser Einfluss, kleinerer Durchmesser  $\rightarrow$  bessere Trennung allerdings wird die Streudiffusion und der Druckabfall größer.

**39) HPLC und UPLC:**

HPLC: Drücke bis 400bar Druck. 3-10 $\mu$ m Partikelgröße und 5-30cm Länge der Säule. Wenn nun die Trennung verbessert werden soll muss  $N$  steigen also die  $d_p$  kleiner werden  $\rightarrow$  größerer Druckabfall.

UPLC: bis zu 1000bar Druck. Temperatur wird erhöht um die Viskosität zu verringern. Auflösung steigt weil kleiner Partikelgröße  $\rightarrow$  mehr Trennstufen. Steilere und schmalere Peaks.

$R_{ij}$  Formel hier einfügen.

**40) Rayleigh-Streuung, Raman-Streuung und Streuung an großen Partikeln (??). Einsetzbarkeit der beiden letzten in der AC:**

Rayleigh-Streuung: elastische Streuung, die Wellenlänge ist viel größer als das (kugelförmige) Teilchen an dem gestreut wird, z.B. Streuung an Gasen: höhere Frequenzen werden stärker gestreut = blau des Himmels. Viel mehr Rayleigh-Streuung als Raman-Streuung. Wellenlänge wird nicht verändert.

Raman-Streuung: inelastische Streuung von Licht an einem Molekül  $\rightarrow$  emittiertes Licht ist spezifisch (höhere Frequenz und Energie (Anti-Stokes-Raman) oder niedrigere (Stokes-Raman))

Wellenlängenbereich ist dort wo keine Absorption stattfindet. Rotations- oder Schwingungsenergie des Moleküls ändert sich.

Raman-Spektroskopie: Ramanspektrum dient zur Strukturaufklärung, Nephelometrie, Untersuchung von Moleküleigenschaften.

**41) Raoult'sches Gesetz und Gleichung von Herrington herleiten. Aufgrund dieser Gleichung:**

**Welche Eigenschaften trennen in der GC (??):**

Raoult'sches Gesetz:  $p_1 = p_1^0 * x_1 * \gamma_{1,3} \rightarrow \log \alpha = \log \frac{p_1^0}{p_2^0} + \log \frac{\gamma_1^\infty}{\gamma_2^\infty} = \text{Trennfaktor.}$