

Schriftliche Prüfung BSc Frühling 2016

D – CHAB/BIOL

Vorname:..... Name:.....

- ◆ Jede Aufgabe wird separat bewertet. Die maximal erreichbare Punktzahl beträgt **36**. Die Maximalnote wird mit mindestens **30** Punkten erreicht.
- ◆ Zeit: **60 Minuten**. Teilen Sie sich Ihre Zeit gut ein!
- ◆ Unleserliche Texte, unklare Formulierungen oder unsaubere Skizzen können nicht bewertet werden. Bitte bemühen Sie sich um eine saubere Darstellung.
- ◆ Schreiben Sie jedes abzugebende Blatt einzeln mit Ihrem Namen an.
- ◆ Dieses Deckblatt ist ausgefüllt abzugeben.
- ◆ Wir bitten Sie um Fairness: Disziplinarverordnung RSETH 361.1
- ◆ Viel Erfolg!

Aufgabe 1 10 Punkte

Phenylharnstoff-Herbizide wirken selektiv gegen ausgewählte Unkräuter, die auf Äckern oder Rasen ausgemerzt werden sollen, ohne die Nutzpflanzen im Wachstum zu behindern. Sie werden nur langsam abgebaut, darum findet man sie oft in den Nutzpflanzen und im Trinkwasser.

Typische Aufarbeitung: Einige ml Probe werden durch eine Kartusche mit modifiziertem Silicagel (C18, Umkehrphase) gepresst. Die apolaren Herbizide werden zurückgehalten und danach durch ein apolares Lösungsmittel ausgewaschen. Diese Lösung kann in Chromatographen eingespritzt werden. Die Kartusche wird verworfen. Die Methode ist kostspielig und zeitaufwendig.

Ein Hersteller analytischer Geräte bietet eine neue Methode an. Ein Autosampler kann die Aufarbeitung vor der Aufnahme des Chromatogramms durchführen. Das C18-Material kann mehrfach verwendet werden.

Probenvorbereitung:

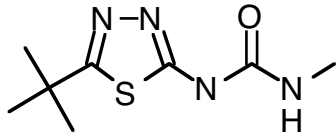
5 ml Probe werden durch einen Filter mit einer Porengröße von $0.45 \mu\text{m}$ filtriert.

Trennmethode Umkehrphasen-HPLC:

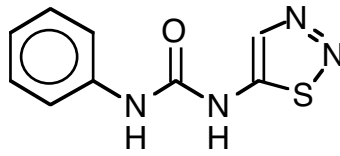
Säule:	"Thermo Scientific Acclaim 120 C18", Länge 15 cm, innerer Durchmesser 3 mm, Partikeldurchmesser $3 \mu\text{m}$
Mobile Phase:	20 mM Ammoniumformiat in Wasser (A), Acetonitril (B)
Flussrate:	0.6 ml/min
Gradient:	35% B für 4 min, auf 40% B in 0.1 min, gehalten für 3.4 min, auf 60% B in 8.3 min, gehalten für 0.2 min, dann zurück zu den Anfangsbedingungen 35% B.
Detektor:	UV, 245 nm

Ein Gemisch der Reinsubstanzen wurde mit der Methode getrennt: Chromatogramm 1 (S.4). Die Aufarbeitung dauert mehrere Minuten. Dadurch erscheint der erste Peak erst nach 7 Minuten.

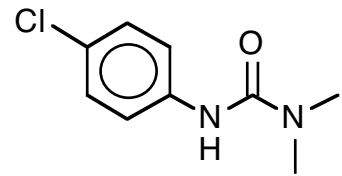
Folgende Substanzen wurden getrennt:



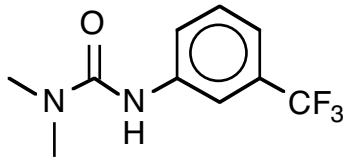
1 Tebuthiuron



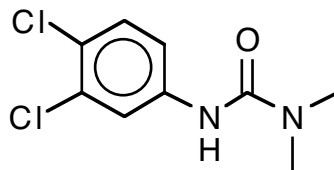
2 Thidiazuron



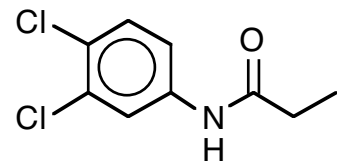
3 Monuron



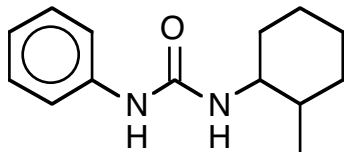
4 Fluometuron



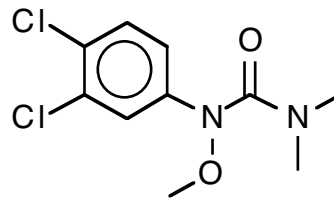
5 Diuron



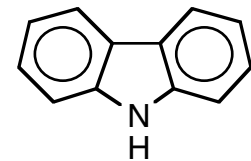
6 Propanil



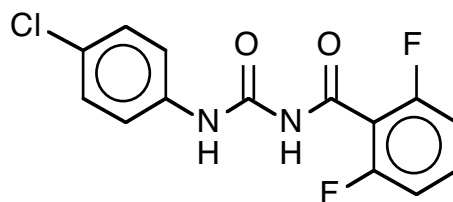
7 Siduron A / **8** Siduron B
Diastereomeren-Gemisch



9 Linuron



10 Carbazol
interner Standard



11 Diflubenzuron

- a) Sind die beiden Peaks **6** und **7** genügend getrennt? Schätzen Sie die Auflösung in Chromatogramm **1** (S. 4) ab. Wie gehen Sie dabei vor? (2 Punkte)
- b) Ist der interne Standard Carbazol (10) aufgrund des Chromatogramms 1 gut gewählt? (1 Punkt)
- c) Chromatogramme **2** (S. 4): Eine Trinkwasserprobe wurde nach der Methode aufgearbeitet und ergab Chromatogramm **a**. Danach wurden der gleichen Probe je $5 \mu\text{g/l}$ Herbizide zugegeben und das Chromatogramm erneut aufgenommen (**b**).

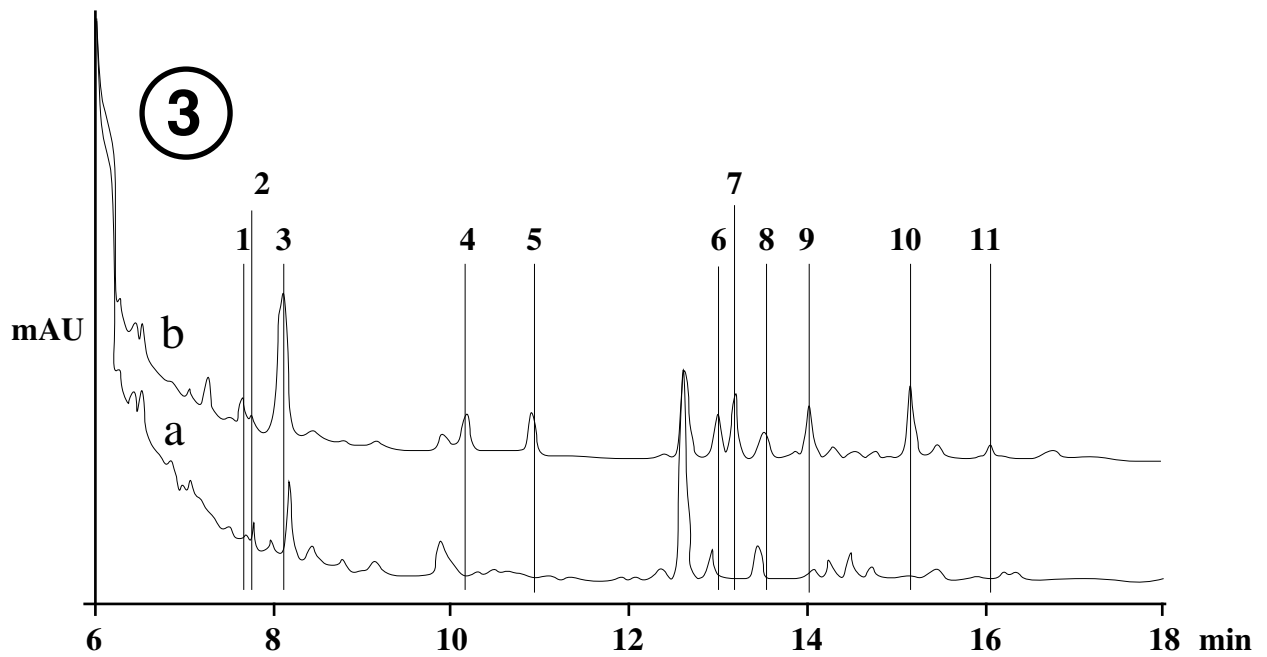
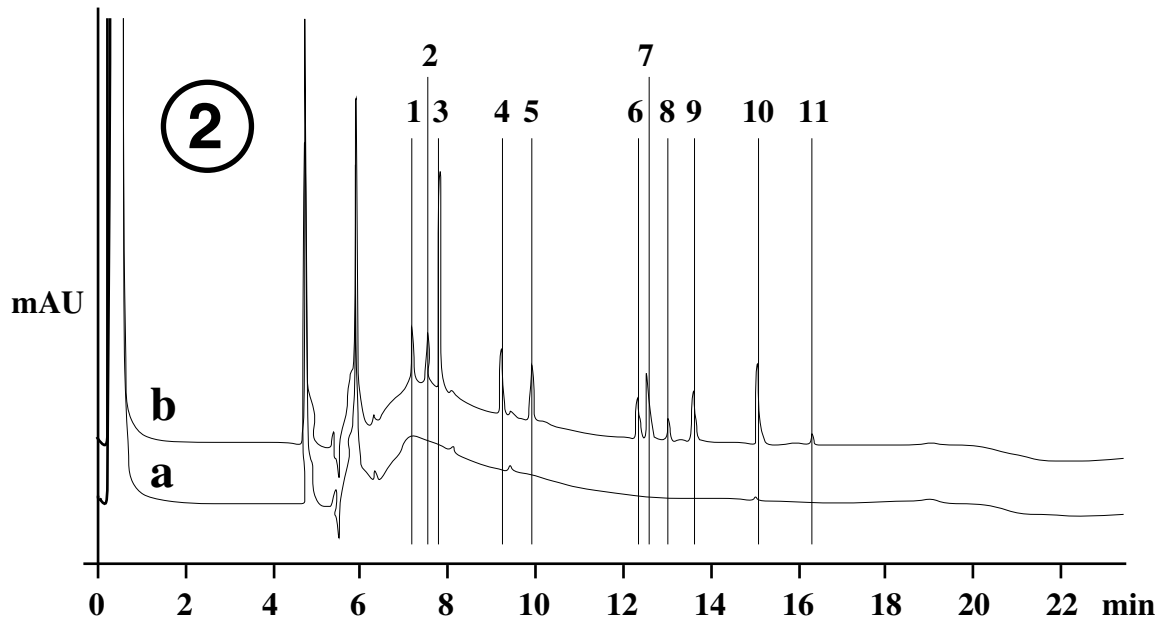
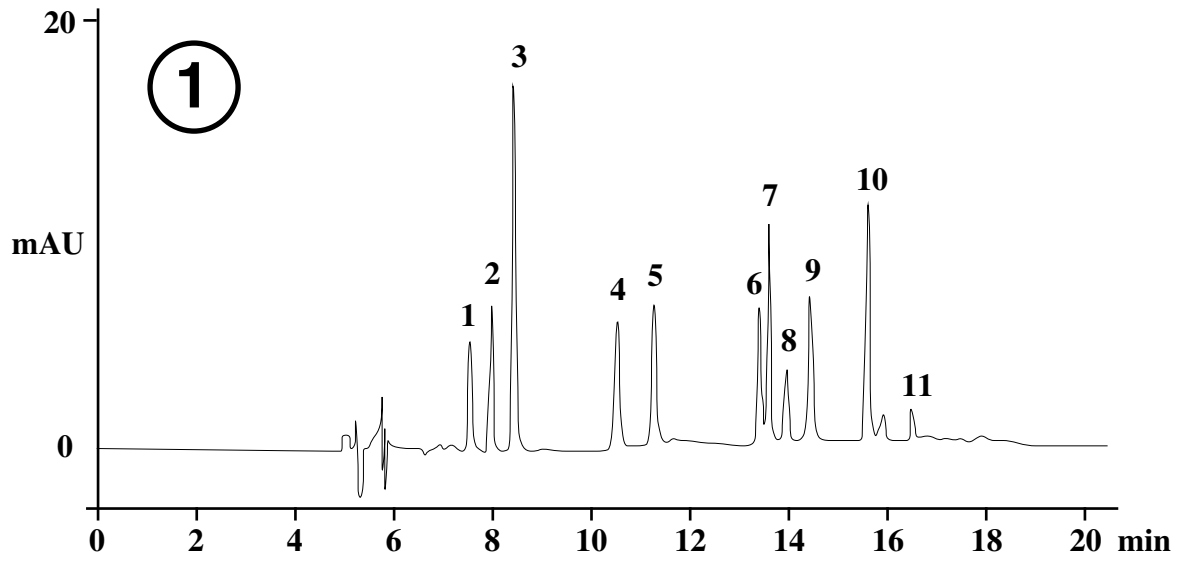
Halten Sie die Methode für Trinkwasser geeignet? Was sind die Kriterien? (2 Punkte)

- d) Chromatogramme **3** (S.4): Eine Flasche Grüntee-Drink wurde im "Shanghai China market" gekauft und nach der Methode aufgearbeitet, Das ergab Chromatogramm **a**. Danach wurden der gleichen Probe je $5 \mu\text{g/l}$ Herbizide zugegeben und das Chromatogramm erneut aufgenommen (**b**). Es ist nur der Ausschnitt von 6 min bis 18 min gezeigt.

Ein Vergleich der UV-Spektren ergab, dass die Peaks nahe **2**, **6**, und **8** in **a** nicht von den entsprechenden Herbiziden stammen.

Halten Sie die Methode für Grüntee-Drinks geeignet? Genügt Ihnen das vorliegende Datenmaterial? (2 Punkte)

- e) Glauben Sie, dass Sie die Herbizide durch eine gaschromatographische Methode trennen können? Spekulieren Sie. Wie würden Sie vorgehen? (3 Punkte)



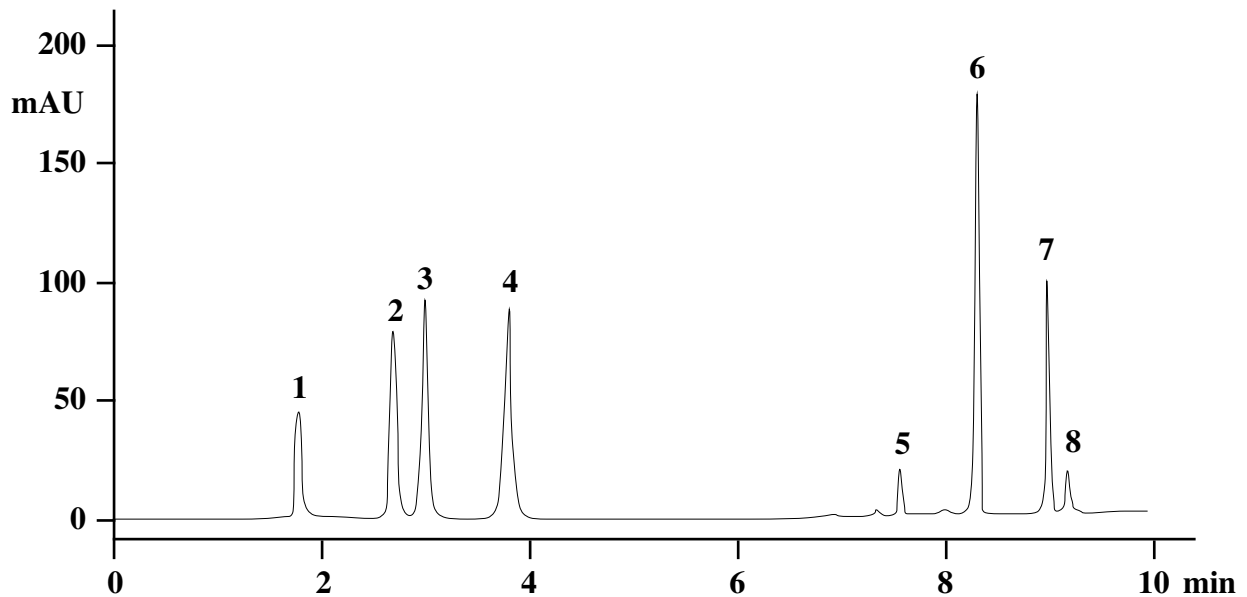
Aufgabe 2 8 Punkte

Vitamine lassen sich in die zwei Gruppen der wasserlöslichen und fettlöslichen einteilen. Die wasserlöslichen sind sehr polar und werden daher von einer C18-Säule wenig zurückgehalten. Ein Hersteller analytischer Geräte präsentiert eine neue Säule für Umkehrphase, die nicht nur C18-Ketten immobilisiert enthält, sondern zusätzlich noch Metallzentren, die Kationen austauschen können.

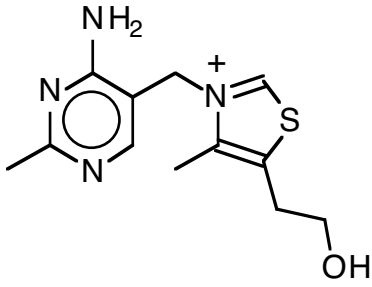
Trennmethode Umkehrphasen-HPLC:

Säule:	"Shim-pack MAqC-ODS I", Länge 15 cm, innerer Durchmesser 4.6 mm, Partikeldurchmesser 5 μ m
Mobile Phase:	10 mM Natriumphosphat-Puffer pH 2.6 (A), Acetonitril (B)
Flussrate:	1.2 ml/min
Säulentemperatur:	40° C
Gradient:	1% B für 2.5 min, auf 50% B innert 10 min, dann zurück zu den Anfangsbedingungen 1% B.
Detektor:	UV, 210 nm

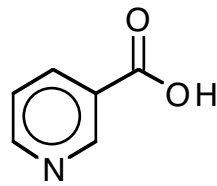
Ein Gemisch von wasserlöslichen Vitamin-Standards wurde getrennt (siehe nächste Seite). Die Konzentration ist 20 mg/l. Folgendes Chromatogramm wurde erhalten:



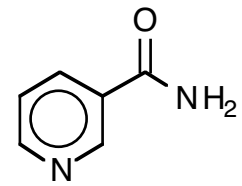
- Das Chromatogramm weist eine grosse Lücke zwischen 4 min und 7 min auf. Können Sie durch Anpassung des Gradienten die Lücke verkleinern? Wie würden Sie das tun? Falls das nicht gelingt, erklären Sie warum. (3 Punkte)
- Die Detektion erfolgt bei 210 nm. Bei dieser Wellenlänge absorbieren viele Substanzen, auch potentielle Verunreinigungen. Warum hat man nicht eine grössere Wellenlänge gewählt (1 Punkt)
- Mit welchen alternativen Trennmethode könnten Sie die wasserlöslichen Vitamine auch trennen? Nennen Sie zwei Methoden und beschreiben Sie kurz die konkreten Trennbedingungen (4 Punkte)



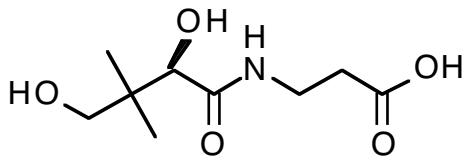
1 Thiamin (B1)



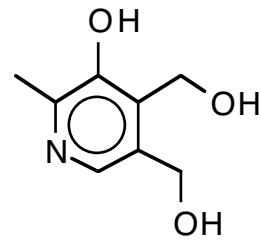
2 Niacin (B3)



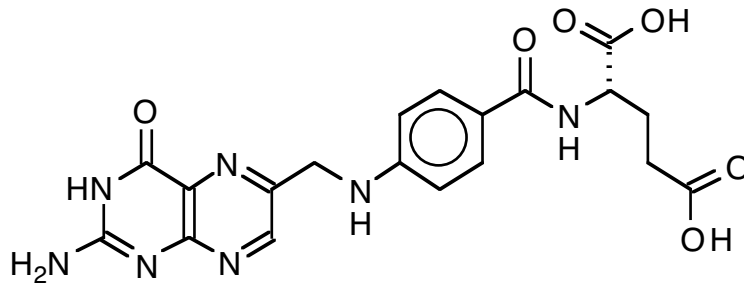
3 Nicotinamid



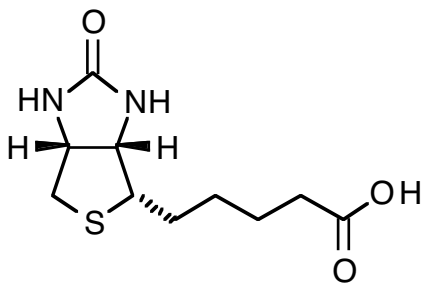
4 Pantothensäure B5



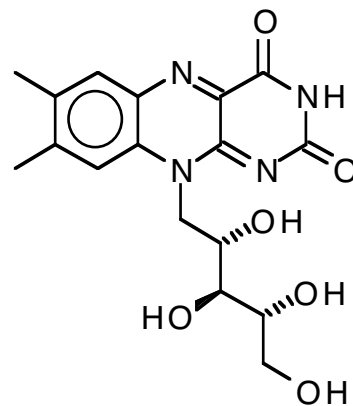
5 Pyridoxin B6



6 Folsäure B9



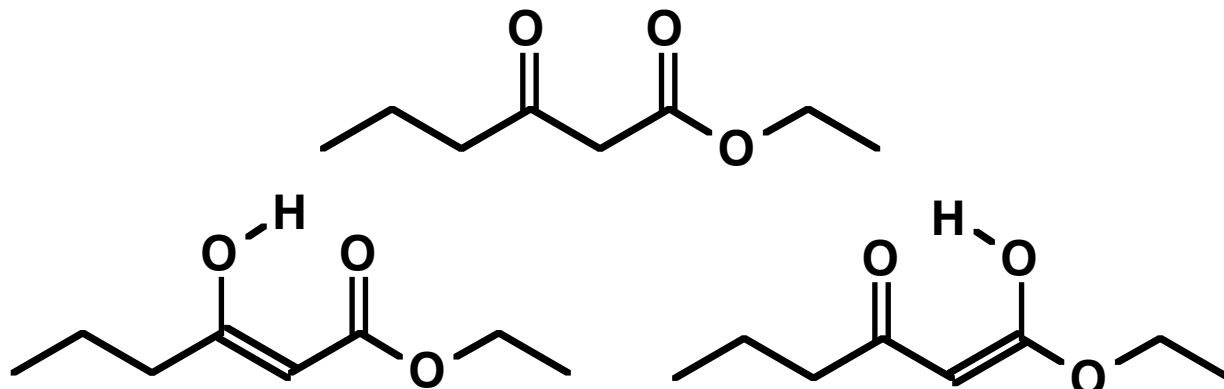
7 Biotin B7



8 Riboflavin B2

Aufgabe 3 12 Punkte

Auf den folgenden Seiten finden Sie das IR-, Massen-, ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **C3**. Sie kann in der Keto- oder Enol-Form vorliegen. Die Verbindung hat die relative Molmasse $M_r = 158$.



C3 kann in unterschiedlichen Tautomeren vorliegen. Welche Form den grössten Anteil hat, lässt sich nicht ohne Weiteres vorhersagen. Das hängt auch von den Versuchsbedingungen ab. Erschwerend kommt hinzu, dass die Verbindung ca. 3% Verunreinigungen enthält, die sich in den Spektren als Artefakte äussern können.

Einem Tabellenwerk für IR-Spektroskopie entnehmen Sie für die C=O-Streckschwingung von β -Ketoestern folgendes:

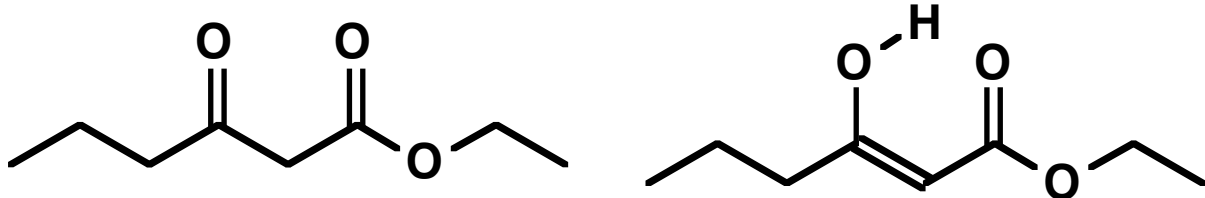
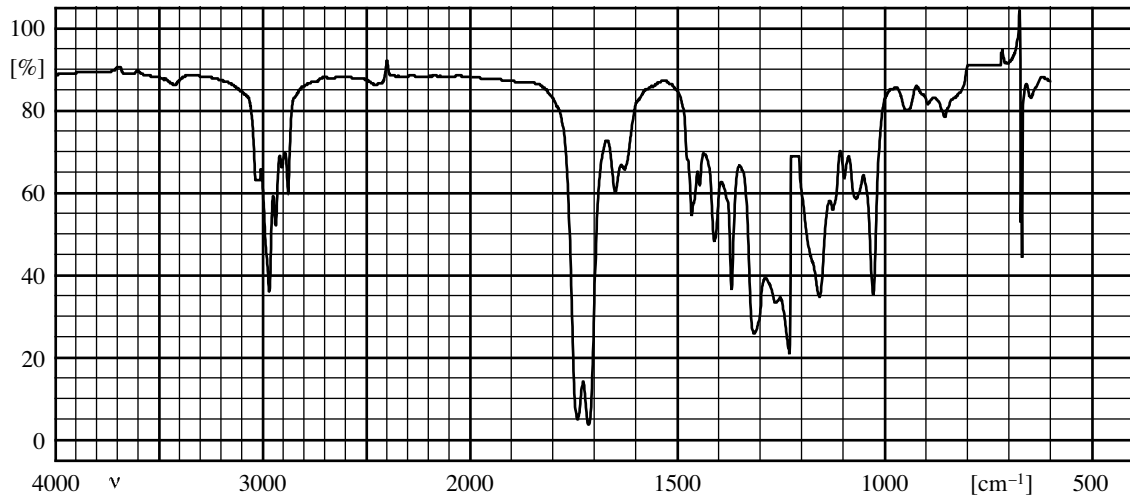
C=O _{st} : stark	
~1750 (Keton)	Ketoform
~1735 (Ester)	Ketoform
~1650 (Ester)	Enolform, C=C _{st} : ~1630, stark

Im ^1H -NMR-Spektrum sind keine Signale oberhalb von 8 ppm sichtbar.

- Im Tabellenwerk für IR steht, dass die Bande für die C=C_{st} stark ist. Warum ist das so? Hinweis: Arbeiten Sie mit Grenzstrukturen. (2 Punkte)
- Schätzen Sie im IR-Spektrum grob den relativen Anteil der Keto- zu den Enolformen ab. Begründen Sie. (1 Punkt)
- Ordnen Sie die Signale im ^1H -NMR-Spektrum den entsprechenden Protonen von **C3** zu. Es ist bekannt, dass der chemische Austausch des OH-Protons in den Enol-Formen auf der NMR-Zeitskala schnell ist. Man sieht also für beide Formen nur jeweils ein Signal. Der Übergang zwischen Keto- und Enolformen ist hingegen langsam. Schätzen Sie grob den relativen Anteil der Keto- zu den Enolformen ab. Begründen Sie. (5 Punkte)
- Nehmen Sie das ^{13}C -NMR-Spektrum zu Hilfe, um den relativen Anteil der Keto- zu den Enolformen grob abzuschätzen. Die Probe enthält 3% Verunreinigungen unbekannter Art, die kleine Signale bewirken können. Begründen Sie Ihre Schlussfolgerung. (2 Punkte)
- Erklären Sie die Entstehung der Signale bei m/z 43 und 71 im Massenspektrum. Durch welche Fragmentierungsregeln können Sie die Signale rationalisieren? Wenden Sie die Regeln erschöpfend an. (4 Punkte)

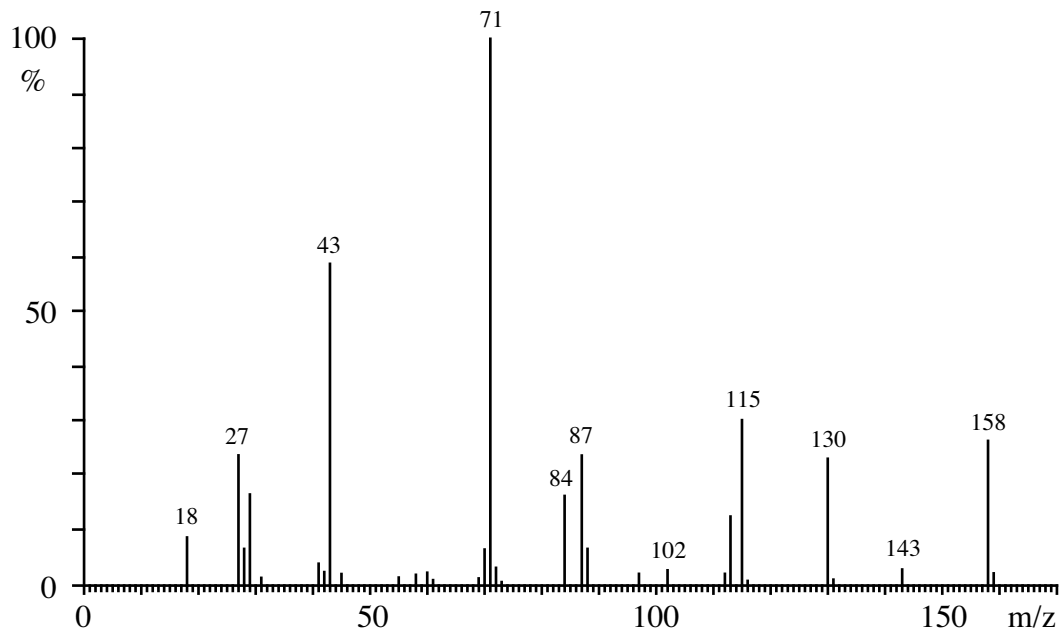
IR: aufgenommen als Chloroform-Lösung

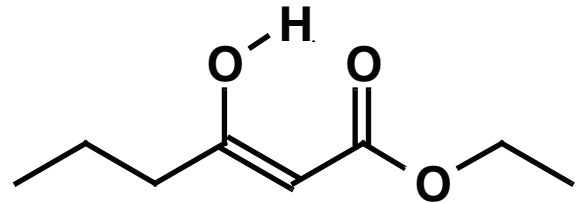
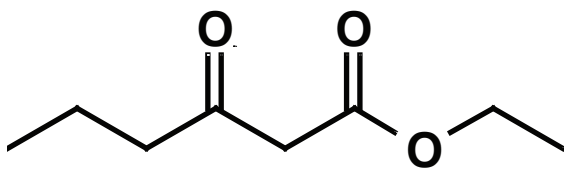
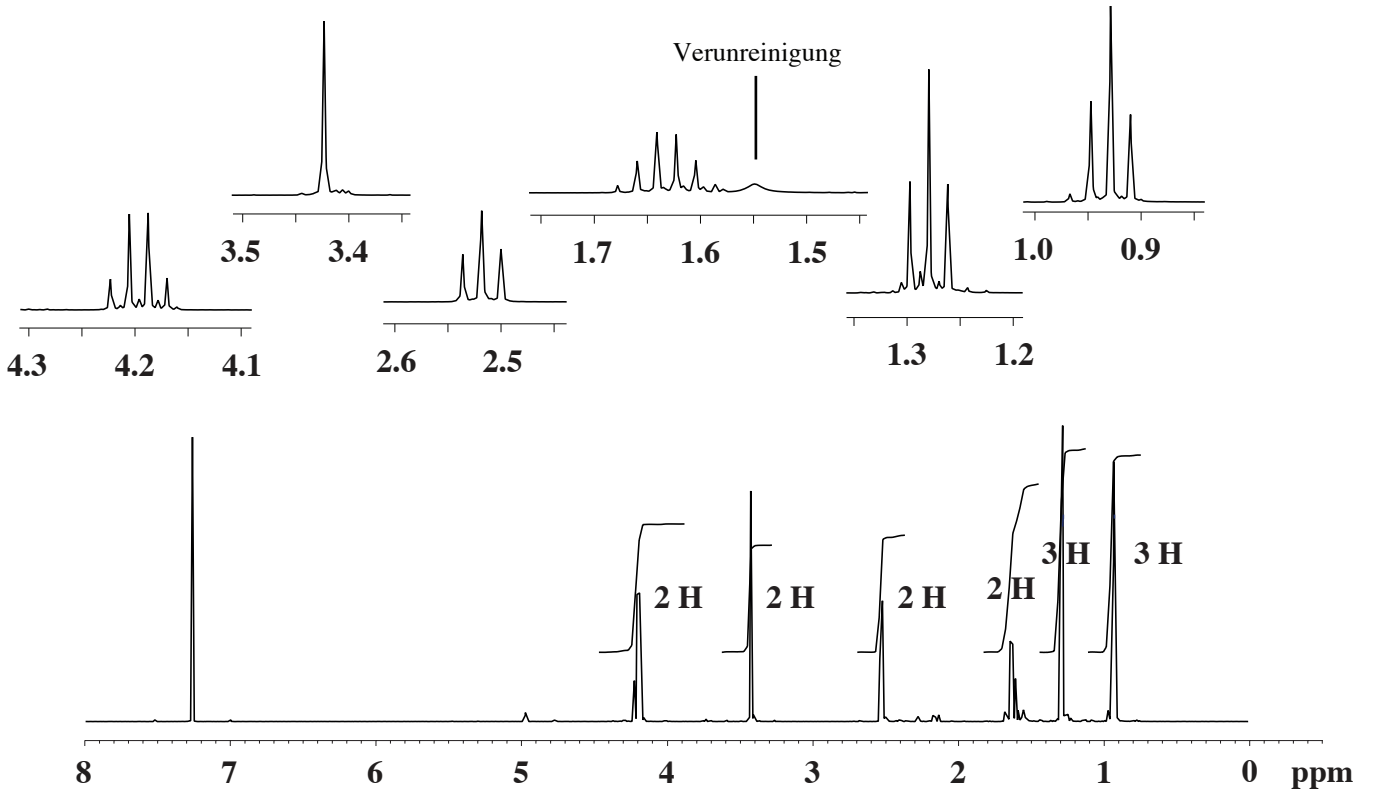
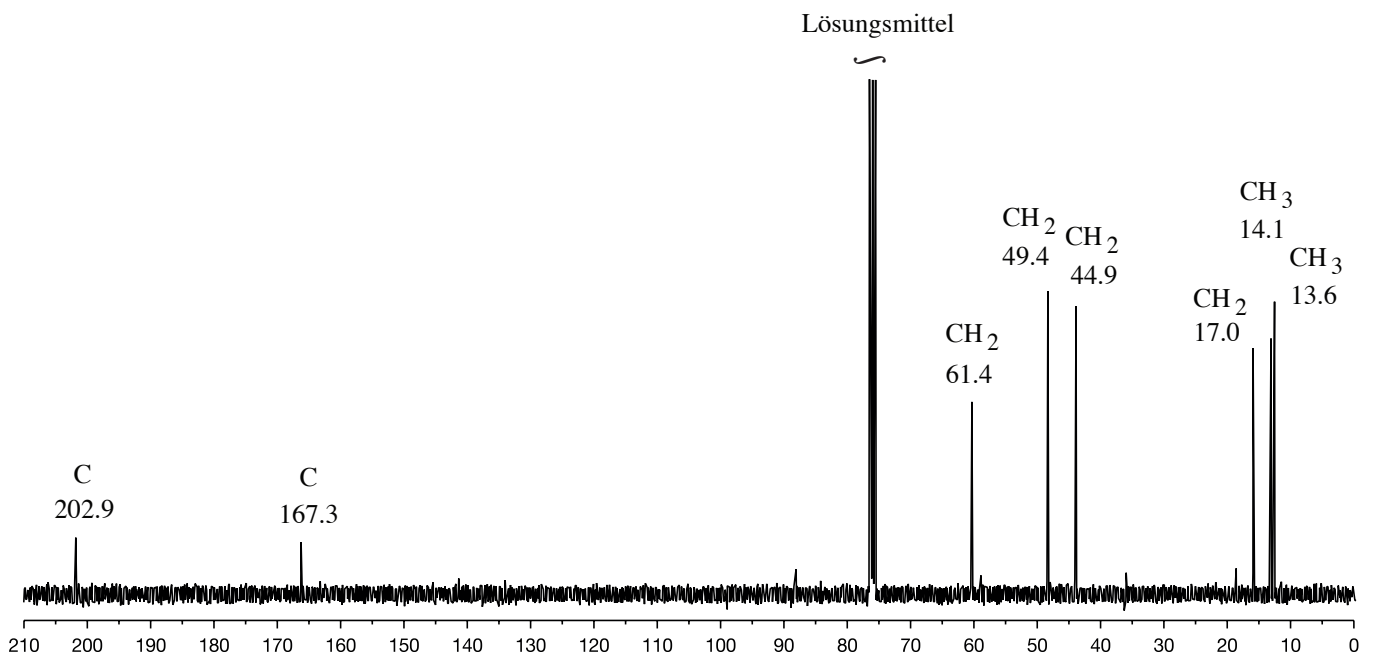
C3



MS: EI, 70 eV

C3



¹H-NMR: 400 MHz, aufgenommen in CDCl₃**C3****¹³C-NMR:** 100 MHz, protonen-breitbandentkoppelt aufgenommen in CDCl₃**C3**

Aufgabe 4 4 Punkte

Für die Verbindung **C3** werden die alternativen Strukturen 1 und 2 vorgeschlagen. Finden Sie für jede Alternative mindestens zwei spektroskopische Argumente, die gegen sie sprechen. Ihnen stehen nur die Spektren und die jeweils falsche Struktur zur Verfügung. Vergleiche mit der richtigen Struktur sind unzulässig.

(1 Punkt für jedes Argument, maximal 2 Punkte pro Alternative.)

