

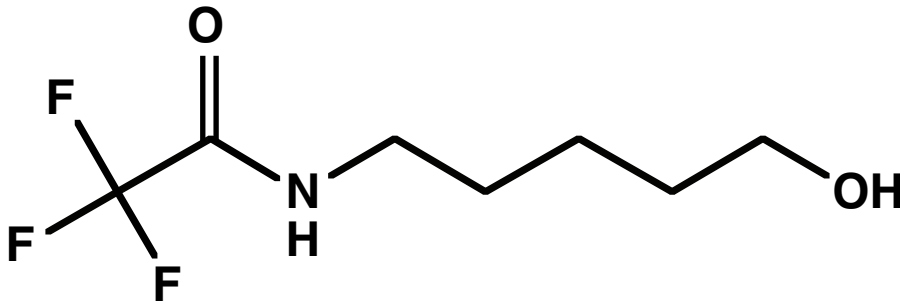
**Schriftliche Prüfung BSc
Winter 2016/17****D – CHAB/BIOL****Musterlösung**

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 18 Punkte

Auf den folgenden Seiten finden Sie das IR-, Massen-, ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektrum der Verbindung **D2**. Die Verbindung hat die relative Molmasse $M_r = 199$.



Hinweise zu den NMR-Spektren:

- Das NH-Proton der Amid-Gruppe tauscht mit den NH- und OH-Protonen anderer Moleküle chemisch aus. Der Austausch ist aber so langsam, dass er sich im Spektrum in keiner Weise bemerkbar macht.
- Das OH-Proton tauscht sehr schnell mit anderen Protonen aus, die an O gebunden sind. Dadurch ist keine Kopplung zu anderen Protonen sichtbar.
- Das NH-Proton der Amid-Gruppe koppelt mit dem benachbarten ^{14}N -Kern. Das führt zu einer starken Verbreiterung des Signals. Allfällige Kopplungen mit anderen Kernen können dadurch im Signal nicht erkannt werden, da sie durch die Verbreiterung überlagert werden. Der Effekt hat aber keine Konsequenzen für die Signale anderer Kerne.
- Fluor kommt zu 100 % als ^{19}F vor. Der Kern hat eine Spinquantenzahl von $I = 1/2$. Dadurch koppelt er (wie ein Proton) mit ^1H und ^{13}C . Kopplungen über 1 Bindung sind sehr stark (ca. 300 Hz), über 2 Bindungen etwa 1/10 davon, über 3 Bindungen etwa 1/40 davon. Kopplungen über mehr als 4 Bindungen sind nicht erkennbar.

Hinweise zum Massenspektrum:

- Beachten Sie die Skala der Intensität. Der Basispeak ist wesentlich grösser als gezeigt.
- Der Basispeak entsteht durch Abspaltung von H_2O und nachfolgender Umlagerung. Sie kennen keine Regeln für diese Reaktionen.

- a) Im IR-Spektrum erscheint eine Bande oberhalb von 3600 cm^{-1} . Dabei handelt es sich um die asymmetrische O–H-Streckschwingung von H_2O . Die Substanz ist also durch Feuchtigkeit verunreinigt. Die anderen Spektren wurden mit Substanz aus der gleichen Flasche aufgenommen. Spekulieren Sie, wie sich die Verunreinigung in den drei anderen Spektren auswirkt. (3 Punkte)

MS: Das Molekölion von H_2O hat die Masse 18. Es erscheint im Spektrum. (1 Punkt)

^1H -NMR: Die Protonen von H_2O sind schnell austauschbar. Sie erscheinen also zusammen mit den anderen schnell austauschbaren Protonen (OH) als ein Signal. Das Integral des Peaks bei 1.8 ppm ist leicht grösser als 1. (Zum Vergleich Signal bei 6.7 ppm.) (1 Punkt)

^{13}C -NMR: Da Wasser keinen ^{13}C -Kern enthält, sind die Auswirkungen auf das Spektrum unmerklich. (1 Punkt)

- b) Die Banden der CF_3 -Gruppe im IR-Spektrum befinden sich unterhalb von 1500 cm^{-1} . Spekulieren Sie, welche Bande dazu gehört. Begründen Sie. (2 Punkte)

Die C–F-Gruppe ist ein sehr starker lokaler Dipol. Wenn er schwingt, ist eine grosse Änderung des Dipolmomentes und daher eine starke Bande zu erwarten. Es dürfte sich also um die Bande bei 1170 cm^{-1} handeln.

- c) Ordnen Sie die Signale im ^1H -NMR-Spektrum den entsprechenden Protonen von **D2** zu. Eine Begründung ist nicht nötig. Die Signale zwischen 1.7 ppm und 1.4 ppm können auch vertauscht zugeordnet werden. (3 Punkte)

Siehe Spektrum.

- d) Das Aufspaltungsmuster des Signals bei 1.65 ppm im ^1H -NMR-Spektrum ist nicht ohne Weiteres zu verstehen. Nennen Sie mindestens zwei mögliche Gründe dafür. (2 Punkte)

Drei CH_2 -Gruppen haben kein Heteroatom als Nachbar. Sie haben daher ähnliche chemische Verschiebungen. Das Signal bei 1.65 ppm hat ein Integral von 4. Es handelt sich also um die Überlagerung zweier Signale.

Der Unterschied der chemischen Verschiebungen der genannten drei CH_2 -Gruppen ist kleiner als die 10-fache Kopplungskonstante. Daher sind Effekte höherer Ordnung zu erwarten.

- e) Erklären Sie das Aufspaltungsmuster des Signals bei 3.4 ppm im ^1H -NMR-Spektrum. Welche Molekülteile sind für das Signal verantwortlich? (2 Punkte)

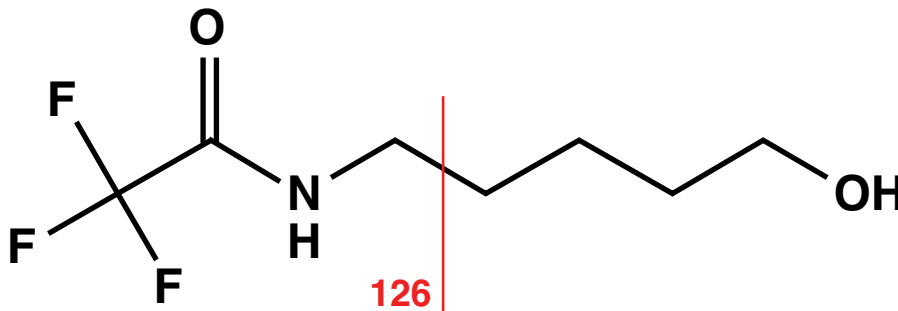
Da es sich um ein Quartett mit Integral 2 handelt, haben 2 isochrone Protonen 3 Kopplungspartner. Es gibt nur eine solche CH_2 -Gruppe, jene neben dem N-Atom. Das NH-Proton ist einer der Kopplungspartner. Die CH_2 -Gruppe neben dem O-Atom erscheint dagegen als Triplett bei 3.7 ppm. Das OH-Proton koppelt nicht mit anderen Protonen (siehe Hinweise zum ^1H -NMR-Spektrum).

- f) Wie kommen die Signale bei 157 ppm im ^{13}C -NMR-Spektrum zustande? Welche Molekülteile sind für die Signale verantwortlich? (2 Punkte)

Es gibt zwei C-Atome ohne direkte H-Nachbarn (CF_3 -Gruppe und Carbonyl). Beide Signale sind durch die Kopplung mit den drei ^{13}F in Quartette aufgespalten. Die CF_3 -Gruppe erscheint in der Gegend von 120 ppm. Die Signalaufspaltung ist sehr gross durch die Kopplung über nur 1 Bindung. Die Aufspaltung des Carbonyl-Signals bei etwa 157 ppm ist noch etwa 1/10 so gross, durch die Kopplung über 2 Bindungen.

- g) Erklären Sie die Entstehung des Signals bei m/z 126 im Massenspektrum. Durch welche Fragmentierungsregel(n) können Sie die Signale erklären? Wenden Sie die Regeln erschöpfend an. (2 Punkte)

Das Signal entsteht durch eine direkte Fragmentierung.



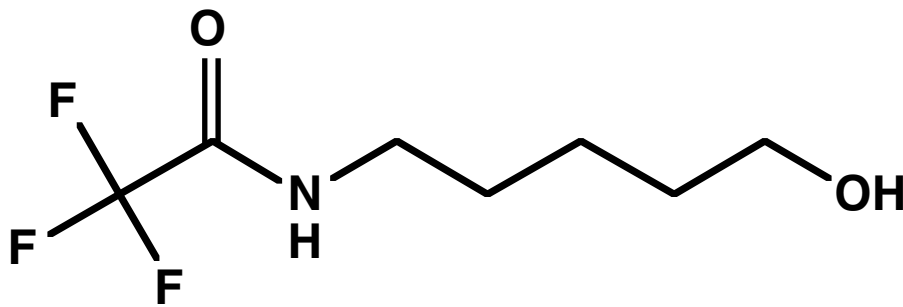
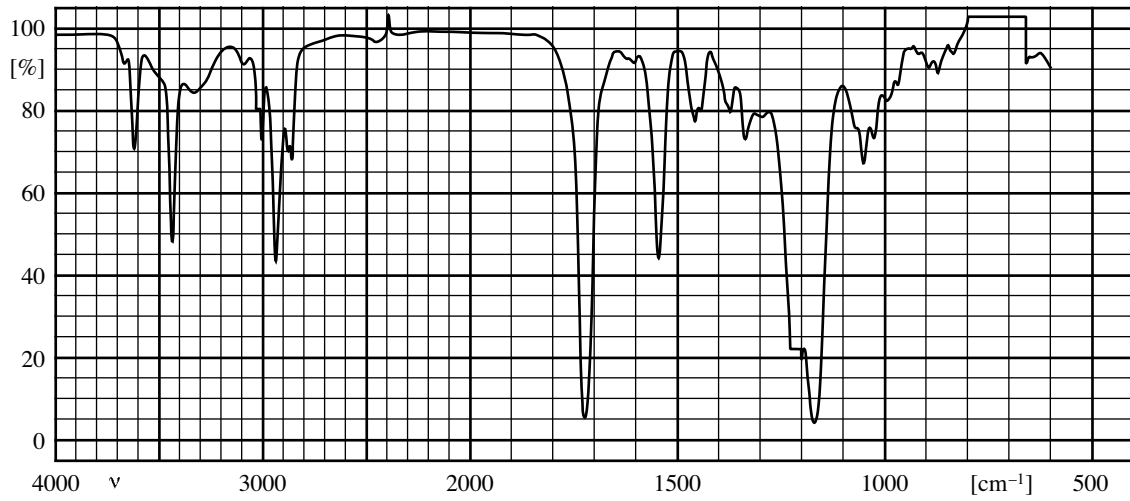
Regel IV.
Steuerndes Atom: N

- h) Jemand behauptet, das Signal bei m/z 55 entstehe aus dem Basispeak-Fragment durch Abspaltung von $\Delta m/z$ 13. Was halten Sie von diesem Vorschlag? (2 Punkte)

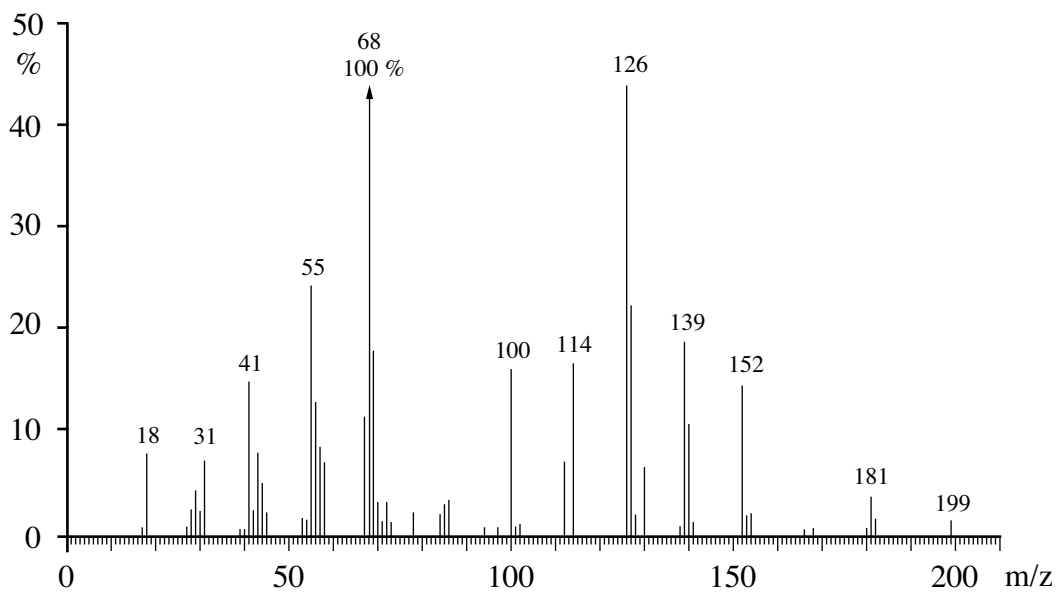
Die Masse 13 kann nur durch CH verstanden werden. Keinesfalls wird ein CH mitten aus einem Molekülion oder Fragment abgespalten. Die Masse 13 gilt als chemisch nicht sinnvoll. Weder wird 13 abgespalten, noch erscheint es als Signal im Spektrum. Ausnahmen sind sehr kleine Moleküle wie CH_4 , die keine Alternative haben. Grössere Moleküle finden immer einen energetisch günstigeren Weg.

IR: aufgenommen als Chloroform-Lösung

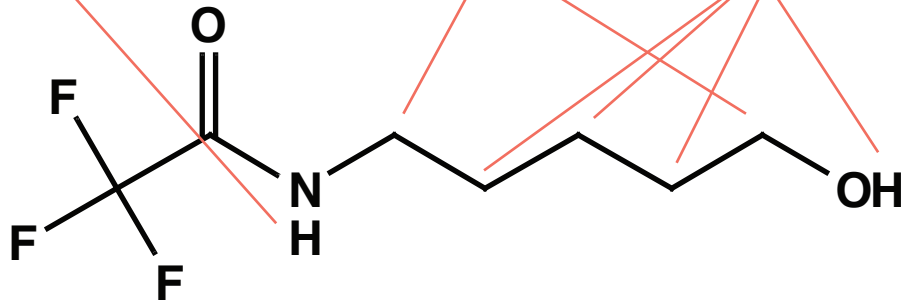
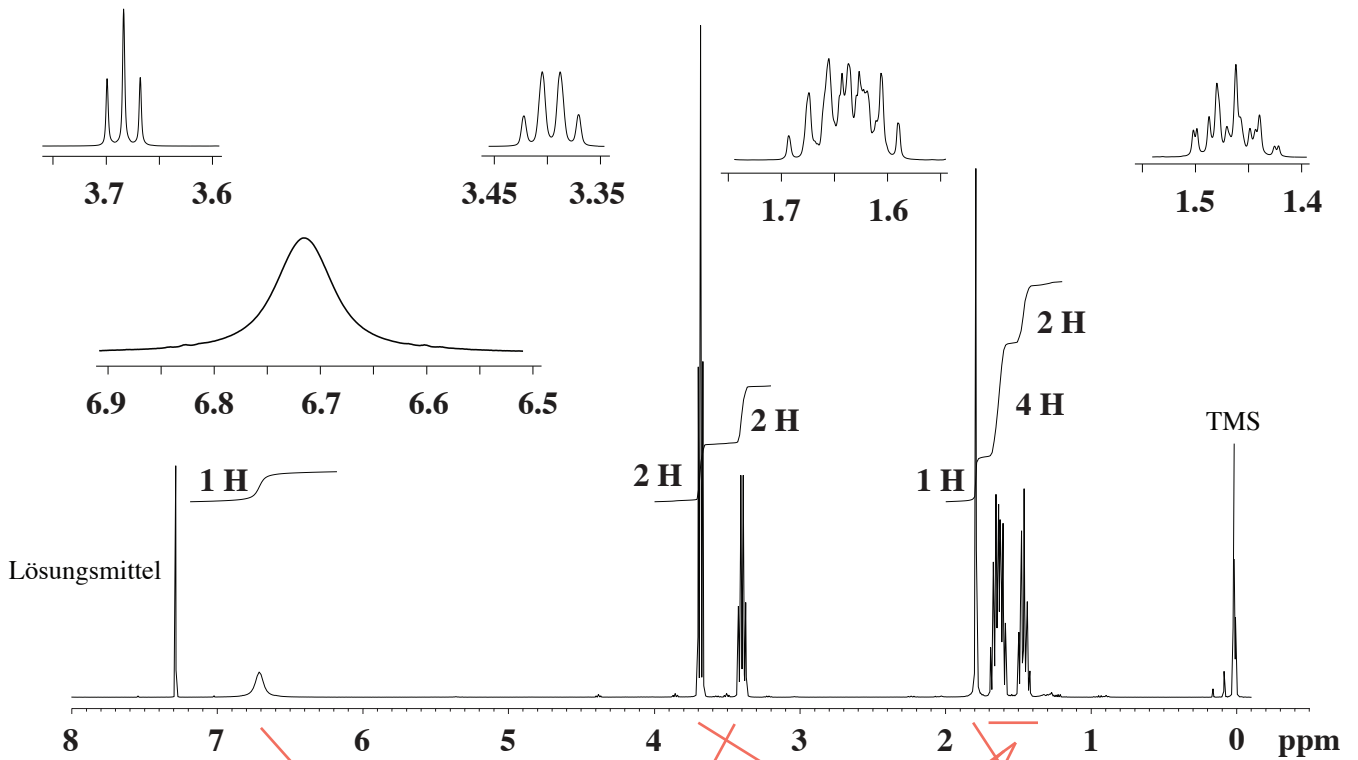
D2



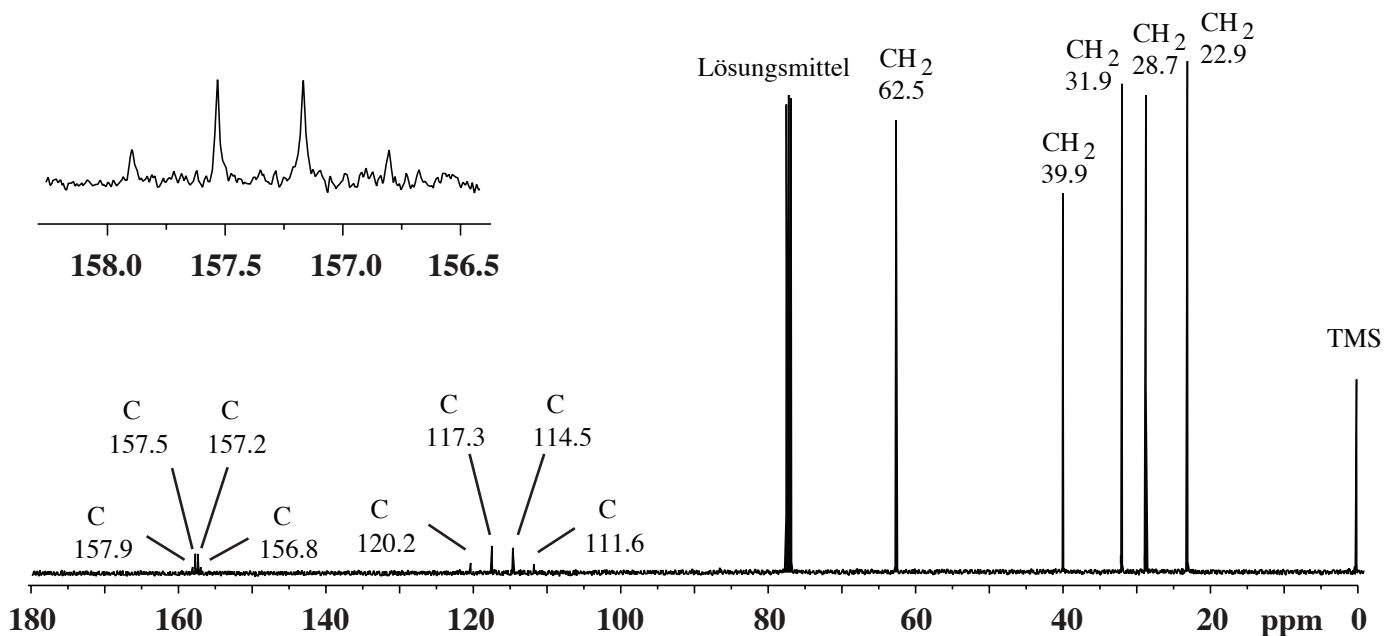
MS: EI, 70 eV



$^1\text{H-NMR}$: 400 MHz, aufgenommen in CDCl_3



$^{13}\text{C-NMR}$: 100 MHz, protonen-breitbandentkoppelt aufgenommen in CDCl_3



Aufgabe 2 18 Punkte

Im Unterlauf eines Flusses soll eine Fassung für die Aufarbeitung des Flusswassers zu Trinkwasser eingerichtet werden. Im Einzugsgebiet befinden sich viele landwirtschaftliche Betriebe, die selektiv wirkende Herbizide zur Bekämpfung von Unkräutern auf die Felder bringen. Zudem verwendet ein chemischer Betrieb zur Produktion solcher Herbizide das Flusswasser als Kühlwasser. Der Fluss soll daher möglichst kontinuierlich überwacht werden.

Sie haben die Aufgabe, ein automatisiertes System zu entwickeln, das jede Stunde die Konzentration von 17 Herbiziden im Flusswasser bestimmt und bei der Überschreitung eines Grenzwertes Alarm auslöst.

Die Quantifizierung braucht nicht sehr präzise zu sein. Man will nur bei Zwischenfällen rechtzeitig gewarnt sein.

Erste Versuche haben gezeigt, dass eine HPLC-MS-Methode geeignet sein könnte. Mit einer klassischen Methode (Umkehrphase, RP-18, Acetonitril/Wasser,) wird die Trennung durchgeführt. Als Detektor dient ein kostengünstiger Quadrupol-Massenfilter (Skript S. 115-116). Die Ionen werden nicht durch Elektronenstoss erzeugt, sondern sanft durch Elektrospray (Skript S. 76). Dadurch entstehen keine Fragment-Ionen sondern ausschliesslich protonierte Moleküle mit der Masse $M+1$.

Säule: Umkehrphase RP-18
 Länge: 100 mm
 innerer Durchmesser: 2.1 mm
 Partikeldurchmesser: 1.8 μm

mobile Phase: A: 0.1 % Ameisensäure in Wasser
 B: 0.1 % Ameisensäure in Acetonitril
 Gradient: 20% B
 auf 40% B von 0 min – 6.5 min
 auf 70% B von 6.5 min – 10 min
 anschliessende Equilibrierung bei 20% B: 5 min
 Flussrate 0.5 ml/min
 resultierender Druckabfall: maximal 550 bar (von erreichbaren 1200 bar)

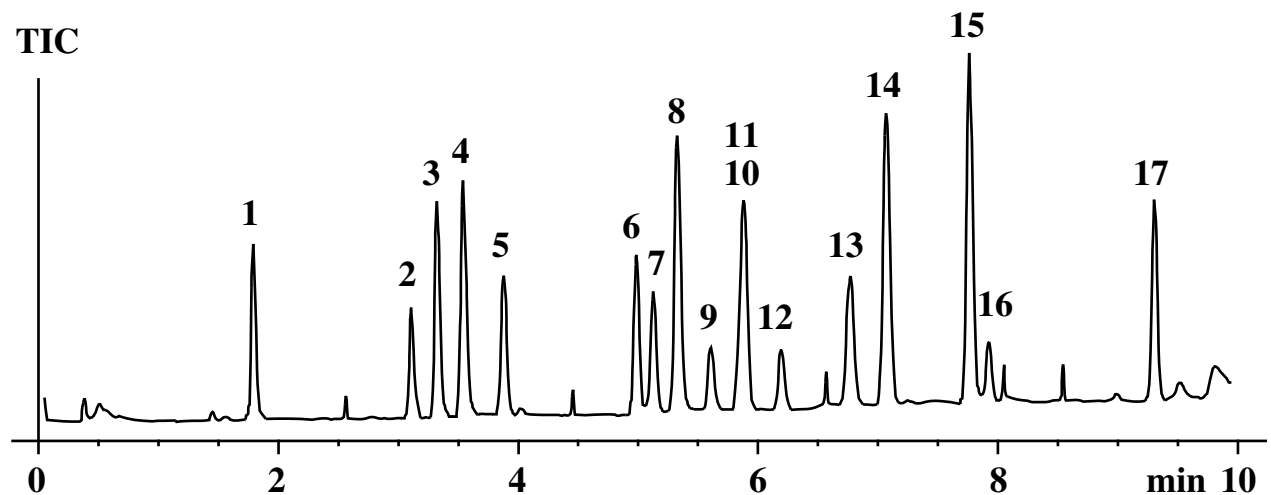
Detektor: Quadrupol-Massenfilter
 Ionenquelle: Elektrospray, positive Ionen

Es wurden noch keine Messungen mit Flusswasser durchgeführt. Es wurden erst die Reinstoffen untersucht.

Die 17 Herbizide wurden in einer Konzentration von 10 $\mu\text{g/ml}$ in Acetonitril gelöst und anschliessend mit Wasser auf 1 $\mu\text{g/ml}$ verdünnt. Von dieser Mischung wurden 10 μl in den HPLC eingespritzt.

Der Detektor wurde im Scan-Mode von m/z 150 – 350 betrieben. Jeder Wert von m/z in diesem Bereich wurde 100 μs lang gemessen. Der Total-Ionenstrom (TIC), also die Summe aller Einzelwerte wurde als Signal verwendet. Das ergibt alle 20 ms einen Datenpunkt für das Chromatogramm.

Folgendes Chromatogramm wurde erhalten:



Bezeichnung der Peaks gemäss Tabelle auf Seite 7 (10). Einige unidentifizierte Verunreinigungen sind nicht bezeichnet.

- Schätzen Sie die Anzahl theoretischer Böden der Säule anhand des Peaks 15 ab. Erklären Sie das Vorgehen. (1 Punkt)
- Schätzen Sie grob die Auflösung der Peaks 10 und 11 ab. Konsultieren Sie dazu die Tabelle auf Seite 7 (10). Wie gehen Sie vor? (1 Punkt)
- Wenn Messungen mit Flusswasser durchgeführt werden, erscheinen vermutlich zusätzliche Peaks von unidentifizierten Komponenten. Was könnte das für Konsequenzen haben? Wie würden Sie an solche Schwierigkeiten herangehen, ohne jetzt bereits Details zu kennen? Welche Stärken Ihres Systems würden Sie auszunutzen versuchen? (3 Punkte)

Es ist damit zu rechnen, dass es zu Koelutionen mit Herbiziden kommt. Die chromatographische Trennung kann also unzulänglich bis unmöglich werden. (1 Punkt)

Man wird in dieser Situation die zweite Trennmethode, die Massentrennung, heranziehen müssen. Da die Spektren der zusätzlichen Komponenten nicht mit jenen der Herbizide übereinstimmen, sollte sich ein Weg finden lassen, die Quantifizierung dennoch vorzunehmen. (1 Punkt)

Die grosse Stärke der Methode ist die Kopplung von Chromatograph und Massenspektrometer. (1 Punkt)

- Beurteilen Sie das Chromatogramm. Halten Sie die Methode für genügend vielversprechend, um sie weiterzuverfolgen? Was sind Ihre Kriterien? (2 Punkte)

Zur Aufnahme des Chromatogramms wurde ein Scan-Modus verwendet. Es wurden also alle Massen zwischen m/z 150 und 300 erfasst. Dadurch wird der Detektor maximal unspezifisch. Er sieht alle Substanzen. Die meisten Peaks sind basislinien-getrennt. Die chromatographische Trennung ist fast perfekt. Mit der zusätzlich möglichen Massentrennung lässt sich die Aufgabe wohl lösen. Die Methode kann weiterverfolgt werden. Das Problem ist praktisch schon gelöst.

- e) Schlagen Sie einen vorläufigen Modus vor, wie sie den Massenfiter einsetzen könnten. Welche(s) Signal(e) generieren Sie zur Quantifizierung? Begründen Sie. (3 Punkte)

Man nützt jetzt aus, dass der Massenfiter als sehr selektiver Detektor eingesetzt werden kann. Eine Möglichkeit besteht darin, nacheinander bei jeder nominalen Molmasse der Herbizid-Ionen ($M+1$) eine gewisse Zeit (zum Beispiel 1 ms) zu messen. Die Massen der Herbizide 14 und 15 sind gleich. Man erhält also 16 Chromatogramme, mit denen sich je ein Herbizid quantifizieren lässt. Die Substanzen 14 und 15 sind chromatographisch genügend gut getrennt, um die Quantifizierung im gleichen Chromatogramm durchzuführen.

- f) Wie könnten Sie die Flusswasser-Proben aufarbeiten? Die Grenzwerte liegen im Bereich von $\mu\text{g/l}$. Nach starken Niederschlägen ist der Fluss angeschwollen und das Flusswasser trüb. (3 Punkte)

Trubstoffe dürfen nicht ins chromatographische System gelangen. Daher ist eine Mikrofiltration oder Zentrifugation durchzuführen (1 Punkt). Da das System automatisch betrieben wird, ist eine Filtration sicher einfacher zu realisieren.

Die Konzentrationen der Herbizide im Flusswasser sind so klein, dass eine Anreicherung notwendig ist. Das kann auf unterschiedliche Art geschehen. Drei Beispiele:

- Festphasen-Extraktion (solid phase extraction). Durch eine Kartusche mit C18-Umkehrphasen-Material oder Ähnlichem werden z.B. 500 ml filtriertes Flusswasser gepumpt. Die Kartusche wird danach im N_2 -Strom getrocknet und dann mit 5 ml Dichlormethan gespült. Das Eluat wird in den Chromatographen eingespritzt. Das ergibt eine Anreicherung um den Faktor 100. Das ist die Methode der Wahl für ein automatisiertes System. (2 Punkte)
- Flüssig-Flüssig-Extraktion. Z.B. 1000 ml filtriertes Wasser wird 5 Mal mit 5 ml Dichlormethan ausgeschüttelt. Die vereinigten Extrakte werden direkt in den Chromatographen eingespritzt. (Ein Automat dürfte mit dieser Methode einige Schwierigkeiten haben.) (2 Punkte)
- Einengung. 1 ml filtriertes Wasser werden im N_2 -Strom unter leichter Erwärmung zur Trockene eingengt. Der Rückstand wird mit 10 μl Dichlormethan aufgenommen und in den Chromatographen eingespritzt. Eigentlich müsste der Extrakt noch filtriert werden, sonst wird die Trennsäule rasch verstopft. Man kann ein Filtersystem vor die Säule setzen, dessen Filter regelmässig ausgetauscht wird. (Für ein automatisiertes System nicht einfach zu realisieren.) (2 Punkte)

- g) Jedes System hat Grenzen und kann letztlich überfordert werden. Welches schlimme Szenario würde dazu führen, dass Sie Ihr System nicht sinnvoll einsetzen könnten und eine (wesentlich teurere) Alternative finden müssten? Welche Alternative? (3 Punkte)

Das schlimmste Szenario tritt ein, wenn sowohl das chromatographische Trennsystem als auch der Massenfiter zwei Komponenten nicht unterscheiden kann. Mit einem Quadrupol-Massenfiter können nominale Massen unterschieden werden, also auf ganze Zahlen gerundete. Sollte eine Substanz mit einem Herbizid koeluiieren und auch noch die gleiche nominale Molmasse haben, versagt das System. In diesem Fall könnte der Detektor durch ein hochauflösendes MS ersetzt werden. Dadurch können unterschiedliche monoisotopische Molmassen unterschieden

werden, also Substanzen mit unterschiedlicher Summenformel. Es ist sehr unwahrscheinlich, dass die Substanz im Fluss ein Isomer des Herbizids ist.

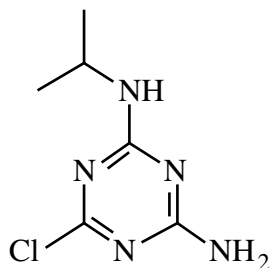
- h) Mögliches Szenario: Nach einem besonders starken Gewitter sind mehrere Grenzwerte überschritten, insbesondere auch von Herbiziden, die seit Jahren nicht mehr zugelassen sind. Ihr System muss autonom entscheiden, was zu tun ist, auch wenn niemand anwesend ist und daher auch nicht eingreifen kann. Wie soll die Software Ihres Systems entscheiden, was in welcher Reihenfolge zu tun ist? Setzen Sie Ihre Ressourcen möglichst optimal ein. (2 Punkte)

Sobald die Überschreitung eines Grenzwertes festgestellt wird, muss Alarm ausgelöst und die Förderung von Flusswasser eingestellt werden. Der Automat hat die Aufgabe, jede Stunde eine Messung durchzuführen. In einer Ausnahmesituation ist es aber sinnvoll, die Messungen mit maximal möglicher Geschwindigkeit durchzuführen. Dadurch kann die zeitliche Entwicklung der Konzentrationen verfolgt werden. Bei Unterschreitung aller Grenzwerte könnte die Software die Förderung wieder einschalten. Ein konservatives System würde auf die Ankunft von Personal warten.

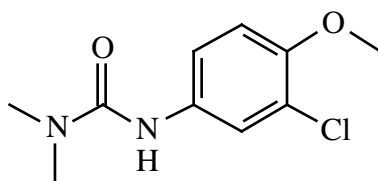
Eigenschaften der zu untersuchenden Herbizide:

Nummer	Name	Retentionszeit min	M+1
1	Desethylatrazin	1.791	188
2	Metoxuron	3.111	229
3	Hexazinon	3.323	253
4	Simazin	3.542	202
5	Cyanazin	3.878	241
6	Methabenzthiazuron	4.990	222
7	Chlortoluron	5.133	213
8	Atrazin	5.336	216
9	Monolinuron	5.616	215
10	Diuron	5.847	233
11	Isoproturon	5.893	207
12	Metobromuron	6.203	259
13	Metazachlor	6.777	278
14	Sebuthylazin	7.080	230
15	Terbuthylazin	7.773	230
16	Linuron	7.936	249
17	Metolachlor	9.313	284

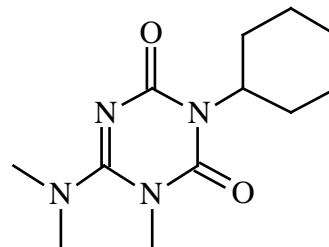
Strukturen der zu untersuchenden Herbizide:



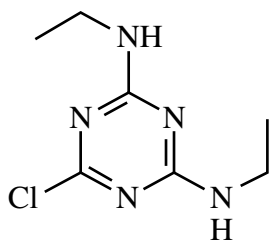
1 Desethylatrazin



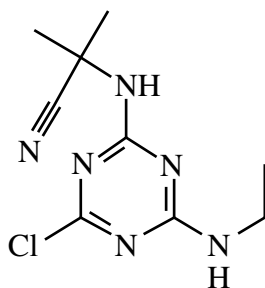
2 Metoxuron



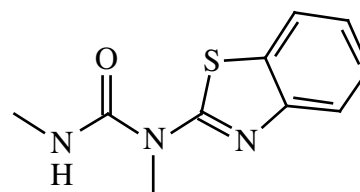
3 Hexazinon



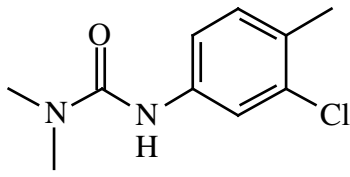
4 Simazin



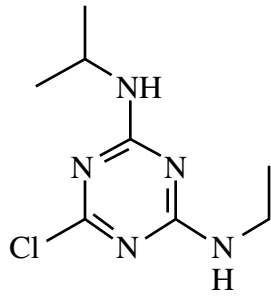
5 Cyanazin



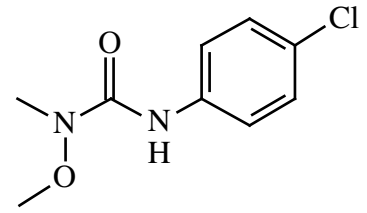
6 Methabenzthiazuron



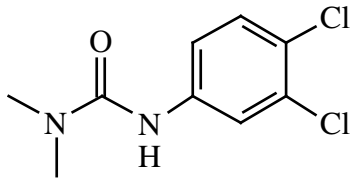
7 Chlortoluron



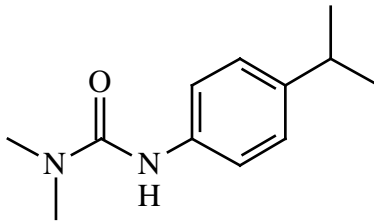
8 Atrazin



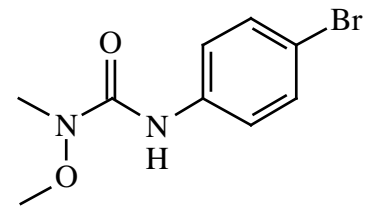
9 Monolinuron



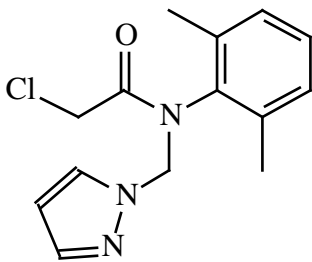
10 Diuron



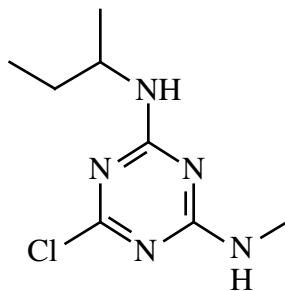
11 Isoproturon



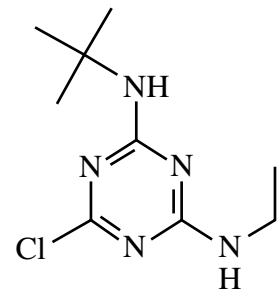
12 Metobromuron



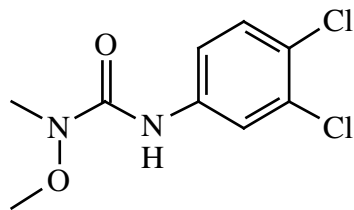
13 Metazachlor



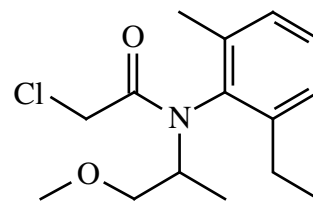
14 Sebuthylazin



15 Terbutylazin



16 Linuron



17 Metolachlor