

# UV-Vis Spektroskopie

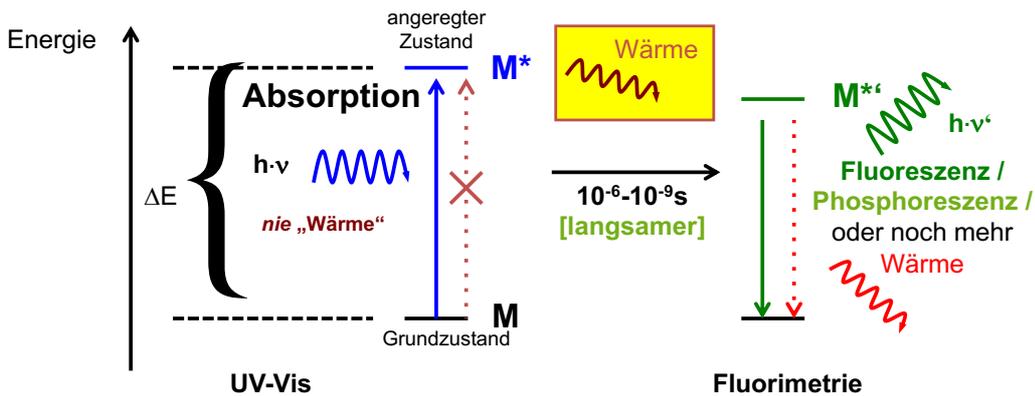
## Instrumentelle Analytik

Dr. Oliver Thorn-Seshold  
C1.059 (Fr 12-13) / [oliver.thorn-seshold@cup.lmu.de](mailto:oliver.thorn-seshold@cup.lmu.de)

### Ziele

- Recap:
- UVVis
  - Elektronanregung, genauer angeschaut
  - Chromophoren
  - Geräte
  - Anwendung in der Pharmazie
- KRÜ

# Lichtabsorption & -emission bei organischen Molekülen



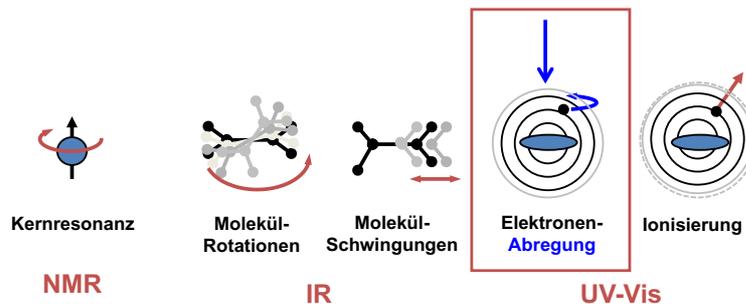
Absorption eines Photons:  
Die gesamte Energie eines Photons wird auf ein Atom/Molekül übertragen. Übertragung von Teilbeträgen der Energie findet **nie** statt.

$$\Delta E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} = h \cdot c \cdot \tilde{\nu}$$

Emission eines Photons:  
Die **restliche**  $\Delta E$  wird auf ein Photon übertragen.

$$\Delta E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} = h \cdot c \cdot \tilde{\nu}$$

3



organischen UVVis:  
am meistens,  
molekuläre Orbitalen

## ORG. UVVIS - GRUNDLAGEN

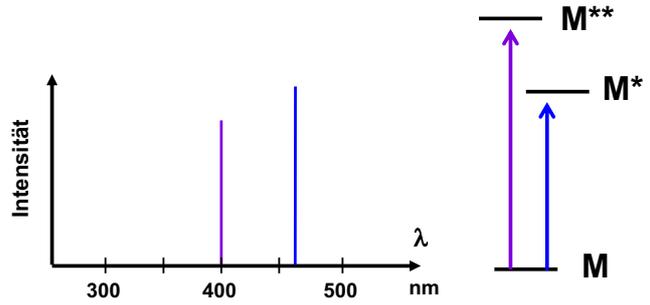
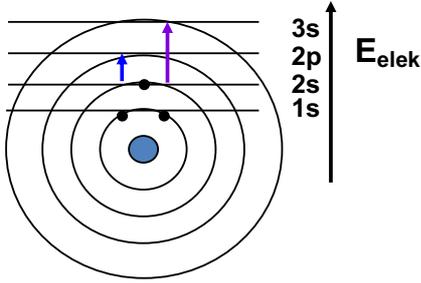
- 1 - Was genau angeregt wird, und was nicht
- 2 - Terminologie für die meistrelevante /-bedeutsame Aspekte

4

# Absorptionsspektren

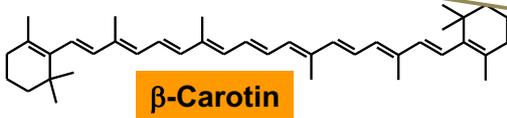
UV-Vis bei Atomen: Simplizität

$$E_{\text{ges.}} = E_{\text{elek}} + E_{\text{schwing}} + E_{\text{rot}} + E_{\text{trans}}$$



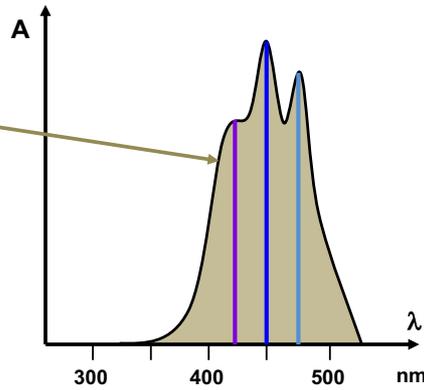
UV-Vis bei organische Moleküle

$$E_{\text{ges.}} = \text{_____}$$



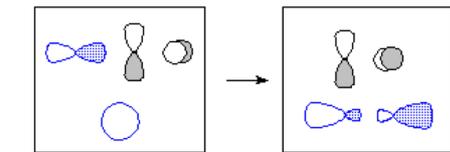
Anregung von:

- σ-Elektronen: \_\_\_\_\_
- π-Elektronen: \_\_\_\_\_
- n-Elektronen: \_\_\_\_\_

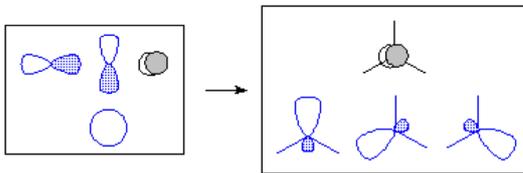


5

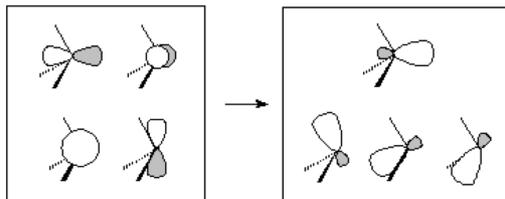
# Wdh: von atomische (s, p, d) bis molekuläre (σ, π, δ; n) Orbitale



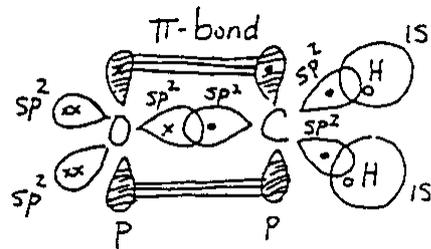
sp hybrid orbitals



sp<sup>2</sup> hybrid orbitals

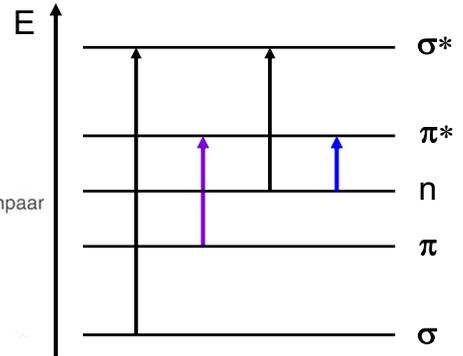
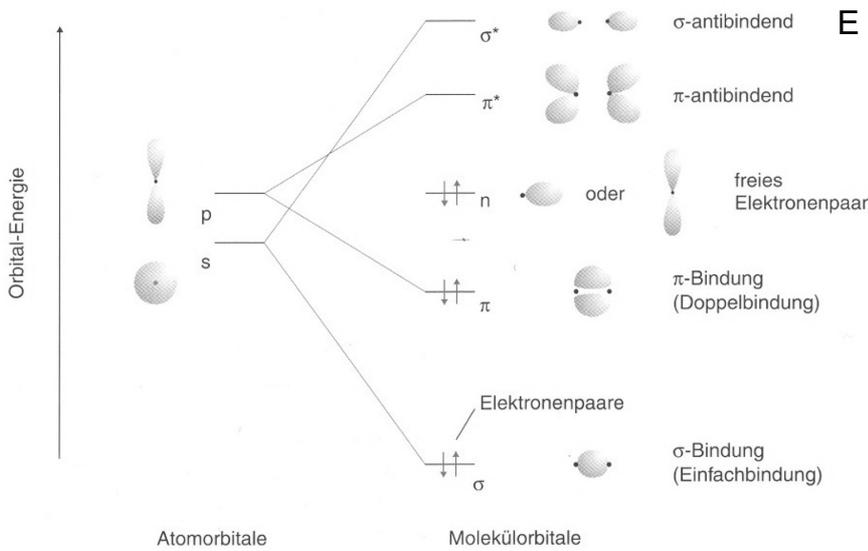


sp<sup>3</sup> hybrid orbitals



6

# Elektronenanregung mit UV-Vis-Strahlung



$\sigma \rightarrow \sigma^*$   $\Delta E$  600-8000 kJ.mol<sup>-1</sup>,  
100-200 nm (Vakuum-UV)

$\pi \rightarrow \pi^*$   $\Delta E$  160-660 kJ.mol<sup>-1</sup>,  
180-750 nm

$n \rightarrow \sigma^*$   $\Delta E$  480-800 kJ.mol<sup>-1</sup>,  
150-250 nm

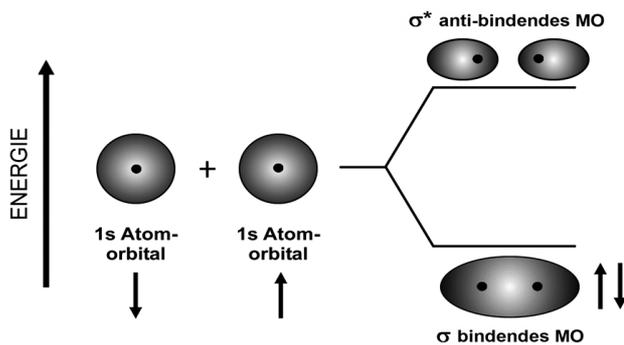
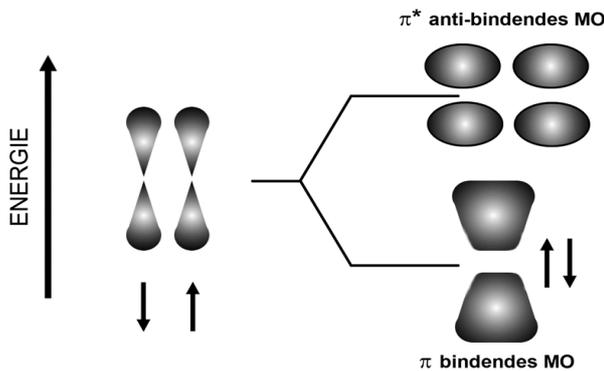
$n \rightarrow \pi^*$   $\Delta E$  180-600 kJ.mol<sup>-1</sup>,  
200-660 nm

**NB: bei Übergangsmetalle: "d  $\rightarrow$  d" auch!**

**Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>,..... //**

7

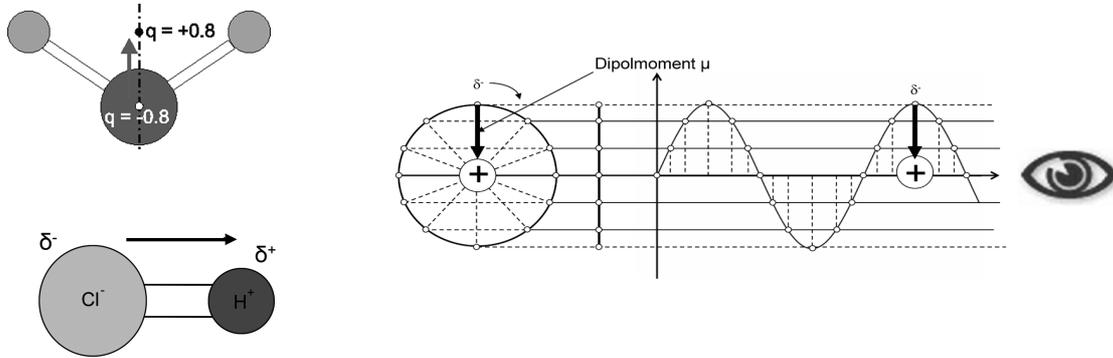
# Andere Bild von übliche HOMO / LUMO



8

# Dipolmomente

- „Atome und Moleküle müssen einen oszillierenden Dipol aufweisen, damit ein Übergang stattfinden kann“
- „Für Atome und Moleküle muss sich während eines Überganges das Dipolmoment ändern, damit der Übergang erlaubt ist.“

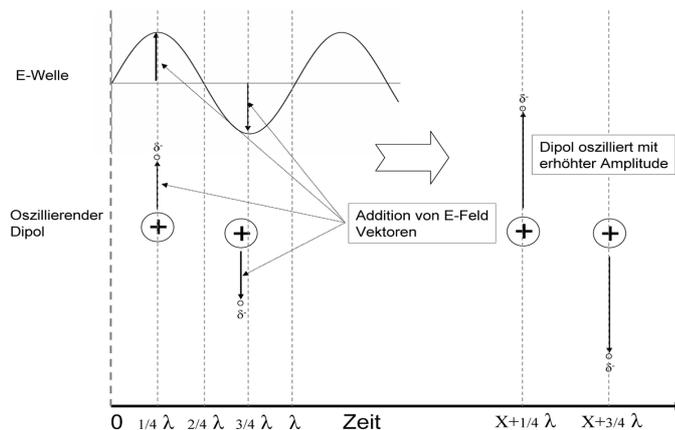


die stärkste Chromophore sind am meistens polarisiert schon im Grundzustand

9

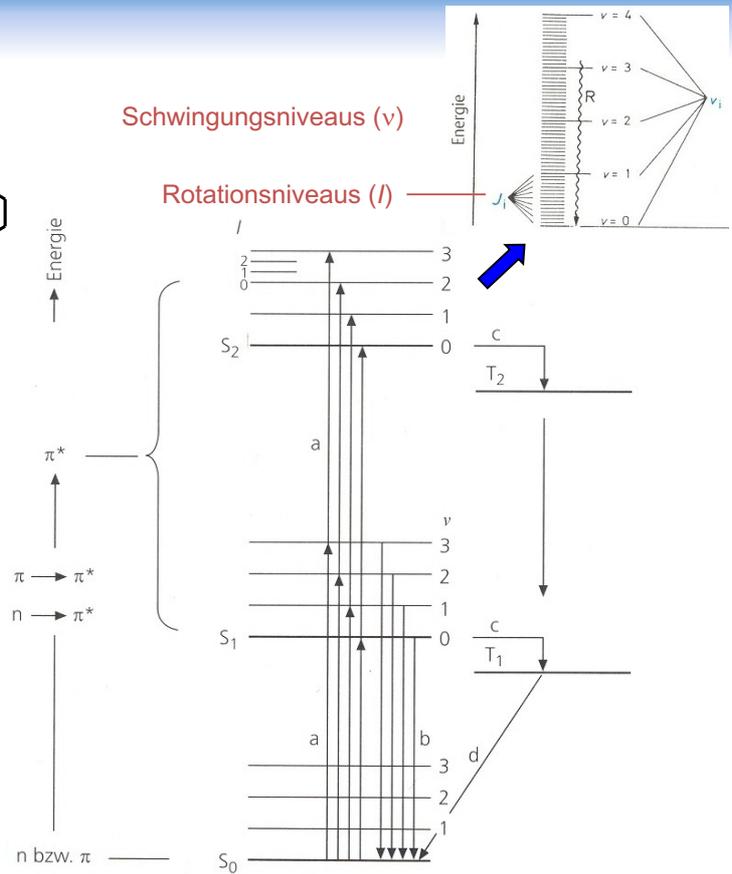
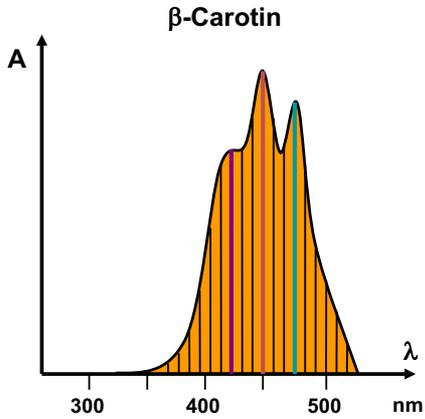
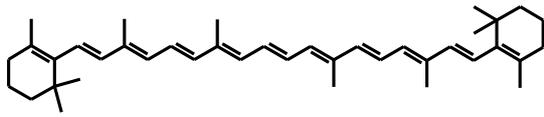
# Dipolmomente

- Modellhafte Veranschaulichung eines Absorptionsvorganges



10

# Bandenspektren



**Jablonski-Termschema**

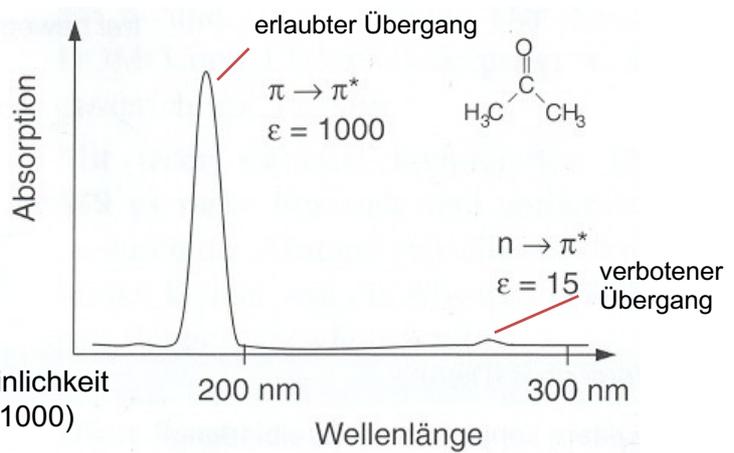
11

# Auswahlregeln

## Übergangsverbote

- Spin-Verbot
- Überlappungsverbot
- Symmetrieverbot

**Verbotene Übergänge:**  
geringe Übergangswahrscheinlichkeit  
⇒ geringe Intensität ( $\epsilon \sim 10-1000$ )

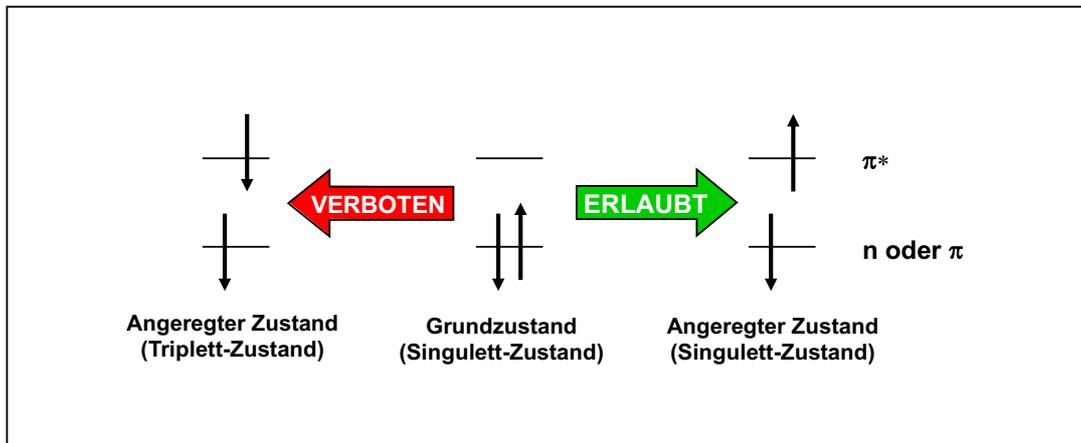


# Auswahlregeln

## Übergangsverbote

- **Spin-Verbot**
- **Überlappungsverbot**
- **Symmetrieverbot**

Verbot des Übergangs von **Singulett-** in **Triplett-Zustände** und umgekehrt



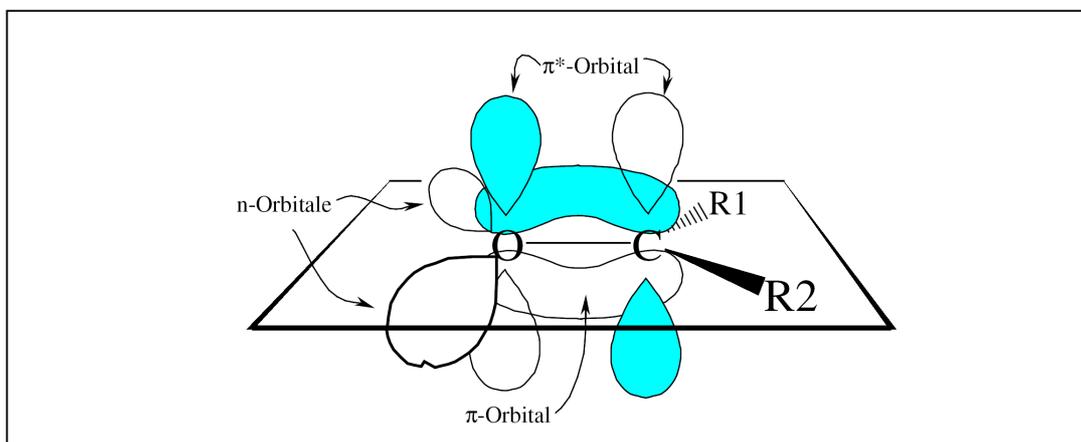
13

# Auswahlregeln

## Übergangsverbote

- **Spin-Verbot**
- **Überlappungsverbot**
- **Symmetrieverbot**

Verbot von Übergängen, bei welchen sich die beteiligten **Orbitale nicht** oder nur ungenügend **überlappen**.



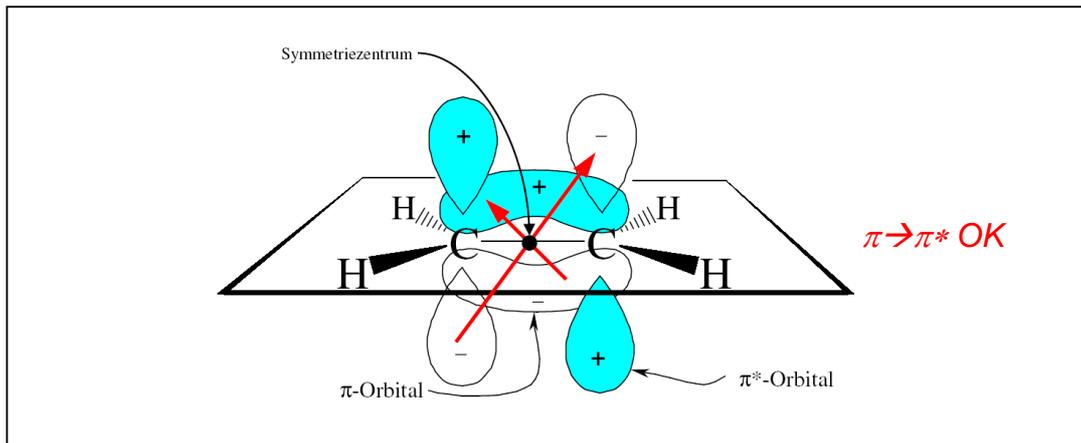
14

## Übergangsverbote

- Spin-Verbot
- Überlappungsverbot
- **Symmetrieverbot**

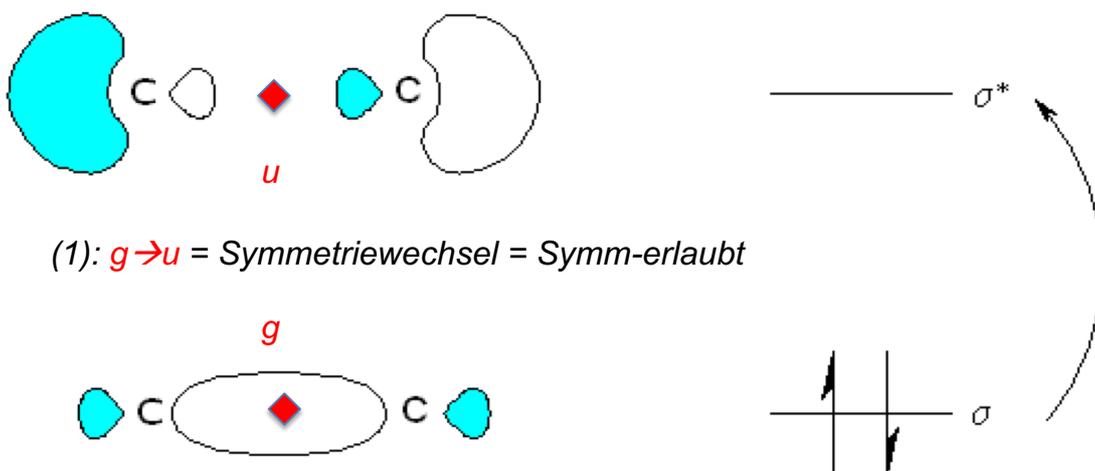
Verbot von Übergängen zwischen Elektronenzuständen gleicher **Symmetrie**.

z.B. zentralsymmetrische Moleküle – **Regel von Laporte** (Paritätsverbot)



15

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ : (1) Symmetrieerlaubt, (2) Überlappungerlaubt  $\sim$  Stark

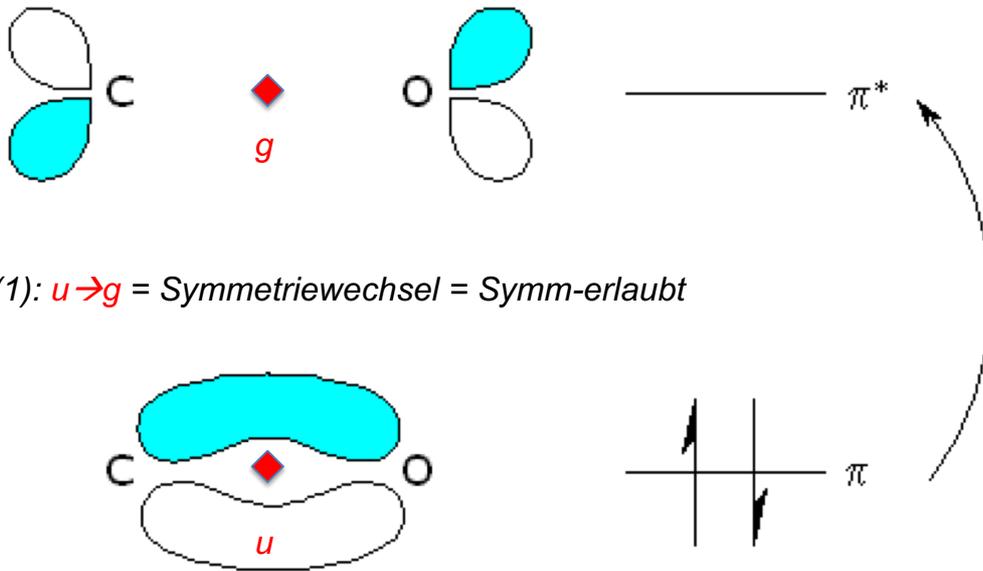


(1):  $g \rightarrow u$  = Symmetriewechsel = *Symm-erlaubt*

(2):  $\sigma, \sigma^*$  beide am x-Axe orientiert = *spatiale Überlappung gut*  
= *Überlappung-erlaubt*

16

$\pi \rightarrow \pi^*$ : Symmetrieerlaubt, Überlappungerlaubt  $\sim$  Stark



(1):  $u \rightarrow g$  = Symmetriewechsel = *Symm-erlaubt*

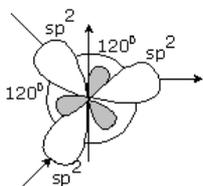
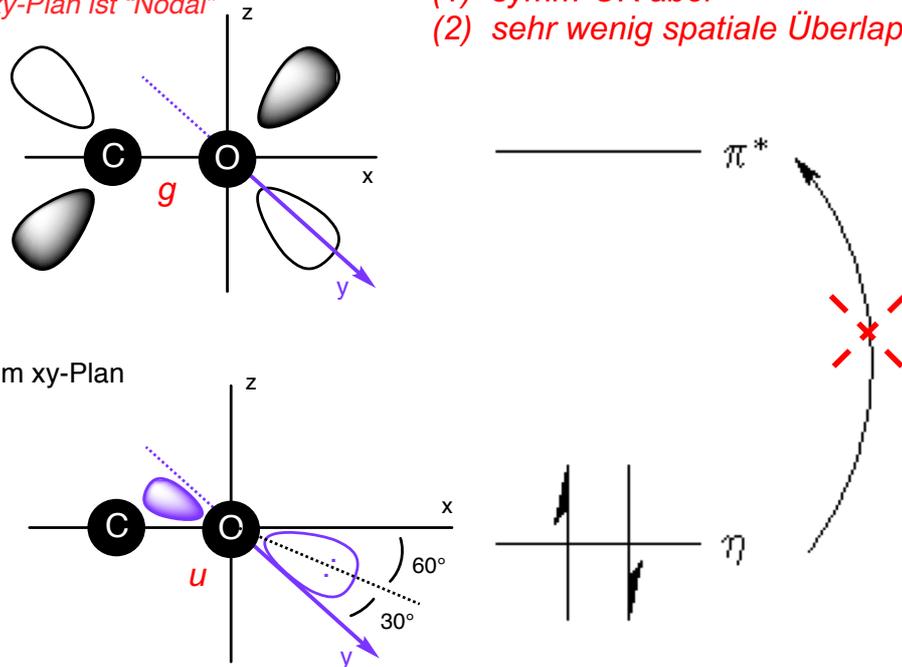
(2):  $\pi, \pi^*$  beide im  $xz$  Plan = *spatiale Überlappung gut*  
= *Überlappung-erlaubt*

17

$n \rightarrow \pi^*$ : Überlappung zu klein = „Unerlaubt“

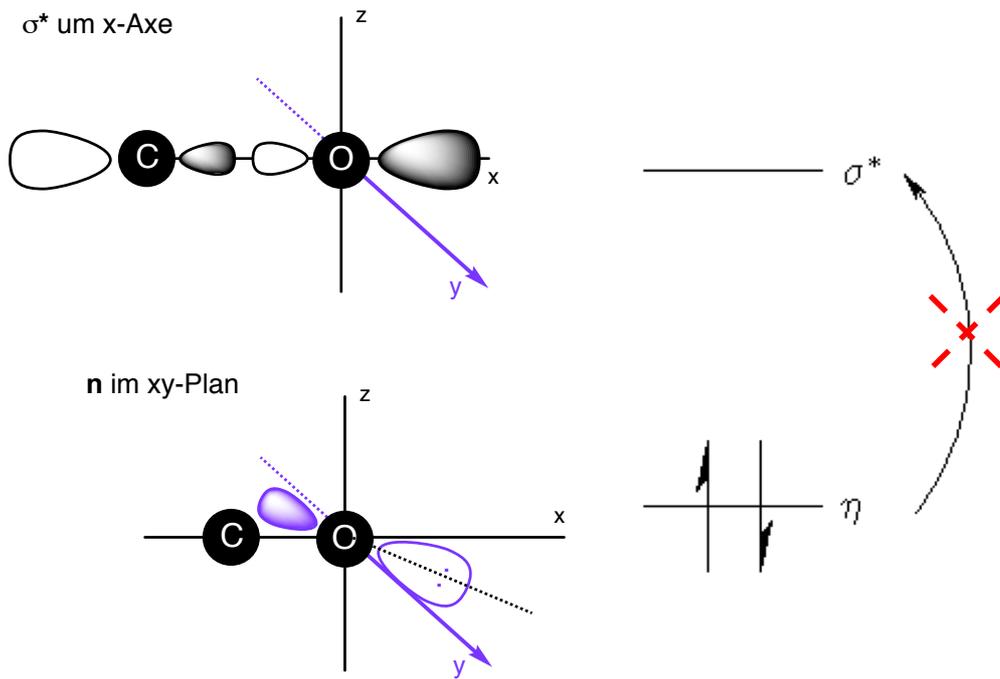
$\pi^*$  im  $xz$ -Plan  
&  $xy$ -Plan ist „Nodal“

(1) *symm-OK aber*  
(2) *sehr wenig spatiale Überlappung*



18

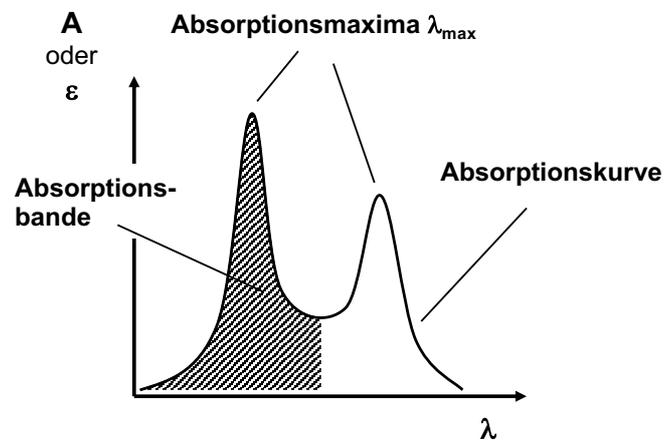
$n \rightarrow \sigma^*$ : Unerlaubt weil \_\_\_\_\_



19

## Terminologie 1

### Absorptionsspektrum

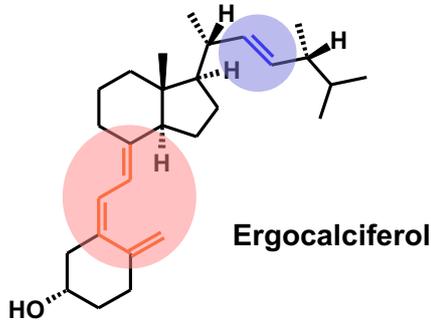


20

## Terminologie 2

### Chromophor

Teil eines Moleküls der für die Absorption von UV-Vis-Strahlung verantwortlich ist



**Chromophor 1:**  $\lambda$  ( $\pi$ - $\pi^*$ ): 265 nm  
**Chromophor 2:**  $\lambda$  ( $\pi$ - $\pi^*$ ): 170 nm

### Auxochrom

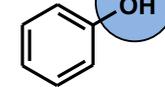
Funktionelle Gruppe mit n-Orbitalen (z.B. -OH, -NH<sub>2</sub>, -SH, -Hal) die direkt an einen Chromophor gebunden ist und dessen Absorption **beeinflusst** (absorbiert selbst nicht)

#### Benzol

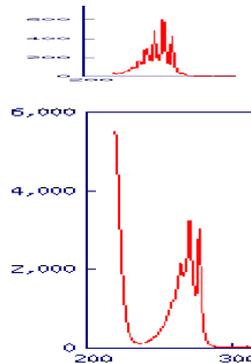


$\lambda_{\max}$ : 254 nm  
 $\epsilon$ : 204

#### Phenol



$\lambda_{\max}$ : 270 nm  
 $\epsilon$ : 1450

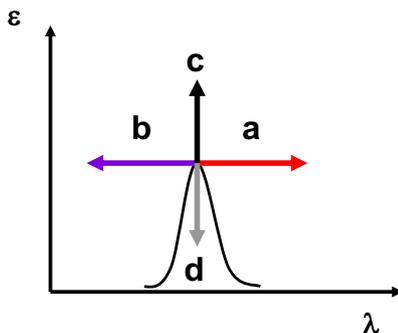


*stärker & längerwelliger*

„Gruppen mit freien Elektronenpaaren erhöhen die  $\pi$ -Elektronendichte im HOMO  $\pi$ -Orbital (+Repulsion), daher wird der Energieunterschied zur  $\pi^*$  kleiner“

21

## Terminologie 3

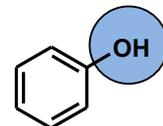


- a) Verschiebung von  $\lambda_{\max}$  in den langwelligeren Bereich (Rotverschiebung, **bathochromer** Effekt)
- b) Verschiebung von  $\lambda_{\max}$  in den kurzwelligen Bereich (Blauverschiebung; **hypsochromer** Effekt)
- c) Intensitätserhöhung (**hyperchromer** Effekt)
- d) Intensitätserniedrigung (**hypochromer** Effekt)



#### Benzol

$\lambda_{\max}$ : 254 nm  
 $\epsilon$ : 204



#### Phenol

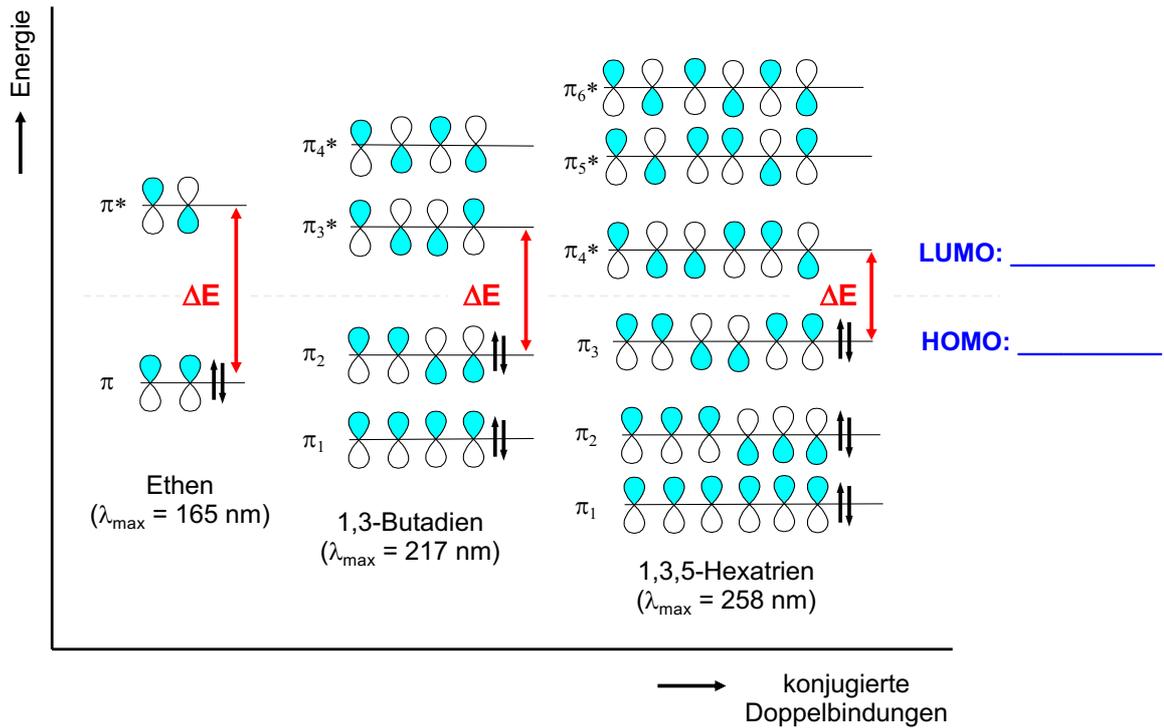
$\lambda_{\max}$ : 270 nm  
 $\epsilon$ : 1450

**bathochromer** Effekt +  
**hyperchromer** Effekt

22

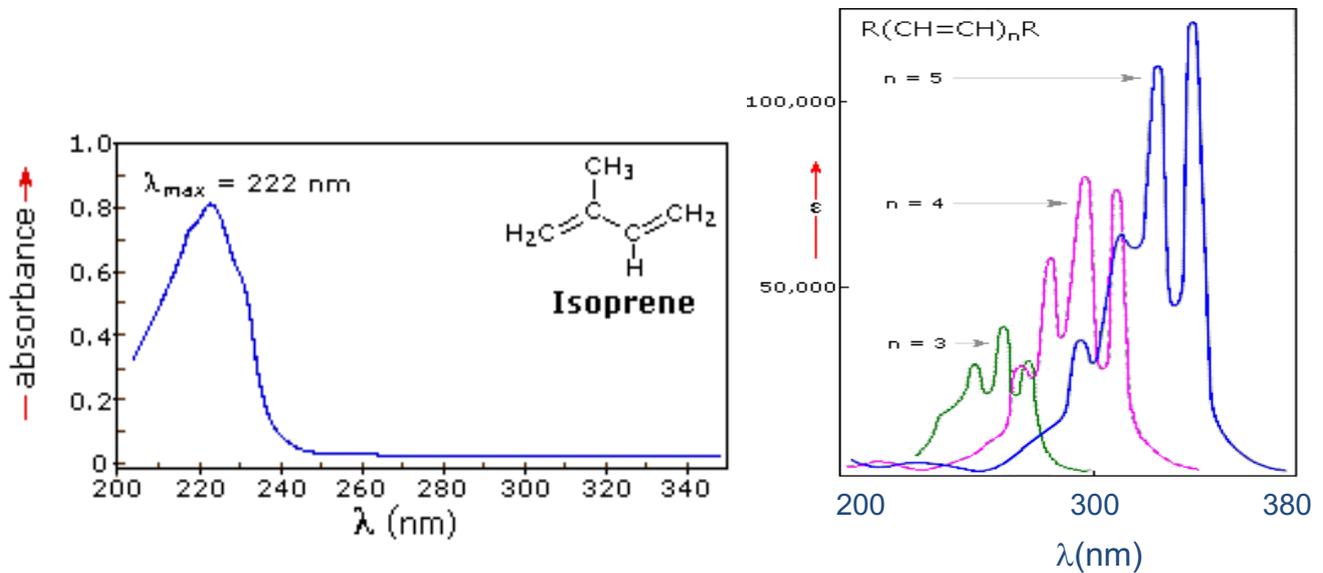


# Chromophore aus $\pi$ -Elektronen: Alkene und Polyene



25

# Chromophore aus $\pi$ -Elektronen: Alkene und Polyene



26

# Empirische Berechnung von Absorptionsmaxima

- Es *gibt* Methoden, je nachdem Molekülfamilie.
- Quadratwurzelgesetz (lineäre Polyene):  $\lambda_{\max}[\text{nm}] = 134\sqrt{n} + 31$
- Dien-Regeln / Woodward-Fieser Regeln
- Inkrementregeln auch für Aromaten
  - Abhängig von der Position des Substituenten
  - o,m,p disubstituiert: vergl. Organische Chemie und NMR

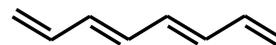
27

## Empirische Berechnung von Absorptionsmaxima - 1

**Quadratwurzelgesetz** (Kuhn u. Hauser)

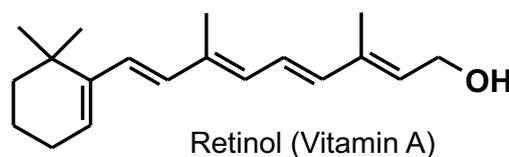
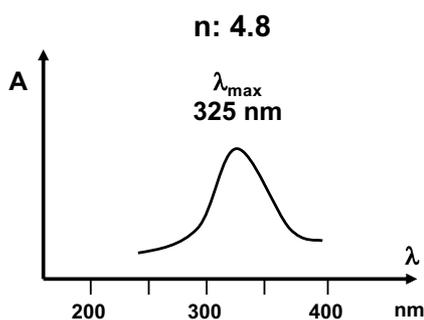
$$\lambda_{\max} = 134 \sqrt{n} + 31 \text{ [nm]}$$

$$n = \left( \frac{\lambda_{\max} - 31}{134} \right)^2$$



$\lambda_{\max}$  (berechnet): **299 nm**

$\lambda_{\max}$  (gemessen): **302 nm**



28

## Empirische Berechnung von Absorptionsmaxima - 2

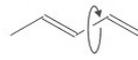


2,4-Hexadien

$\lambda_{\max}$  (beobachtet): **227 nm**

acyclisches Dien

frei beweglich



217 nm

homoannulares cisoides Dien

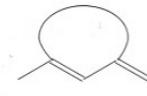
cis fixiert



253 nm

heteroannulares transoides Dien

trans fixiert



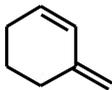
214 nm

### Dien-Regel (Woodward)

Basischromophor (Dien):		217 nm
für jede weitere konjugierte Doppelbindung:	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
für jede exocyclische Doppelbindung zusätzlich:	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
jede Gruppe, die direkt am Chromophor gebunden ist, erhöht die Absorptionswellenlänge um:		10 nm
Alkyl-Rest	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
-O-Alkyl-Rest	$n \cdot 6 \text{ nm} =$	
-S-Alkyl-Rest	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
-N-Rest	$n \cdot 60 \text{ nm} =$	
Halogen	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
Summe (= langwelligste Absorption der Verbindung) =		<b>227 nm</b>

29

## Empirische Berechnung von Absorptionsmaxima - 3

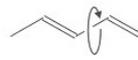


Methylenecyclohexen

$\lambda_{\max}$  (beobachtet): **231 nm**

acyclisches Dien

frei beweglich



217 nm

homoannulares cisoides Dien

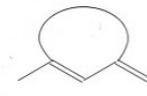
cis fixiert



253 nm

heteroannulares transoides Dien

trans fixiert



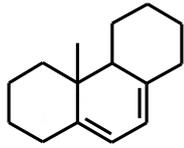
214 nm

### Dien-Regel (Woodward)

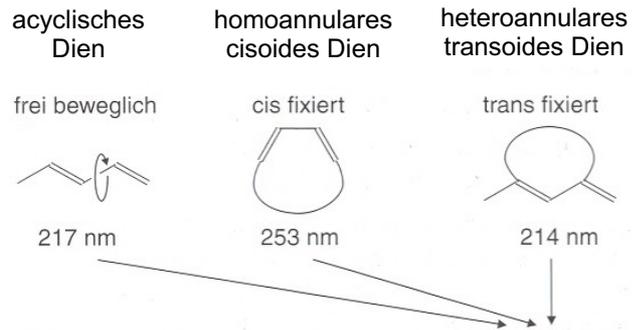
Basischromophor (Dien):		
für jede weitere konjugierte Doppelbindung:	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
für jede exocyclische Doppelbindung zusätzlich:	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
jede Gruppe, die direkt am Chromophor gebunden ist, erhöht die Absorptionswellenlänge um:		
Alkyl-Rest	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
-O-Alkyl-Rest	$n \cdot 6 \text{ nm} =$	
-S-Alkyl-Rest	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
-N-Rest	$n \cdot 60 \text{ nm} =$	
Halogen	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
Summe (= langwelligste Absorption der Verbindung) =		

30

## Empirische Berechnung von Absorptionsmaxima - 4



$\lambda_{\max}$  (beobachtet): **282 nm**

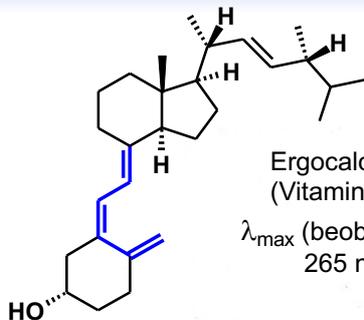


### Dien-Regel (Woodward)

Basischromophor (Dien):		
für jede weitere konjugierte Doppelbindung:	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
für jede exocyclische Doppelbindung zusätzlich:	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
jede Gruppe, die direkt am Chromophor gebunden ist, erhöht die Absorptionswellenlänge um:		
Alkyl-Rest	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
-O-Alkyl-Rest	$n \cdot 6 \text{ nm} =$	
-S-Alkyl-Rest	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
-N-Rest	$n \cdot 60 \text{ nm} =$	
Halogen	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
Summe (= langwelligste Absorption der Verbindung) =		

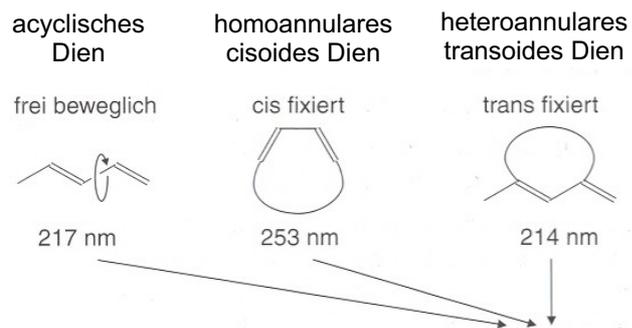
31

## Empirische Berechnung von Absorptionsmaxima - 5



Ergocalciferol  
(Vitamin D2)

$\lambda_{\max}$  (beobachtet):  
265 nm

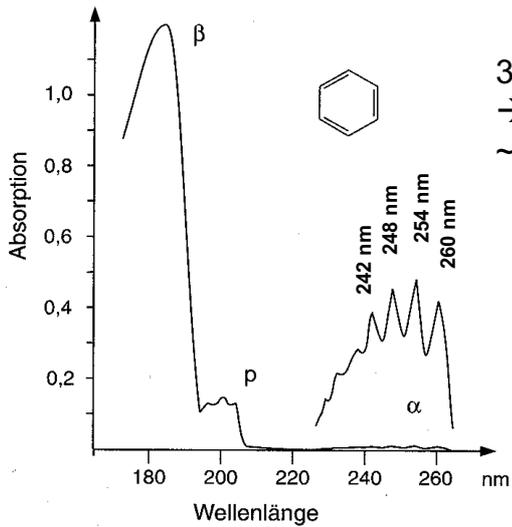


### Dien-Regel (Woodward)

Basischromophor (Dien):		
für jede weitere konjugierte Doppelbindung:	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
für jede exocyclische Doppelbindung zusätzlich:	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
jede Gruppe, die direkt am Chromophor gebunden ist, erhöht die Absorptionswellenlänge um:		
Alkyl-Rest	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
-O-Alkyl-Rest	$n \cdot 6 \text{ nm} =$	
-S-Alkyl-Rest	$n \cdot 30 \text{ nm} =$	
-N-Rest	$n \cdot 60 \text{ nm} =$	
Halogen	$n \cdot 5 \text{ nm} =$	
Summe (= langwelligste Absorption der Verbindung) =		

32

# Chromophore aus $\pi$ -Elektronen: Benzol



3  $\pi$ -Orbitalen  
 $\rightarrow$  3  $\pi^*$ -Orbitalen  
 $\approx$  3 Übergänge

	Übergang	$\lambda_{\max}$ ( $\epsilon$ )	
$\alpha$ -Bande	$\pi \rightarrow \pi^*$	256 (204)	} symmetrie- verboten
$p$ -Bande	$\pi \rightarrow \pi^*$	203 (7400)	
$\beta$ -Bande	$\pi \rightarrow \pi^*$	184 (60.000)	

**Benzol:** Wichtiges Chromophor: Aromaten.  
 3 Übergänge, wovon  $\alpha$ -Bande wichtig.

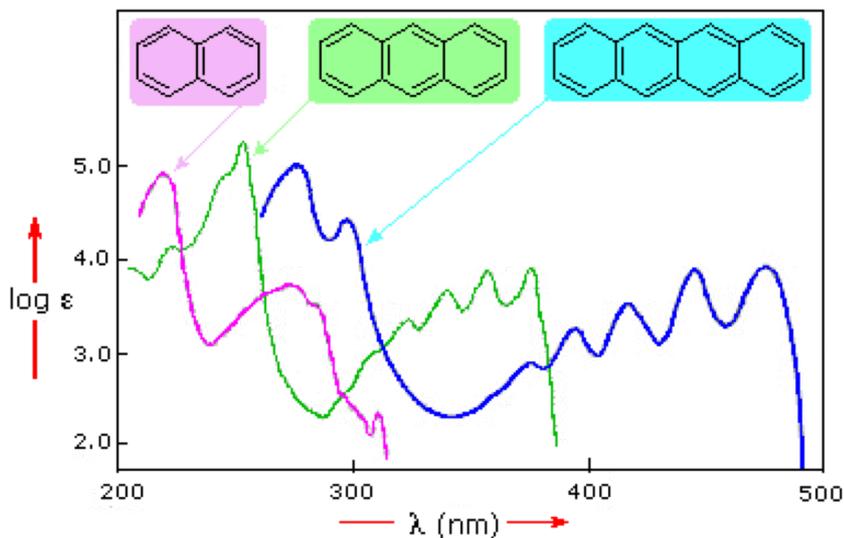
**Feinstruktur** durch Schwingungsübergang  
 in der Gasphase sichtbar, weniger in  
 unpolaren LM, und in polaren LM (ROH,  
 RCO<sub>2</sub>R, RCOR) meistens nicht aufgelöst

(Auxochromen auch machen Feinstruktur  
 $\sim$ unerkenntbar)

Feinstruktur der  $\alpha$ -Bande:  $\frac{1}{\lambda_2} - \frac{1}{\lambda_1} = \Delta\tilde{\nu}$  ( $\lambda$  in cm)

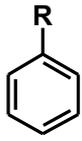
z.B.  $\frac{1}{2.48 \cdot 10^{-5} \text{ cm}} - \frac{1}{2.54 \cdot 10^{-5} \text{ cm}} = 953 \text{ cm}^{-1}$

# Chromophore aus $\pi$ -Elektronen: größere Aromaten

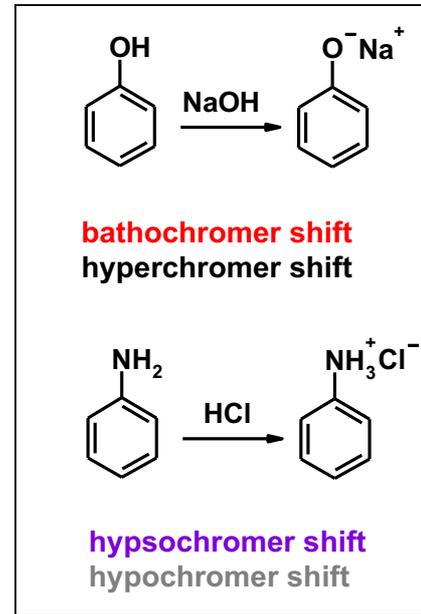


# Chromophore aus $\pi$ -Elektronen: Substituierte Benzole

pH Änderungen können Spektren stark verändern durch z.B. (1) die Protonierung oder Deprotonierung auxochromer Gruppen; (2) nachlesen / Rücker

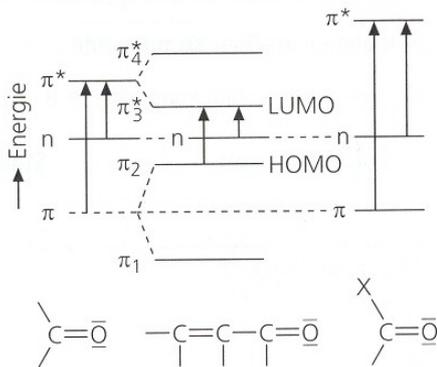


R	$\alpha$ -Bande $\lambda_{\max}$ ( $\epsilon$ )	$\beta$ -Bande $\lambda_{\max}$ ( $\epsilon$ )
H	254 (204)	204 (7400)
CH <sub>3</sub>	260 (300)	207 (9300)
COOH	<b>273</b> (970)	<b>230</b> (11600)
COO <sup>-</sup>	268 (560)	224 (8700)
NH <sub>2</sub>	<b>280</b> (1430)	<b>230</b> (8600)
NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	254 (160)	203 (7500)
NMe <sub>2</sub>	290 (1590)	251 (12900)
OH	<b>270</b> (1450)	<b>211</b> (6200)
O <sup>-</sup>	287 (2600)	235 (9400)
OMe	269 (1480)	217 (6400)
Cl	264 (190)	210 (7400)

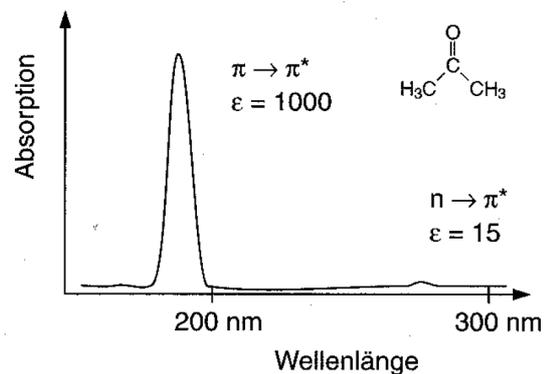


35

# Chromophore aus $\pi$ - & n-Elektronen: Gesättigte Carbonylverbindungen



$n \rightarrow \pi^*$ -Übergänge

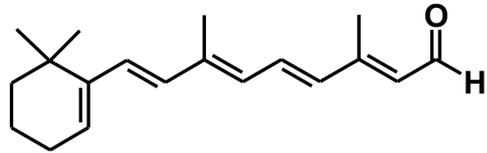
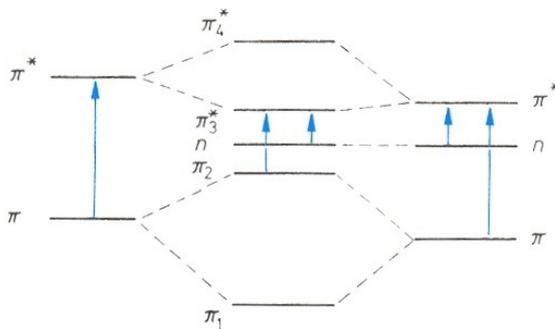


Verbindung	$\lambda_{\max}$ (nm)	$\epsilon$	Solvens
Acetaldehyd	293	12	Hexan
Aceton	279	15	Hexan
Acetylchlorid	235	53	Hexan
Acetamid	205	160	Methanol
Ethylacetat	207	70	Petrolether
Essigsäure	204	41	Ethanol

36

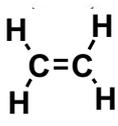
# Chromophore aus $\pi$ - & n-Elektronen: Ungesättigte Carbonylverbindungen

## $\pi$ - $\pi^*$ -Übergänge

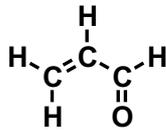


Retinal !

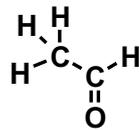
337 nm



165 nm



207 nm



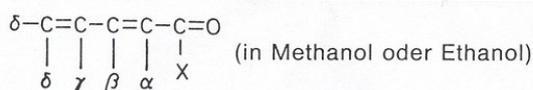
180 nm

→ polarisiert auch das Polyene-Teil

37

# Chromophore aus $\pi$ - & n-Elektronen: Ungesättigte Carbonylverbindungen

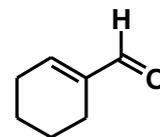
## Keton-Regel ( $\pi$ - $\pi^*$ -Übergang) nach R. B. Woodward



Basiswerte	X = H	207 nm
	X = Alkyl (bzw. 6-Ring)	215 nm
	X = OH, OAlkyl	193 nm

Inkrement	Value
pro weitere konjugierte (C=C)-Bindung	+ 30 nm
pro exocyclische Lage einer (C=C)-Bindung	+ 5 nm
pro homoannulare Dien-Komponente	+ 39 nm
pro Substituenten in	

	Stellung			
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$ und höher
Alkyl (oder Ringrest)	10	12	18	18
Cl	15	12		
Br	25	30		
OH	35	30		50
OAlkyl	35	30	17	31
O-Acyl	6	6	6	6
N(Alk) <sub>2</sub>		95		



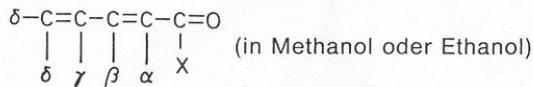
1-Cyclohexen-1-carboxaldehyd

Chromophor (X = H)	207 nm
$\alpha$ -Alkyl-Rest	+ 10 nm
$\beta$ -Alkyl-Rest	+ 12 nm
$\lambda_{\text{max}}$	<b>229 nm</b>
$\lambda_{\text{max}}$ (beobachtet)	<b>231 nm</b>

38

# Chromophore aus $\pi$ - & n-Elektronen: Ungesättigte Carbonylverbindungen

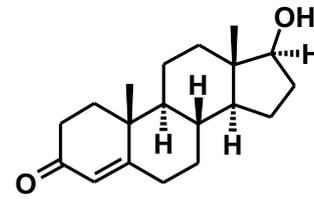
## Keton-Regel ( $\pi$ - $\pi^*$ -Übergang) nach R. B. Woodward



Basiswerte	X = H	207 nm
	X = Alkyl (bzw. 6-Ring)	215 nm
	X = OH, OAlkyl	193 nm

Inkrement	Wert
pro weitere konjugierte (C=C)-Bindung	+ 30 nm
pro exocyclische Lage einer (C=C)-Bindung	+ 5 nm
pro homoannulare Dien-Komponente	+ 39 nm
pro Substituenten in	

	Stellung			
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$ und höher
Alkyl (oder Ringrest)	10	12	18	18
Cl	15	12		
Br	25	30		
OH	35	30		50
OAlkyl	35	30	17	31
O-Acyl	6	6	6	6
N(Alk) <sub>2</sub>		95		

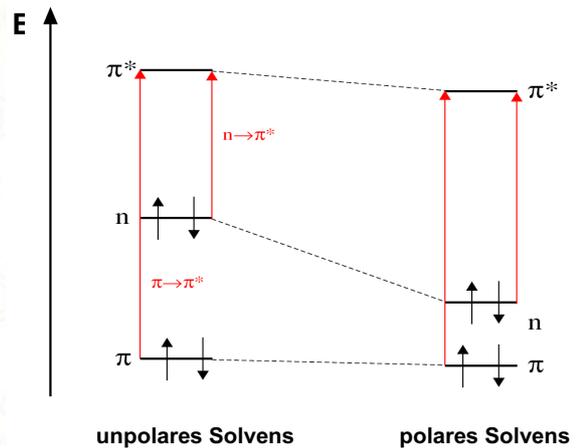
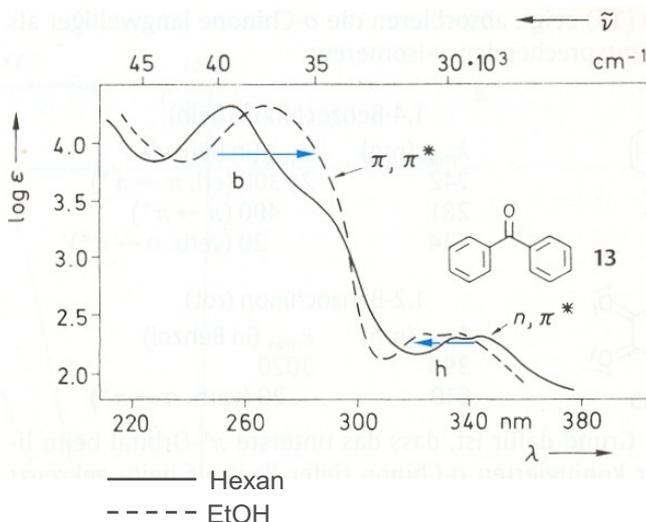


**Testosteron**

Chromophor (X = Alkyl)	215 nm
2- $\beta$ -Alkyl-Reste	+ 2 · 12 nm
Exocyclische Natur einer Doppelbindung	+ 5 nm
$\lambda_{\max}$	<b>244 nm</b>
$\lambda_{\max}$ (beobachtet)	<b>238 nm</b>

39

## Terminologie 4 / rund um Solvatochromie



Lage der Maxima hängt vom Lösungsmittel ab.  
 Von ein unpolares Lösungsmittel  $\Rightarrow$  polares Lösungsmittel:

- $\pi$ - $\pi^*$ -Anregungen energieärmer  
 (bathochrome Verschiebung, positive Solvatochromie)
- n- $\pi^*$ -Anregungen energiereicher  
 (hypsochrome Verschiebung, negative Solvatochromie)

40

*kann in der nächste VLS gehen*

# UVVIS - GERÄTE & MESSUNG

41

## UVVis-Messgeräte

- Kolorimeter
- Photometer
  - UV und/oder Vis-Bereich
  - keine automatische Spektrenregistrierung
  - quantitative Analysen
- Spektrometer
  - UV-Vis-Bereich
  - automatische Spektrenregistrierung
  - qualitative und quantitative Analysen
  - Einstrahl-, Zweistrahl-, und Photodiodenarray-Spektrometer

42

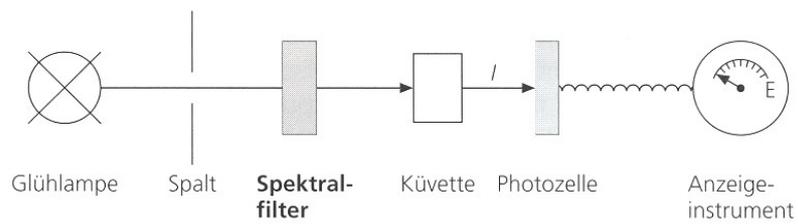
# Photometer

## Filterphotometer (breitbandige Photometer)

- Kontinuierliche Lichtquelle (Kontinuumstrahler) z.B. Glühlampe
- Filter

## Spektrallinienphotometer (schmalbandige Photometer)

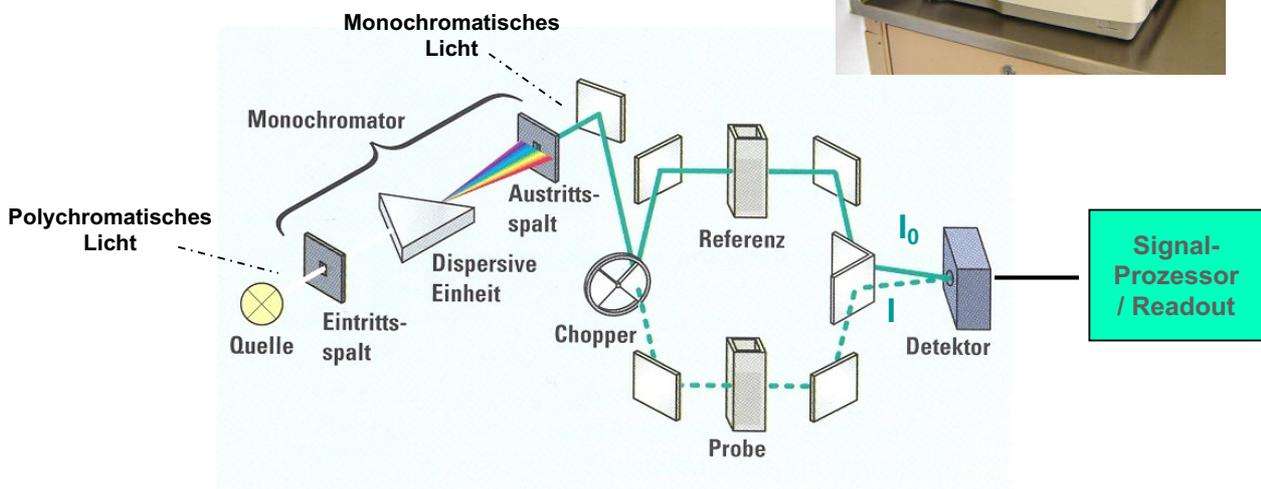
- Spektrallampe (Linienstrahler) z.B. Hg-Dampfampe
- Filter



Filterphotometer

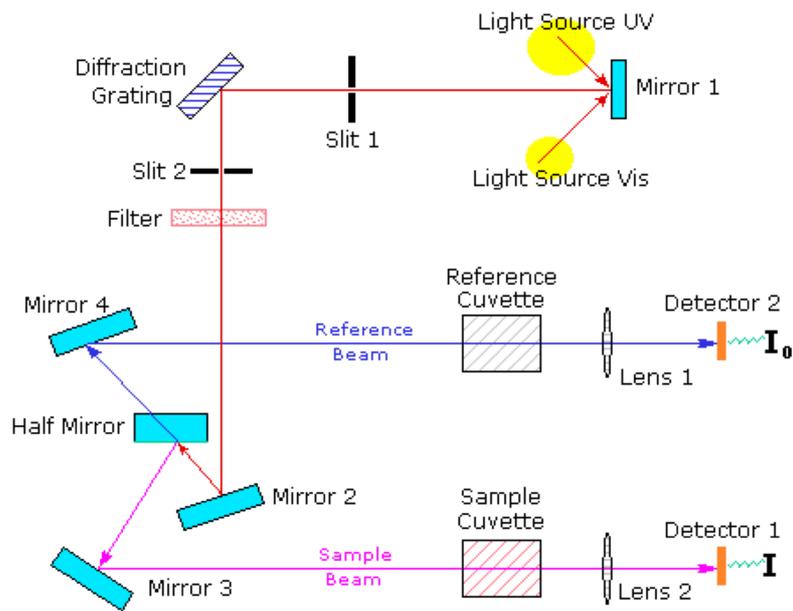
43

# UVVis-Spektrometer 1



44

# UVVis-Spektrometer 2



45

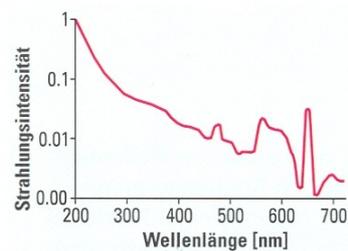
# UVVis-Quellen (nochmal)

- Details / Vor-&Nachteile: siehe Spektro-VLS 1 & 2

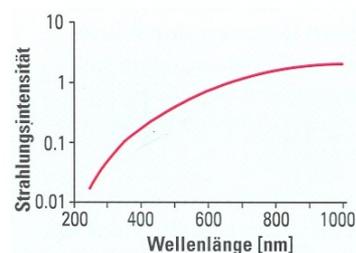


## Lichtquellen

H<sub>2</sub> oder D<sub>2</sub>-Gasentladungslampe  
(160-380 nm, UV)



Wolfram-Halogen-Lampe  
(240-2500 nm, Vis)

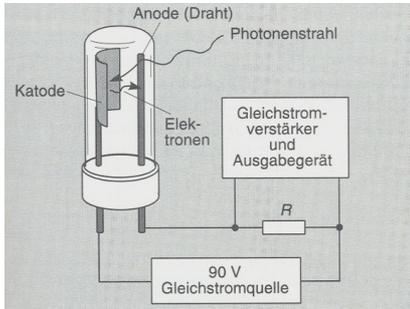


46

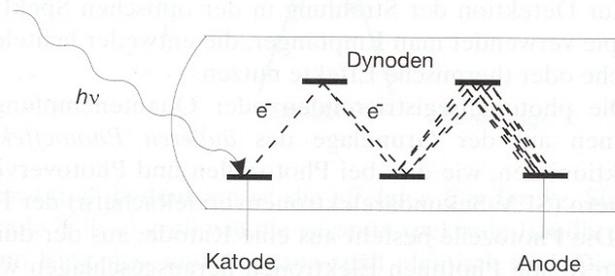
# UVVis-Detektoren 1 (nochmal)

- Details / Vor-&Nachteile: siehe Spektro-VLS 1 & 2

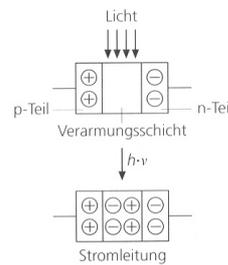
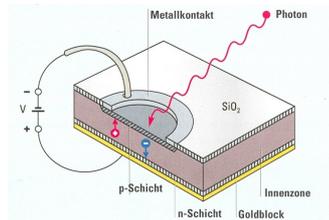
## Photozelle



## Photomultiplier



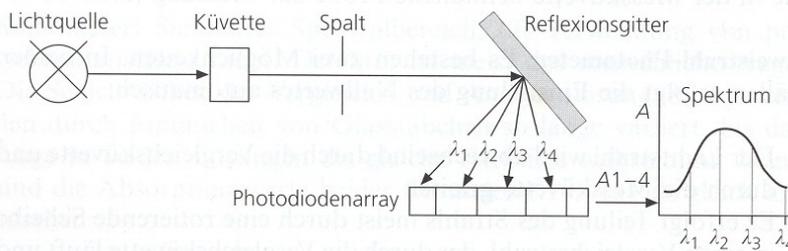
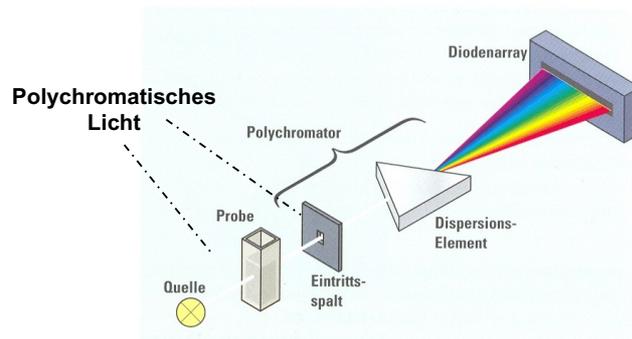
## Photodiode (170-1100 nm)



47

# UVVis-Detektoren 2 (neu): Photodioden-Array ("DAD")

- auch in jede moderne HPLC UV-Detektor (warum?)



48

## Absorption

$$\Delta A \leq \pm 0.01$$

Kontrolle:

schwefelsaure  $K_2Cr_2O_7$ -Lösung

## Wellenlänge

$$\Delta \lambda \leq \pm 1 \text{ nm (UV)}$$

$$\Delta \lambda \leq \pm 3 \text{ nm (Vis)}$$

Kontrolle:

Holmiumperchlorat-Lösung.

Quecksilberdampf-Lampe

$H_2$ -Gasentladungslampe

$D_2$ -Gasentladungslampe

## Spektrale Bandbreite

## Streulicht

## Auflösungsvermögen

Tabelle 2.2.25-2

Wellenlänge (nm)	Spezifische Absorption $A_{1\%}^{1\text{cm}}$	Maximale Abweichung
235	124,5	122,9 – 126,2
257	144,5	142,8 – 146,2
313	48,6	47,0 – 50,3
350	107,3	105,6 – 109,0

Tab. 2.2.25-1: Absorptionsmaxima zur Kontrolle der Wellenlängenskala

241,15 nm (Ho)	404,66 nm (Hg)
253,7 nm (Hg)	435,83 nm (Hg)
287,15 nm (Ho)	486,0 nm (D $\beta$ )
302,25 nm (Hg)	486,1 nm (H $\beta$ )
313,16 nm (Hg)	536,3 nm (Ho)
334,15 nm (Hg)	546,07 nm (Hg)
361,5 nm (Ho)	576,96 nm (Hg)
365,48 nm (Hg)	579,07 nm (Hg)

49

# Lösungsmittel - Küvetten (nochmal)



## Lösungsmittel

Wasser	200 nm
<i>n</i> -Hexan, Cyclohexan	200 nm
MeOH, EtOH, 2-Propanol	210 nm
Diethylether	215 nm
Dichlormethan	240 nm
Chloroform	260 nm
Benzol	280 nm
Toluol	290 nm

## Durchlässigkeitsgrenze

*jetzt wissen sie  
warum diese  
Grenze existieren!*



## Küvetten

Quarz	170-3000 nm
Silikatglas	350-2000 nm

## Durchlässigkeitsgrenze

Ph. Eur. 5. Ausg.:	$\Delta b \pm 0.005 \text{ cm}$
	$\Delta T = 0$

50

## Mehrkomponentenanalyse (nochmal)

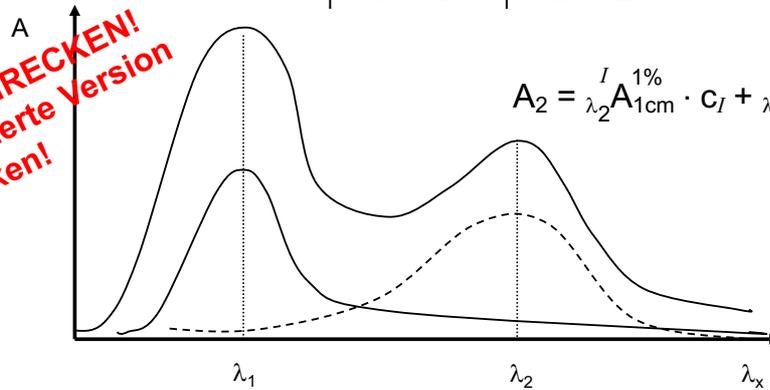
$\frac{I}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%}$  und  $\frac{I}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%}$ : spez. Absorption von Substanz **I** bei  $\lambda_1$  bzw.  $\lambda_2$

$\frac{II}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%}$  und  $\frac{II}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%}$ : spez. Absorption von Substanz **II** bei  $\lambda_1$  bzw.  $\lambda_2$

$$A_1 = \frac{I}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot c_I + \frac{II}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot c_{II}$$

$$A_2 = \frac{I}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot c_I + \frac{II}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot c_{II}$$

**NICHT ERSCRECKEN!**  
überkomplizierte Version  
→ rüberklicken!



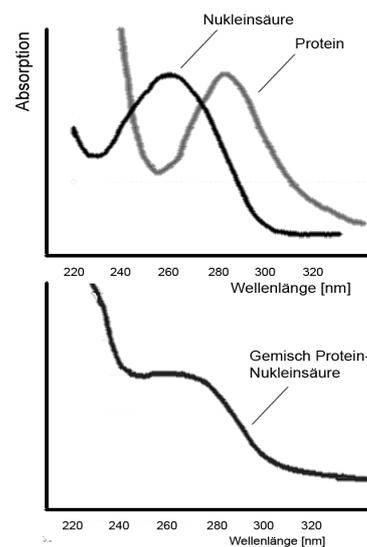
$$c_I = \frac{A_1 \cdot \frac{II}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%} - A_2 \cdot \frac{II}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%}}{\frac{I}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot \frac{II}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%} - \frac{I}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot \frac{II}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%}}$$

$$c_{II} = \frac{A_2 \cdot \frac{I}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%} - A_1 \cdot \frac{I}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%}}{\frac{I}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot \frac{II}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%} - \frac{I}{\lambda_2} A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot \frac{II}{\lambda_1} A_{1\text{cm}}^{1\%}}$$

51

## Mehrkomponentenanalyse 1

- Absorption im Gemisch der Stoffe 1 und 2 :  
 $A_{\text{gesamt}, \lambda_1} = \varepsilon_{\lambda_1}^1 \cdot c^1 \cdot d + \varepsilon_{\lambda_1}^2 \cdot c^2 \cdot d$  bei Wellenlänge  $\lambda_1$   
 $A_{\text{gesamt}, \lambda_2} = \varepsilon_{\lambda_2}^1 \cdot c^1 \cdot d + \varepsilon_{\lambda_2}^2 \cdot c^2 \cdot d$  bei Wellenlänge  $\lambda_2$
- Zwei Messwerte ( $A_{\lambda_1}, A_{\lambda_2}$ )
- Zwei Gleichungen
- > zwei Unbekannte ( $c^1, c^2$ ) können ermittelt werden



Praktische Anwendung: Proteine  
und Nukleinsäuren im Gemisch

## Mehrkomponentenanalyse 2

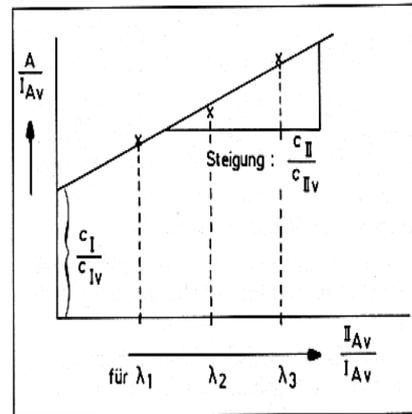
- Höhere Genauigkeit durch Messung der Absorption bei mehreren Wellenlängen
- Vergleichslösungen beider Komponenten bei allen Wellenlängen messen

$$A^{\text{gesamt}}(\lambda) = \varepsilon_1(\lambda) \cdot c_1 \cdot d + \varepsilon_2(\lambda) \cdot c_2 \cdot d$$

$$\frac{A^{\text{gesamt}}(\lambda)}{\varepsilon_1(\lambda) \cdot d} = c_1 + \frac{\varepsilon_2(\lambda)}{\varepsilon_1(\lambda)} \cdot c_2$$

- Graphische Auftragung ermöglicht Ermittlung der beiden Konzentrationen

- Erfordert Kenntnis der Extinktionskoeffizienten bei allen vermessenen Wellenlängen
- Häufig mit spezifischer Absorption (Rücker)



53

*wird voraussichtlich in der nächste VLS verschoben*

## UVVIS - ANWENDUNGEN

54

# Anwendungen in der Pharmazie

**Spezifische Absorption  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ :**  
Absorption einer 1%igen Lösung (10g/l)  
bei einer Schichtdicke von 1 cm

$$A = A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot c \cdot b$$

**A:** Absorption (dimensionslos)  
 **$A_{1\text{cm}}^{1\%}$ :** spezifische Absorption [ $1/\% \cdot \text{cm}^{-1}$ ]  
**c:** Konzentration in %  
**b:** Schichtdicke [cm]

## Umrechnung

$$A_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{10 \cdot \epsilon}{M_R}$$

$$\begin{aligned} \text{Ableitung: } \epsilon &= \frac{A}{c\left(\frac{\text{mol}}{\text{l}}\right) \cdot b(\text{cm})} = \frac{A \cdot M_R}{c\left(\frac{\text{g}}{\text{l}}\right) \cdot b(\text{cm})} \\ &= \frac{A \cdot M_R}{c\left(\frac{\text{g}}{100\text{ml}}\right) \cdot b(\text{cm}) \cdot 10} = A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot \frac{M_R}{10} \end{aligned}$$

55

# Anwendungen in der Pharmazie - Identitätsprüfungen

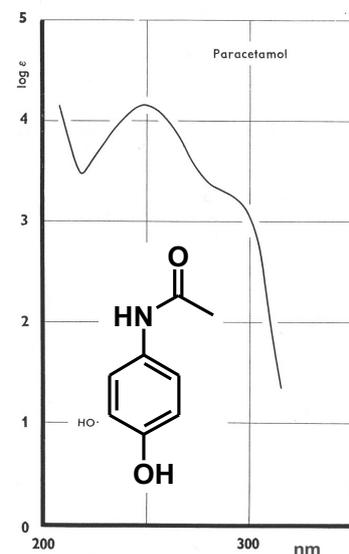
## Identitätsprüfungen (Ph. Eur. 5. Ausg.)

Kriterien:

- Absorptionsmaxima ( $\lambda_{\text{max}}$ )
- $\lambda_{\text{max}}$  und Absorptionen (A) in festgelegten Prüflösungen
- $\lambda_{\text{max}}$  und  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$
- $\lambda_{\text{max}}$  und Absorptionsminima und  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$
- Verhältnis der Absorptionen zweier Maxima bzw. von Maximum und Minimum in festgelegten Prüflösungen

z.B. Paracetamol

„0.10 g Substanz werden in Methanol R zu 100.0 ml gelöst. 1.0 ml Lösung wird mit 0.5 ml einer Lösung von Salzsäure R (10.3 g·l<sup>-1</sup>) versetzt und mit Methanol R zu 100.0 ml verdünnt. Diese Lösung wird vor direkter Lichteinwirkung geschützt und die Absorption (2.2.25) sofort im Maximum bei 249 nm gemessen. Das spezifische Absorption, im Maximum gemessen, liegt zwischen 860 und 980.“



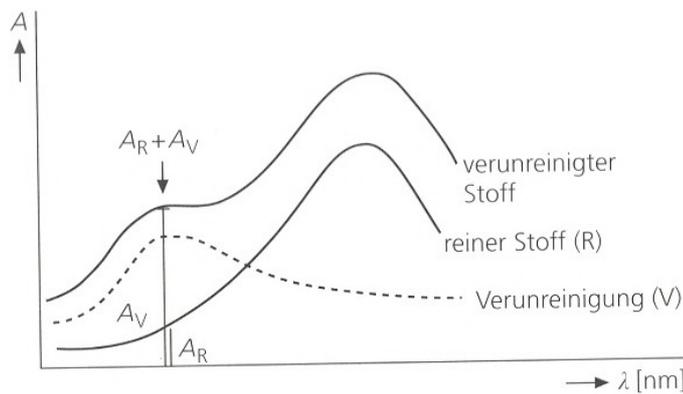
56

# Anwendungen in der Pharmazie - Reinheitsprüfung

## Reinheitsprüfungen (Ph. Eur. 5. Ausg.)

Kriterien:

- $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  innerhalb vorgegebener Grenzen
- $A(\lambda_1) - A(\lambda_2)$  innerhalb vorgegebener Grenzen
- $A(\lambda_1) / A(\lambda_2)$  innerhalb vorgegebener Grenzen

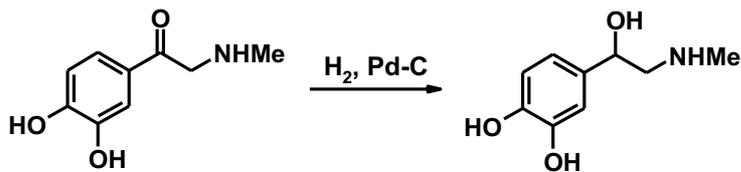


57

# Anwendungen in der Pharmazie - Reinheitsprüfung

z.B. Reinheitsprüfung von Epinephrin (Adrenalin):

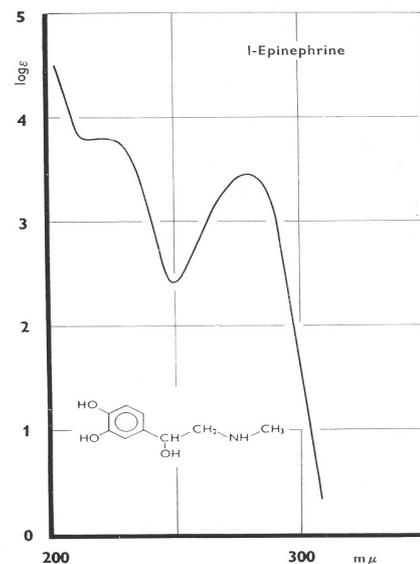
„Adrenalon: 50.0 mg Substanz werden in Salzsäure ( $0.01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) zu 25.0 ml gelöst. Die Absorption (2.2.25) der Lösung, bei 310 nm gemessen darf höchstens 0.10 betragen.“



Adrenalon  
(Synthesewzwischenprodukt)

Epinephrin

$\lambda_{\text{max}}$ : 232 nm, 279 nm, **312 nm**



58

# Anwendungen in der Pharmazie - Gehaltsbestimmungen

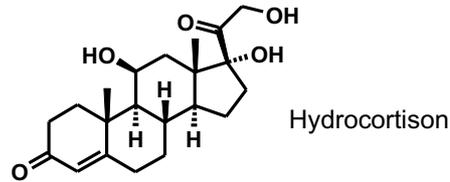
## Gehaltsbestimmungen (Ph. Eur. 5. Ausg.)

Verfahren:

- Lambert-Beer'sches Gesetz
- Vergleichslösung
- Eichkurve

Lambert-Beer'sches Gesetz

$$c_x = \frac{A_x}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot b} [\%]$$



z.B.: Gehaltsbestimmung von Hydrocortison

„0.100 g Substanz werden in Ethanol 96% R zu 100.0 ml gelöst. 2.0 ml Lösung werden mit Ethanol 96% R zu 100.0 ml verdünnt. Die Absorption (2.2.25) wird im Maximum bei 241.5 nm gemessen.“

Der Gehalt an  $C_{21}H_{30}O_5$  wird mit Hilfe der spezifischen Absorption berechnet ( $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 440$ ).“

59

## Technik - Vergleichslösung

**Vergleichslösung** (bei unbekanntem  $\epsilon$  bzw.  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ ) (Einpunkteichung)

Absorption  $A_V$  einer Vergleichslösung mit  $c_V$  wird bestimmt

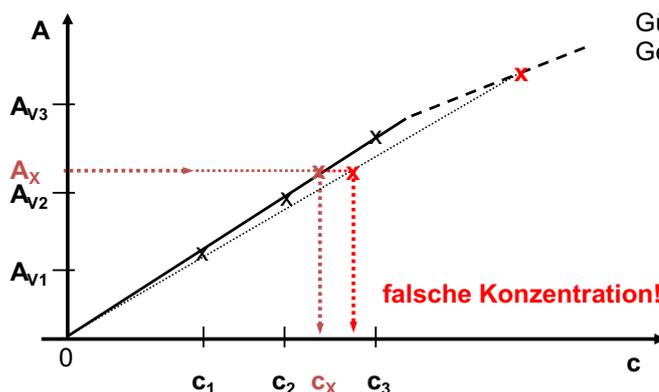
Vergleichslösung  $A_V = \epsilon \cdot c_V \cdot b$

Probenlösung  $A_x = \epsilon \cdot c_x \cdot b$

$$\frac{A_x}{A_V} = \frac{c_x}{c_V} \Rightarrow$$

$$c_x = \frac{A_x}{A_V} \cdot c_V$$

**Eichkurve** (Mehrpunkteichung)

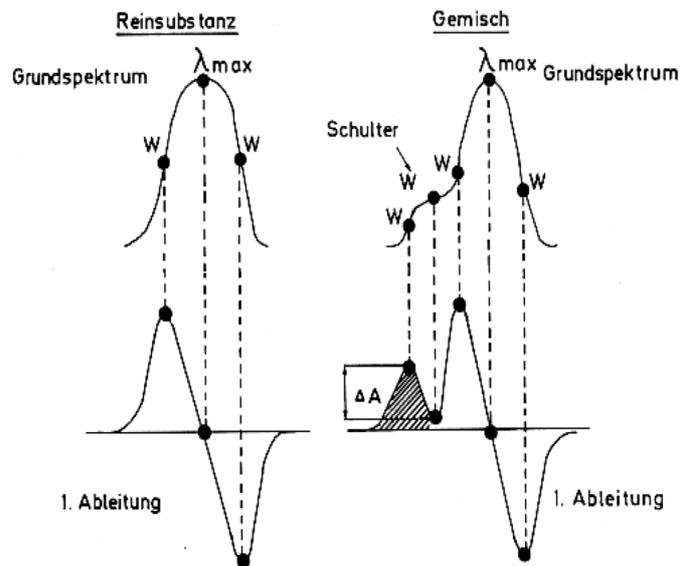


Gültigkeitsbereich des Lambert-Beer'schen Gesetzes wird sichtbar

60

# Ableitungsspektroskopie

- Statt des eigentlichen Spektrums wird die Ableitung betrachtet
- Schultern (z.B. aus Verunreinigungen) werden besser identifiziert
- Grundliniendrift wird eliminiert



61

# Zusammenfassung UVVis

- Sehr ! viele pharmazeutische Anwendungen
- Lambert Beer gilt !
  - Häufigste Anwendung überhaupt
- Unterer Wellenlängenbereich 200 nm bedingt durch Geräte, Absorption der Lösungsmittel und der Luft
- Küvetten aus Quarz
- Messung elektronischer Übergänge
- -> Grenzorbitale: HOMO-LUMO

62

## 12.7 Grundlagen der Molekülspektroskopie im ultravioletten (UV) und sichtbaren (Vis) Bereich

### 12.7.1 Grundlagen der Lichtabsorption durch Moleküle im UV und Vis

Absorption von Licht durch Moleküle; HOMO-LUMO-Übergänge, Anregungsarten, Absorptionsbanden, Absorptionsspektren; Chromophore mit  $\pi$ -Elektronen, Chromophore mit  $\pi$ - und n-Elektronen; Jablonski-Termschema (Energieniveaudiagramm)

### 12.7.2 Beziehungen zwischen Molekülstruktur und Lichtabsorption

Verbindungen mit  $\pi \rightarrow \pi^*$ -Übergängen, Verbindungen mit  $\pi \rightarrow \pi^*$ - und  $n \rightarrow \pi^*$ -Übergängen, Grundstrukturen und Absorptionsverhalten von Carbonylverbindungen, Aromaten, Polymethinen (Cyaninen, Oxonolen, Merocyaninen) und Polyenen; batho- und hypsochromer, hypo- und hyperchromer Effekt; Absorptionskoeffizienten und Struktur; Lösungsmittel, Eigenabsorption, Einfluss des pH-Wertes, Solvatochromie; Lichtabsorption und Farbe; Charge-Transfer-Spektren

### 12.7.3 Gesetz der Lichtabsorption

Messgrößen (Absorption, Transmission gemäß Arzneibuch) (s.a. P/PC/AFL 5.1.5); Lambert-Beer'sches Gesetz (s.a. P/PC/AFL 5.1.5), Anwendung, Abweichungen, molarer Absorptionskoeffizient und spezifische Absorption; Abhängigkeit des Absorptionskoeffizienten von der Wellenlänge; Absorption von Gemischen, isosbestische Punkte

### 12.7.4 Messmethodik und instrumentelle Anordnung

Aufbau und Funktionsweise von Geräten zur Kolorimetrie, Photometrie und Spektralphotometrie, Spektrometer nach Arzneibuch; subtraktive und additive Farbmischung; verwendetes Licht, Lichtquellen, Monochromatoren, Küvetten, Messung der Lichtabsorption; Kalibrierung und Kontrolle nach Arzneibuch, Wellenlängenskala, Absorption, Streulicht, Auflösungsvermögen

### 12.7.5 Pharmazeutische Anwendungen, insbesondere nach Arzneibuch

Anwendung der in 12.7.4 genannten Methoden zu Gehaltsbestimmungen, Identitäts- und Reinheitsprüfungen von Arzneistoffen; Prüfung der Färbung von Flüssigkeiten nach Arzneibuch; Bestimmungsmethoden (Vergleichslösung; Kalibrierkurven, Aufstocken [s. 1.2.3 und 1.2.4]; Mehrkomponentenanalyse), prinzipielle Anwendung zur Strukturanalyse