



Infrarotspektroskopie

Quantitative und Qualitative Bestimmung von Citronensäure und Sekundärstrukturanalyse von Polylysin

Versuchsdurchführende

Tom Oberländer (633676)
Huyen Anh Nguyen (572309)

Versuchsort

Invalidenstraße 42, Erdgeschoss rechts
Institut für Biophysik

Versuchsbetreuer

Prof. Dr. Franz Bartl

5. Juli 2024

Contents

1 Einführung	1
2 Material und Methode	1
2.1 Citronensäure-Messungen	2
2.2 Polylysin	2
3 Ergebnis	2
3.1 Qualitative und Quantitative Bestimmung von Citronensäure	3
3.1.1 Konzentrationsbestimmung von Citronensäure	6
3.2 Sekundärstrukturaufklärung von Polylysin	6
4 Error estimation	6
5 Diskussion	6
5.1 Citronensäure	6
5.2 Polylysin	6
6 Anhang	6
6.1 Rohdaten	6
6.1.1 Standardreihe Citronensäure	7
References	7

1 Einführung

Infrarotspektrometrie untersucht, anders als in der klassischen Spektroskopie nicht die Änderung der Energiezustandes der Elektronen in der äußersten Schalen der zu untersuchende Substanz sondern, die Änderung der Schwingungszustandes des Moleküles.

Die Energie die ein Molekül bzw Atom von den Infrarotstrahlungen absorbieren ist ausreichend um die Rotationszustandes eines Moleküls und die Schwingungszustandes einer Bindung charakteristisch zu verändern. Dadurch ist es möglich die Struktur der zu untersuchende Molekül auszuklären.

In der Infrarotspektroskopie gibt es unterschiedliche Methoden, wie die Infrarotwellen genutzt werden um die Proben zu untersuchen.

Die klassischste Methode ist die Transmissionsspektrometrie.

Damit ermöglicht die Infrarotspektroskopie die Struktur eines Moleküles zu untersuchen.

Zusätzlich kann auch mit der Infrarotspektrometrie nicht nur die qualitative Analyse durchgeführt werden, sondern auch die quantitative Analyse. Dies bietet die Möglichkeit Konzentrationenbestimmungen durchzuführen die wo die klassischen Spektrometrie ihre Grenzen hat.

So liegt die Absorptionsbande von Citronensäure bei $\lambda = 200\text{nm}$ und ist mit den heutigen UV-Spektrometer kaum detektierbar.³ Da die Rotationszustände charakteristisch ist, kann nicht nur qualitativ Citronensäure bestimmt werden sondern auch quantitativ.

Für den Versuch wird das Spektrum der Citronensäure mittels Attenuated Total Reflection-Zelle (abgekürzt: ATR-Zelle) gemessen. Dabei

2 Material und Methode

Alle Messungen wurden am IFS 66v/S Spektrometer (Bruker, Berlin - Humboldt Universität zu Berlin am Biophysik Institut) durchgeführt.

Für die Maximabestimmung wurden mit der Gaussfunktion die Peaks in den ausgewählten Wellenzahlbereich in Python (scipy, curve_fit) gefittet.

2.1 Citronensäure-Messungen

Die Citronensäureproben wurden in Wasser gelöst und bei Normaldruck und 20 Grad Celsius auf die ATR-Zelle (Zink-Siliciumkristall) aufgetragen und das ART-Spektrum gemessen.

Gegen die Standardkurve, welches nach Table 5 hergestellt wurde, wurde die Konzentration der zwei unbekannten Citronensäureproben bestimmt.

Als Blanklösung wurde entionisiertes Wasser verwendet.

2.2 Polylysin

Polylysin wurde in Deuteriumoxid gelöst und das Transmissionsspektrum im Vakuum gemessen.

Die Proben wurden vor der Messung vorher in drei unterschiedlichen Bedingungen vorbehandelt:

- bei neutralen pH-Wert auf Eis
- bei pH = 11.62 (pH-Einstellung mit Natronlauge)
- 3 Minuten mit einer Heißluftpistole aufheizen

Als Blanklösung wurde Deuteriumoxid verwendet.

3 Ergebnis

Die Kurven wurden am Hochpunkt mit der Gaussfunktion (Gl 1) gefittet und so die Maximawerte bestimmt.

$$f(x) = a \cdot e^{-\frac{(x-x_0)^2}{2 \cdot \sigma^2}} \quad (1)$$

3.1 Qualitative und Quantitative Bestimmung von Citronensäure

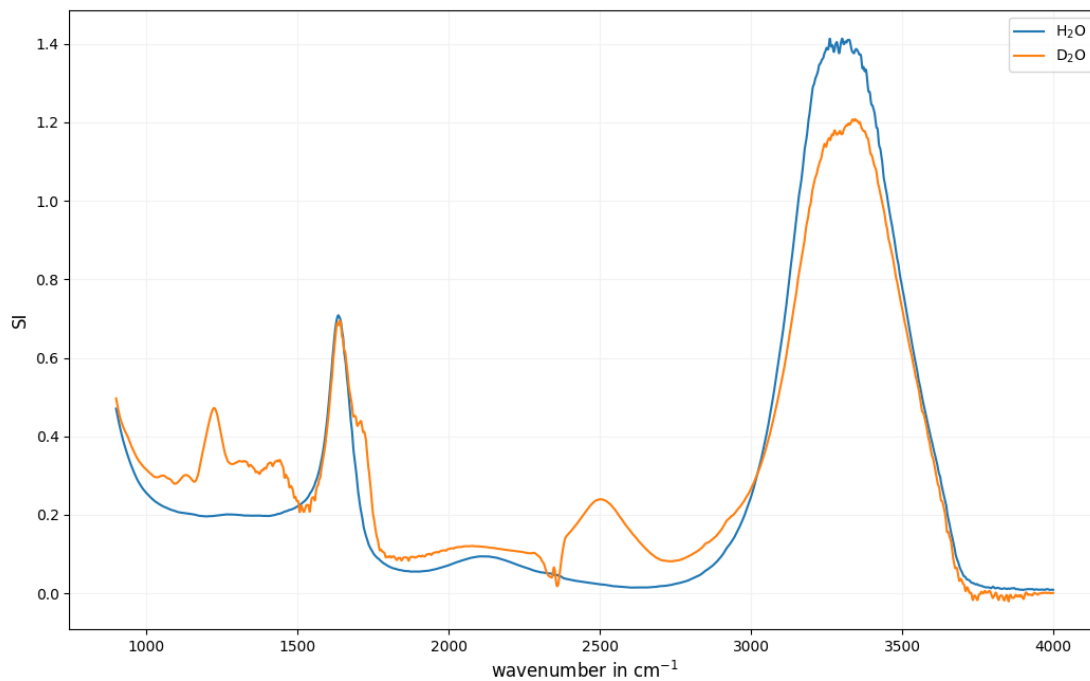


Figure 1: Infrarotspektrum von Wasser und Deuteriumoxid.

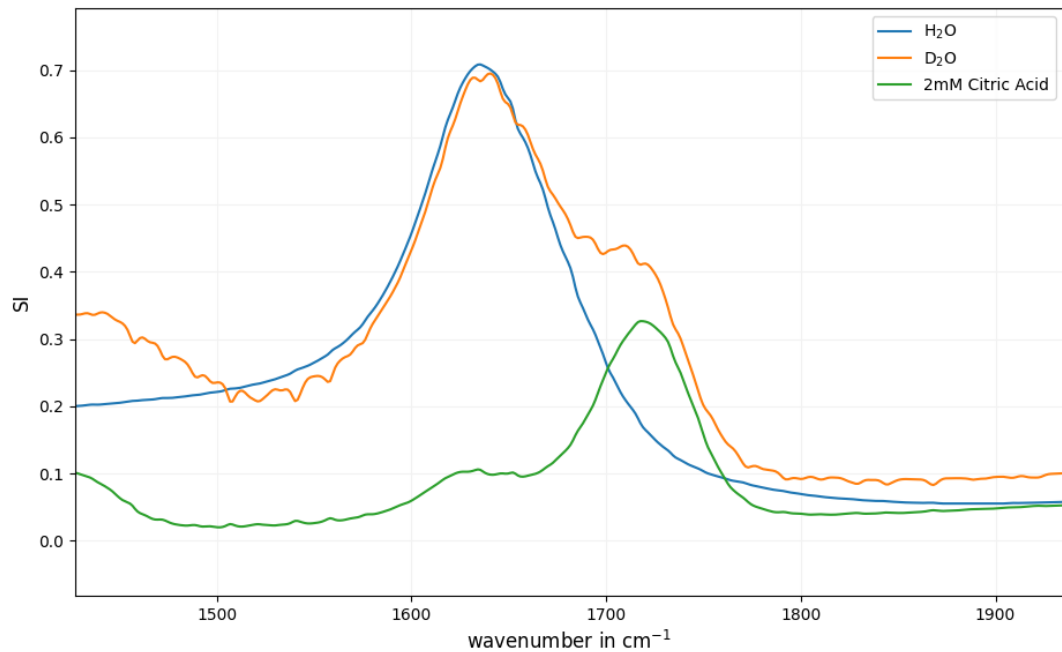


Figure 2: Infrarotspektrum von Wasser, Deuteriumoxid und Citronensäure in Wasser im Wellenzahlbereich von 1450- 1930 cm⁻¹.

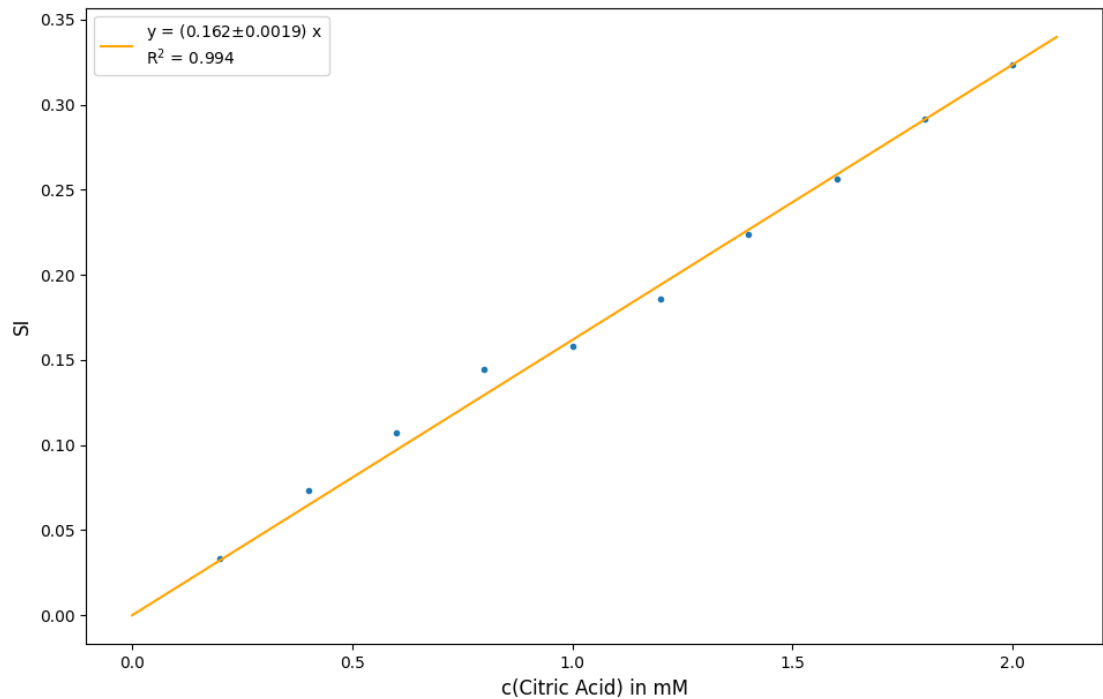


Figure 3: Infrarotspektrum von der Standardreihe von Citronensäure in Wasser von 0.2 bis 2 mM.

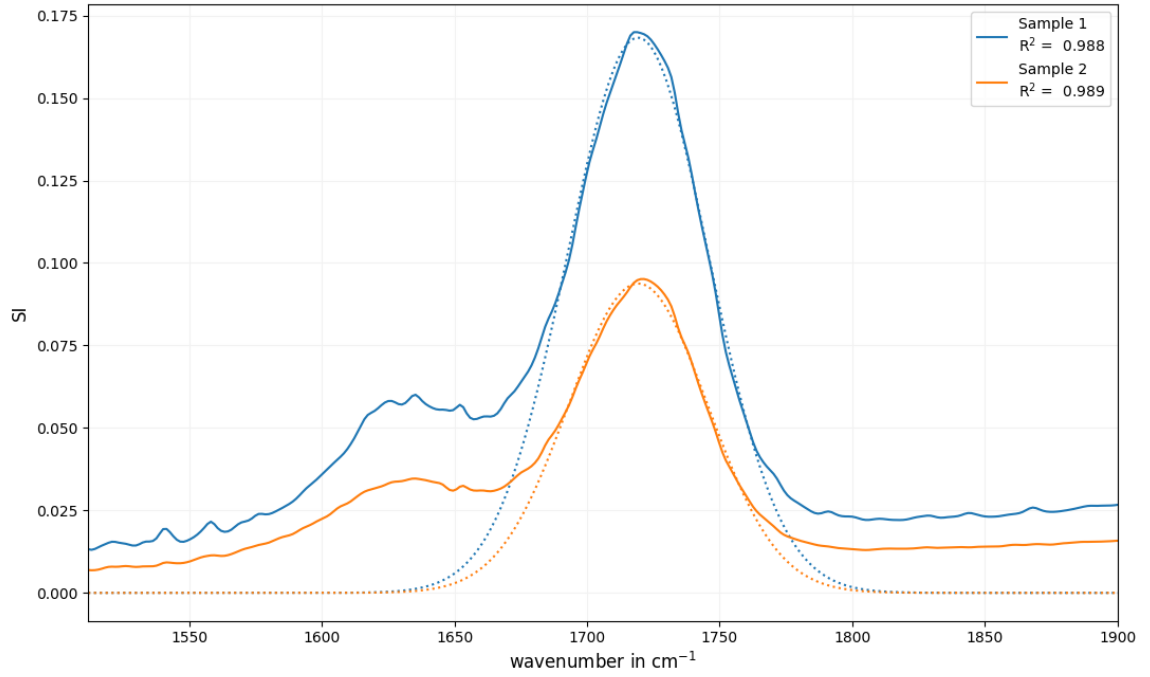


Figure 4: Infrarotspektrum der unbekannten Citronensäuren Proben.

Table 1: R^2 -Werte des Gauss-Fitmodells für die Citronensäure-Standardreihe.

c(Citronensäure) in mM	Maxima SI	R^2 -Werte
0.2	0.033	0.982
0.4	0.073	0.990
0.6	0.108	0.989
0.8	0.144	0.990
1.0	0.158	0.990
1.2	0.186	0.991
1.4	0.223	0.990
1.6	0.256	0.990
1.8	0.292	0.989
2.0	0.323	0.990

Table 2: Molare Konzentration der Unbekannten Citronensäureproben berechnet aus der Standardkurve in Figure 3.

Samplename	c(Sample) in mM
Sample 1	1.04 ± 0.012
Sample 2	0.58 ± 0.007

3.1.1 Konzentrationsbestimmung von Citronensäure

3.2 Sekundärstrukturaufklärung von Polylysin

4 Error estimation

5 Diskussion

5.1 Citronensäure

5.2 Polylysin

6 Anhang

6.1 Rohdaten

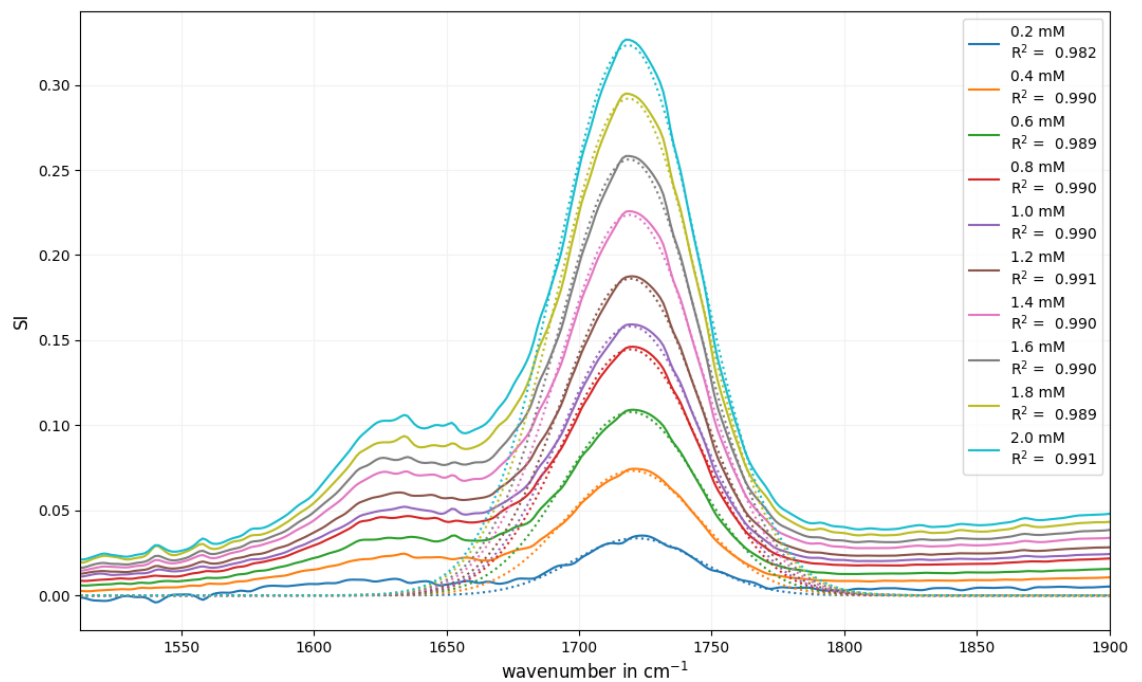


Figure 5: Infrarotspektrum der Verdünnungsreihe von Citronensäure in Wasser und der gaussche Fit des Maxima.

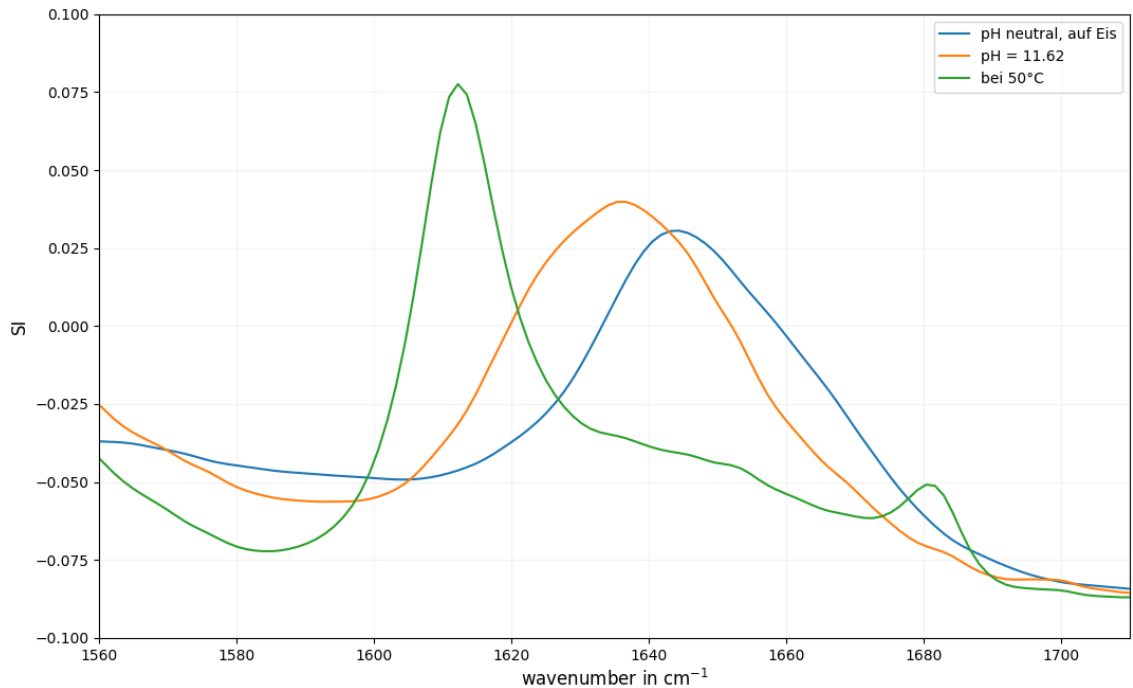


Figure 6: Infrarot-Transmissionsspektrum von Polylysine ($\beta \approx 10 \text{ mg/mL}$ in D_2O) bei unterschiedlichen Bedingungen.

6.1.1 Standardreihe Citronensäure

Table 3: Pipettierschema der Standardreihe von Citronensäure in H_2O . Die molare Konzentration der Stammlösung beträgt 2mM in Wasser.

$c(\text{Citronensäure})$ in mM	$V(2\text{mM Citronensäure})$ in mL	$V(\text{H}_2\text{O in mL})$
2.0	2.0	0.0
1.8	1.8	0.2
1.6	1.6	0.4
1.4	1.4	0.6
1.2	1.2	0.8
1.0	1.0	1.0
0.8	0.8	1.2
0.6	0.6	1.4
0.4	0.4	1.6
0.2	0.2	1.8
0.0	0.0	2.0

References

¹ Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung IAP. Spektrometrie. gelesen: 13. Juli 2024, 08:48 Uhr. URL: <https://www.iap.fraunhofer.de/de/Analytik/spektrometrie.html>.

² 3 Sergei Yu. Venyaminov² and Franklyn G. Prendergast. Water (H_2O and D_2O) molar absorptivity in the 1000–4000 cm^{-1} range and quantitative infrared spectroscopy of aqueous solutions. 1997. doi:10.1006/abio.1997.2136.

³Wacław Kolodziejcki Sylwester Krukowski, Mateusz Karasiewicz. Convenient uv-spectrophotometric determination of citrates in aqueous solutions with applications in the pharmaceutical analysis of oral electrolyte formulations. 2016. doi:10.1016/j.jfda.2017.01.009.