

# Osmotischer Druck

## Analogie zum Gasdruck

Wird ein mit Zuckerlösung (A) gefülltes Gefäß in reines Wasser (B) gebracht, und ist seine Wand nur für die gelösten Zuckermoleküle undurchlässig, so wird sich durch den Einstrom von Wasser der Druck im Innenraum erhöhen. Der so erzeugte *osmotische Druck* wirkt dem Wassereinstrom entgegen; die Bewegung des Wassers endet mit Erreichen des Gleichgewichts. Die gleiche Druckverteilung wie in Abb. 1 kann ohne Wassereinstrom erreicht werden, wenn (z.B. über einen Kolben) ein gleichgroßer Druck auf die Flüssigkeit (A) wirkt. Durch Erhöhen oder Erniedrigen des Kolbendrucks verändert sich die Konzentration der Lösung (A), da dann Wasser durch die Gefäßwände entsprechend aus- oder einströmt. Dieses Prinzip wird bei der Umkehrosmose (in älteren Schriften auch als *Anti-Osmose* bezeichnet) eingesetzt; dabei wird unter Druck eine Lösung weiter aufkonzentriert, um die darin gelösten Stoffe zu entfernen.

Diese grundlegende Analogie zwischen osmotischem und Gasdruck wurde zuerst 1887 von dem niederländischen Chemiker van 't Hoff beschrieben. Als Ursache des osmotischen Drucks sah er die Stöße der gelösten Teilchen auf die (für sie undurchlässige) Membranwand (*Solute bombardment theory*) an. Der Einfluss der Wassermoleküle sei dagegen auf beiden Membranseiten gleich und würde sich daher gegenseitig aufheben. Gegen diese Interpretation spricht, dass keine Durchbiegung der Membran beobachtet wird, wenn der hydrostatische Druck auf beiden Seiten gleich ist

## Anwendung der Gasgesetze

In verdünnten flüssigen Lösungen gelten dieselben Gesetze wie für ideale Gase. Der osmotische Druck

- ist proportional zu der molaren Konzentration des gelösten Stoffes
- ist proportional zur absoluten Temperatur
- von Lösungen hängt nur von der Teilchenzahl des gelösten Stoffes (molaren Konzentration) ab (→ kolligative Eigenschaft)
- einer Lösung von 1 Mol in 22,4 l Lösungsmittel beträgt bei 273,15 K (0 °C) 101,325 kPa (Standarddruck)

Diese Aussagen werden durch das *van 't Hoff'sche Gesetz* zusammengefasst:

$$\Pi = c \cdot R \cdot T$$

Hierbei ist  $\Pi$  der osmotische Druck in Pascal,  $c = n/V$  die Stoffmengenkonzentration (molare Konzentration) der Lösung,  $R$  die universelle Gaskonstante,  $T$  die absolute Temperatur in K. In dieser Form gilt das Gesetz nur für verdünnte Lösungen ( $< 0,1 \text{ M}$ ), wie die idealen Gasgesetze nur bei niedrigen Drücken gelten (die Wechselwirkungen der Teilchen miteinander können vernachlässigt werden).

$$C = n/V = N/(V \cdot N_A) = [m(\text{gelöster Stoff})/M(\text{gelöster Stoff})]/V$$

# Minitest 3

- Was ist eine physiologische Kochsalzlösung ?
- Eine physiologische Kochsalzlösung enthält 0,154mol NaCl ( $M(\text{NaCl}) = 58,5 \text{ g/mol}$ ).  
Wieviel Salz muss ich zu 1L Wasser geben um eine physiologische Kochsalzlösung zu erhalten?

## Osmotischer Druck des Blutplasmas

Der osmotische Druck des Blutplasmas entspricht dem einer 0,9 %igen Kochsalz-Lösung (physiologische Kochsalz-Lösung).

### Berechnung des osmotischen Drucks:

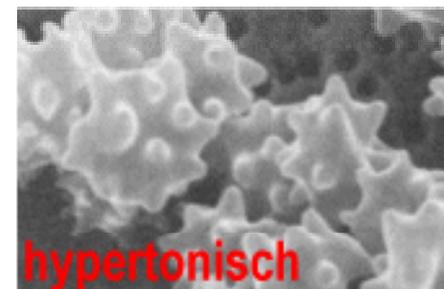
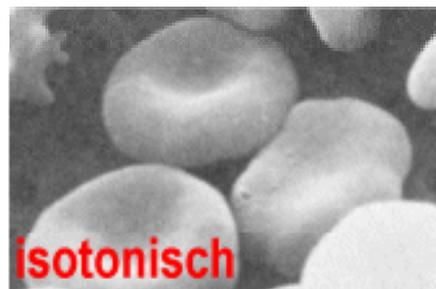
(bei 25 Grad ) 0,9 % NaCl = 9 g NaCl in 1,000 L Wasser = 9 g/L

Zur Berechnung wird die Molarität  $M[\text{NaCl}]$  benötigt:

Molare Masse  $M(\text{NaCl}) = 58,5 \text{ g/mol}$

Stoffmenge  $n(\text{NaCl}) = m(\text{NaCl}) / M(\text{NaCl}) = 9 \text{ g} / 58,5 \text{ g/mol} = 0,154 \text{ mol}$

Eine Lösung mit diesem osmotischen Druck nennt man **isotonisch**. Bringt man Erythrocyten (oder andere Zellen) in eine **hypotonische** Lösung (Lösung mit einem geringeren osmotischen Druck), z.B. destilliertes Wasser, diffundiert Wasser in die Zellen ein. Das Zellvolumen nimmt zu, die Zellen können sogar platzen. Ist die umgebende Lösung **hypertonisch**, z.B. eine 10 %ige Kochsalz-Lösung, diffundiert Wasser aus der Zelle heraus. Das Zellvolumen nimmt ab, die Erythrocyten nehmen eine stachelige Gestalt an.



# Massenspektrometrie

Die **Massenspektrometrie** ist ein Verfahren zum Messen des Masse-zu-Ladung-Verhältnisses  $m/q$  von Teilchen. Dazu wird die zu untersuchende Substanz in die Gasphase überführt, ionisiert und die ionisierten Teilchen durch ein elektrisches Feld beschleunigt. Dieser Teilchenstrahl wird in einem Magnetfeld abgelenkt, aus der Stärke der Ablenkung ergibt sich bei bekannter Ladung (meist 1) die Masse des Teilchens.

## **Anwendungen:**

### **Chemie**

In der Chemie dient die Massenspektrometrie als Analyseverfahren zur Bestimmung chemischer Elemente oder Verbindungen. Für einen Analyten (die zu testende Substanz) wird die Häufigkeit, mit der geladene Moleküle (Ionen) und deren Massenfragmente auftreten, bestimmt. Die Massenspektrometrie ist eine wichtige Methode der analytischen Chemie bei der Aufklärung der Struktur und Zusammensetzung von Verbindungen und Gemischen. Der qualitative (Erkennung von unbekanntem Substanzen) und quantitative (wie viel Substanz einer Verbindung ist vorhanden) Nachweis sehr kleiner Substanzmengen (ca.  $> 10^{-15}$  g = 1 fg (Femtogramm)) ist möglich.

### **Physik**

In der Physik werden Massenspektrometer verwendet, um die Massen von Elementarteilchen sowie Atomkernen zu ermitteln.

### **Klimatologie**

Das Verhältnis der Häufigkeit bestimmter Isotope in Proben von Sedimenten und Eisbohrkernen lässt Rückschlüsse auf das Klima der Vergangenheit zu. Zum Beispiel verdunstet Wasser, das das Isotop O-16 enthält leichter als solches, das das Isotop O-18 enthält. Eiszeiten, bei denen große Mengen des Wassers als Eisschild dem Wasserkreislauf entzogen sind, verschieben die Häufigkeit dieser Isotope im Meer und damit auch im neu fallenden Schnee. Aus der Sauerstoff-Isotopenstufe kann auf die Menge des Inlandeises zu der Zeit geschlossen werden, als die Probe gebildet wurde.

### **Archäologie**

Das Isotopenverhältnis von Kohlenstoff C-14 zu C-12 im organischen Material von archäologischen Funden erlaubt es die Zeit seit der pflanzlichen Bildung der vermessenen Substanz zu ermitteln. Damit können die Jahresringtabellen der Dendrochronologie kalibriert werden.

Andere Isotopenverhältnisse erlauben Rückschlüsse auf die Ernährung der Menschen, deren Knochen untersucht werden.

### **Biologie**

Massenspektrometrie wird in der Proteomik und Metabolomik verwendet, die Verwendung entspricht weitgehend jener in der Chemie. Biologische Proben, insbesondere Proteine, verlangen jedoch aufgrund der Molekülgröße und der speziellen Fragestellung (Identität, Sequenz, chemische Modifikation) im Rahmen der Aufklärung von systemischen Zusammenhängen eine besondere Probenvorbereitung und Messmethodik.

## Auswertung der Massenspektren

Voraussetzung für die Bestimmung der Masse  $m$  ist die Kenntnis der Ladung  $q$  des Ions, denn die Analytoren können die Ionen nur nach dem Verhältnis  $m/q$  trennen.  $q$  ist jedoch immer ein ganzzahliges Vielfaches der Elementarladung  $e$ :  $q = z \cdot e$ , und meistens ist  $z = +1$  (einfach positiv geladen). Als Einheit von  $m/q$  wurde das Thomson Th vorgeschlagen:  $[m/q] = \text{Th}$ .

Zunächst muss die Masse des Analyten bestimmt werden. Normalerweise ist das die Masse des schwersten detektierten Ions (Molekülpeak oder Molekülion). Allerdings ist bei der Elektronen-Ionisation oft ein Großteil der Moleküle gespalten. Testweise kann die Elektronenenergie verringert werden, so dass weniger Moleküle gespalten werden und der Molekülpeak deutlicher sichtbar wird. Die weitere Auswertung basiert darauf, dass die Atome der verschiedenen chemischen Elemente einen unterschiedlichen Massendefekt haben. Daher kann aus einer sehr exakt bestimmten Masse eine Liste möglicher Summenformeln angegeben werden. Bei leichten Molekülen gibt es nur eine oder wenige passende Elementarzusammensetzungen. Mit steigender Masse oder zunehmender Anzahl an Heteroatomen steigt auch die Anzahl möglicher Kombinationen stark an.

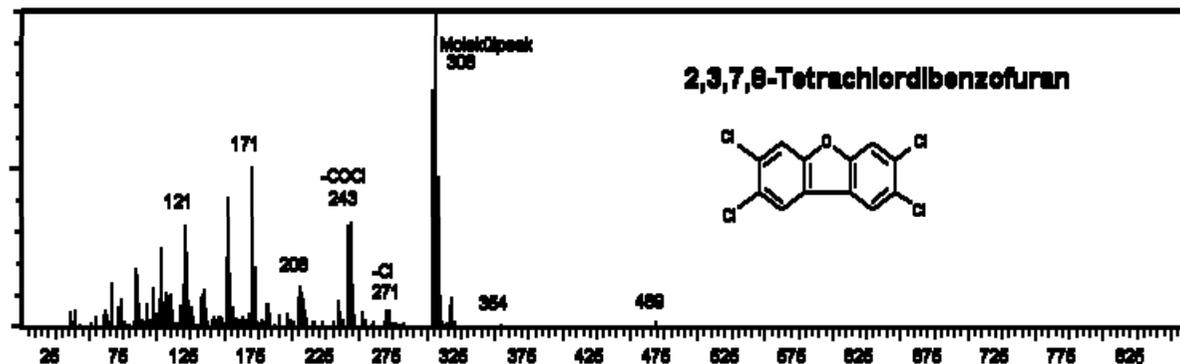
Bei schwereren Molekülen stehen jedoch oft sehr viele mögliche Summenformeln zur Auswahl. Weitere Hinweise liefern die Isotopenzusammensetzungen der verschiedenen Elemente. So besteht der Kohlenstoff zum Beispiel zu 98,9 % aus  $^{12}\text{C}$  und zu 1,1 % aus  $^{13}\text{C}$ . Je nachdem, wie viele C-Atome im Molekül vorhanden sind, sind neben dem Hauptsignal im Spektrum Nebensignale zu finden, die vom Hauptpeak um 1 Th, 2 Th etc. entfernt sind und ein charakteristisches Intensitätsverhältnis zum Hauptsignal haben. Halogene wie Chlor und Brom haben ebenfalls charakteristische Isotopenverhältnisse, die zur Identifizierung benutzt werden können.

Die genannten Methoden sind auch auf die Bruchstücke anwendbar. Moleküle brechen oft an charakteristischen Stellen. Aus der Masse der Bruchstücke und evtl. weiteren Informationen kann schließlich die Strukturformel bestimmt werden.

Dabei helfen vor allem bei mit positiver EI-Ionisierung erstellten Massenspektren auch Massenspektrenbibliotheken. Die bekanntesten sind unter den Kürzeln ihrer Vertrieber die *Wiley-* und die *NIST-Massenspektrenbibliotheken*.

Die Quantifizierung von Verbindungen wird bei der Massenspektrometrie dadurch erleichtert, dass bei der Analytik isotopenmarkierte ( $^{13}\text{C}$ -gelabelte oder deuterierte) interne Standards verwendet werden können.

Ein Problem bei der Datenauswertung stellen die proprietären Datenformate der einzelnen Gerätehersteller dar. Die Daten werden in eigenen Binärdatenformaten vorgehalten. Meist werden vom jeweiligen Hersteller in die eigene Steuerungs- und Managementsoftware integrierte Auswertungsprogramme mitgeliefert. Um Programme von Dritten zu benutzen, bedarf es oft der Datenkonvertierung zum Datenexport, für die es im Bereich der Forschung frei erhältliche Lösungen gibt.



# Ionenquelle

In der Ionenquelle wird der Analyt ionisiert. Historisch gibt es sehr viele verschiedene Methoden. In der Praxis dominiert jedoch EI (in Kopplung mit der Gaschromatographie, Erklärung siehe weiter unten), sowie die ESI und die APCI in Kopplung mit der HPLC. Wichtig ist für die Untersuchung von Peptiden (Proteomics) auch die MALDI. Nicht ganz im klassischen Sinne sind die Ergebnisse der ICP-MS die nur quantitativen Einsatz findet.

- Gase oder verdampfbare Flüssigkeiten und Feststoffe können durch Elektronenstoßionisation (EI, Electron impact, Elektronenstoß) ionisiert werden. Es können in den gängigen Geräten Elektronen mit einer Energie von ca. 5 bis 200 eV verwendet werden (aus Stabilitätsgründen verwendet man oft 70 eV). Beim Zusammenstoß der Elektronen mit den Molekülen wird ein weiteres Elektron herausgeschlagen, es entsteht ein Radikalkation. Dieses ist meistens instabil und zerfällt in kleinere Massenfragmente, von denen eines geladen bleibt. Die Größen und Häufigkeiten der Fragmente sind bei gegebener Beschleunigungsspannung der Elektronen für eine Substanz in Datenbanken katalogisiert und können zur Identifizierung herangezogen werden.
  - Bei der Chemischen Ionisation (CI) wird ein Gas zugeführt, das durch EI angeregt/ionisiert wird. Die aus dem Gas gebildeten Ionen reagieren dann mit dem Analyten und ionisieren ihn. Der Fragmentierungsgrad ist geringer als bei der Elektronen-Ionisation.
  - Bei der Feldionisation (FI) wird ein Gas in einem hohen elektrischen Feld an zahlreichen Spitzen (Graphitdendriten) sehr schonend ionisiert.
  - Bei der Felddesorption (FD) wird ein fester oder flüssiger Analyt, der den zahlreichen Graphitdendriten in Lösung zugeführt wird, in einem hohen elektrischen Feld wie bei FI sehr schonend ionisiert.
  - Bei der Liquid Injection Field Desorption Ionization (LIFDI) wird durch den Druckunterschied zwischen Normaldruck und Vakuum ein flüssiger Analyt über eine Kapillare direkt auf den Graphitdendriten gespritzt und dort in einem hohen elektronischen Feld wie bei FI sehr schonend ionisiert. Da die Zuführung des Analyt durch eine Kapillare erfolgt ist diese Methode speziell für das analysieren von Luftempfindlichen Substanzen geeignet.
  - Flüssigkeiten und Feststoffe können mit schnellen Atomen oder Ionen beschossen werden, worauf sich Ionen lösen. Kommen Atome zum Einsatz, heißt die Methode *FAB (Fast Atom Bombardement, Schneller Atombeschuss)*, bei Ionen *SIMS (Secondary Ion Mass Spectrometry, Sekundärionen-Massenspektrometrie)*. Neben den Sekundärionen werden auch ungeladene Teilchen (Sekundärneutralteilchen) erzeugt. Wenn diese zum Beispiel mit Laserlicht nachionisiert und dann analysiert werden, spricht man von Sekundär-Neutralteilchen-Massenspektrometrie (SNMS).
  - Chemische Lösungen geladener oder polarer Substanzen werden bei der ESI (Elektrospray-Ionisation) versprüht, ionisiert und die Tröpfchen dann getrocknet, so dass Ionen des Analyten zurückbleiben. Besonders geeignet für größere Moleküle, wie z. B. Proteine. Sehr beliebt ist diese Technik auch um mittels HPLC-MS sehr selektiv und schnell quantifizieren zu können.
  - Die Chemische Ionisation unter Atmosphärendruck (*APCI, Atmospheric Pressure Chemical Ionization*) funktioniert ähnlich wie ESI, nur dass die Lösung des Analyten vor der Ionisation verdampft wird. Die Lösemittelmoleküle werden an einer spitzen Elektrode bei Atmosphärendruck ionisiert. Die Methode ist auch für weniger polare Analyten geeignet.
  - Eine weitere Form der Ionisation unter Atmosphärendruck wird durch Photonen erreicht (*APPI, Atmospheric Pressure Photoionisation*). Sie wird hauptsächlich an LC-Systeme gekoppelt. Der Eluent wird zunächst verdampft und anschließend durch Photonen ionisiert. Dabei werden die Photonen von einer Entladungslampe senkrecht zum Molekülstrahl ausgesandt.
  - Auch mit gepulstem Laserlicht kann von einem Feststoff der Analyt abgedampft und ionisiert werden. Diese Methode heißt *MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization)*. Bei dieser Methode wird der Analyt mit einem großen Überschuss an Matrix gemischt und kokristallisiert (Einbindung des Analyten in die kristalline Matrix). Die Matrix hat die Eigenschaft bei der verwendeten Laserwellenlänge Energie zu absorbieren (zum Beispiel Stickstofflaser 337 nm). Vereinfacht gesagt kommt es mit dem Beschuss durch den Laser zum Herauslösen des intakten Analyten, an den ein von der Matrix bereitgestellter Ladungsträger, z. B. ein Proton, gebunden ist.
  - Thermische Ionisation (*TIMS, Thermische Ionisations Massenspektrometrie*) wird in der Festkörpermassenspektrometrie eingesetzt. Dabei wird die Probe (Probenmenge je nach Stoff ng bis µg) zum Beispiel auf ein Wolframfilament aufgebracht. Durch das Filament wird ein Strom geschickt wobei es sich erhitzt und die aufgebrachte Probe verdampft, ein Teil der abgedampften Atome wird dabei ionisiert.
  - Bei der Ionisation durch ein induktiv gekoppeltes Plasma (*Inductively Coupled Plasma, ICP*) werden die meisten Verbindungen in ihre Elemente aufgebrochen und es entstehen vorwiegend einfach positiv geladene Ionen. Das Verfahren wird daher vor allem zur Elementaranalyse von anorganischen Feststoffen/-wässrigen Lösungen angewandt.
- GDI: Ionisation in einem Glow Discharge Plasma*

## Typen von Massenspektrometern

### **Sektorfeld-Massenspektrometer**

Sektorfeld-Massenspektrometer sind die genauesten, aber auch die teuersten Geräte. Sie erreichen eine Auflösung von bis zu  $R = 100.000$ . Daher werden sie häufig in der Stabilisotopenmassenspektrometrie verwendet.

### **Quadrupol-Massenspektrometer**

Die Ionisationseinheiten, Quadrupole und Detektoren sind in unterschiedlichsten Varianten für unterschiedliche Anwendungen erhältlich. Es ist in teuren, hochauflösenden aber auch günstigen Varianten (als Restgasanalysator) zu erhalten und hat dadurch eine hohe Verbreitung im F&E-Bereich.

# Lichtstreuung

## **Elektromagnetische Welle an Materie**

Rayleigh-Streuung: elastische (keine Energieübertragung) elektromagnetische Streuung an Objekten, die kleiner sind als deren Wellenlänge, auch Dipol-Streuung.

Raman-Streuung: inelastische Streuung an Atomen, Molekülen oder Festkörpern.

Mie-Streuung: Elektromagnetische Streuung an Objekten in der Größenordnung der Wellenlänge, auch Lorenz-Mie-Streuung, benannt nach dem deutschen Physiker Gustav Mie (1868-1957) und dem dänischen Physiker Ludvig Lorenz (1829-1891).

Phonon-Raman-Streuung: unelastische Streuung an optischen Phononen (Gitterschwingungen im Frequenzbereich des sichtbaren Lichts)

Brillouin-Streuung: unelastische Streuung an akustischen Phononen (Gitterschwingungen im Frequenzbereich von Schall)

## **Elastische Streuung (Rayleigh-Streuung)**

Die Energie  $E = h\nu$  ( $h$  ist das Plancksche Wirkungsquantum,  $\nu$  die Frequenz) des eingestrahnten Photons ist zu klein, um das Atom anzuregen. Die Energie des gestreuten Photons ändert sich nicht. Im klassischen Grenzfall, d. h. einer großen Wellenlänge des Photons gegenüber dem Bohrradius des Atoms, spricht man von Rayleigh-Streuung. Besonderes Kennzeichen ist, dass der Streuquerschnitt  $\sigma$  sehr stark von der Frequenz abhängt und proportional zu  $\nu^4$  ansteigt.

## **Inelastische Streuung (Raman-Streuung)**

Inelastische Streuung, die häufig auch als Raman-Streuung bezeichnet wird, tritt auf, wenn die Energie  $E = h\nu$  des einfallenden Lichtquants den Energiedifferenzbetrag zu einem höheren Anregungsniveau  $\Delta E$  übersteigt. Die Energie des emittierten Photons beträgt dann  $h\nu - \Delta E$ .

## Dynamische Lichtstreuung

Bei der **dynamischen Lichtstreuung** (DLS) handelt es sich um eine Methode, bei der das Streulicht eines Lasers an einer gelösten, bzw. suspendierten Probe analysiert wird. Sie wird am häufigsten bei Polymeren und Biopolymeren wie zum Beispiel Proteinen angewandt, um den hydrodynamische Radius der Moleküle zu bestimmen. Die dynamische Lichtstreuung ist auch unter den Bezeichnungen 'Photonenkorrelationsspektroskopie' (PCS) oder 'quasielastische Lichtstreuung' (QELS) bekannt.

Wenn Licht auf kleine Partikel trifft, wird Licht in alle Richtungen gestreut (Rayleigh-Streuung). Dies trifft auch auf Makromoleküle in Lösung oder Suspension zu. Das Streulicht von verschiedenen Streuzentren wird danach miteinander interferieren. Wird Laser-Licht verwendet, das kohärent und monochromatisch ist, so führt diese Interferenz zu kleinen Fluktuationen in der Streuintensität, da sich die Abstände der Streuzentren zueinander durch die Brownsche Molekularbewegung ständig ändern. Analysiert man diese Fluktuationen hinsichtlich der Zeitskala, auf der sie passieren, so erhält man damit eine Information über die Geschwindigkeit, mit der sich die Teilchen in Lösung bewegen. Daraus wiederum lässt sich ein Diffusionskoeffizient ermitteln, aus dem sich weitere Größen ableiten lassen.