

GPC/SEC mit Dreifachdetektion

Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 20

Wie finde ich die richtige Trennsäule für meine GPC/SEC-Applikation?

Problemstellung

Wir betreiben mehrere GPC/SEC-Anlagen in unserem Labor, teilweise mit reiner Brechungsindexdetektion und teilweise mit Dreifachdetektion. Immer wieder erhalten wir neuartige Proben die in der Literatur nur wenig oder gar nicht beschrieben sind. Wie kann man für derartige Applikationen die richtigen Trennsäulen finden?

Frage

Wie wähle ich für eine bestimmte GPC/SEC-Applikation die richtigen Trennsäulen aus und welche Art von Säulen sind am Markt verfügbar?

Lösung

Steht man vor dem Problem eine geeignete Trennsäule für eine GPC/SEC-Applikation aussuchen zu müssen dann sollte man systematisch vorgehen: die zunächst wichtigste Frage ist die Frage nach dem Lösungsmittel in dem sich die Probe am besten löst und gleichzeitig einen möglichst hohen Kontrastfaktor (dn/dc -Wert) aufweist. Hier trennt man zumeist die wässrigen Applikationen von den Applikationen in organischen Laufmitteln. Für beide Applikationen ist eine Reihe von Trennsäulen verfügbar. Als nächstes sollte man sich den ungefähren Molekulargewichtsbereich der Proben ansehen. Liegen alle Proben in einem sehr engen Molekulargewichtsbereich und sind ggf. eng verteilt dann ist eine so genannte „Single Porosity“-Trennsäule die bessere Wahl. Diese Art von Trennsäulen weist eine sehr genau definierte Porengröße auf was zu einer sehr guten Trennleistung in einem eng begrenzten Molekulargewichtsbereich führt. Liegen die Proben eher in einem größeren Molekulargewichtsbereich dann ist ggf. eine so genannte „lineare“ oder „mixed bed“ Trennsäule besser geeignet. Diese Art von Trennsäulen enthält eine Mischung verschiedener Porengrößen und kann somit Proben über einen größeren Molekulargewichtsbereich trennen. Allerdings ist die Trenneffizienz in einem bestimmten Molekulargewichtsbereich im Fall der mixed bed Trennsäulen geringer als im Fall der Single Porosity Säulen. Daher werden oft zwei gleichartige

mixed bed Trennsäulen hintereinander geschaltet um eine ausreichende Trennleistung erzielen zu können. Bei der Verwendung mehrere Trennsäulen hintereinander muss darauf geachtet werden dass die Kalibrierkurve einen möglichst linearen Verlauf aufweist; es sollte kein so genannter „Säulen-Mismatch“ auftreten (z. B. ein Knick im Verlauf der Kalibrationskurve). Weniger wichtig ist dieser Punkt allerdings wenn mit Lichtstreuung gearbeitet wird da hier keine Säulenkalibration mehr benötigt wird; das Molekulargewicht der Probe wird in diesem Fall direkt aus der Fläche des Lichtstreuensignals bestimmt.

Hat man die wichtigen Fragen nach dem geeigneten Lösungsmittel für Säule und Probe und dem geeigneten Molekulargewichtsbereich beantwortet und eine geeignete Säulenkombination gefunden dann bleibt oft noch die Frage nach den Wechselwirkungen zwischen Probe und Säulenmaterial. Hier stellt sich die Frage nach der Art der Probe; ist sie eher neutral, anionisch oder kationisch? Für jede Spezies gibt es geeignete Trennsäulen. Ziel ist es möglichst eine GPC/SEC-Methode zu erhalten bei der keinerlei adsorptive oder repulsive Wechselwirkungen zwischen der Probe und dem Material der Trennsäule auftreten. An diesem Punkt kann die Säulenauswahl aber durchaus problematisch werden da es sich in den seltensten Fällen exakt vorhersagen lässt wie sich eine Probe auf einer bestimmten Trennsäule verhält. Bei komplexen Proben müssen oft mehrere Trennsäulentypen getestet werden bis ein geeignetes, weitestgehend wechselwirkungsfreies Säulenmaterial gefunden ist.

Schlussfolgerung

Das Auffinden einer für eine bestimmte GPC/SEC-Applikation geeigneten Trennsäule kann durchaus ein komplexes Problem sein. Geht man die Säulenwahl aber systematisch an dann führt der Weg meist zu einem guten Resultat. Man sollte immer auch die Hilfe der Herstellerfirmen in Anspruch nehmen. Da diese Firmen meist ein Applikationslabor betreiben wo Ihre Säulen

GPC/SEC mit Dreifachdetektion Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 20

eingehend für eine Vielzahl an verschiedenen Applikationen getestet werden kann eine Anfrage oft viel eigene Arbeit bei der Säulenauswahl ersparen.

Author: Dr. Gerhard Heinzmann, Viscotek GmbH

Für weitere Informationen können Sie jederzeit sehr gerne Kontakt zu uns aufnehmen