

GPC/SEC mit Dreifachdetektion Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 21

Wie können korrekte Polydispersitätsfaktoren bestimmt werden?

Problemstellung

Wir betreiben in unserem Labor eine GPC/SEC-Anlage mit Dreifachdetektion. Meist erhalten wir sehr schöne und reproduzierbare Resultate für unsere Proben. Nun wurde aber eine sehr eng verteilte Probe vermessen und es resultiert ein Polydispersitätsfaktor von 0,98. Dies ist aber physikalisch nicht sinnvoll.

Frage

Wie kann man Polydispersitätsfaktoren korrekt bestimmen und warum erhält man mit der GPC/SEC mit Dreifachdetektion für einige eng verteilte Proben Polydispersitätsfaktoren die kleiner als 1 sind?

Lösung

Der Polydispersitätsfaktor in der GPC/SEC ist definiert als M_w/M_n , also der Quotient aus dem nach dem Gewicht gemittelten Molekulargewicht (M_w) und dem Zahlenmittelwert des Molekulargewichtes (M_n). Ist eine Probe monodispers, d. h. weisen alle Probenmoleküle dasselbe Molekulargewicht auf, dann ist der Polydispersitätsfaktor gleich 1. Kleiner als 1 kann dieser Faktor nicht werden. Resultiert dennoch für eine Probe ein Polydispersitätsfaktor der kleiner als 1 ist so ist dies auf die Kalibrierung der Detektoren zurück zu führen.

Zur Kalibrierung der Detektoren wird in der Regel ein eng verteilter Polymer- oder Biopolymerstandard verwendet. Im Proteinbereich sollte man unbedingt einen monodispersen Proteinstandard verwenden (siehe Tipps & Tricks Nr. 20). Natürlich haben auch eng verteilte Polymerstandards einen gewissen Polydispersitätsfaktor der meist unter einem Wert von 1,1 liegt. Der genaue Polydispersitätsfaktor ist für eng verteilte Polymerstandards aber sehr schwer zu ermitteln. Deshalb geben viele Hersteller von Polymerstandards einen Maximalwert an. Kalibriert man nun das Detektorsystem mit einem eng verteilten Polymerstandard dann kann man je nach Software entweder gar keinen Wert für die Polydispersität des Standards angeben oder man gibt

zumindest den vom Hersteller angegebenen Maximalwert an. In ersten Fall kann es schnell vorkommen dass man eine Probe misst die noch enger verteilt ist als der Kalibrationsstandard. Diese zu enge Verteilung kann dann von der Software ggf. fälschlicherweise als Polydispersitätsfaktor kleiner als 1 wiedergegeben werden. Kann man hingegen die Polydispersität des Kalibrierstandards bei der Kalibrierung angeben so ist dieser Fall wesentlich seltener.

Natürlich könnte man zumindest den Lichtstreuendetektor auch mit Toluol kalibrieren. Toluol ist aber ein sehr kleines Molekül, daher ist der Fehler den man bei der Messung von großen Polymermolekülen macht ggf. größer als dies der Fall ist wenn man einen sehr genau definierten Polymerstandard zur Kalibrierung verwendet.

Weiterhin ist zu beachten dass das physikalische Volumen der Trennsäule(n) und der Kapillaren ebenfalls zu einer Peakverbreiterung führt die aber nichts mit der Polydispersität der Probe zu tun hat. Daher ist es wichtig dass die verwendete GPC/SEC-Software diese rein volumenbedingte Peakverbreiterung bei der Kalibrierung des Systems korrekt berücksichtigt (sie kann mit so genannten Sigma- und Tau-Werten beschrieben werden, siehe Tipps&Tricks Nr. 8). Nur dann ist gewährleistet dass für jede Probe immer dieselbe Polydispersität resultiert unabhängig davon mit wie vielen Trennsäulen gearbeitet wird.

Schlussfolgerung

Die korrekte Bestimmung von Polydispersitätsfaktoren mit der GPC/SEC mit Dreifachdetektion ist keine triviale Angelegenheit. Es spielen etliche Faktoren eine wichtige Rolle die teilweise von verschiedenen Softwareversionen unterschiedlich verarbeitet werden. Ältere Softwarepakete gehen automatisch von einer Polydispersität von 1 für den Kalibrierstandard aus, bei moderneren Softwareversionen wie z. B. der OmniSECTM-Software von Viscotek kann die Polydispersität des Kalibrierstandards angegeben werden wodurch wesentlich exaktere

GPC/SEC mit Dreifachdetektion

Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 21

Resultaten erhalten und unsinnige Werte kleiner 1 vermieden werden. Es wird auch die Peakverbreiterung berücksichtigt die durch das physikalische Volumen der Trennsäule(n) und der Kapillaren verursacht wird. Somit resultiert ein exaktes und reproduzierbares Ergebnis für jede Probe.

Author: Dr. Gerhard Heinzmann,
Viscotek, a Malvern company

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

Abb.1: Polydispersitätsfaktor für eine breit verteilte Polystyrolprobe

