

## GPC/SEC mit Dreifachdetektion Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 13

### Brechungsindexdetektion oder UV-Detektion?

#### Problemstellung

Wir möchten eine GPC/SEC-Anlage mit Dreifachdetektion in unserem Labor aufbauen und überlegen ob wir als Konzentrationsdetektor einen Brechungsindexdetektor oder eher einen UV-Detektor integrieren sollen.

#### Frage

Welcher Detektor eignet sich für die GPC/SEC mit Dreifachdetektion besser als Konzentrationsdetektor? Ein Brechungsindexdetektor oder ein UV-Detektor?

#### Lösung

Bei der GPC/SEC mit Dreifachdetektion wird ein Lichtstreuendetektor mit einem Viskositätsdetektor und einem Konzentrationsdetektor kombiniert. Jeder Detektor misst eine andere physikalische Größe. So resultiert aus dem Lichtstreuendetektor primär das Molekulargewicht einer Probe während der Viskositätsdetektor die intrinsische Viskosität und somit die molekulare Dichte der Probe ermittelt. Der Konzentrationsdetektor liefert die Konzentration der Probe ab jedem Punkt des Elutionsprofils. Prinzipiell kann jeder Detektortyp der diese Bedingung erfüllt als Konzentrationsdetektor eingesetzt werden. So gibt es spezielle Applikationen wo Infrarotdetektoren oder Verdampfungslichtstreuendetektoren (ELSD) als Konzentrationsdetektoren eingesetzt werden. Als am häufigsten verwendeter Konzentrationsdetektor hat sich in der GPC/SEC mit Dreifachdetektion aber der Brechungsindexdetektor durchgesetzt. Lediglich als zusätzlicher Konzentrationsdetektor wird teilweise noch ein UV-Detektor verwendet.

Der wesentliche Grund dafür dass in der GPC/SEC meist ein Brechungsindexdetektor verwendet wird ist die Tatsache dass vor allem im Bereich der synthetischen Polymere und Biopolymere sehr viel der zu untersuchenden Substanzen keine chromophoren Gruppen tragen und somit nicht UV-aktiv sind. Anders sieht dies im Bereich der Proteine aus; hier findet man bei

einfachen GPC/SEC-Systemen ohne Lichtstreuung oder Dreifachdetektion tatsächlich öfter einen UV-Detektor als einen Brechungsindexdetektor.

Gerade wenn mit Lichtstreuung und Dreifachdetektion gearbeitet wird hat der Brechungsindexdetektor aber noch einen weiteren wichtigen Vorteil: er kann das für die Lichtstreuung sehr wichtige Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) einer Probe bestimmen. Dies ist mit einem UV-Detektor nicht möglich da dessen Signal nicht vom  $dn/dc$ -Wert der Probe sondern von deren  $dA/dc$ -Wert (Änderung der Absorption über der Konzentration) abhängt. Aus diesem Grund wird auch im Proteinbereich immer dann ein Brechungsindexdetektor verwendet wenn eine GPC/SEC-Anlage mit Lichtstreuung oder Dreifachdetektion betrieben wird. Teilweise wird zusätzlich auch noch ein UV-Detektor eingesetzt; dieser ermöglicht dann gemeinsam mit dem Brechungsindexdetektor die Möglichkeit der Zusammensetzungsanalyse von Konjugaten und Copolymeren (siehe Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 11).

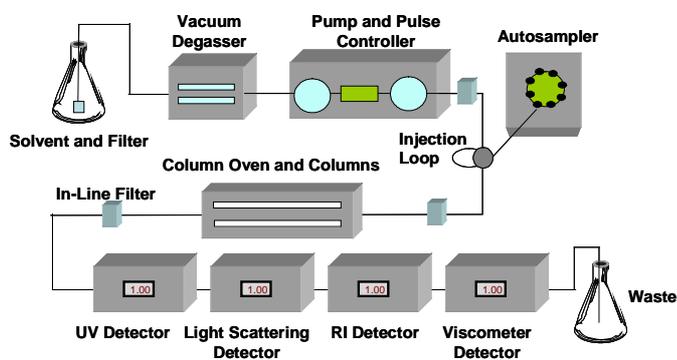
#### Schlussfolgerung

Es gibt zwei gute Gründe warum der Konzentrationsdetektor in einem GPC/SEC-System mit Dreifachdetektion oder Lichtstreuung ein Brechungsindexdetektor sein sollte: zum einen sind viele makromolekulare Proben aus dem Bereich der synthetischen Polymere und Biopolymere nicht UV-aktiv und zum zweiten kann nur der Brechungsindexdetektor das für die Lichtstreuung sehr wichtige Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) einer Probe bestimmen. Andere Konzentrationsdetektoren werden in der Regel zusätzlich zum Brechungsindexdetektor verwendet (UV-Detektor) oder nur für Spezialfälle eingesetzt (Infrarotdetektor, ELSD).

## GPC/SEC mit Dreifachdetektion

Titel: GPC/SEC mit Dreifachdetektion

**Abb. 1:** Schematischer Aufbau eines GPC/SEC-Systems mit Dreifachdetektion und entsprechenden Detektoren



**Abb. 2:** Modernes integriertes GPC/SEC-System mit Dreifachdetektion



**Author:** Dr. Gerhard Heinzmann, Viscotek GmbH

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