

## GPC/SEC mit Dreifachdetektion

### Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 24

#### Was muss man bei der Säulenkalibration beachten?

##### Problemstellung

Wir betreiben in unserem Labor eine GPC/SEC-Anlage mit Dreifachdetektion. Da einige unserer Proben aufgrund eines geringen  $dn/dc$ -Wertes kein gutes Signal in der Lichtstreuung erzeugen, werten wir diese Proben mittels einer Säulenkalibration aus, wobei wir je nach Aufgabenstellung relative Molekulargewichte gegen Polymerstandards ermitteln oder absolute Molekulargewichte über eine universelle Kalibration mit Viskositätsdetektion.

##### Frage

Worauf muss geachtet werden, wenn man die Molekulargewichte von Polymer- und Biopolymerproben mittels einer Säulenkalibration auswertet?

##### Lösung

Arbeitet man in der GPC/SEC mit einer Säulenkalibration, so hängt die Qualität der resultierenden Ergebnisse maßgeblich von der Qualität der Kalibrierkurve ab. Diese wiederum hängt von der Qualität und Anzahl der verwendeten Standards ab. Hier gilt es einige wichtige Dinge zu beachten:

- Es sollten möglichst eng verteilte Polymer- oder Biopolymerstandards verwendet werden. Die Polydispersität der Standards ( $M_w/M_n$ ) sollte  $\leq 1,1$  sein
- Es sollten nur sehr gut charakterisierte Standards verwendet werden
- Es muss der  $M_p$ -Wert (Peak-Molekulargewicht) des Standards für die Molekulargewichtskalibrierung angegeben werden und nicht etwa der  $M_w$ - oder  $M_n$ -Wert
- Es müssen genügend Standards verwendet werden um die Trenncharakteristik der Trennsäule(n) gut abbilden zu können. In der Regel sind dazu 8-12 Standards notwendig
- Die Standards müssen den gesamten zu messenden Bereich abdecken.

Im Bereich der organischen GPC/SEC findet man neben den bekannten Polystyrolstandards eine Reihe weiterer, gut charakterisierter Standards verschiedenster Art. Im Bereich der wässrigen GPC/SEC ist die Auswahl deutlich kleiner. Meist werden hier PEO-Standards oder Pullulan-Standards verwendet. Dextrane eignen sich aufgrund Ihrer oft recht hohen Polydispersität und Ihrer undefinierten Verzweigungsstruktur weniger.

Welcher Fit für die Anpassung der Kalibrationskurve gewählt werden sollte, ist meist dem Anwender überlassen. In der Regel eignet sich ein Fit dritter Ordnung sehr gut, da dieser recht gut den theoretischen Verlauf der Kalibrationskurve beschreibt. In bestimmten Fällen kann aber auch ein Fit erster oder fünfter Ordnung sinnvoll sein. Wichtig ist, dass die zu messende Probe möglichst vollständig innerhalb der Kalibrierkurve liegt, da nahezu jede Software den Bereich außerhalb der Standards extrapoliert. Daher kann es zu Verfälschungen des Ergebnisses kommen, wenn sich die Probe in diesen Bereich erstreckt.

Zu der Thematik der Messung von relativen Molekulargewichten gegen Polymerstandards existiert auch eine DIN-Vorschrift: DIN 55672-1 (für THF als Laufmittel), DIN 55672-2 (für DMAc als Laufmittel) und DIN 55672-3 (für Wasser als Laufmittel). In dieser Vorschrift sind etliche Parameter wie z. B. die maximale Basisliniendrift im RI-Detektor, Anforderungen an die Kalibrierstandards und vieles mehr aufgeführt.

##### Schlussfolgerung

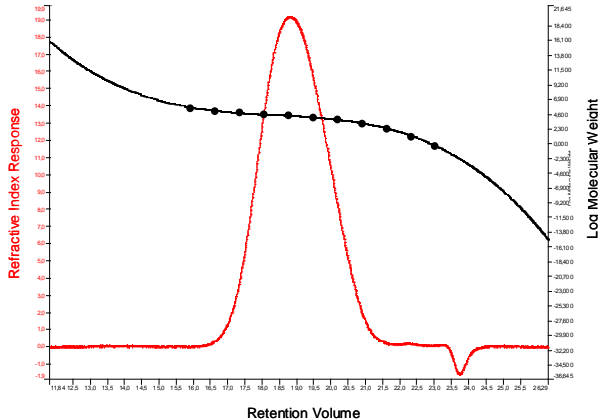
Auch wenn die Technik der so genannten konventionellen oder relativen GPC/SEC mit Säulenkalibration sehr einfach erscheint, gibt es doch eine Reihe von wichtigen Punkten, die beachtet werden müssen damit exakte und reproduzierbare Ergebnisse erhalten werden können. Trivial ist ein konstanter und exakter Fluss des Eluenten (gute Pumpe), wichtig ist aber auch die Qualität und Anzahl der verwendeten Standards und natürlich der Trennsäulen. So kann man z. B. mit einer zu geringen Zahl an Standards ggf. eine sehr „schöne“

## GPC/SEC mit Dreifachdetektion Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 24

Kalibrationskurve erzeugen, leider resultieren daraus aber unter Umständen falsche Resultate. Ebenso kann die verwendete Software das Ergebnis beeinflussen, da oft bestimmte Parameter wie Extrapolationsroutinen oder Fitroutinen verwendet werden, ohne dass der Anwender diese im Detail kennt.

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

**Abb.1:** Breit verteilte Polystyrolprobe mit überlagerter Säulenkalisierung (mit Fit dritter Ordnung)



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