

GPC/SEC mit Dreifachdetektion

Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 29

Bestimmung der Gewichtsfractionen einzelner Peaks

Problemstellung

Wir betreiben eine GPC/SEC-Anlage mit Dreifachdetektion. In manchen Fällen erhalten wir mehr als einen Peak im Chromatogramm. Wir würden gerne die Massenanteile der einzelnen Peaks an der Gesamtkonzentration bestimmen. Welches der drei Detektorsignale (Lichtstreuung, Viskositätssignal, Brechungsindexsignal) ist für diese Bestimmung geeignet?

Frage

Kann man mit einem Konzentrationsdetektor in einem GPC/SEC-Chromatogramm die Anteile bzw. Gewichtsfractionen von einzelnen Peaks bestimmen?

Lösung

Besteht ein GPC/SEC-Chromatogramm aus mehreren oder uneinheitlichen Peaks, dann kann man die Gewichtsfractionen der einzelnen Peaks oder bestimmter Teile eines Peaks bestimmen. Die Signale der Absolutdetektoren (Viskositätsdetektor und der Lichtstreuendetektor) eignen sich hierfür aber nur wenig, da diese Signale neben der Konzentration auch stark vom Molekulargewicht der Probe abhängen. Sehr viel besser geeignet für die Bestimmung von Gewichtsfractionen ist das Signal des Konzentrationsdetektors, da dieses Signal unabhängig ist vom Molekulargewicht einer Probe. Der Konzentrationsdetektor muss hierzu mit einem Standard mit bekannter Konzentration kalibriert werden. Allerdings muss man wissen, dass die Signale der Konzentrationsdetektoren auch noch von einem zweiten Parameter abhängen. Im Fall eines Brechungsindexdetektors ist dieser zweite Parameter das so genannte Brechungsindexinkrement, der dn/dc -Wert:

Fläche des RI-Signals = $K_{RI} \times \text{Konzentration} \times dn/dc$

Im Fall eines UV-Detektors ist dieser zweite Parameter die Änderung der Absorption über der Konzentration, der dA/dc -Wert:

Fläche des UV-Signals = $K_{UV} \times \text{Konzentration} \times dA/dc$

Sind nun in einem Chromatogramm zwei Peaks vorhanden, dann kann die eingewogene Gesamtkonzentration nur dann flächenproportional auf die beiden Peaks verteilt werden wenn im RI-Signal der dn/dc -Wert für beide Peaks bekannt oder gleich ist bzw. im UV-Signal der dA/dc -Wert für beide Peaks bekannt oder gleich ist. Ist der dn/dc bzw. der dA/dc für jeden Peak bekannt, dann muss dieser Wert mit der jeweiligen Peakfläche verrechnet werden, um auf die genaue Konzentration bzw. den Massenanteil an der Gesamtkonzentration des Peaks schließen zu können. Ist der dn/dc - bzw. dA/dc -Wert für alle Peaks gleich, dann kann direkt die jeweilige Peakfläche anteilig in die entsprechende Konzentration bzw. den Massenanteil an der Gesamtkonzentration umgerechnet werden (Abb. 1).

Schlussfolgerung

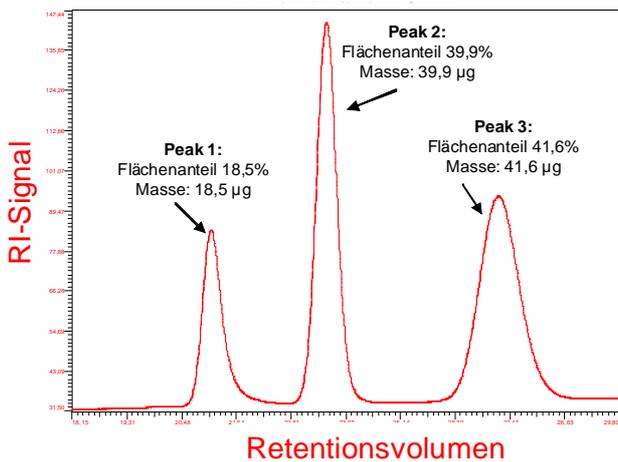
Bei der GPC/SEC können aus dem Signal des Konzentrationsdetektors die Gewichtsfractionen einzelner Peaks berechnet werden. Hierzu wird lediglich die Gesamtfläche aller Peaks in die jeweiligen Anteile in den einzelnen Peaks aufgeteilt. Allerdings muss berücksichtigt werden, dass neben der Konzentration noch ein zweiter, für jeden Konzentrationsdetektor spezifischer Parameter eine wichtige Rolle spielt. Nur wenn dieser zweite Parameter, z. B. der dn/dc -Wert im Fall des Brechungsindexdetektors gleich ist, können die Peakflächen direkt anteilig in die Gewichtsfractionen umgerechnet werden. Ist der dn/dc -Wert für die einzelnen Peaks verschieden, dann muss er bekannt sein und in die Berechnung der Gewichtsfraction der einzelnen Peaks mit einfließen.

Author:

Dr. Gerhard Heinzmann,
Viscotek, a Malvern company

Abb.1: Aufteilung der Flächenanteile im RI-Chromatogramm bei gleichem dn/dc-Wert

Gesamte injizierte Masse: 100 µg (100 µl Probenvolumen bei einer Konzentration von 1 mg/ml)



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