

GPC/SEC mit Dreifachdetektion

Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 8

Bestimmung der Peak Parameter und Detektor Offset-Werte

Problemstellung

Bei der GPC/SEC mit Dreifachdetektion werden drei oder vier Detektorsignale gemeinsam ausgewertet. In der verwendeten Anlage stehen die Detektoren aber hintereinander bzw. zum Teil auch parallel so dass sie nicht alle gleichzeitig auf die Probe ansprechen. Führt dies nicht zu Verfälschungen der Resultate?

Frage

Wie kann man gewährleisten dass bei der GPC/SEC mit Dreifachdetektion alle Detektoren gleichzeitig ansprechen bzw. alle Detektorsignale zur gleichen Zeit aufgenommen werden?

Lösung

Bei der GPC/SEC mit Dreifachdetektion sind die verschiedenen Detektoren entweder im optimalen Fall alle hintereinander geschaltet oder aber der RI-Detektor steht parallel zum Viskositätsdetektor und nach dem Lichtstreuendetektor. Es ist praktisch gesehen nahezu unmöglich und auch nicht sinnvoll die Detektoren so aufzubauen dass die Probe alle drei oder gar vier Detektoren (wenn auch noch ein UV-Detektor verwendet wird) zum gleichen Zeitpunkt durchläuft. Vielmehr eluieren die Peaks zunächst zeitlich versetzt in der Reihenfolge in der die Detektoren nacheinander durchlaufen werden (siehe Abb. 1 a).

Der zeitliche Versatz (auch als „Offset“ bezeichnet) zwischen den verschiedenen Detektoren ist einer der Parameter die bei der Kalibrierung des Gesamtsystems möglichst exakt bestimmt werden müssen. Neben den Offset-Werten sind dies auch noch die Kalibrationskonstanten der einzelnen Detektoren sowie die Sigma- und Tau-Werte.

Die Kalibration des Systems wird in aller Regel mit einem sehr genau definierten, eng verteilten Polymer-, Biopolymer oder Proteinstandard durchgeführt. Es muss das Molekulargewicht des Standards bekannt sein wobei hier der nach dem Gewicht gemittelte M_w -Wert von Interesse ist und nicht etwa das Peak-Molekulargewicht

(M_p) welches für Säulenkalibrierungen verwendet wird und es muss weiterhin das Brechungsindexinkrement (dn/dc -Wert in ml/g) bekannt sein sowie die exakte Konzentration des Standards. Hilfreich aber nicht zwingend notwendig ist die intrinsische Viskosität des Standards (in dl/g).

Sind alle genannten Werte vorgegeben und eine Basislinie sowie Integrationsgrenzen für alle Detektoren gesetzt dann kann das System kalibriert werden. Nach der Kalibrierung und der darauf folgenden automatischen Korrektur der Offset-Werte liegen die Peaks der einzelnen Detektoren dann deckungsgleich übereinander (siehe Abb. 1 b). Die Korrektur der Offset-Werte wie auch die Korrektur der Bandenverbreiterung die durch das physikalische Volumen der Trennsäule(n) verursacht wird und mittels einem Sigma- und einem Tau-Parameter beschrieben wird kann nun für alle Proben automatisch durchgeführt werden so dass exakte Ergebnisse unter anderem auch für die Polydispersität einer Probe erhalten werden unabhängig davon ob mit einer oder mit mehreren Trennsäulen gearbeitet wird.

Schlussfolgerung

Bei der GPC/SEC mit Dreifachdetektion kommt es nicht darauf an dass alle Detektoren möglichst gleichzeitig ansprechen. Viel mehr ist es wichtig dass die Detektoren in einer sinnvollen Reihenfolge angeordnet sind (vorzugsweise seriell oder bei modularen Systemen teilweise parallel) und die Totvolumina zwischen den Detektoren möglichst klein gehalten werden. Der zeitliche Versatz zwischen den Signalen der Detektoren wird dann im Rahmen der Systemkalibrierung zusammen mit weiteren Kalibrationsparametern ermittelt und für alle Proben automatisch korrigiert.

GPC/SEC mit Dreifachdetektion Tipps & Tricks Ausgabe Nr. 8

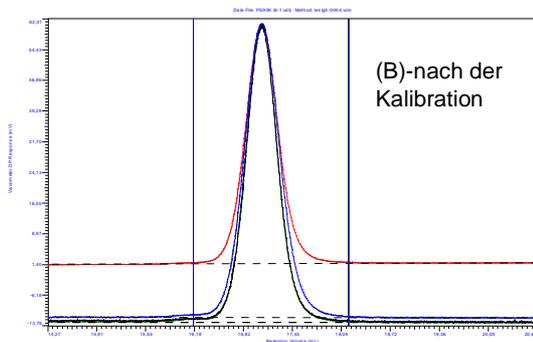
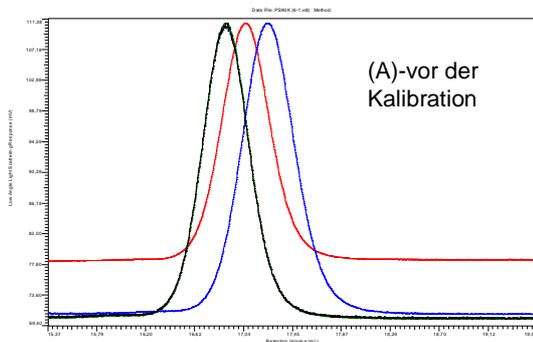
Abb. 1: Dreifachchromatogramm eines eng verteilten Polystyrolstandards vor (A) und nach der Detektorkalibrierung (B)

rot = RI-Detektor

blau = Viskositätsdetektor

grün = Rechtwinkel-Lichtstreuungsdetektor

schwarz = Kleinwinkel-Lichtstreuungsdetektor



Author: Dr. Gerhard Heinzmann, Viscotek GmbH

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