



Differentielle Viskositätsdetektoren in der GPC/SEC und der Feld-Fluss Fraktionierung – Verzögerungskolonne oder Holdup-Reservoir?

Dr. Gerhard Heinzmann

Einleitung

Viskositätsdetektoren werden seit vielen Jahren in der Gelpermeationschromatographie, auch als Größenausschlusschromatographie (GPC/SEC) bezeichnet, und zunehmend auch in der Feld-Fluss Fraktionierung (FFF), eingesetzt. Mit Ihrer Hilfe können die **Intrinsischen Viskositäten** von Polymerlösungen bestimmt werden. Neben den Molekulargewichten einer Polymerprobe und deren Verteilung stellt die Intrinsische Viskosität eine zweite fundamentale Größe dar, die zur Charakterisierung einer Polymerprobe herangezogen werden kann. Viskositätsdetektoren werden oft in Kombination mit Mehrwinkel-Lichtstreuungsdetektoren (MALS) und Brechungsindexdetektoren (RI) verwendet. Aus dem Signal des MALS-Detektors resultiert das absolute Molekulargewicht einer Polymerprobe, der RI-Detektor bestimmt die Konzentration der Probe an jedem Elutionspunkt. Über den sogenannten Mark-Houwink-Plot, die logarithmische Auftragung der Intrinsischen Viskositäten über den Molekulargewichten einer Probe, lassen sich Informationen über die molekulare Struktur und den Verzweigungsgrad von Polymerproben ermitteln [1]. Kommerzielle Viskositätsdetektoren werden heute in zwei unterschiedlichen technischen Ausführungen angeboten: entweder enthalten sie eine oder mehrere sogenannte Verzögerungssäulen (Delay Columns) und sind nach der Messung wieder frei von Probe oder sie enthalten zwei relativ großvolumige Holdup-Reservoirs und arbeiten damit nach dem Prinzip der unendlichen Verdünnung.

Entwicklung und Aufbau von Viskositätsdetektoren

Der Viskositätsdetektor wurde in den 1980er Jahren von der Firma Viscotec Corp. (Houston, Texas/USA) als kommerzielles Produkt in den Markt eingeführt.

Zunächst wurde ein Gerät angeboten, mit dem die Lösungsviskositäten von polymeren Materialien bestimmt werden konnten. Das Gerät verwendete ein alternatives Verfahren zu den damals wie heute als Standardverfahren verwendeten Glaskapillar-Geräten, die nach dem **Ubbelohde-Prinzip** arbeiten. Dieses Gerät arbeitete mit zwei Edelstahlkapillaren und war mit zwei Druckaufnehmern P1 und P2 ausgestattet [2]. Die Probe lief nur durch eine der beiden Kapillaren und erzeugte somit einen Druckunterschied in den beiden Druckaufnehmern, aus dem die relative Viskosität, und daraus wiederum die Intrinsische Viskosität der Probe, bestimmt werden konnten. Es ist vor allem die Intrinsische Viskosität einer Polymerprobe, die für die Chemiker von großem Interesse ist, da das Verhältnis von Molekulargewicht und Intrinsischer Viskosität einen direkten Einblick in die Struktur einer Polymerprobe ermöglicht.

Etwas später stellte sich heraus, dass die Messung von Lösungsviskositäten auch im Bereich der GPC/SEC von Bedeutung sein könnte. Da die Zweikapillartechnik für die in der GPC/SEC verwendeten, geringen Konzentrationen, nicht ausreichend sensitiv war, wurde ein modifiziertes Gerät entwickelt. Dieses Gerät arbeitete mit vier Kapillaren nach dem Prinzip der aus der Elektrotechnik her bekannten Wheatstone-Brücke

Die Wheatstone-Brücke besteht im Prinzip aus vier Widerständen R_1 bis R_4 (Abbildung 1) die zu einem geschlossenen Ring bzw. zu einem Quadrat zusammengeschaltet sind, mit einer Spannungsquelle in der einen Diagonalen und einem Spannungsmessgerät in der anderen [3].

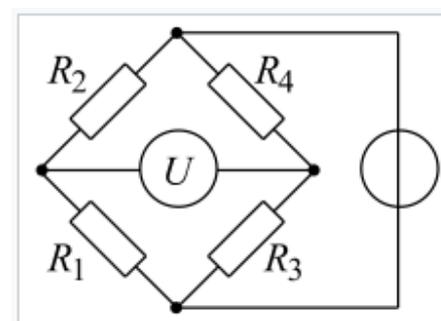


Abb. 1: Prinzipieller Aufbau einer Wheatstone-Brücke [3]

Die Wheatstone-Brücke dient zur Messung von Widerstandswerten durch Anwendung des Abgleichverfahrens. Von den vier Widerständen R_1 bis R_4 sind drei bekannt, der vierte ist unbekannt. Zunächst müssen nun die drei bekannten Widerstände solange variiert werden, bis die Diagonalspannung null beträgt. Anschließend lässt sich aus deren Widerstandswerten der vierte, unbekannte Wert errechnen. Die vier Widerstände R_1 bis R_4 werden auch als die vier Arme der Wheatstone-Brücke bezeichnet

Der ursprünglich nach dem Prinzip der Wheatstone-Brücke entwickelte Viskositätsdetektor war mit zwei großen, sogenannten Holdup-Reservoiren, ausgestattet (Abbildung 2). Ein Teil der Probe sollte in diesen Reservoiren unendlich verdünnt werden, sodass man mit dem Gerät kontinuierlich arbeiten und messen konnte.

Da im Bereich der GPC/SEC oft mit unterschiedlichen Lösungsmitteln gearbeitet wird, stellte sich aber schnell heraus, dass die Technik der Holdup-Reservoirs einen entscheidenden Nachteil hatte: das Umspülen des Gerätes auf ein anderes Lösungsmittel benötigt aufgrund des limitierten Maximalflusses und der sehr großen Volumina der beiden Holdup-Reservoirs enorm viel Zeit. Weiterhin funktioniert das Prinzip der unendlichen Verdünnung in der GPC/SEC nur begrenzt, da nach einer bestimmten Zeitspanne doch Teile der Probe aus den Holdup-Reservoirs eluieren und zu Instabilitäten in der Basislinie führen. Es benötigte wiederum sehr viel Zeit, um die gesamte Probenmenge, die sich im Laufe der Zeit in den Holdup-Reservoirs angesammelt hatte, aus diesen wieder zu entfernen.

Um das Umspülen des Detektors auf ein anderes Lösungsmittel beschleunigen zu können, wurde ein extra dafür vorgesehener Spülport angebracht; die Prozedur des Umspürens war aber nach wie vor sehr aufwendig und konnte nicht im normalen GPC/SEC-Betrieb durchgeführt werden.

Um diese Probleme zu lösen, wurde ein neues, auf die Anforderungen der GPC/SEC optimiertes, Design des Viskositätsdetektors entwickelt, das auch heute noch überwiegend zum Einsatz kommt: Die beiden großen Holdup-Reservoirs wurden durch eine Verzögerungskolonne ersetzt, die nur noch in einem Arm der Wheatstone-Brücke untergebracht ist (Abbildung 3). Die Verzögerungskolonne weist ein sehr viel geringeres Volumen als die Holdup-Reservoirs auf.

Die beiden Designs von noch immer kommerziell erhältlichen Viskositätsdetektoren sollen im Folgenden näher erläutert werden; Ihre Vor- und Nachteile werden diskutiert.

Viskositätsdetektor mit Holdup-Reservoir

Im Fall des differentiellen Viskositätsdetektors mit zwei großvolumigen Holdup-Reservoirs und dem Prinzip der unendlichen Verdünnung (Abbildung 2),

sind in der Viskositätsmessbrücke zwei große Volumina integriert, die eine unendliche Verdünnung der Probe gewährleisten sollen.

Bedingt durch die Instabilität, die das große Volumen in einem Arm der Viskositätsmessbrücke verursacht, muss ein zweites, gleich großes, Ausgleichsvolumen in einem anderen Teil der Brücke angebracht werden.

Viskositätsdetektor mit Verzögerungskolonne

Im Fall des differentiellen Viskositätsdetektors mit Verzögerungskolonne (Abbildung 3), ist in der Viskositätsmessbrücke nur ein vergleichsweise kleines Volumen in Form einer Kolonne integriert.

Das Prinzip der unendlichen Verdünnung der Probe wird in diesem Fall nicht weiter verfolgt. Vielmehr soll die gesamte Probe nach einem GPC/SEC-Lauf den differentiellen Viskositätsdetektor verlassen haben und dieser somit für die nächste Messung zur Verfügung stehen.

Vor- und Nachteile der beiden differentiellen Viskositätsdetektoren

Der Vorteil der Viskositätsdetektoren mit zwei großvolumigen Holdup-Reservoirs ist die Tatsache, dass es nur einen analytisch auswertbaren Peak für die intrinsische Viskosität der Probe gibt. Der zweite Teil der Probe wird theoretisch in den beiden großen Holdup-Reservoirs auf eine unendliche Verdünnung gebracht, so dass sich bei der Elution der verzögerten Probenhälfte keine sichtbaren Änderungen der Basislinie ergeben.

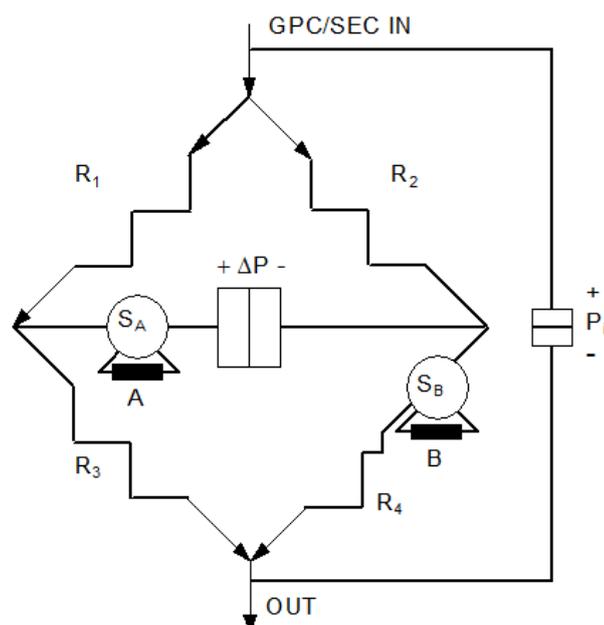


Abb. 2: Schematischer Aufbau eines Viskositätsdetektors mit zwei großvolumigen Holdup-Reservoirs A und B und dem Prinzip der unendlichen Verdünnung [4]

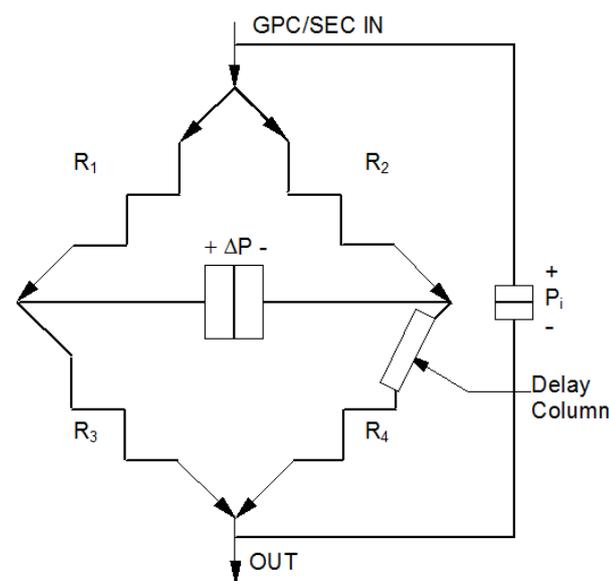


Abb. 3: Schematischer Aufbau eines Viskositätsdetektors mit Verzögerungskolonne (Delay Column) [5]

Nachteile dieses Design sind zwei Dinge: Möchte man das Lösungsmittel wechseln, also z. B. von THF auf Toluol oder DMAc mit LiBr umspülen, dann würde das im normalen Betriebsmodus mehrere Tage dauern, da das Volumen der großen Holdup-Reservoirs mehrfach mit dem neuen Lösungsmittel durchspült werden muss, um einen vollständigen Austausch des Lösungsmittels gewährleisten zu können. Um diesem Problem zu entgehen, hat der Hersteller in der Regel einen separaten Spülport an den

Geräten angebracht, mit dessen Hilfe das Lösungsmittel sehr schnell mit einer hohen Flussrate ausgetauscht werden kann. Dies ist aber im normalen GPC/SEC-Modus so nicht möglich.

Ein weiterer Nachteil dieses Designs ist die Tatsache, dass sich nach etlichen Probeninjektionen letztendlich doch so viel der Probe in den beiden Holdup-Reservoirs ansammelt, dass es schließlich zu einem unkontrollierten Austritt von Probenbestandteilen aus den Holdup-Reservoirs kommt, die zu einer deutlichen Instabilität – vor allem in der Basislinie des Brechungsindexdetektors, der immer als Konzentrationsdetektor im GPC/SEC-System verwendet wird – führt. So ist es wiederum notwendig, den Detektor für eine sehr lange Zeit zu spülen, um sicher zu stellen, dass alle Probenanteile aus den Holdup-Reservoirs entfernt sind und die Basislinie des Brechungsindexdetektors wieder stabil ist.

Beide aufgeführten Nachteile eines differentiellen Viskositätsdetektors mit Holdup-Reservoirs werden durch ein moderneres Design umgangen. Der moderne Viskositätsdetektor enthält nur eine mit silanisierten Glasperlen gefüllte Verzögerungskolonne, deren Volumen sehr viel geringer ist als das der Holdup-Reservoirs. Aufgrund des wesentlich geringeren Volumens genügt eine Verzögerungskolonne im negativen Arm der Viskositätsmessbrücke. Ein Ausgleichsvolumen in einem zweiten Arm der Viskositätsmessbrücke, wie im Fall der Holdup-Reservoirs, ist nicht notwendig.

Läuft nun die Probe durch diesen Viskositätsdetektor, dann ergibt sich ein positiver Probenpeak in dem Moment, in dem die Probe durch die analytische Kapillare im positiven Probenarm läuft, während sie im negativen Arm in der Verzögerungskolonne quasi druckfrei läuft.

Nachteil dieses Design ist, dass der verzögerte Teil der Probe nach einer durch das Volumen der Verzögerungskolonne bestimmten Zeit den Viskositätsdetektor kontrolliert verlässt. Dies führt im

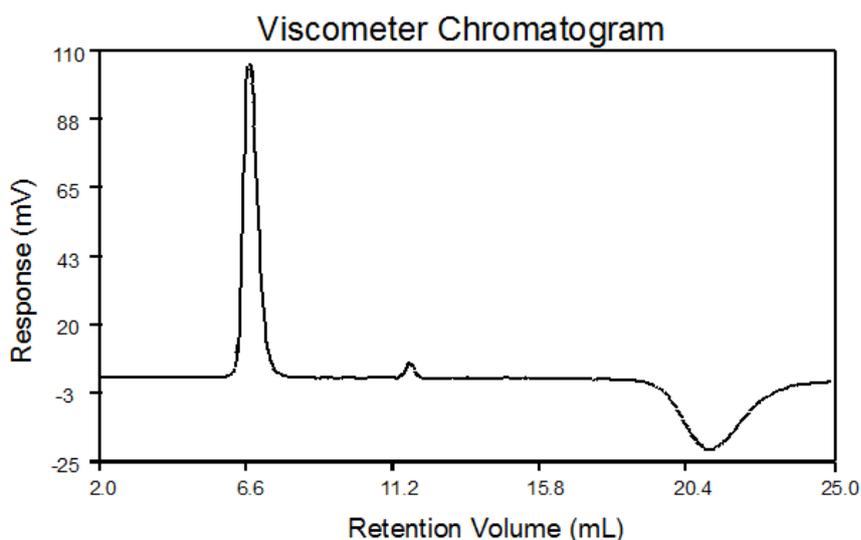


Abb. 4: Messsignal eines Viskositätsdetektors mit Verzögerungskolonne mit negativem Peak bei ca. 21 ml Elutionsvolumen aus der Verzögerungskolonne nach Ende der Trennung [5].

GPC/SEC-Chromatogramm zu einem negativen Peak im Viskositätsdetektor [5] (Abbildung 4).

Nach der Elution des negativen Peaks ist die Viskositätsmessbrücke wieder vollkommen frei von Probe und bereit für die nächste Messung. Die Elution dieses negativen Peaks muss daher abgewartet werden, bevor die nächste Probeninjektion gestartet werden kann. Dies kann zu einer längeren Laufzeit von Chromatogrammen führen und somit zu einem erhöhten Verbrauch von Lösungsmitteln. Da heutzutage aber meist Autosampler in GPC/SEC-Systemen eingesetzt werden, ist die längere Laufzeit von untergeordneter Bedeutung. Der höhere Verbrauch an Lösungsmittel kann dadurch minimiert werden, dass man den negativen Peak in den Bereich der nächsten Messung verlegt, und zwar in den Bereich der Messung, wo nur Basislinie vor dem Peak zu erwarten ist.

Die Tatsache, dass es bei einem Viskositätsdetektor mit Holdup-Reservoirs keinen negativen Peak gibt hat allerdings bei bestimmten, eher selten vorkommenden, GPC/SEC-Spezialanwendungen große Vorteile:

So wäre es z. B. im Fall der „Fast GPC“, also der schnellen GPC/SEC, bei der mit sehr kurzen, zum Teil deutlich dickeren Säulen gearbeitet wird, sehr hinderlich, wenn man nach jeder Messung auf den

negativen Peak warten müsste. Hier eignet sich die Holdup-Reservoir-Technik sehr viel besser, da man in sehr kurzen Abständen die Proben injizieren kann.

Bei der Fast-GPC-Technik verzichtet man auf eine hohe Auflösung im Chromatogramm zugunsten von Schnelligkeit der Messung und gewinnt somit Zeit und spart Lösemittel. Gerade bei sehr teuren Lösungsmitteln wie z. B. Hexafluoroisopropanol (HFIP) ist diese Technik sehr interessant.

Die Nachteile der sehr langen Umspüldauer des Viskositätsdetektors mit Holdup-Reservoirs und des zeitweiligen Durchbruchs von Probenbestandteilen aus den Holdup-Reservoirs werden hierbei in Kauf genommen.

Fazit

Es gibt derzeit zwei technische Ausführungen von differentiellen Viskositätsdetektoren am Markt; alle Detektoren arbeiten nach dem Prinzip der ausbalancierten 4-Kapillar-Wheatstone-Brücke. Entweder enthalten Sie zwei große Holdup-Reservoirs oder eine Verzögerungskolonne mit deutlich geringerem Volumen.

Das Prinzip der unendlichen Verdünnung durch Holdup-Reservoirs hat sich im Laufe der Zeit als wenig praktikabel im Bereich der normalen GPC/SEC erwiesen. Nur bei bestimmten Anwendungen wie

z.B. der schnellen GPC ist die Holdup-Reservoir-Technik vorteilhaft, da in diesem Fall nicht auf einen negativen Peak nach der eigentlichen Messung gewartet werden muss.

Die neuere Technik der Detektoren mit Verzögerungskolonne hat sich hingegen weitestgehend am Markt durchgesetzt. Nur diese Technik gewährleistet, dass der Viskositätsdetektor nach der Messung wieder vollkommen frei von Probe ist.

Literatur

[1] S. Mori, H. G. Barth, „Size Exclusion Chromatography“, 1999, Springer Laboratory, ISBN 978-3-662-03910-6

[2] C. Hitchcock, „Automated Solution Viscosity Measurements with negligible Sample Carryover using the Viscotek Y-501 Relative Viscometer“, Viscotek Application Note 17a, März 1991

[3] E. Schrüfer, „Elektrische Messtechnik. Messung elektrischer und nichtelektrischer Größen“ Verlag Hanser, München, 1992, ISBN 3-446-17128-2, S. 226–228.

[4] M. A. Haney, „The Viscotek Differential Viscometer SEC Detector“, Viscotek Application Note 3a, April 1986

[5] Handbuch Model 270 Viskositätsdetektor, Viscotek Corporation, Houston, Texas, USA, 2005