

## Bedeutung der Flusskonstanz in der GPC/SEC?

DR. THORSTEN HOFE, PSS

## Problemstellung

Die in der GPC/SEC Anlage eingesetzte Pumpe fördert nicht mehr konstant. Die Flussrate schwankt aber nur wenig.

## Frage

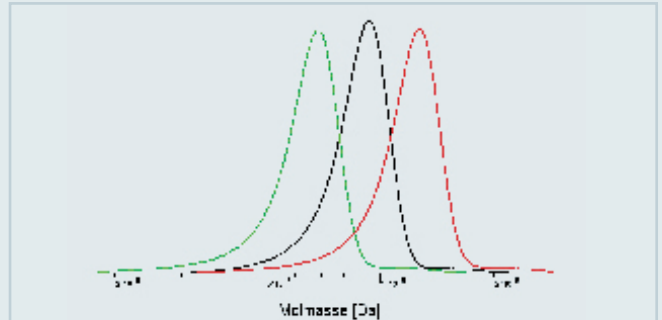
Welche Auswirkungen haben die minimalen Flussratenschwankungen auf das Messergebnis bzw. die erhaltenen Molmassenmittelwerte der untersuchten Proben?

## Antwort

Die GPC/SEC trennt Polymere nach dem hydrodynamischen Volumen ( $V_h$ ). Dieses bestimmt die Verweilzeit der Polymere auf der Säule und damit die Retentionszeit bzw. das (in der GPC/SEC sinnvollere) Elutionsvolumen  $V_e$ . Im Gegensatz zur LAC/HPLC ist damit in der GPC/SEC nicht die Peakfläche die relevante Information sondern das Elutionsvolumen,  $V_e$  (Peaklage), sowie die Peakform der untersuchten Probe. Über eine geeignete Kalibrierkurve wird nach der Messung das Elutionsvolumen der Probe mit der zugehörigen Molmasse korreliert. Veränderungen im Elutionsvolumen der Probe führen zwangsläufig auch zu anderen Molmassen (vgl. Abb. 1). Schwankt nun das Elutionsvolumen aufgrund der schlechten Flusskonstanz der Pumpe, dann werden falsche und nicht reproduzierbare Ergebnisse erhalten. Dieses ist der erste Grund, warum die Flusskonstanz für die GPC/SEC von so großer Bedeutung ist. Der zweite Grund liegt im Skalierungsverhalten der Molmasse mit dem hydrodynamischen Volumen.  $V_h$  nimmt nicht linear mit der Molmasse zu. Deutlich wird das, wenn man sich eine GPC/SEC-Kalibrierkurve anschaut, bei der auf der y-Achse der Logarithmus der Molmasse ( $\log M$ ) gegen das Elutionsvolumen ( $V_e$ ) aufgetragen werden muss. Durch diesen halblogarithmischen Zusammenhang kann ein dreiprozentiger linearer Fehler im Elutionsvolumen zu einem deutlich größeren Fehler in der Molmassenbestimmung führen (vgl. Tab. 1). Einfluss auf die Größe des resultierenden Fehlers hat auch die Steigung der Kalibrierkurve. Je steiler die Kalibrierkurve desto größer ist der transportierte Fehler. Moderne, gut gewartete GPC/SEC-Pumpen arbeiten heute i.d.R. sehr konstant und ohne große Fehler. Trotzdem kann es zu minimalen Abweichungen in der Flusskonstanz an unterschiedlichen Tagen kommen. Um diese Fehler auszugleichen und nicht bei jeder neuen Messung neu kalibrieren zu müssen, bietet sich der Einsatz eines „Flussmarkers“ oder „int. Standards“ an. Wird der Messung eine niedermolekulare monodisperse Substanz zugesetzt und werden die Elutionsvolumina der Kalibrier-substanzen als auch der Proben auf den Referenzwert des Flussmarkers normiert, so gelingt eine genauere und reproduzierbarere Molmassenbestimmung mit wenig Kalibrieraufwand.

**Tabelle 1: Polystyrol mit  $M_p$  93 000 g/mol mit und ohne Flussratenkorrektur**

Vp interner Standard [ml]	Abweichung Vp [ml]	% Abweichung	Mp gem. [g/mol]	Abweichung Mp [g/mol]	% Abweichung
34,94	-	-	936 000	+ 5 000	+0,5%
33,94	-1,00	-2,9%	1 272 000	+341 000	+37%
35,94	+1,00	+2,9%	688 000	-243 000	-26%



**Einfluss der Flusskonstanz auf das Elutionsvolumen; die schwarze Molmassenverteilung repräsentiert die wahre Molmasse, die rote und die grüne Kurve die Molmassenverteilungen die zu den Flussraten  $V_p$  int. Standard  $\pm 1$  ml korrespondieren.**

riekurve desto größer ist der transportierte Fehler. Moderne, gut gewartete GPC/SEC-Pumpen arbeiten heute i.d.R. sehr konstant und ohne große Fehler. Trotzdem kann es zu minimalen Abweichungen in der Flusskonstanz an unterschiedlichen Tagen kommen. Um diese Fehler auszugleichen und nicht bei jeder neuen Messung neu kalibrieren zu müssen, bietet sich der Einsatz eines „Flussmarkers“ oder „int. Standards“ an. Wird der Messung eine niedermolekulare monodisperse Substanz zugesetzt und werden die Elutionsvolumina der Kalibrier-substanzen als auch der Proben auf den Referenzwert des Flussmarkers normiert, so gelingt eine genauere und reproduzierbarere Molmassenbestimmung mit wenig Kalibrieraufwand.

## Fazit

- Das Elutionsvolumen ist die primäre Information in der GPC/SEC.
- Bei GPC/SEC-Kalibrationskurven wird die Elutionsvolumenachse linear und die Molmassenachse logarithmisch aufgetragen.
- Ein kleiner linearer Fehler in  $V_e$  führt zu großen Fehlern in  $M$ .
- Die resultierenden Molmassenfehler sind abhängig von der Steigung der Kalibrierkurve.
- Das Konzept des internen Standards kompensiert Flussratenunterschiede bei Kalibration und Messung und minimiert somit den Molmassenfehler.

+49 (0) 61 31 / 9 62 39 - 30

laborpraxis.de

InfoClick  
245902

In der nächsten Ausgabe geht es um Einfluss der Temperatur.