

GPC bei hochmolekularen Proben

DR. DANILEA HELD, PSS

Problemstellung

GPC/SEC erlaubt die Charakterisierung von Proben über einen sehr großen Molmassenbereich. Proben mit Molmassen bis hin zu mehreren Millionen Da können untersucht werden. Eine obere Molmassengrenze zu nennen ist dabei nicht leicht, da die entscheidende Größe nicht die Molmasse selbst ist, sondern das Volumen das das Molekül in Lösung annimmt. Die Struktur des Moleküls (steifes Stäbchen oder kompakte Kugel) und Verzweigungen spielen deshalb eine wichtige Rolle.

Frage

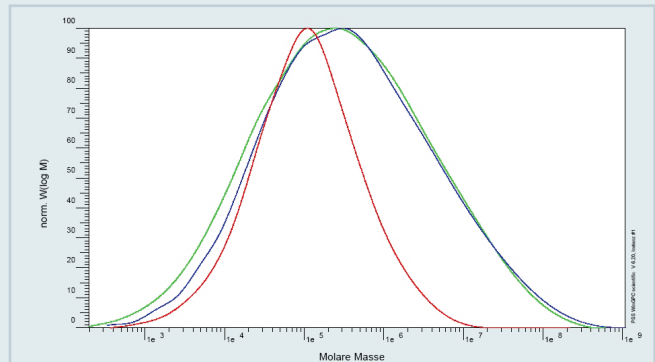
Was ist bei der GPC/SEC-Untersuchung von hochmolekularen Proben zu beachten?

Antwort

Hochmolekulare Makromoleküle verlangen eine besonders schonende und vorsichtige Behandlung. Ein Auseinanderbrechen der Ketten, sowohl beim Herstellen der Lösung als auch während der Messung, muss vermieden werden. Sonst werden zu niedrige und damit falsche Molmassen gemessen. Die Probenvorbereitung sowie die chromatographischen Bedingungen sind deshalb entscheidend.

Bereits bei der Probenvorbereitung gilt es, mehrere Dinge zu beachten. Mindestens anzupassen sind die Lösezeit, die Konzentration, sowie die Behandlung der Lösung. Bei sehr hochmolekularen Proben kann der Lösevorgang mehrere Tage benötigen. Die Konzentration der Proben ist möglichst niedrig anzusetzen, damit sich die Moleküle nicht gegenseitig beeinflussen und zu kleine hydrodynamische Volumina annehmen. Ein starkes Schütteln der Lösungen sollte vermieden werden. Das Verwenden von Ultraschallbädern ist für die Probenvorbereitung tabu (dies gilt übrigens für alle Proben in der GPC/SEC). Good Practice in GPC/SEC verlangt normalerweise das Filtrieren der Proben. Bei sehr hochmolekularen Proben ist es unter Umständen besser, darauf komplett zu verzichten. Wenn doch filtriert wird, muss ein entsprechend großporiger Filter verwendet werden. Abbildung 1 zeigt exemplarisch, welche Fehler bei der Probenvorbereitung noch gemacht werden können. Hier wurde die Probe vor dem Lösen gemahlen, um die Lösezeit zu verringern. Erfolgt das Mahlen der Probe ohne Kühlung, kommt es zu Kettenabbau während des Mahlens und es werden zu niedrige Molmassen erhalten.

Auch die chromatographischen Bedingungen müssen der Analyse angepasst werden. Da in der Regel niedrige Konzentrationen verwendet werden müssen, ist es sinnvoll, das Injektionsvolumen zu vergrößern, um die Aufgabemenge konstant zu



1 Blau: Granulat, lange Lösezeit. Grün: Zerkleinert mit Kühlung, kürzere Lösezeit; Rot: Zerkleinert ohne Kühlung, gleiche Lösezeit wie Grün aber aufgrund der Probenvorbereitung zu kleine Molmassen.

halten. Wichtig ist auch die Partikelgröße der verwendeten Trennsäule. Für sehr hochmolekulare Proben werden Säulen mit größeren Partikeln (10 oder sogar 20 µm) verwendet, um die Scherbelastung der Proben zu minimieren. Aus demselben Grund kann eine Temperierung der Säulen (Reduzierung der Viskosität des Lösungsmittels) sinnvoll sein. Auf jeden Fall sollte die an der Pumpe eingestellte Flussrate vermindert werden. Typische Werte für hochmolekulare Proben sind 0,1 bis 0,5 mL/min, auch abhängig vom Innendurchmesser der Säule. Eine sehr niedrige Scherbelastung hat man auch bei Verwendung von kurzen Säulen mit großem Innendurchmesser, z.B. High-Speed-Säulen mit 20 mm ID und 50 mm Länge. Diese sind besonders geeignet für hochmolekulare Proben, da bei gleichem Porenvolumen ein niedrigerer Gegendruck vorliegt.

Fazit

- Die Probenvorbereitung ist bei hochmolekularen Proben von entscheidender Bedeutung.
- Bei der Probenvorbereitung gilt: niedrige Konzentrationen, lange Lösezeit, wenig Belastung.
- Bei der Messung gilt: Wenig Scherbelastung und damit Säulen mit großen Partikelgrößen verwenden, Flussrate reduzieren.

+49 (0) 61 31 / 962 39 - 0

In der nächsten Ausgabe geht es um optimale Messbedingungen für GPC-Proben.

laborpraxis.de

InfoClick
344324