

GPC Tipps & Tricks, Folge 73

Wie wirkt sich die Säulen-Porosität aus?

DR. DANIELA HELD, PSS

PROBLEMSTELLUNG

Obwohl die mit GPC/SEC bestimmten Molmassen im Rahmen der Messgenauigkeit vergleichbar sind, sehen die Chromatogramme in einem anderen Labor ganz anders aus. Die fehlende Vergleichbarkeit von Chromatogrammen führt oft zu Verunsicherungen und Zweifeln.

FRAGE

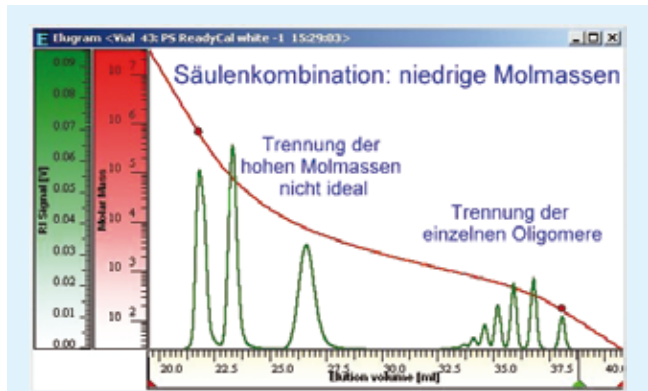
Warum können Chromatogramme derselben Probe so unterschiedlich aussehen und trotzdem korrekte Ergebnisse liefern?

ANTWORT

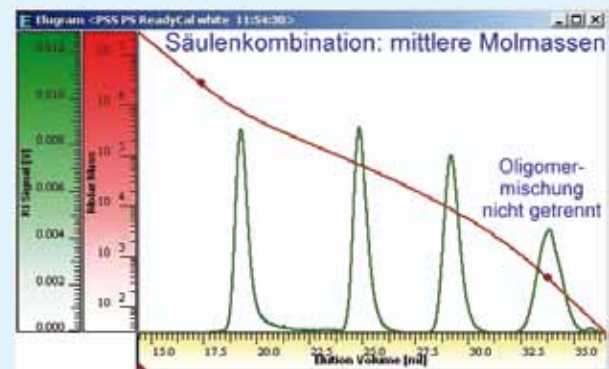
Das hängt mit der Auflösung der verwendeten Trennsäulen zusammen. Mittels GPC/SEC können Makromoleküle über einen weiten Molmassen-Bereich von ca. 100 Da bis zu mehreren Millionen Da separiert werden. Leider kann eine Trennung mit gleichbleibend hoher Auflösung über einen so großen Molmassenbereich mit nur einer einzigen Säulenkombination nicht erreicht werden. Zwar gibt es Säulenkombinationen, die einen großen Bereich abdecken, diese haben aber oft eine geringere Auflösung als für die Proben optimierte Säulenkombinationen.

Welche Molmassen getrennt werden können, hängt von der Porosität einer Säule ab, d.h. der Größe der Poren in der Säule. Leider gibt es bei den verschiedenen Säulenherstellern keine einheitliche Bezeichnung für die Porosität, sodass eine direkte Ableitung von Porosität auf den optimalen Molmassenbereich nicht generell gegeben ist. Es gilt aber immer, dass höhere Porositäten für größere Poren verwendet werden und damit die Trennung höherer Molmassen erlauben. Um sich einen Überblick zu verschaffen, welche Porosität für welche Molmasse geeignet ist, sollte man sich die Kalibrierkurven anschauen. Eine flache Steigung der Kalibrierkurve ist gleichbedeutend mit einer hohen Auflösung. Je steiler die Kalibrierkurve wird, desto schlechter wird die Auflösung. In der GPC/SEC werden in der Regel mehrere Säulen kombiniert, um eine gute Auflösung in einem großen Molmassenbereich zu erzielen. Um böse Überraschungen wie z.B. Mismatches zu vermeiden, sollte man auf die vom Hersteller empfohlenen Kombinationen zurückgreifen.

Abbildung 1 zeigt nun die Trennung derselben Polystyrolmischung auf zwei Säulensätzen. Der in Abbildung 1a verwendete Säulensatz ist optimiert auf Oligomertrennungen; der in Abbildung 1b verwendete Säulensatz ist für den mittleren Molmassenbereich ausgelegt. Es fällt auf, dass in 1b die hohen Molmassen besser voneinander getrennt werden. Besonders interessant ist aber die Oligomermischung ($M_w=374$ Da), der zuletzt eluierende Peak. Hier erhält man auf der Oligomer-Kombination eine sehr gute Auftrennung in die einzelnen Oligomere. Die 1b-Säulenkombination hingegen zeigt nur einen einzigen Peak. Natürlich kann die Oligomermischung aber trotzdem in beiden Fällen für die Erstellung einer Kalibration verwendet werden. Überlagert mit den Peaks ist immer die jeweilige Kalibrationskurve.



1a Mischung von vier Polystyrolstandards mit verschiedenen Molmassen auf einer für Oligomere optimierten Säulenkombination. Der letzte Peak ist eine Oligomermischung, die hier sehr gut in die einzelnen Molmassen getrennt wird.



1b Mischung derselben vier Polystyrolstandards auf einer für mittlere Molmassen optimierten Säulenkombination. Die Oligomermischung wird nicht aufgetrennt sondern eluiert in einem einzigen Peak. Dafür werden die höheren Molmassen besser voneinander getrennt.

Hier erkennt man sehr gut, dass in Bereichen mit einer flachen Steigung eine bessere Trennung möglich ist.

FAZIT

- Die Porositäten in einer Säulenkombination haben entscheidenden Einfluss auf das Aussehen der Chromatogramme und die Molmassen, die getrennt werden können.
- Höhere Porositäten werden für höhere Molmassen verwendet, kleinere für niedrige Molmassen. Bei Säulenkombinationen sollte man auf die vom Hersteller empfohlenen zurückgreifen.

Alle bisher erschienenen Tipps & Tricks finden Sie online unter www.laborpraxis.de/tipsandtricks.