



■ **Probenvorbereitung**

Manuell Verdünnen und Filtrieren

Das PL-SP 260VS von Polymer Laboratories ist ein neues Probenvorbereitungssystem, ausgelegt für manuelles Verdünnen und Filtrieren von Proben vor der GPC-Analyse. Die Einheit kombiniert kontrolliertes Heizen über einen Temperaturbereich von 30–260°C mit leichtem Schütteln bei wählbaren

Geschwindigkeits-Drehzahlen zwischen 85–230 U/min. Mit seinem Temperaturbereich und den möglichen Geschwindigkeiten ist das neue PL-SP 260VS optimal geeignet für einen umfassenden Bereich von Polymertypen, einschließlich

schwierigster Proben. Das neue PL-SP 260VS erlaubt unterschiedliche, vom Anwender einfach regelbare Schüttelgeschwindigkeiten. Der beheizte Tableau-Bereich kann entsprechend der vom Anwender gewünschten Fläschchengröße angepasst werden. Eine Auswahl von Standard- oder an-

wenderbezogenen Zubehör-Kits ist verfügbar. Das System verfügt über eine Pipettier-Vorrichtung mit der es möglich ist, die heiße filtrierte Probenlösung mit minimalem Arbeitsaufwand von dem Probenaufbereitungs-Fläschchen direkt in die Bestimmungs-Fläschchen zu dispensieren.

Fax: +49 (0 61 51) 86 06 70

InfoClick 136988

GPC Tipps & Tricks

Liebe Leser, diese Ausgabe beschäftigt sich mit Wechselwirkungen bei der GPC. Die nächste Folge befasst sich mit der Thematik, warum die GPC eine Relativmethode ist. Autor: Dr. Thorsten Hofe, PSS

Woran lässt sich eine wechselwirkungsfreie GPC Messung erkennen?

Problemstellung

Im Rahmen eines GPC Experimentes eluiert die zu untersuchende Probe nicht oder erst nach der Trennschwelle. Die gefundenen Peaks sind breit, zeigen ein starkes Tailing oder sind unerwartet multimodal. Ursache hierfür könnten repulsive oder attraktive Wechselwirkungen zwischen Polymer und Trennmechanismen sein.

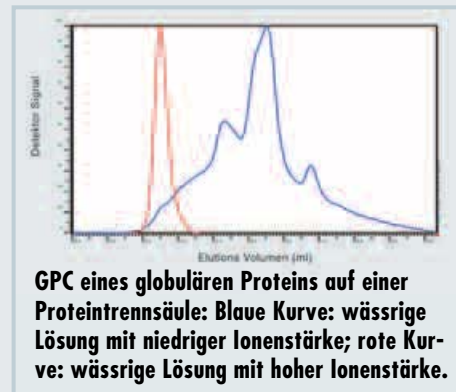
Frage

Wie verhindere ich die Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial? Eluiert ein Polymer nicht von der Säule, so sind oftmals funktionelle Gruppen oder Copolymerkomponenten für die Wechselwirkung mit der Säulenmatrix verantwortlich. Ursache hierfür sind die extrem nichtlinearen Adsorptionsisotherme der Polymere.

Antwort

Zur Minimierung der Wechselwirkungen in organischen Lösungsmitteln empfiehlt sich ein dem Polymer chemisch ähnlicher niedermolekularer Zusatz zum Eluenten, (z.B. Amine bei aminhaltigen Polymeren, oder Säuren bei säurehaltigen Polymeren). Bei wasserlöslichen Polymeren unterscheidet man Polyanionen und Polykationen (Polymere mit echter lokaler positiver oder negativer Ladung) von neutralen hydrophilen Polymeren (Polymere ohne elektrische Ladung). Zur Minimierung der Wechselwirkungen zwischen Polymer und stationärer Phase in wässrigen Eluenten dient die Variation des pH-Wertes, der Ionenstärke bzw. den Zusatz eines organischen Modifiers. Für Polyelektrolyte (Polymere, die vielfach negativ geladen sind, z.B. Polyacrylsäure in Wasser oder Polyacrylsäurecopolymeren in DMAC) empfiehlt sich der Zusatz eines niedermolekularen Elektrolyten (Salz). Dieser unterdrückt die Wechselwirkung von Polymer und stationärer Phase ebenso wie die inter- und intramolekularen Wechselwirkungen der Polymerketten. Auch nicht ionischen wasserlöslichen Polymeren wie Dextrane und Polyethylenoxiden (keine Polyelektrolyte) wird oft ein niedermolekulares Salz zugesetzt, um Aggregatbildung und Wechselwirkung zu vermeiden. Eluiert ein Teil des Polymers nach der Trennschwelle, oder zeigt das Polymer ein außergewöhnliches Tailing bzw. eine apparente breite Molmassenverteilung, dann liegen nur schwache Wech-

selwirkungen vor (Grund: Endgruppeneffekte oder geringe Copolymeranteile). Auch in diesem Fall muß der Eluent entsprechend modifiziert werden. Grundsätzlich gilt: wenn eine Variation des Eluentenzusatz nicht mehr zur Veränderung von Peaklage und Peakform führen, dann sind die bestmöglichen chromatographischen Bedingungen erreicht.



GPC eines globulären Proteins auf einer Proteintrennsäule: Blaue Kurve: wässrige Lösung mit niedriger Ionenstärke; rote Kurve: wässrige Lösung mit hoher Ionenstärke.

In der Abbildung wird der Einfluss der Ionenstärke (Salzgehalt) des Eluenten auf das Elutionsprofil eines globulären Proteins dargestellt. Eine 0,03 m Salzlösung führt zu einem breitverteilten, multimodalen Produkt. Wird die Ionenstärke auf 0,3 m erhöht, eluiert das Protein als monomodaler Peak, wie für ein monodisperses Protein üblich. Gelingt die wechselwirkungsfreie Chromatographie durch Variation des Eluenten nicht, ist der Wechsel zu einer anderen stationären Phase nötig, die sich in der Polarität unterscheidet.

Fazit

- Wird eine Polymerprobe nicht oder nicht vollständig eluiert, muß der Eluent oder die Säulenmatrix variiert werden.
- Der Eluentenzusatz hängt von Ursache der Wechselwirkungen ab.
- Polyelektrolyte benötigen immer den Zusatz eines niedermolekularen Elektrolyten.
- Polymere, die in reinem Wasser zur Aggregation oder Micellbildung neigen, muss ebenfalls ein niedermolekularen Polyelektrolyten zugesetzt werden.

Fax: +49 (0 61 31) 9 62 39 - 11

InfoClick 138181