

Liebe Leser, diese Ausgabe der GPC Tipps & Tricks beschäftigt sich mit dem Säulenmismatch bei GPC-Säulen in der nächsten Ausgabe geht es um die Genauigkeit und Präzision in der GPC.
 Autor: Dr. Thorsten Hofe, PSS

Wie erkennt man ein Säulenmismatch?

Problemstellung

Eine Säulenkombination, zusammengesetzt aus verschiedenen Einzelporositäten wird zur GPC-Analyse benutzt. Die Proben zeigen jedoch eine bimodale oder multimodale Verteilung.

Frage

Wie kann sichergestellt werden, dass die gemessene Verteilung real ist und nicht auf Säulenmismatch oder Säulenausschluss beruht?

Antwort

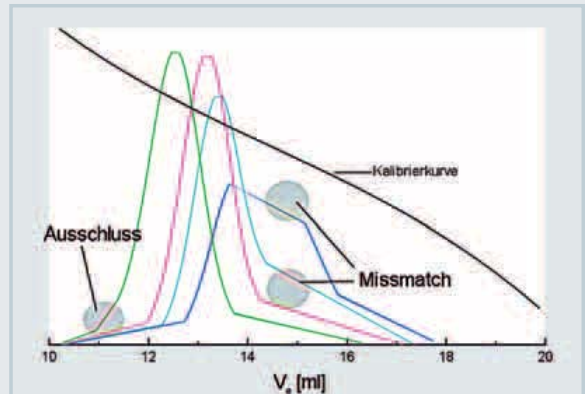
Eine Säulenkombination aus Einzelporositäten verbessert die Auflösung und vergrößert den Trennbereich. Es können jedoch nicht alle Einzelporositäten miteinander kombiniert werden. Ist der Unterschied der Porengrößenverteilung zu groß (z.B. 10^2 \AA und 10^6 \AA), so entsteht in bestimmten Bereichen eine Deckungslücke an Poren. Diese führt zu einem Verlust an Auflösung und somit zu einer „Unstetigkeit“, d.h. im Elugramm treten sog. „Schultern“ auf.

Im umgekehrten Fall, wenn es durch das Überlappen der Einzelporositäten zu einem lokalen Überangebot an Poren kommt, wird die Auflösung lokal verbessert, aber die homogene Porengrößenverteilung geht verloren. Es kommt zum sog. Säulenmismatch. Wie kann dieser detektiert werden?

Bei einem Verlust an Auflösung nimmt die Steigung der Kalibrationskurve lokal zu. Eine lokal flacher verlaufende Kalibrationskurve deutet auf eine verbesserte Auflösung in diesem Bereich hin. Oftmals sind jedoch die besprochenen Inhomogenitäten so gering, dass diese nicht eindeutig durch die Kalibrationskurve abgebildet werden.

Das mögliche Säulenmismatch kann dann nur durch einen chromatographischen Test mit geeigneten Referenzsubstanzen nachgewiesen werden. Geeignet sind homogene breitverteilte Referenzstandards. Liegt ein Säulenmismatch vor, so zeigen die Elugramme dieser symmetrischen breitverteilten Proben u.U. multimodale Verteilungsmuster (Sidepeaks oder Schultern). Breitverteilte Proben eluieren über einen großen Elutionsbereich und stellen somit ein geeignetes Sondenmoleküle dar, da die Porengrößenverteilung der Säule und somit die Auflösung indirekt über die Kettenlängenverteilung der Probe abgebildet werden kann.

Abbildung 1 zeigt das Chromatogramm verschiedener breitverteilter Dextrane, gemessen mit einer Säulenkombination aus 1000 \AA und 100 \AA . Die Kalibrationskurve ist glatt und zeigt keinen Hinweis auf ein Säulenmismatch. Manche Elugramme hin-



1 Mismatch und hochmolekularer Ausschluss bei einer Säulenkombination. Zwischen 11 und 12 ml (Ausschluss) und zwischen 13 und 14 ml (Mismatch) zeigen die Elugramme sog. Schultern.

gegen sind an den Flanken durch Schultern ausgezeichnet. Diese „Schultern“ sind nicht Folge einer besonders guten Auflösung des Systems, sondern resultieren aus einem Säulenmismatch.

Auch bei Linearsäulen kann es, trotz linearer Kalibrationskurve, zu einem Säulenmismatch kommen. Die Abmischungsfehler unterschiedlicher Einzelporositäten können zu einer variierenden Porengrößenzusammensetzung und somit zu einem Mismatch führen.

Fazit

- Linearsäulen nicht mit monodispersen Säulen kombinieren.
- Bei der Kombination monodisperser Säulen nur Säulen eines Herstellers verwenden.
- Säulenauswahl so gestalten, dass die Steigung der Kalibrationskurve möglichst flach und konstant über den gewünschten Trennbereich verläuft.
- Säulenmismatch testet man am besten mit definierten breitverteilten Polymerstandards.
- Säulenmismatch und Auflösung dürfen nicht verwechselt werden.

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

InfoClick

144656

Sie interessieren sich für eine vorherige Ausgabe der GPC Tipps & Tricks? www.laborpraxis.de und InfoClick genügt!

Ausgabe	Thema	InfoClick
LaborPraxis 6/2004	Säulenauswahl in der GPC	127606
LaborPraxis 7/8 2004	Die richtige Probenkonzentration	130544
LaborPraxis 10/2004	Warum ist das Detektorsignal so klein?	136393
LaborPraxis 11/2004	Wechselwirkungsfreie GPC Messungen	138181
LaborPraxis 12/2004	Warum ist die GPC eine Relativmethode?	140562
LaborPraxis 1/2005	Molmassen mit universeller Kalibration bestimmen	142368