

Höhere Reproduzierbarkeit, reduzierter Kalibrieraufwand

Problemstellung

Das Equilibrieren der GPC-Anlage dauert viel länger als die Zeit bis zum Erreichen eines konstanten Flusses. Analysen in dieser Phase liefern andere Ergebnisse, als die bei vollständig equilibrierten GPC-Säulen durchgeführten Messungen.

Frage

Wie kann man verfolgen, dass die Säulen equilibriert sind und sicherstellen, dass der Säulen-Zustand bei der Messung dem bei der Kalibration möglichst ähnlich ist?

Antwort

Die heute verfügbaren GPC-Geräte liefern zwar sehr gute Reproduzierbarkeiten, allerdings stellt die GPC auch besondere Anforderungen. Für die Ergebnisse einer Messung spielt neben der verwendeten Kalibration auch die Reproduzierbarkeit der Analysenbedingungen und ihr Bezug zur Kalibration eine große Rolle. Die Genauigkeit der Elutionsvolumenbestimmung wird zunächst durch die Qualität der Konstantfluss-Pumpe festgelegt. Auch hier zeigt die GPC wieder Abweichungen von bekannten LC-Bedingungen. Da sich die Trennung bei der GPC durch einen diffusionskontrollierten Prozess abspielt, hat der thermodynamische Zustand des Gels in der Säule einen großen Einfluss auf die Reproduzierbarkeit. Beide Faktoren lassen sich einfach durch die Verwendung eines internen Standards erfassen. Hierzu verwendet man häufig niedermolekulare Substanzen. Eine Änderung des Gelzustands und/oder des Flusses spiegelt sich in der Verschiebung des internen Standards wieder. Durch Korrektur des experimentellen Elutionsvolumens mithilfe

Tabelle 1: Einfluss der Lage des internen Standards auf die Molekulargewichte am Beispiel von Mw

Interner Standard (ml)	Differenz (%)	Mw (D)	Differenz (%)
21,80	+2,01	46 500	+36,8
21,65	+1,31	41 900	+23,2
21,50	+0,61	37 500	+10,3
21,00	-	34 000	-
21,20	-0,80	29 800	-12,4
21,05	-1,50	26 400	-22,4
20,90	-2,20	23 300	-31,5

der Volumina des internen Standards können solche Effekte ausgeglichen werden. Dadurch kann leichter auf Kalibrationsbibliotheken zurückgegriffen werden und der Kalibrieraufwand wird deutlich verringert. Das Konzept der Verwendung des internen Standards ist nur sinnvoll um eine kontinuierliche Änderung des Gelzustands und/oder des Flusses zu korrigieren. Sprunghafte Änderungen lassen sich damit naturgemäß nicht korrigieren. Die Benutzung dieser Methode gestattet es auch, mithilfe der Gelchromatographie Molekulargewichte genau und reproduzierbar zu bestimmen. Auch das Überlagern von Elugrammen und Molmassenverteilungen wird durch Benutzung eines internen Standards ausagekräftiger. Wie stark sich Schwankungen des Flusses und/oder Änderungen des Gelzustands auf Molekulargewichte auswirken, zeigt Tabelle 1. Die Schwankungen hängen natürlich von der verwendeten Säulenkombination und der Lage des Peaks in der Kalibrierkurve ab.

Fazit

- Die Verwendung eines internen Standard erhöht die Reproduzierbarkeit von GPC-Messungen.
- Der interne Standard hilft System-Probleme frühzeitig zu erkennen.
- Die Kalibrierhäufigkeit kann deutlich gesenkt werden, dadurch sinken Lösemittelverbrauch und Kosten.

☎ Tel. +49 (0) 61 31 / 9 62 39 - 31