

# Gelchromatographie

## Anwendung und Nutzen der Lichtstreuendetektion bei der Untersuchung von (Bio-)Polymeren

Peter Kilz\*)

**Natürliche und synthetische Makromoleküle („Polymere“) spielen im Alltag eine immer größere Rolle. Das liegt zum einen daran, dass die Fälle von krassen Qualitätsmängeln bei Kunststoffen der Vergangenheit angehört und zum anderen daran, dass deren Einsatz heute viel spezifischer erfolgt. Bedeutend dazu beigetragen hat die exakte Kenntnis der molekularen Eigenschaften.**

Makromoleküle sind in unserem Leben omnipräsent:

- In Lebensmitteln beispielsweise als Stabilisatoren, Emulgatoren, Viskositätsverbesserer, Gelierungsmittel.
- In Medikamenten beispielsweise als galenische Hilfsmittel, Wirkstoffträger, Dosierungshilfen.
- In der Kosmetik beispielsweise als Retentionshilfsmittel, Stabilisatoren, Additive zur Feuchtigkeitsregulierung.
- In Papier beispielsweise als Beschichtungs- und Bindemittel, Fixierer für Tinten.
- In Textilien/Teppichen beispielsweise als Appreturen, Gerbstoffe, schmutzabweisende Schichten.
- In der Bauindustrie beispielsweise als Retentionshilfsmittel, Betonverflüssiger, flexible Massen.
- In der Elektronik beispielsweise als Werkstoffe oder Hilfsmittel zur Erzeugung von Mikrostrukturen.
- In der Autoindustrie beispielsweise als Ersatz für Metalle, Funktionsmaterialien, Lacke.
- Im Haushalt beispielsweise als kostengünstige und langlebige Gebrauchsgüter, Waschmittelzusätze, Schmutz- und Fettbinder, Wasserenthärter.

Diese Liste ist nicht erschöpfend, da Kunststoffe und andere Makromoleküle in vielen weiteren Anwendungsfeldern Bedeutung erlangt haben. Damit Makromoleküle dieser Funktionsvielfalt in Einsatz und Anwendung genügen können, müssen sie umfangreiche und langwierige Untersuchungen bestehen. Wichtig ist auch die Auswahlstufe davor: Nur sorgfältig auf ihre molekulare Eigenschaften optimierte Polymere werden Anwendungstests unterzogen. Denn: Alle wesentlichen Anwendungsparameter hängen direkt von Größen wie Molmasse, Molmassenverteilung, Copolymerzusammensetzung, Funktionalität, molekularem Aufbau etc. ab oder werden davon beeinflusst.

Diese Eigenschaften können mit der Gelchromatographie (GPC, auch SEC oder GFC genannt) exakt, schnell und reproduzierbar untersucht werden. Anders als traditionelle Methoden, die nur Eigenschaftsmittelwerte liefern, erlaubt die GPC auf

einfache und schnelle Weise Eigenschaftsverteilungen von Makromolekülen zu bestimmen, wie beispielsweise Molmassenverteilung, Zusammensetzungsverteilung, Endgruppenverteilung, Verzweigungsverteilung [1].

Die konventionelle GPC wird über Referenzmaterialien kalibriert um vergleichbare Ergebnisse erzielen zu können. Weitergehende Informationen über den Molekülaufbau (Struktur, Verzweigung, Dichte, etc.) sind damit allerdings nicht zu erhalten. Dies kann durch den Einsatz von Lichtstreugeräten als Detektoren in der GPC erfolgen [2]. Dabei wird während der Elution kontinuierlich die Molmasse gemessen. Je nach Gerätetyp sind weitere Größen (siehe Tabelle 2) qualitativ und quantitativ bestimmbar und verfolgbar wie:

- Trägheitsradien ( $R_g$ ).
- Verzweigungsgrad (Langkettenverzweigung).
- Änderungen der Molekülstruktur.
- Aggregations-/Agglomerationsverhalten.
- Alterungs-/Lagerprozesse.

### Messprinzipien

Bei den kommerziellen verfügbaren Lichtstreugeräten kommen verschiedene Messverfahren zum Einsatz. In Tabelle 1 sind die wichtigsten Praxisunterschiede dargestellt, die auch als Kriterium bei der Auswahl des geeigneten Messverfahrens für die eigene Anwendung herangezogen werden können. Weitere Details dazu in [4]. Prinzipbedingt sind diejenigen Geräte am universellsten einsetzbar, die mehrere Winkel ( $>5$ ) verwenden. Hier kann neben der Molmasse auch der Trägheitsradius und die Molekülgestalt unabhängig von Annahmen oder sonstigen Voraussetzungen bestimmt werden.

### Anwendungsbeispiele

#### Beispiel mit synthetischem Polymer

ABS (Acrylnitril-Butadien-Styrol-Copolymer) ist ein schlagzäher Konstruktionskunststoff, der häufig für Gehäuse von Elektronik- und Haushaltsgeräten verwendet wird. Nachfolgend wird der Unterschied zwischen einer konventionellen GPC-Auswertung und einer absoluten Molmassenbestimmung mit der GPC-Lichtstreuendetektion illustriert (siehe Tabelle 2). Die physikalischen Eigenschaften wie Bruchsicherheit, Festigkeit, Temperaturverhalten hängen in starkem Maße ab von den mittleren Molmassen, ihrer Verteilung und der Zusammensetzung des

\*) PSS GmbH, 55023 Mainz, www.polymer.de.

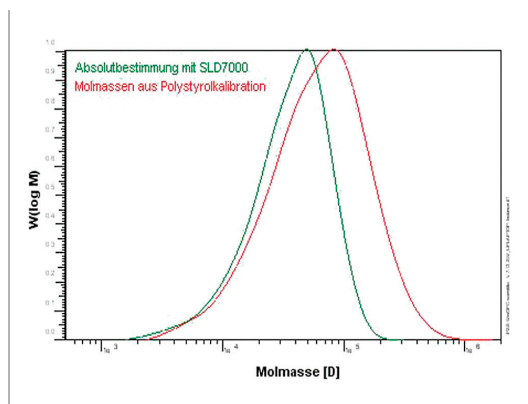
**Tabelle 1: Übersicht von Lichtstreuverfahren und -geräten.**

Typ	Verfahren	Anwendung	Einschränkungen	Voraussetzungen*)
<b>LALLS</b> Kleinwinkelgeräte	M-Messung ohne Extrapolation	<ul style="list-style-type: none"> <li>MWD</li> <li>hochmolekulare Proben</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>oft „Spikes“</li> <li>wartungsintensiv</li> <li>keine Rg-Messung</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>sehr sauberes System (ohne Partikel, Staub)</li> </ul>
<b>RALLS</b> 90° Einwinkelgeräte	M-Messung ohne Winkelkorrektur	<ul style="list-style-type: none"> <li>nur MWD von niedermolekularen Proben</li> <li>vergleichende Analysen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>keine Winkelkorrektur</li> <li>Rg nur in Verbindung mit Viskosimeter</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>M &lt; 200000 D</li> <li>Probeneigenschaft bekannt</li> </ul>
<b>TALLS</b> Zwei-/Drei-Winkelgeräte	M-Messung mit 2(3)-Punkt Extrapolation	<ul style="list-style-type: none"> <li>MWD</li> <li>hoch- und niedermolekulare Proben</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>„Spikes“ bei 15°</li> <li>eingeschränkte Winkelkorrektur</li> <li>Rg ungenau</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Knäuelstatistik sollte bekannt sein</li> </ul>
<b>MALLS</b> Mehrwinkelgeräte	M- und Rg-Messung mit Vielwinkel-Extrapolation	<ul style="list-style-type: none"> <li>exakte MWD</li> <li>verlässliche Rg</li> <li>Verzweigungen</li> <li>Strukturmerkmale</li> </ul>	/	/

\*) Generelle Voraussetzungen bei allen GPC-Lichtstreuverfahren:

- Der Wert des Brechungsindexinkrements ( $dn/dc$ ) muss sehr genau bekannt sein [5a], da dieser Wert quadratisch in die Bestimmung der Molmasse eingeht; wichtig dabei ist, dass  $dn/dc$  den Messbedingungen entspricht (Lösungsmittel, Wellenlänge, etc.) [5b].
- Verwendung guter GPC-Säulen ohne Partikel-elution, um „Spikes“ zu vermeiden.
- Flexible und einfache Software zur umfassenden Analyse der Daten, Berechnung und Darstellung der Ergebnisse, damit die Vielzahl der verschiedenen Datensysteme im Labor reduziert werden kann [3].

**Bild 1:** Überlagerung der Molmassenverteilungskurven eines ABS-Musters aus der konventionellen GPC mit Polystyrolkalibration (rot) und mit Absolutdetektion (grün) mit dem PSS SLD7000 Mehrwinkellichtstreugerät.



ABS-Materials. Nur mit ihrer genauen Kenntnis kann ein geeignetes Rohmaterial für die abschließenden Tests ausgewählt werden.

Offensichtlich stellt die konventionelle GPC die wahren Molmassen und auch die Polydispersität viel zu hoch dar. Die Bild 1 zeigt deutlich, dass im hochmolekularen Bereich die Abweichungen zu den realen Produkteigenschaften besonders groß sind. Werkstoffexperten und Konstrukteure würden auf Grund der mit einer Polystyrolkalibration erhaltenen Ergebnisse ein in der Festigkeit in Wirklichkeit ungeeignetes Produkt als Konstruktionswerkstoff auswählen.

Aus den GPC-Ergebnissen in Tabelle 2 lassen sich auch Hinweise auf geeignete Verarbeitungsbedingungen ableiten. Die hoch- und niedermolekularen Massenanteile der Produkte spielen für die optimale Prozessführung (zum Beispiel im Extruder) eine wichtige Rolle. Bei höheren Anteilen an niedermolekularen Komponenten kann zum Beispiel die Aufenthaltsdauer im Extruder (Aufschmelzen) und die Extrusionstemperatur geringer gewählt werden. Dadurch wird das Werkstück schon bei der Herstellung potenziell weniger geschädigt. Im Falle der Polystyrol-basierten Ergebnisse (Anteil Produkt < 10 kD nur 2,2 % statt in Wirklichkeit 5 %) würden höhere Verarbeitungstemperaturen als nötig gewählt und das Werkstück wäre schon thermisch vorbelastet. Höherer Ausschuss und schlechtere Produktqualität in der Anwendung könnten die Folgen sein.

**Tabelle 2: Vergleich der GPC-Ergebnisse einer ABS-Untersuchung mit Polystyrolkalibration (rot) und Lichtstreuung (grün).**

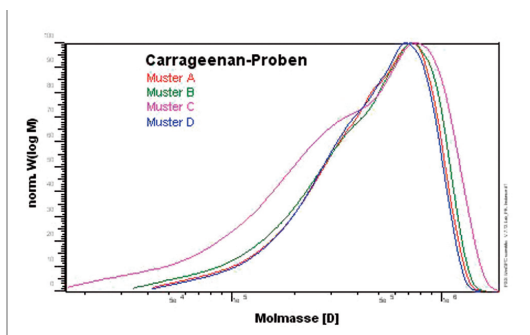
GPC-Verfahren	Lichtstreuung	Kalibration Polystyrol
$M_n$ [D]	28700	42700
$M_w$ [D]	47600	90600
$M_w/M_n$	1,66	2,12
Anteil < 10 kD [%]	5,0	2,2

**Beispiel mit natürlichem Polymer:**

Ein Beispiel zeigt die Verwendung von Polysacchariden in Lebensmitteln. Es verdeutlicht die Anwendungsbreite der GPC als Untersuchungsverfahren für makromolekulare Fragestellungen und zeigt die Bedeutung realer Ergebnisse für die menschlichen Lebensgrundlagen (hier: Nahrungsmittel).

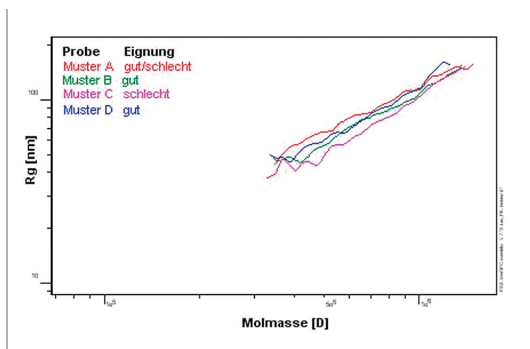
Carrageenan ist ein in der Natur weit verbreitetes Kohlehydrat mit vielseitigen Eigenschaften und umfassenden Anwendungsfeldern, das aus Algen gewonnen wird. Es löst sich leicht in warmem Wasser, beim Abkühlen bildet sich selbst in hoher Verdünnung eine thixotrope Gelphase. Die Festigkeit des Gels wird durch Ausbildung einer Doppelhelix-Struktur hervorgerufen. Auf diesen Eigenschaften beruht eine Vielzahl von Anwendungen. Hierzu zählen Gelier- und Bindemittel, Stabilisierung von Emulsionen, Suspensionen und Instant-Produkten, aber auch als Appreturen, Salbenzusätze, Emulgatoren für Hautcremes sowie Suspendierhilfe für Schleif- und Schmiermittel. Auf Grund des hohen Quellvermögens täuschen Carrageenan-behandelte Lebensmittel beim Verzehr ein höheres Volumen vor und werden daher auch in diätetischen Formulierungen verwendet.

Für die Anwendung in Lebensmitteln ist Carrageenan auf Grund seiner Breite von Produkteigenschaften sehr beliebt. Besonders wichtig ist daher die genaue Kenntnis der aus natürlichen Quellen gewonnenen Produkte. Aktuelle Bestrebungen zielen auf eine bessere Korrelation zwischen anwendungstechnischen Parametern und dem molekularen Aufbau der Produkte. Dazu sind aussagefähige GPC-Methoden wie beispielsweise die Kopplung mit Lichtstreu- oder/und Viskositätsdetektoren einzusetzen. Nur damit lassen sich der molekulare Aufbau eindeutig ermitteln und makromolekulare Strukturen umfassend beschreiben.



**Bild 2: Vergleich der Molmassenverteilungen von 4 Carrageenan-Mustern gemessen mit GPC und Mehrwinkel-Lichtstreuendetektor SLD 7000. Ein Produkt (violett) unterscheidet sich deutlich in seinen Eigenschaften und ist für die vorgesehene Anwendung ungeeignet.**

Bild 2 zeigt die Vergleichsergebnisse einer GPC-Untersuchung von 4 verschiedenen Carrageenan-Mustern mit dem Mehrwinkel-Lichtstreuendetektor SLD7000. 3 Proben zeigen im Rahmen der Messgenauigkeit gleiche Molmassenverteilungen und -mittelwerte. Ein Produkt (violette Kurve) zeigt ein signifikant anderes Eigenschaftsspektrum. Mit der



**Bild 3: Auftragung von Trägheitsradius (Rg) und Molmasse zur Aufklärung der molekularen Struktur der Carrageenan-Muster. Die Produkte-Eignung von Muster B und D ist im Vergleich zur Anwendungstechnik gezeigt.**

**Tabelle 3: Korrelation der Ergebnisse aus Anwendungstests mit unterschiedlichen GPC-Verfahren.**

Muster	Anwendung	konv. GPC	GPC-MALLS	GPC-MALLS-Viskosität
A	schlecht	gut	gut/schlecht*)	schlecht
B	gut	gut	gut	gut
C	schlecht	gut	schlecht	schlecht

\*) Nicht eindeutig zuordenbar

konventionellen GPC (Pullulan als Kalibrierstandards) war dieser Unterschied nicht detektierbar. Die anschließende anwendungstechnische Untersuchung lieferte weitere Informationen (siehe Tabelle 3).

Die GPC-MALLS-Technik ermöglicht zusätzlich auch eine Strukturaufklärung durch gleichzeitiges Messen von Molekülgrößen und -formen. Mit dieser Zusatzinformation aus der Mehrwinkel-Lichtstreuung können die GPC-Ergebnisse mit den Anwendungsergebnisse in Einklang gebracht werden (Bild 3). Bei Muster A ist das Ergebnis im Rahmen der Fehlergrenzen nicht ganz eindeutig. Daher wurde eine noch umfassendere GPC-Analytik eingesetzt. In diesem Fall wurden die GPC-Fractionen mit einer Kombination aus Mehrwinkel-Lichtstreuung und Online-Viskosimetrie untersucht. Mit diesem Verfahren wurde eine eindeutige Zuordnung zwischen makroskopischem Verhalten (Anwendungstests) und molekularem Aufbau (GPC-Tests) hergestellt (Tabelle 3).

## Moderne Lichtstreugeräte

Diverse Lichtstreugeräte sind seit ca. 20 Jahren in der GPC im Einsatz. Diese besitzen je nach Hersteller unterschiedliche Eigenschaften mit ausgeprägten Vor- und Nachteilen, welche je nach Einsatzzweck bedeutsam sein können.

Basierend auf praktischen Erfahrungen und langjährigen Kenntnissen wurde zusammen mit einem namhaften Hersteller ein neues Lichtstreugerät entwickelt.

Der neuartige Lichtstreuphotometer SLD 7000 zeichnet sich durch folgende Eigenschaften aus [3]:

- Hohe Flexibilität: Verwendung als Detektor oder statisches Lichtstreu-Instrument.
- Praxisrelevanz: Simultane Messung von 7 Winkeln im Bereich von 35...145°
- Zuverlässigkeit: Selbstentlüftende, zylindrische Messzelle mit Indexmatching, kleinem Totvolumen und hoher Druckstabilität (35 bar).
- Moderner optischer Aufbau: Lichtwellenleiter-Technik mit hoher Sensitivität, niedrigstem Rauschen und minimalem Streulicht.
- Modernste Elektronikkomponenten: Ultrasensitiven CCD-Detektor, USB Datenübertragung.
- Hohe Signalgüte: Kleines Zellvolumen (50 µl) verhindert Bandenverbreiterung und andere Artefakte.
- Exakte Ergebnisse: Extrem kleines Streuvolumen (20 nl) für höchste Präzision.
- Hohe Verlässlichkeit: Durch optimierte Flusswege und getrennte Optik/Elektronik.

- Einfachste Benutzung: Plug&Play-Betrieb, nahtlose WINGPC-Integration auch in Verbindung mit Mehranlagen oder weiteren Detektoren (zum Beispiel Viskositäts-Detektion).
- Kompakte Bauform: Optimiertes Gerätedesign unter Nutzung aktueller Miniaturisierungs-Technologie.

## Fazit

Die GPC-Lichtstreuungsdetektion führt zu einem deutlichen Informationsgewinn und zu verlässlicheren Informationen. Die Mehrwinkel-Lichtstreuungsdetektion ist generell am universellsten einsetzbar. Am günstigsten erscheint ein universell einsetzbares Gerät wie der PSS SLD 7000, das als MALLS-Gerät hohe Leistungsfähigkeit bei kompakten Ausmaßen und attraktivem Preis verbindet.

In Verbindung mit einer leistungsfähigen und flexibel ausbaubaren Softwarelösung wie der PSS WinGPC passt sich die Methode der GPC-Lichtstreuungskopplung nahtlos in die vorhandene Laborumgebung ein und sichert schnelle und fundierte Antworten auf die aktuellen Fragestellungen bei natürlichen, synthetischen und (Bio-)Polymeren.

## Literatur

- [1] S. Mori, H. G. Barth: Size Exclusion Chromatography; Springer, Berlin, 1999.
- [2] a) H.G. Barth, J. W. Mays: Modern Methods of Polymer Characterization; Wiley: New York, 1991.  
b) H. G. Barth, „Hyphenated Polymer Separation Techniques. Present and Future Role“. In: T. Provder, H. G. Barth, M. W. Urban (Eds.), Chromatographic Characterization of Polymers. Hyphenated and Multidimensional Techniques, Chapter 1, Adv. Chem. Ser. 247, American Chemical Society, Washington, DC, 1995.  
c) C. Jackson, H.G. Barth, In: C.S. Wu (Ed.) Molecular Weight Sensitive Detectors for Size Exclusion Chromatography, Chapter 4, Marcel Dekker, New York, 1995.
- [3] D. Held, Neue Möglichkeiten mit neuartigen Online-Mehrwinkel-Lichtstreuungsdetektoren, Proceedings Incom Symposium, Düsseldorf, 2003; online edition: [www.incom-symposium.de/InCom2003/Inhalt/send\\_Tagungsband\\_Lang?schluessel=20](http://www.incom-symposium.de/InCom2003/Inhalt/send_Tagungsband_Lang?schluessel=20).
- [4] P. Kilz, LaborPraxis, 27 (Heft 5), 56 (2003).
- [5] a) T. Hofe, H. Königsmann, Lichtstreuung an Polymeren, ohne Kenntnis von  $dn/dc$  ein Lotteriespiel?, GIT Fachz. Lab., 47, Heft 4 (2003) (im Druck)  
b) P. Kratochvil, In: A.D. Jenkins (Ed.) Classical Light Scattering from Polymer Solutions, Polym. Sci. Libr. 5, Elsevier, Amsterdam, 1987

### Mehrwinkel-Lichtstreuungsdetektor SLD 7000

PSS, Mainz, Tel. 06131/96239-0, Fax /96239-11

● Kennziffer 45

