

## Kalibration ohne engverteilte Standards

DR. GÜNTER REINHOLD, PSS

### Problemstellung

Speziell für wasserlösliche hochmolekulare Proben stehen oft keine Standards zur Verfügung, mit denen bis zu Molmassen von 10-20 000 000 g/mol kalibriert werden können.

### Frage

Welche alternativen Methoden sind anzuwenden?

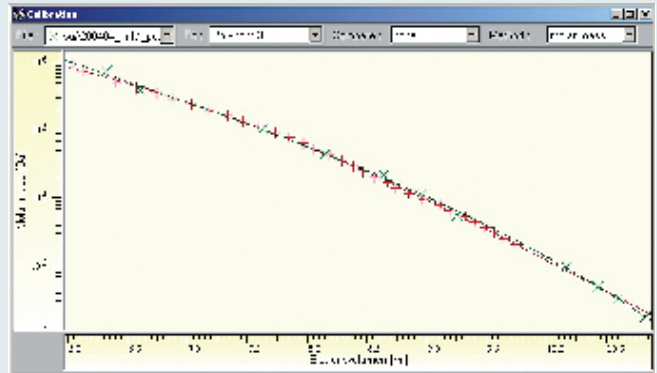
### Antwort

In vorausgegangenen Tipps & Tricks wurden bereits auf die Kalibration mit eng bzw. breit verteilten Standards eingegangen, ebenso wurde die Möglichkeit der universellen Kalibration beschrieben. Für organische Lösungsmittel, in denen Polystyrol gelöst werden kann, stehen für diese Methoden Standards mit hohen Molmassen von 20 000 000 g/mol zur Verfügung. Für die Ausschlusschromatographie im wässrigen Eluent stehen aber meist nur Standards mit Molmassen bis zu 1 oder 2 000 000 g/mol zur Verfügung. Sollen hochmolekulare Homopolymere untersucht werden ist die Online-Lichtstreuung eine gute Alternative. Für Copolymere und modifizierte Polymere (z.B. durch polymeranaloge Umsetzungen), die wegen des statistischen Einbaus der Reaktanten als Copolymere betrachtet werden müssen (z.B. Carboxymethylcellulose, Chitosane oder Nitrocellulose), ist hingegen als Alternative zur konventionellen Kalibration oft nur die online Viskosimetrie sinnvoll.

Allerdings benötigt man auch hier entsprechende eng verteilte Standards über den kompletten Elutionsbereich der eigenen Proben.

Eine der wenigen Möglichkeiten eine passende Kalibrationskurve zu erzeugen, die bis 10 000 000 oder 20 000 000 g/mol gültig ist, wird als integrale Kalibration bezeichnet. Dazu ist eine Probe mit einer hohen Polydispersität erforderlich, von der die integrale Verteilung bekannt ist, also die Massenanteile in Prozent bis zu einer bestimmten Molmasse. Diese Tabelle (z.B. 10%-15 000 Da, 20%-45 000 Da, 80%-1 500 000 Da und 90%-10 000 000 Da) ist die Grundlage für die Durchführung der integralen Kalibration.

Die Messung dieser gut charakterisierten Probe genügt, um aus der auf dem eigenen System gemessenen integralen Verteilung und der oben beschriebenen Tabelle eine komplette Kalibrationskurve zu erstellen. Dabei ist ohne Bedeutung, ob eine mehr lineare oder mehr sigmoidale Kalibrationskurve vorliegt. Diese elegante Methode wird allerdings nur selten ver-



Vergleich einer konventionellen und integralen Pullulan-Kalibration.

wendet, da nicht sehr viele breite Standards existieren, die so umfassend charakterisiert sind. Wenn Homopolymere für diese Kalibrationsart verwendet werden sollen, ist die Lichtstreuung eine geeignete Methode die benötigte integrale Verteilung zu bestimmen und so anschließend auch ohne Lichtstreudektektor auf jedem System absolute Molmassen bestimmen zu können. Wie aus der Abbildung zu erkennen ist, kann im niedermolekularen Bereich die Kalibrationskurve durch eng verteilte Standards ergänzt werden.

Für Copolymere ist die integrale Kalibration dann eine hervorragende Alternative, wenn eine breite Probe zur Verfügung steht, die (eventuell auch von einem externen Labor) gut charakterisiert wird. Dabei sollte die Probe allerdings langzeitstabil sein, damit mithilfe dieser Probe (eventuell sogar absolute) Molmassen nur mit einem einfachen Konzentrationsdetektor über einen langen Zeitraum genau bestimmt werden können.

### Fazit

- Besonders schwierig ist die Molmassenbestimmung (und Messung) von sehr hochmolekularen Homo- und Copolymeren.
- Für Homopolymere ist die Online-Lichtstreuung eine gute Alternative.
- Für Copolymere kann eine integrale Kalibration verwendet werden, die allerdings ein hochmolekulares, breit verteiltes und gut charakterisiertes Polymer erfordert.

+49 (0) 61 31 / 9 62 39 - 90

In der nächsten Ausgabe geht es um den Vergleich von Lichtstreuungsmethoden.

laborpraxis.de

InfoClick  
288519