

GPC Tipps & Tricks, Folge 69

Die Bedeutung der Bodenzahl in der GPC/SEC

THORSTEN HOFE, PSS

PROBLEMSTELLUNG

Die GPC/SEC-Anlage ist ein Multikomponentensystem. Es beinhaltet Anlage (Pumpe, Autosampler, Detektoren), Trennsäule, Lösungsmittel, Referenzstandards und die zu untersuchenden Proben.

FRAGE

Wie kann man auf schnelle und einfache Weise feststellen, ob die GPC/SEC-Anlage prinzipiell einsatzfähig ist?

ANTWORT

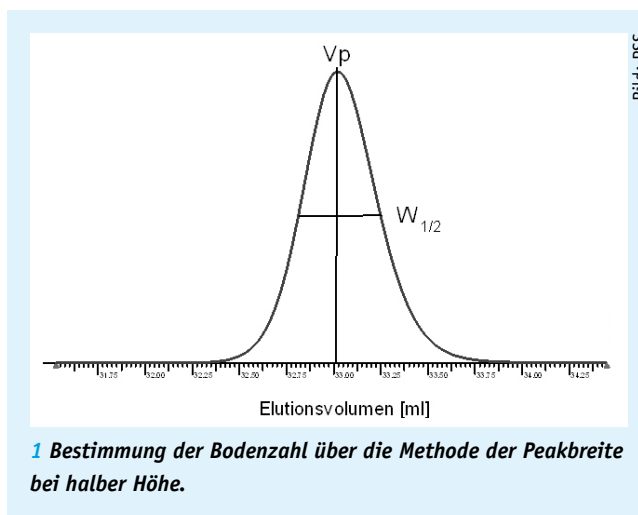
Nur wenn die GPC/SEC-Anlage perfekt funktioniert und alle Komponenten eine akzeptable Performance aufweisen, kann den erhaltenen Messergebnissen auch Vertrauen geschenkt werden. Ein einfacher und in vielen Fällen auch ausreichender Test, ist die Bestimmung der Bodenzahl der GPC/SEC-Säule.

Die Bodenzahl (plate count) stellt ein qualitatives und auch quantitatives Maß für die Performance der benutzten GPC/SEC-Säule dar. Je besser die Säule gepackt und je kleiner das Zwischenkornvolumen, desto gleichförmiger ist das Injektionsband einer niedermolekularen monodispersen Probe. Dies ist gleichbedeutend mit einem engen symmetrischen gaußförmigen Peak. Setzt man diesen engen Peak ins Verhältnis zur Peakbreite unter Berücksichtigung der Retentionszeit, so lässt sich die Bodenzahl N sozusagen als Maß für die Effizienz der GPC/SEC-Säule bestimmen. Genauer als die gesamte Peakbreite W , lässt sich jedoch die Halbwertsbreite $W_{1/2}$ eines Peaks (Peakbreite bei halber Höhe) bestimmen. Hierzu nimmt man an, dass die Varianz s aus der Halbwertsbreite $W_{1/2}$ abgeschätzt werden kann. Wird die Bodenzahl auch noch auf die Länge der Säule in cm normiert und berücksichtigt, dass in der GPC/SEC die Retentionszeit t_r durch das Elutionsvolumen V_p ersetzt wird, so ergibt sich für die Bodenzahl $[1/m]$ (s. Abb. 1):

$$N = \left(\frac{v_p}{\sigma} \right) = \frac{554}{L(\text{cm})} \left(\frac{v_p}{w_{1/2}} \right)$$

Die Hersteller sollten mit jeder Säule auch die Bodenzahl sowie die Messbedingungen zur Bodenzahlbestimmung angeben. Die Bodenzahl N ist zwar eine quantifizierbare und experimentell einfache Kontrollgröße aber keine absolute Angabe. Die Bestimmung der Größe hängt sehr von den gegebenen Messbedingungen wie Partikelgröße, Injektvolumen, Konzentration, Flussrate, Säulendimension, Lösungsmittel aber auch von den Detektoren, den Kapillarverbindungen und der Pumpenperformance ab.

Um die Bodenzahlwerte zwischen Hersteller und Kunde zu vergleichen, sollte man sich an den Herstellerspezifikationen und Messbedingungen orientieren. Nur unter vergleichbaren Messbedingungen, können auch vergleichbare Messwerte mit einer Toleranz von $\pm 20\%$ zu den Herstellerangaben gefunden werden. Ist dies nicht der Fall, ist entweder die Säule beschädigt oder die GPC/SEC-Anlage selbst hat eine Fehlfunktion.



1 Bestimmung der Bodenzahl über die Methode der Peakbreite bei halber Höhe.

Bezüglich der GPC/SEC-Anlage kann der Pumpenfluss, die Länge der Kapillarverbindungen von der Pumpe zur Säule oder der Säule zum Detektor (zusätzliches Totvolumen) oder der Detektor selbst (Zellvolumen) für die Peakverbreiterung und somit kleinere Bodenzahlen verantwortlich sein. Die Kontrolle der Bodenzahl kann deswegen auch zur Kontrolle der gesamten Anlage inklusive der Säulenperformance genutzt werden. Nimmt die Säulenperformance langsam ab, so spiegelt sich dies in der Abnahme der Bodenzahl wieder. Ist die Bodenzahl auf unter 50% des ursprünglichen Wertes abgesunken, so sollte die Säule ersetzt werden. Sinkt die Bodenzahl hingegen plötzlich auf unter 50% der Performance, so ist dies ein deutlicher Hinweis darauf, dass entweder eine oder mehrere Säulen defekt sind bzw. eine der Komponenten der GPC/SEC-Anlage ein Problem aufweist.

Die Bodenzahl sagt jedoch nichts über die Auflösung der Säule und somit die Trennleistung in einem bestimmten Molmassenbereich aus, sondern erlaubt nur die Aussage dass GPC/SEC-Anlage und Säule prinzipiell den Spezifikationen genügen.

FAZIT

- Die Bodenzahl ist ein Maß für die Performance (Packungsgüte) von GPC/SEC-Säulen.
- Die Bodenzahl ist ein relativer und kein absoluter Wert und hängt von vielen Messparametern ab.
- Sinkt die Bodenzahl auf unter 50% des Ausgangswerts, sollte(n) die GPC/SEC-Säule(n) getauscht werden.
- Sinkt die Bodenzahl plötzlich dramatisch ab, so muss die GPC/SEC-Anlage und die GPC/SEC-Säule überprüft werden.

Alle bisher erschienenen Tipps & Tricks finden Sie online unter www.laborpraxis.de/tippsandtricks. In der nächsten Ausgabe geht es um das Erkennen der Absorption bei der GPC/SEC-Messung.