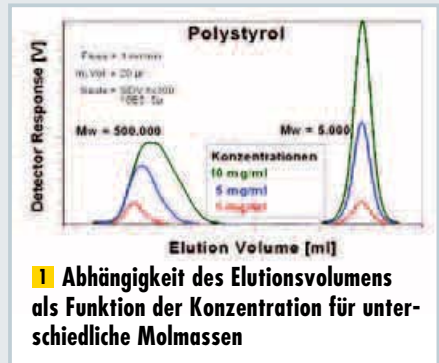


Diese Ausgabe der GPC Tipps & Tricks beschäftigt sich mit der richtigen Probenkonzentration in der GPC. Die nächsten Folgen befassen sich mit der Wiederfindungsrate, der Detektor-Sensibilität und der Probenvorbereitung. Autor: Dr. Thorsten Hofe, PSS Polymer Standards Service

? Wie finde ich meine richtige Probenkonzentration für die GPC? Was sind die Konsequenzen einer "falsch" gewählten Konzentration?

i Übliche Konzentrationen in der GPC für breitverteilte Proben liegen im Bereich von 0,1–10 g/l bei Injektionsvolumina von 2 bis >100 µl. In der Praxis haben sich 2–3 g/l bewährt. Grundsätzlich muß unterschieden werden, ob hoch- oder niedermolekulare Proben vermessen werden. I.a. führen große Molmassen zu höheren Viskositäten in Lösung. Ein hochviskoser Lösungsmittelpfropf (zu große Probenmenge) führt zu einer deutlich verzögerten Retentionszeit und somit zu scheinbar kleineren Molmassen. Bei kleinen Molmassen ist das Konzentrations-/Viskositätsproblem weniger ausgeprägt. Hohe Konzentrationen verbessern zwar das S/N-Verhältnis, eine exakte Molmassenbestimmung gelingt jedoch nicht unbedingt. Ein großes Signal ist nicht immer ein gutes Signal (Abb.)! Wie geht man nun in der Praxis vor, um die Analyse im optimalen Konzentrationsbereich durchzuführen? Neben der Peaklage (Retentionsvolumen) wird auch die Peakform von der Einwaagekonzentration beeinflusst. Die Probenkonzentration sollte solange herabgesetzt werden, bis Peaklage und -form konstant sind und sich nur noch die Peakfläche als Funktion der Konzentration ändert (Abb.). Wird das Detektorsignal zu klein, kann alternativ das Injektionsvolumen vergrößert werden. So wird sichergestellt dass das S/N-Verhältnis groß genug ist (DIN

55672-1). Im Extremfall (bei sehr hohen Molmassen) können so, bei einer Probenkonzentration von 0,1 g/l bis zu 250 µl injiziert werden. Bei kleinen Molekülen können problemlos höhere Konzentrationen verwendet werden (bis zu 10 g/l). Hier spielt der Viskositätseffekt keine wesentliche Rolle.



1 Abhängigkeit des Elutionsvolumens als Funktion der Konzentration für unterschiedliche Molmassen

! Fazit: In der Praxis bewährt haben sich folgende Ansätze, welche (fast) immer zu brauchbaren Resultaten führten:

- bei großen Molekülen sollte die Konzentration verkleinert und das Injektionsvolumen vergrößert werden
- bei kleinen Molekülen kann mit hohen Konzentrationen und kleinen Injektvolumina gearbeitet werden
- bei hohen Viskositäten sollte eine großporige Säule vorgeschaltet werden, um die Viskosität herab zusetzen.

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

InfoClick

130544

Besuchen Sie unsere Website:
www.brand.de

Life Science Katalog

Qualität als erste Priorität -
für zuverlässige und
reproduzierbare Ergebnisse

Immer empfindlichere Nachweismethoden verlangen nach immer hochwertigeren Einmalartikeln. BRAND Life Science Produkte für die Bereiche PCR*, Lagerung, HTS/UHTS und Analyse werden unter modernsten Bedingungen hergestellt und unterliegen vor ihrer endgültigen Auslieferung intensivsten Prüfungen.

Fordern sie den brandneuen Life Science Katalog mit Abbildungen, Spezifikationen und Applikationshinweisen für diesen erweiterten Produktbereich an.



- PCR
- Proben-Lagerung
- HTS/UHTS
- Analyse



*Die Polymerase Kettenreaktion (PCR) ist patentrechtlich geschützt für Hoffmann-La Roche.