



## 20 Jahre innovative Analytik



Seit der Gründung vor 20 Jahren ist PSS bestrebt die Polymercharakterisierung zu optimieren und neue Möglichkeiten dafür zu erarbeiten. Konsequenterweise nimmt PSS an allen weltweit wichtigen Tagungen und Konferenzen teil. Zum 20 jährigen Firmenjubiläum veranstaltet PSS am 18.9.2005 in Bayreuth ein Kolloquium mit bedeutenden Referenten zu interessanten Themen:

- **Mehrdimensionale Polymeranalytik: Schlüsseltechnologie für die moderne Materialforschung**
- **Der 2-dimensionale Blick in komplexe Polymerwelten**
- **Schritte über Grenzen**
- **Nanostructured Materials via Atom Transfer Radical Polymerisation**

In diesem Ticker werden die neuesten Entwicklungen für die Polymeranalytik aus dem Hause PSS vorgestellt. So wurde z. B. für Proteine ein Säulenmaterial entwickelt, das diese hochauflösend bis zu hohen Molmassen trennt. Die zweidimensionale Chromatographie hat mittlerweile bei der Copolymer-Analytik große Bedeutung erlangt. Dazu beigetragen hat die neue Generation der 2D-Software, die jetzt auch den Einsatz in der Routineanalytik ermöglicht. Mit den neu entwickelten dn/dc-Geräten wird die Molmassenbestimmung mit der GPC-Lichtstreuung nicht mehr zum Lotteriespiel!

Unsere ständige Rubrik beantwortet diesmal die Frage: Ist Ihre GPC-Messung wirklich wechselwirkungsfrei?

## PROTEEMA Säulen

### Protein-Separation mit PROTEEMA Säulen, eine neue Dimension in der Proteinanalytik

Proteine sind faszinierende und komplex aufgebaute Makromoleküle. Sie stellen auch aus chromatographischer Sicht eine große Herausforderung dar. Proteine sind aus unterschiedlichen Aminosäuren (Monomeren) aufgebaut und bilden verschiedene Überstrukturen aus (Primär und Sekundärstrukturen). Ihr Eigenschaftsprofil ist eine Funktion der Zusammensetzung und der entsprechenden Überstruktur.

Die Untersuchungen der Variation der Proteindimension (Faltung des Proteins), also z. B. die Helix-Knäuel-Umwandlungen als Funktion der Temperatur oder des pH-Wertes, ist ebenso von Interesse wie z. B. die Frage, ob und wie die Proteine als Monomere, Dimere, Trimere oder höher assoziierte Produkte vorliegen. Forschung, Entwicklung und Qualitätskontrolle in den Bereichen Pharma, Feed, Food, Kosmetik und Biotechnologie beschäftigen sich ausführlich mit diesen Fragestellungen.

Nicht zuletzt die Fraktionierung unterschiedlich großer Proteine oder deren Aufreinigung (Abtrennung von Peptiden und Enzymen oder Proteinfragmenten)

» Lesen Sie weiter auf Seite 2

## Die Top-Themen:

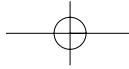
- 1 **Im Blickpunkt: 20 Jahre innovative Analytik**
- 2 **Protein-Separation mit PROTEEMA Säulen**
- 3 **Refraktometer zur dn/dc-Bestimmung**
- 4 **2D Chromatographie: Deformulierung komplexer Verbindungen auf Knopfdruck**
- 5 **PSS Kompetenz-Fax**
- 6 **GPC-Tipps und Tricks**

## Aktuell:

**Gewinnspiel:**  
**Attraktive Preise**

**Einsendeschluss:**  
**30.09.2005**

**Anmeldung:**  
**[www.polymer.de](http://www.polymer.de)**



## PROTEEMA-Säulen

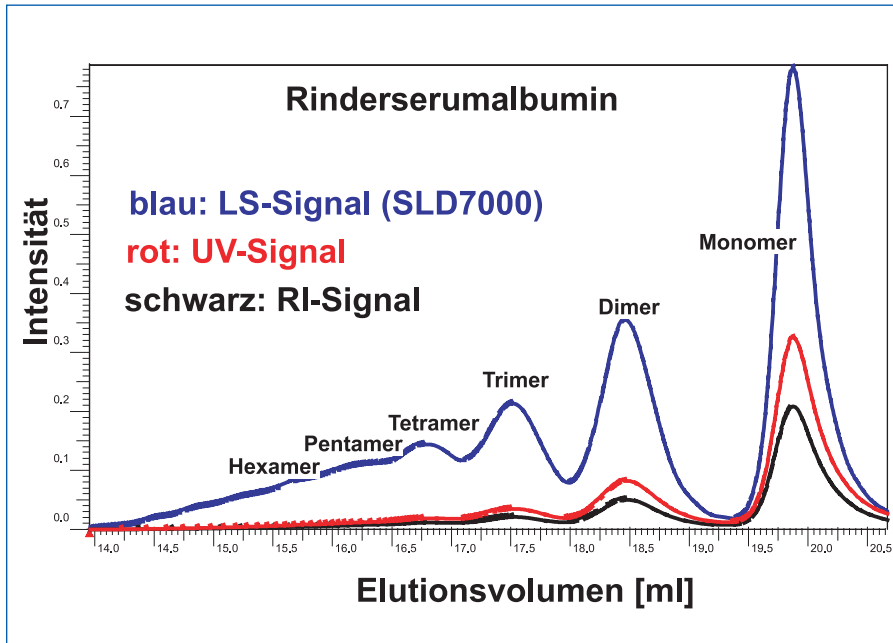


Abb. 1: Die Applikation zeigt die Zerlegung eines BSA-Proteins in seine assoziativen Bestandteile mit Hilfe von zwei PROTEEMA 300Å 8x300mm Säulen bei Raumtemperatur und einer Flussrate von 0,5 ml/min. Dank der PROTEEMA Säulen und der entsprechenden Detektion mit dem SLD7000 MALLS Detektor gelingt es, die Assoziation des BSA-Proteins bis zum Heptamer aufzuzeigen. Die Konzentrationsdetektoren alleine können Assoziante nur bis zum Trimer auflösen.

### Anwendungsgebiet

|                |  |
|----------------|--|
| PROTEEMA 100Å  | Peptidanalytik, Fraktionierung bzw. Separation kleiner Proteinmoleküle   |
| PROTEEMA 300Å  | Fraktionierung bzw. Separation mittelgroßer Proteine und entsprechender Assoziante   |
| PROTEEMA 1000Å | Fraktionierung bzw. Separation und Untersuchung von natürlichen, breitverteilten hochmolekularen Proteinen wie z.B. Gelatine (durch sauren oder alkalischen Abbau aus Kollagen gewonnen) und entsprechender Assoziante |

Tabelle 1: Anwendungsgebiete der PROTEEMA-Säulen

### » Fortsetzung von Seite 1

ist für die Forschung und Qualitätskontrolle von großem Interesse. Hieraus entstand für PSS die spannende Frage, ob nicht auch die GPC bzw. die GPC in Verbindung mit molmassensensitiven Detektoren eine substantielle und aussagekräftige analytische Methode darstellen kann.

PSS hat sich dieser Herausforderung gestellt und ein Proteinseparations-Paket, bestehend aus einer speziellen GPC Säule und einem MALLS Detektor entwickelt.

### Schwerpunkte:

- Minimale Wechselwirkungseigenschaften
- Optimierte Partikelgröße
- Sehr selektive Porengrößenverteilung
- Hochempfindlicher MALLS Detektor zur Molmassen- und Dimensionsbestimmung

Mit der PROTEEMA Säule ist das eindrucksvoll gelungen. Bei einer Partikelgröße von 5 µm werden diese Säulen je nach Anwendung mit einer Porenweite von 100Å, 300Å und 1000Å angeboten (siehe Tabelle 1).

Die stationäre Phase basiert auf einem OH-funktionalisierten Silica-Material und ist stabil für alle wässrigen Medien mit pH<7. Die enge Porengrößen- und Partikelgrößenverteilung ermöglicht eine sehr hohe Bodenzahl und eine außergewöhnliche Auflösung.

### Ihr Ansprechpartner:

Dr. Thorsten Hofe  
Tel.: 06131-96239-60  
E-Mail: THofe@polymer.de



## PSS-Intern

### Jubiläums-Kolloquium

Am 18.9.2005 richtet PSS zu seinem 20jährigen Firmenjubiläum ein Festkolloquium in Bayreuth aus.

#### Programm:

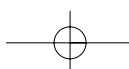
- 14.00 Uhr Begrüßung  
Prof. Dr. Axel Müller, Universität Bayreuth
- 14.05 Uhr 20 Jahre PSS - die Geschichte der GPC  
Peter Kilz, Geschäftsführer PSS
- 14.20 Uhr Mehrdimensionale Polymeranalytik - Schlüsseltechnologie für die moderne Materialforschung  
Prof. Dr. Harald Pasch, DKI, Darmstadt
- 14.50 Uhr Von der Universitätsforschung bis zum Markt: Styrolux und Styroflex  
Dr. Konrad Knoll, BASF, Ludwigshafen
- 15.20 Uhr Schritte über Grenzen  
Prof. Dr. Ringsdorf, Universität Mainz
- 17.00 Uhr Gemeinsame Eröffnung Bayreuther Polymer Symposiums 2005  
Plenarvortrag: Nanostructured Materials via Atom Transfer Radical Polymerisation  
Prof. Matyjaszewski; CMU, Pittsburgh

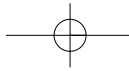
Alle interessierten Besucher sind zu diesem Jubiläumskolloquium herzlich eingeladen. Die Teilnahme ist kostenlos. Für das BPS Kolloquium ist eine separate Anmeldung bei der Universität Bayreuth ([www.bps-bayreuth.de](http://www.bps-bayreuth.de)) erforderlich.

### DIN EN ISO 9001:2000



PSS hatte im Frühjahr 2005 das Wiederholungsaudit für die Zertifizierung nach DIN EN ISO 9001:2000 mit Auszeichnung bestanden.





## dn/dc-Bestimmung

### Neu-Entwicklung: Refraktometer zur dn/dc-Bestimmung

Wenn makromolekulare Kenngrößen mit Lichtstreuendetektoren, wie z. B. dem SLD7000 (PSS) oder auch dem DAWN/Mini-DAWN (Wyatt) bestimmt werden, ist die exakte Kenntnis des spezifischen Brechungsindexinkrements dn/dc notwendig. Das spezifische Brechungsindexinkrement ist keine universelle Konstante, sondern abhängig von der Probe, der Wellenlänge, der Temperatur und dem verwendeten Lösungsmittel (siehe Abb. 1).

Der Einfluss des dn/dc Wertes auf die Güte der Analysergebnisse wird besonders deutlich, wenn man die zugehörige nachfolgende Gleichung betrachtet.

$$LS = (dn/dc)^2 \cdot M \cdot c$$

Die Gleichung zeigt, dass dn/dc quadratisch in die Berechnung des Lichtstreusignals eingeht.

Zur Bestimmung der dn/dc stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung:

#### Messprinzip 1:

Interferometrische Differentialrefraktometer wie der PSS ScanRef oder der Wyatt Optilab: Extrem genaue und empfindliche Methode; durch die Scanning-Technologie des ScanRef konnte der zugängliche Probenkonzentrationsbereich deutlich erhöht werden.

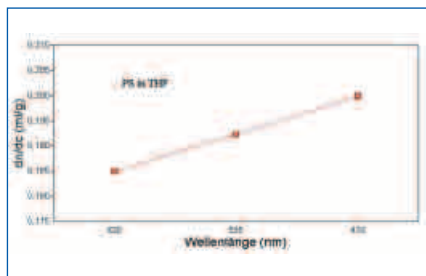


Abb. 1: Typische Darstellung der Abhängigkeit des dn/dc Wertes von der Wellenlänge

#### Messprinzip 2:

Ablenkreftometer wie der PSS DnDc2010 (siehe Abb. 2) oder der Wyatt ReX: Robuste und schnelle Methode; durch die intelligente Zellkonstruktion ist der DnDc2010 auch für sehr kleine Probenmengen geeignet.

Die Praxisnähe und Robustheit der DnDc Gerätelinie wird deutlich, wenn man sich deren Besonderheiten betrachtet:

- Die Detektoren sind erhältlich mit allen in der Lichtstreuung eingesetzten Wellenlängen (rot, blau, grün).
- Sie sind für alle Lösungsmittel geeignet.
- Sie sind einsetzbar im offline Betrieb oder im online-Betrieb mit einer GPC-Anlage.
- Die exakte interne Temperierung erlaubt sehr kurze Messzeiten bei maximaler Präzision: offline dn/dc Messungen können mit 8 Konzentrationen in 10 Minuten durchgeführt werden.
- Im offline-Betrieb sind weniger als 300 µl Probenvolumen erforderlich. Dies sind über 40% weniger als bei vergleichbaren Geräten.
- Das intelligente Design macht das Gerät sehr preisgünstig.



Abb. 2:  
Neuer Refraktometer zur dn/dc-Bestimmung

Für einen begrenzten Zeitraum stehen Testgeräte kostenlos zur Verfügung. Stimmen Sie Ihren Testtermin mit uns ab und testen Sie in aller Ruhe in Ihrem Labor.

#### Ihr Ansprechpartner:

Bernd Meier  
Tel: 06131-96239-31  
E-Mail: BMeier@polymer.de



## PSS-Termine

### Kurse

17.-18.10.2005 GPC-Basiskurs in Golm

Theorie und Praxis (in kleinen Gruppen)

Schwerpunkte:

- GPC-Theorie
- Umgang mit Proben, Geräten und Detektoren
- Kalibration der GPC-Anlage
- Datenanalyse
- Trouble shooting

19.10.2005 Kurs: GPC-Lichtstreu- und -Viskositätskopplung in Golm

Theorie und Praxis (in kleinen Gruppen)

Schwerpunkte:

- Theoretische Grundlagen
- Bestimmung der Systemparameter
- Gerätevalidierung
- Datenanalyse und -bewertung
- Trouble shooting

20.10.2005 Seminar: WinGPC Unity Software für alle Ein- und Mehrwinkel-Lichtstreu-Detektoren in Golm  
Aufzeigen von Synergien der Lichtstreuung mit anderen GPC-Analysenmethoden

Schwerpunkte:

- Das MCDS WinGPC Unity
- Probenverwaltung in der internen Datenbank
- Unterstützte Methoden und Detektoren
- Bestimmung der Systemparameter
- OQ und System Suitability Tests

24.10.-26.10.2005 GPC-Intensivkurs in Mainz

27.03.-29.03.2006 Theorie und Praxis (in kleinen Gruppen)

09.10.-11.10.2006

Schwerpunkte:

- GPC-Theorie
- Umgang mit Geräten und Detektoren
- Erweiterte Kalibrierverfahren
- Datenanalyse und -bewertung
- Methodenentwicklung und -optimierung
- Copolymeranalytik
- Trouble shooting

27.10.2005 WinGPC-Anwendertreffen in Mainz

### Messen und Tagungen

18.09.2005

Jubiläums-Kolloquium von PSS in Bayreuth

18.09.-20.09.2005

Bayreuth Polymer Symposium 2005/Bayreuth

22.09.-23.09.2005

Darmstädter Kunststoff-Kolloquium/  
Compoundentwicklung

29.09.-30.09.2005

Fraunhofer & PTS-Seminar/Polymere Additive in der  
Herstellung, Verarbeitung und Anwendung von funktiona-

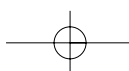
len Papieren

23.02.-25.02.2006

Makromolekulares Kolloquium/Freiburg

25.04.-28.04.2006

Analytica/München



## 2D-Chromatographie

### Deformulierung komplexer Verbindungen auf Knopfdruck

Die zweidimensionale (2D) Chromatographie hat durch wachsende Anforderungen an die Strukturaufklärung in der modernen Werkstoff- und Wirkstoffanalytik an Bedeutung gewonnen. Dort, wo Makromoleküle z. B. sowohl hinsichtlich ihrer chemischen Zusammensetzung als auch ihrer Molmasse heterogen aufgebaut sind, können durch die Kopplung zweier chromatographischer Methoden (HPLC und GPC) wesentlich mehr Informationen über die einzelnen Komponenten erhalten werden, als durch die Summe der Einzelmethoden.

Die zweidimensionale Kopplung nutzt die vorhandenen Methoden der einzelnen Trennverfahren aus. Die Kopplung selbst erfolgt durch automatisiertes online-Fraktionieren des Eluates aus der ersten chromatographischen Methode und den Transfer (Injektion) in die zweite Dimension. Abhängig von den Randbedin-

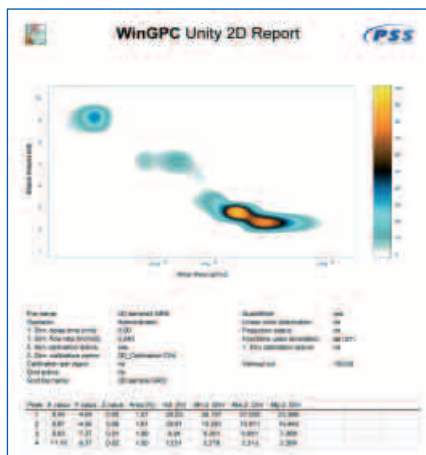


Abb. 1: Beispielreport für eine 2D-Analyse

gungen dauerten die Messungen der ersten online 2D-Analysen Anfang der 90er Jahre viele Stunden oder sogar Tage. Obwohl zu dieser Zeit entsprechende Analysen nur in wenigen Laboratorien durchgeführt werden konnten, bot PSS bereits eine 2D-Software an, die in der Lage war, aus den gesammelten Daten zweidimensionale Konturplots zu erstellen. Die Schaltvorgänge des Transferventils, welches für die Überführung der Fraktionen aus der ersten in die zweite Dimension benötigt wird, konnten durch Programmierung der Relais aus der WinGPC heraus gesteuert werden. Die technischen Entwicklungen der letzten Jahre ermöglichen nun durch den Einsatz spezieller HighSpeed Säulen und geeigneter Detektoren, eine 2D-Analyse in ein bis zwei Stunden durchzuführen. Dadurch wird diese Methode auch für zunehmend mehr Laboratorien interessant.

In enger Abstimmung mit Anwendern hat PSS in der neuen WinGPC Unity auch das neu entwickelte 2D-Modul bereitgestellt, welches nun nahtlos integriert ist. Dieses Modul erleichtert die Durchführung von 2D-Analysen und bietet neben der einfachen Bedienung deutlich erweiterte Funktionalität.

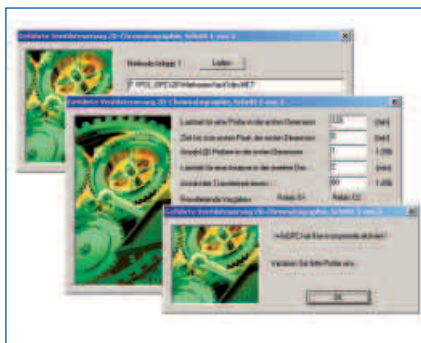


Abb. 2:

Automatisierte Schritt-für-Schritt Ventilsteuerung

Einige Vorteile des neuen PSS WinGPC Unity 2D Moduls sind im Folgenden aufgeführt:

- Komfortables Auswerten und Erstellen von Konturplots in der WinGPC „auf Knopfdruck“
- Verschiedene Darstellungsoptionen (zweidimensionale Konturplots und Höhenliniendarstellungen oder dreidimensionale Grafik mit frei wählbarem Beobachtungspunkt)
- Kalibration beider Dimensionen, auch injektabhängig
- Einfache Definition der auszuwertenden Komponenten: MWD-, Flächen- und Volumeninformationen
- Überlagerung von Konturplots, um Unterschiede verschiedener Proben „auf einen Blick“ zu verdeutlichen
- Komfortable und individuelle Reporterstellung mit dem WinGPC Report Designer (siehe Abb. 1)
- Automatisierte 2D-Ventilsteuerung: Nach Eintragen der Randbedingungen für die Trennung wird das Transferventil automatisch initialisiert und programmiert (siehe Abb. 2)
- Erweiterung von ursprünglich 100 auf bis zu 256 Transfer-Injektionen

#### Ihr Ansprechpartner:

Dr. Martina Adler  
 Teil.: 06131-96239-42  
 E-Mail: MAdler@polymer.de



## Neuheiten

### Investitionen schützen und Produktivität erhöhen

Unter diesem Titel bietet PSS seit einigen Monaten professionelle Dienstleistungen an, die bei unseren Kunden in Industrie und Forschung mit dazu beitragen, die Leistungsfähigkeit zu steigern und Kosten senken. Für die Bereiche Forschung und Entwicklung sowie in der Routineanalytik bedeutet dies unter anderem, getätigte Investitionen schnell zu integrieren um dauerhaft zuverlässige Ergebnisse zu liefern. Wie bei PSS üblich stehen individuelle Lösungen im Vordergrund. Besonders im Fokus sind:

- **Bevorzugter Software Support - direkt und schnell**  
 Uneingeschränkte Unterstützung über Telefon, Fax, E-mail, Brief und Internet durch erfahrene Polymerchemiker stellt sicher, dass sich Investitionen vom ersten Tag an schneller auszahlen.

- **GPC Systemwartung - Wartung mit System**  
 Inspektionen und Prüfung der Systemleistung nach festgelegten Checklisten und Prüfzertifikate nach ISO 9001 bringen den Nachweis, dass das System ordnungsgemäß arbeitet.



Das GPC Support Center von PSS ermöglicht den direkten Kontakt zu den Softwareentwicklern und schnelle One-source Lösungen für die komplette GPC Analytik. Zeitnahe, kostengünstige Lösungen von erfahrenen Polymerchemikern tragen zur Systemoptimierung bei und führen dadurch häufig schneller zu Ergebnissen.

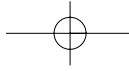
### Impressum

#### Herausgeber:

PSS Polymer Standards Service GmbH  
 Postfach 3368 • D-55023 Mainz  
 Tel.: 06131-96239-0  
 Fax: 06131-96239-11  
 E-Mail: info@polymer.de  
 Web: www.polymer.de

#### Layout und Druck:

odd gmbh grafische betriebe • www.odd.de



## Kompetenz-Fax: Nr.: 0 61 31-9 62 39-11

### Ihre Anschrift

Name:

Firma:

Abteilung:

Straße:

Ort:

Tel.:

Fax:

E-Mail:

### Ich möchte Informationen über

- Lichtstreu-Detektor
- dn/dc Detektor
- Viskosimeter
- RI-Detektor
- UV-Detektor
- GPC-Peripherie (Pumpen, Degaser, Säulenform etc.)
- LC-Spektroskopie-Kopplungstechniken
- WinGPC Unity Software
- Porengrößenanalyse
- GPC-Säulen organisch
- GPC-Säulen wässrig
- GPC-Standards/CRM
- Partikelstandards
- Auftragsanalytik
- Schulungen
- Meine Applikation (Polymere, Lösungsmittel etc.)

Bitte gewünschtes Informationsmaterial ankreuzen.

### Damit...

... wir unsere Datenbank auf den neuesten Stand bringen können, bitten wir Sie um folgende Angaben:

#### Arbeitsgebiet

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Analytik u. Cons.           | <input type="checkbox"/> Textil & Leder                     |
| <input type="checkbox"/> Automobil                   | <input type="checkbox"/> Umwelt/Recycling                   |
| <input type="checkbox"/> Bauchemie                   | <input type="checkbox"/> Waschm./Tenside                    |
| <input type="checkbox"/> Bildverarb./Druck           | <input type="checkbox"/> Wehrtechnik/<br>Luft- u. Raumfahrt |
| <input type="checkbox"/> Biotechnologie              |   |
| <input type="checkbox"/> Elastomere/<br>Kautschuk    | <b>Arbeitsstätte</b>  |
| <input type="checkbox"/> Klebstoffe                  | <input type="checkbox"/> Industrie                          |
| <input type="checkbox"/> Elektrik/Elektronik         | <input type="checkbox"/> Institut                           |
| <input type="checkbox"/> Fasern                      | <input type="checkbox"/> Universität                        |
| <input type="checkbox"/> Feed & Food                 | <b>Im Bereich</b>   |
| <input type="checkbox"/> Fein- u. Spezial-<br>chemie | <input type="checkbox"/> Analytiklabor                      |
| <input type="checkbox"/> Forensik                    | <input type="checkbox"/> F&E                                |
| <input type="checkbox"/> Glas/Keramik                | <input type="checkbox"/> QC                                 |
| <input type="checkbox"/> Kosmetik                    | <input type="checkbox"/> Einkauf                            |
| <input type="checkbox"/> Kunststoff Herst.           | <b>Ihre Tätigkeit</b>                                       |
| <input type="checkbox"/> Kunststoff Verarb.          | <input type="checkbox"/> Laborleiter                        |
| <input type="checkbox"/> Lacke & Farben              | <input type="checkbox"/> Abteilungsleiter                   |
| <input type="checkbox"/> Medizintechnik              | <input type="checkbox"/> Professor                          |
| <input type="checkbox"/> Mineralöl                   | <input type="checkbox"/> Einkäufer                          |
| <input type="checkbox"/> Papier/Holz                 | <input type="checkbox"/> Laborant                           |
| <input type="checkbox"/> Pharmazie                   | <input type="checkbox"/> Student                            |

#### Anforderung dient zur:

- allgemeinen Information
- Planung für Beschaffung,
- Beschaffungszeitraum:

Wir versichern Ihnen, dass Ihre Daten entsprechend den einschlägigen Datenschutzvorschriften behandelt werden. Falls Sie keine weiteren Informationen wünschen, kreuzen Sie bitte dieses Kästchen an:

- Bitte meinen Namen vom Verteiler streichen

### Einführungsangebot bis 31. Dezember 2005

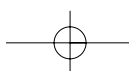
#### Neue Protein-Säule PROTEEMA:

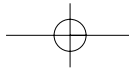
- 100Å für Trennbereich:**  
300 - 1,5 x 10<sup>6</sup> D\*
- 300Å für Trennbereich:**  
3.000 - 1,5 x 10<sup>6</sup> D\*
- 1000Å für Trennbereich:**  
1 x 10<sup>4</sup>D - 5,5 x 10<sup>6</sup> D\*

\* bezogen auf Proteine

#### Interessiert?

- Senden Sie mir ein unverbindliches Angebot





## GPC-Tipps und Tricks (Nr. TT0205)

### Warum ist mein Detektorsignal so klein?

#### Problem:

Der Peak bzw. die Signalintensität des Konzentrationsdetektors ist zu klein. Die Konzentration ist aber im richtigen Bereich.

Ist das Detektorsignal zu klein (zu kleiner Extinktionskoeffizient bei UV-Detektion bzw. zu kleines Brechungsinkrement bei RI-Detektion) oder ist die Wiederfindungsrate zu klein (d. h. Wechselwirkung der Probe mit der Säulenmatrix)?

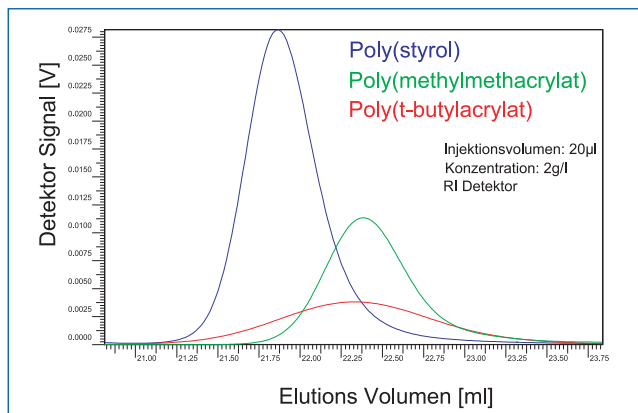


Abb.1: Peakflächen unterschiedlicher Polymere als Funktion des Responsefaktors  $dn/dc$ . Alle Polymere wurden mit 2g/l eingewogen und mit 20µl injiziert. Die Peakflächen unterscheiden sich im Verhältnis Poly(styrol)/Poly(methylmethacrylat)/Poly(t-butylacrylat): 1/2,09/3,51.

#### Detektorintensität:

Die Größe des Detektorsignals der Konzentrationsdetektoren (UV und RI) ist u.a. eine Funktion des Responsefaktors bezogen auf die untersuchte Probe.

Viele Polymere lassen sich nicht mit einem UV-Detektor detektieren, weil diese keine signifikante UV-Absorptionsbanden im UV-Wellenlängenbereich haben (Poly(olefine), Poly(isobutylene), Poly(diene)). Bei unbekanntem Polymeren sollte zuerst eine UV-Spektrum aufgenommen werden, um das Absorptionsmaximum zu bestimmen. Es muß jedoch sichergestellt werden, dass das Lösungsmittel nicht die gleichen Absorptionsbanden wie das Polymer aufweist. Meist wird bei kleineren Wellenlängen ein größeres Signal erreicht. Beispiel: Für wässrige Eluenten wird dies durch Verwendung eines Phosphat-Buffers anstelle einer Natriumnitrat- oder Natriumsulfat-Lösung erreicht.

Wird ein Brechungsindexdetektor (RI) eingesetzt, so ist das Detektorsignal vom spez. Brechungsindexinkrement  $dn/dc$  des Polymeren im betrachteten Eluenten abhängig. Haben zwei Polymere verschiedene  $dn/dc$ -Werte so unterscheidet sich auch die Detektor-Intensität. In THF ist das Detektorsignal eines RI-Detektors für Poly(styrol) zweimal größer als für Poly(methylmethacrylat) und sogar fast viermal größer als für Poly(t-butylacrylat) (siehe Abb. 1). Ist das Polymer in einem Lösungsmittel isorefraktiv (Poly(dimethylsiloxan) in THF), d. h. Brechungsindex von Polymer und Lösungsmittel sind fast identisch, wird kein Messsignal detektiert.

Durch geschickte Wahl des Lösungsmittels (RI und UV) oder der Wellenlänge (UV) kann die Signal-

intensität des zu untersuchenden Polymers verbessert werden.

#### Wiederfindungsrate:

Die Wiederfindungsrate wird am Besten dadurch bestimmt, dass man anstelle einer Säule eine z. B. 1 Meter lange Kapillare verwendet. Vergleicht man die Peakfläche generiert mit einer Kapillare, mit der einer Säule/Säulenkombination (Probenkonzentration, Injektionsvolumen, Flussrate und Eluent müssen gleich sein!), dann müssen diese identisch sein. Kleine Abweichungen sind zulässig, da die Kapillare keine oder nur eine schwache Trennung der Probe ermöglicht und mögliche Probenverunreinigungen oder Salzpeaks mitgemessen werden.

Sind die Peakflächen nahezu gleich ist die Wiederfindungsrate in Ordnung und es liegt keine Wechselwirkung mit der Gelmatrix vor.

#### Fazit:

- ist das Detektorsignal bei richtiger Probenkonzentration zu klein, sollte die Wiederfindungsrate bestimmt werden
- es muss sichergestellt werden, dass der Responsefaktor des Detektors für das betrachtete Polymer groß genug ist, ( $dn/dc > 0,04 \text{ ml/g}$ )
- eventuell muss nicht der Detektor, sondern das Lösungsmittel gewechselt werden

#### Ihr Ansprechpartner:

Dr. Thorsten Hofe  
Tel.: 06131-96239-60  
E-Mail: THofe@polymer.de



## Applikationen

### Charakterisierung von Hyaluronsäure

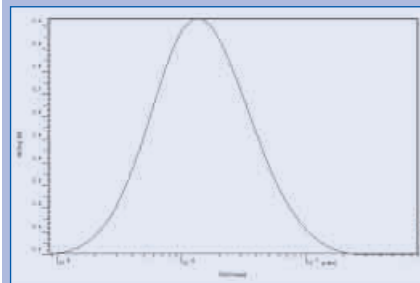
Hyaluronsäure ist ein hydrophiles Polymergemisch bestehend aus Glycosaminglykan (1,4 verknüpfte Disaccharide) von großem Interesse für die pharmazeutische Industrie.

#### Probenvorbereitung:

Die Probe wurde innerhalb von 12 Stunden vollständig im Eluent gelöst. Zum Schutz der Säule wurde die Probe durch einen 1µm-Membranfilter filtriert.

#### Analytische Bedingungen:

|                    |   |
|--------------------|---|
| Eluent:            | 0.07 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  |
| Säulen:            | 1 x SUPREMA 10µm,<br>8x50mm Vorsäule<br>1 x SUPREMA 10µm 100Å,<br>8x300mm<br>1 x SUPREMA 10µm 3000Å,<br>8x300mm |
| Kalibrierkit:      | Pullulan-Standards  |
| Datenerfassung:    | PSS WinGPC  |
| Detektoren:        | RI -Detektor  |
| Flussrate:         | 1.00 ml/min   |
| Konzentration:     | 1,0 g/l   |
| Injektionsvolumen: | 20µL  |
| Temperatur:        | 25°C  |



Molmassenverteilung einer Hyaluronsäure-Probe

**Ergebnis:** Es handelt sich bei der gemessenen Probe um eine hochmolekulare Hyaluronsäure mit einem Mw von > 1,5 Mio g/mol. Die Probe eluiert vollständig von der Säule. Trotz der hohen Molmasse ist kein hochmolekularer Ausschluss erkennbar. Die Kalibrationskurve wurde mittels eines Pullulan-Kits (200 D bis 1,6 Mio D) erstellt. Die hochmolekularen Massenanteile wurden extrapoliert.

**Fazit:** Die verwendete SUPREMA-Säulen-Kombination deckt den Molmassenbereich der Probe (ca. 1 bis 20 Millionen Dalton) bei gleichbleibend guter Auflösung vollständig ab.

Diese Applikation (# 10014) und weitere finden Sie in unserer Applikationsdatenbank unter [www.polymer.de](http://www.polymer.de).