

DIN 55672-3

ICS 71.040.50

Ersatz für
DIN 55672-3:2007-08 und
DIN 55672-3
Berichtigung 1:2009-02

**Gelpermeationschromatographie (GPC) –
Teil 3: Wasser als Elutionsmittel**

Gel permeation chromatography (GPC) –
Part 3: Water as elution solvent

Chromatographie par perméation du gel –
Partie 3: Eluant à l'eau

Gesamtumfang 29 Seiten

DIN-Normenausschuss Beschichtungsstoffe und Beschichtungen (NAB)
DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK)

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	5
4 Kurzbeschreibung	5
5 Geräte	5
6 Reagenzien (Elutionsmittel)	9
7 Kalibrierung der Apparatur	9
8 Probenahme	11
9 Vorbereitung der Prüfung	11
10 Analysenparameter	12
11 Datenerfassung und Auswertung	13
12 Präzision	16
13 Prüfbericht	17
Anhang A (normativ) Umrechnung der experimentellen Parameter bei abweichenden Säulendimensionen	20
Anhang B (informativ) Beispiel für ein Datenblatt eines Polymerstandards	22
Anhang C (informativ) Erläuterungen	23
Literaturhinweise	29

Vorwort

Die Norm DIN 55672-3 wurde vom Arbeitskreis NA 002-00-02-03 AK „Gelpermeationschromatographie“ im Arbeitsausschuss NA 002-00-02 AA „Lackrohstoffe“ des DIN-Normenausschusses Beschichtungsstoffe und Beschichtungen (NAB) ausgearbeitet.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Das angegebene Prüfverfahren ist in erster Linie dazu gedacht, einheitliche Prüfbedingungen festzulegen, die eine vergleichende Prüfung, z. B. bei der Eingangskontrolle von Produkten, ermöglichen. Die Prüfbedingungen entsprechen dem derzeitigen Stand der Technik.

In dieser Norm bedeutet % bei Angaben von Gehalten Massenanteil in Prozent.

DIN 55672, *Gelpermeationschromatographie (GPC)*, besteht aus den folgenden Teilen:

- Teil 1: *Tetrahydrofuran (THF) als Elutionsmittel*
- Teil 2: *N,N-Dimethylacetamid (DMAC) als Elutionsmittel*
- Teil 3: *Wasser als Elutionsmittel*

Änderungen

Gegenüber DIN 55672-3:2007-08 und DIN 55672-3 Berichtigung 1:2009-02 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) die Norm wurde an den aktuellen Stand der Technik, insbesondere der Software-Technik, angepasst;
- b) die Berichtigung 1:2009-02 zu 7.2 wurde eingearbeitet und die Anforderungen an Kalibrierstandards mit $M_p \geq 400\,000\text{ g/mol}$ wurde in $M_w/M_n \leq 1,5$ geändert;
- c) der Anwendungsbereich wurde präzisiert;
- d) die Definition für „Gelpermeationschromatographie“ wurde überarbeitet;
- e) die Normenreihe ISO 16014 wurde in die Literaturhinweise aufgenommen;
- f) die Präzisionsdaten und Erläuterungen zur Präzision wurden korrigiert;
- g) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Frühere Ausgaben

DIN 55672-3: 2007-08

DIN 55672-3 Berichtigung 1: 2009-02

1 Anwendungsbereich

Die Norm legt das Verfahren und die Prüfbedingungen zur Ermittlung der Molmassenverteilung und der Molmassenmittelwerte M_n (Zahlenmittel) und M_w (Gewichtsmittel) von wasserlöslichen Polymeren durch Gelpermeationschromatographie (GPC)¹⁾ fest.

Sie ist anwendbar auf neutrale Polymere und Polyanionen (z. B. Polycarboxylate, Polysaccharide, vollverseifte Polyvinylalkohole und hochmolekulare Polyethylenoxide); sie ist nicht anwendbar auf Polykationen (z. B. Polyvinylpyrrolidon, Polyvinylpyridin, Salze des Poly(diallyl-N,N-dimethyl-azacyclopentan), Chitosan).

Trotz guter Löslichkeit in der mobilen Phase und guter Wiederholbarkeit der resultierenden Chromatogramme ist es auf Grund von spezifischen Wechselwirkungen (z. B. Adsorption) in dem System aus zu analysierender Probe/Elutionsmittel/Trennmateriale möglich, dass dieses Verfahren auf einzelne Polymere nicht angewandt werden kann. Siehe auch Abschnitt 12.

Das Prüfverfahren ist kein Absolutverfahren, sondern erfordert eine Kalibrierung, die mit kommerziell verfügbaren, linear aufgebauten und nach unabhängigen Absolutverfahren charakterisierten Pullulan-Standards durchgeführt wird. Die Resultate können daher für alle chemisch anders aufgebauten Polymerproben nur als Relativwerte innerhalb gleichartig aufgebauter Probengruppen verwendet werden.

Die Festlegungen dieser Norm sind nicht geeignet für GPC-Analysen von Polymerproben mit M_w -Werten größer 10^6 g/mol und/oder Polymeren, deren Elutionsgrenzen außerhalb des Kalibrierbereiches liegen (siehe 7.6 und Anhang C).

Im Rahmen dieser Norm werden ferner keine Korrekturverfahren (z. B. Elimination der Peakverbreiterung) durchgeführt. Wenn absolute Molmassenwerte benötigt werden, so ist auf ein Absolutverfahren (z. B. Membranosmometrie für M_n oder Lichtstreuung für M_w) zurückzugreifen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 55672-1:2016-03, *Gelpermeationschromatographie (GPC) — Teil 1: Tetrahydrofuran (THF) als Elutionsmittel*

DIN 55672-2, *Gelpermeationschromatographie (GPC) — Teil 2: N,N-Dimethylacetamid (DMAC) als Elutionsmittel*

DIN EN ISO 1513, *Beschichtungsstoffe — Prüfung und Vorbereitung von Proben*

DIN EN ISO 15528, *Beschichtungsstoffe und Rohstoffe für Beschichtungsstoffe — Probenahme*

DIN ISO 5725-1, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 1: Allgemeine Grundlagen und Begriffe*

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

1) Im angelsächsischen Schrifttum auch „size exclusion chromatography of polymers“ – SEC, übersetzt „Größenausschlusschromatographie von Polymeren“.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Gelpermeationschromatographie

Trennung von Molekülen, die hauptsächlich auf Ausschlusseffekten wie Unterschiede in der Molekülgröße und/oder Form (Größenausschlusschromatographie) oder in der Ladung (Ionenausschlusschromatographie) beruht

[QUELLE: DIN 55672-1:2016-03, 3.1]

3.2

Polykation

wasserlösliches Polymer, das permanente positive Ladungen trägt oder auf Grund seines pK_B -Wertes unter den Messbedingungen temporäre kationische Strukturen bildet

3.3

Polyanion

wasserlösliches Polymer, das permanente negative Ladungen trägt oder auf Grund seines pK_S -Wertes unter den Messbedingungen temporäre anionische Strukturen bildet

3.4

neutrales Polymer

wasserlösliches Polymer, das keine Ladungen enthält und das unter den Messbedingungen keine geladenen Gruppen oder Strukturen bilden kann

4 Kurzbeschreibung

Die molekulardispers gelösten Moleküle einer Polymerprobe werden nach der Größe der solvatisierten Polymerknäuel in dem Elutionsmittel an einer porösen Trennmatrix fraktioniert. Dabei können kleine Moleküle häufiger in die Poren der Trennmatrix diffundieren und werden so stärker retardiert als große Moleküle. Große Moleküle werden früher, kleine Moleküle später eluiert. Das Elutionsvolumen ist eine eindeutige Funktion der Knäuelgröße der analysierten Moleküle unter den gegebenen Versuchsbedingungen.

Auf Grund des vorher zu bestimmenden Polymergehaltes der zu untersuchenden Probe wird eine verdünnte Lösung (Massenkonzentration $< 5 \text{ g/l}$) in dem Elutionsmittel hergestellt und ein aliquoter Teil dieser Probenlösung in das GPC-Trennsystem injiziert. Die Konzentration der aus den Trennsäulen nach fallender Knäuelgröße eluierten Moleküle wird mit einem konzentrationsempfindlichen Detektor (typischerweise ein Differentialrefraktometer) gemessen. Aus dem resultierenden Chromatogramm werden dann mit einer zuvor für das System bestimmten Kalibrierkurve die relative Molmassenverteilung und die relativen Größen M_n , M_w bzw. der Heterogenitäts- oder Polydispersitätsindex M_w/M_n berechnet.

5 Geräte

5.1 Allgemeines

Die notwendige Apparatur besteht aus den im Bild 1 gezeigten Komponenten, die im Folgenden näher beschrieben werden.

Bei der Auswahl dieser Apparatur ist generell sicherzustellen, dass alle Teile, die mit dem Elutionsmittel oder der Probenlösung in Berührung kommen, keinerlei Adsorptions- und Memoryeffekte und bei der erhöhten Temperatur keinerlei Quelleffekte zeigen.

Das im Abschnitt 6 beschriebene Elutionsmittel kann bei längerem Betrieb Korrosion verursachen. Es ist daher notwendig, für alle Teile hochwertigen Stahl, Titan, Polyetherketone oder Polytetrafluorethen zu verwenden und die einzelnen Module mit Kapillaren aus hochwertigem Stahl oder Titan miteinander zu verbinden.

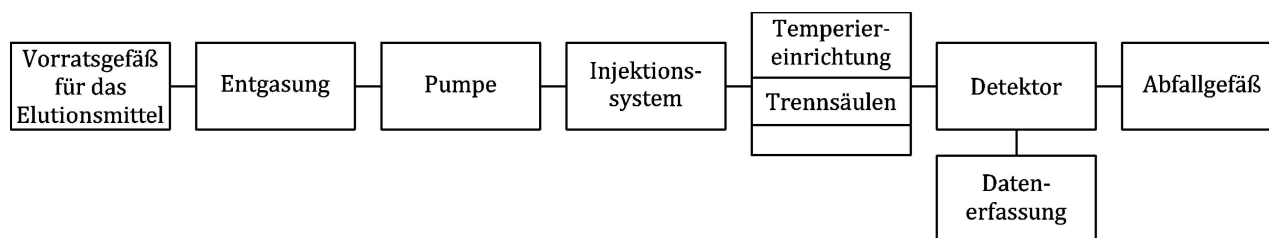


Bild 1 — Blockschaltbild einer GPC-Apparatur

5.2 Elutionsmittelversorgung

Das Vorratsgefäß für das Elutionsmittel muss das Elutionsmittel ausreichend gegen äußere Einflüsse (Luftkontakt) abschirmen, eventuell unter Verwendung eines Schutzgases oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche.

Das Vorratsgefäß für das Elutionsmittel enthält mindestens einen für die Gleichgewichtseinstellung der Apparatur und für mehrere Wiederholungsanalysen ausreichenden Vorrat des benutzten Elutionsmittels.

Störungen beim Ansaugen durch die Pumpe oder Dekompressionsblasen im Detektor sind durch Entgasen des Elutionsmittels vor dem Einfüllen in das Vorratsgefäß für das Elutionsmittel oder durch eine zwischen dem Vorratsgefäß für das Elutionsmittel und Pumpe eingebaute Vorrichtung zu verhindern. Das Prinzip der Entgasung (z. B. Blasenfalle, online-Begasung mit Helium, Vakuumentgasung) ist freigestellt.

5.3 Pumpe

Die Pumpe sorgt für einen möglichst gleichmäßigen und pulsationsfreien Transport des Elutionsmittels durch die Trennsäulen. Der Durchfluss beträgt 1 ml/min (siehe Anhang A). Zur Erfüllung dieser Aufgaben muss der optimale Förderbereich der Pumpe bei diesem Durchfluss und dem sich dabei einstellenden Gegendruck liegen.

Die Flussrate der verwendeten Pumpe darf eine Fehlergrenze von höchstens 0,1 % haben.

Durch eine entsprechende Konstruktion der Pumpe oder durch einen nachgeschalteten Pulsationsdämpfer ist sicherzustellen, dass die in 5.7 geforderten Festlegungen des Detektorrauschens eingehalten werden können.

5.4 Injektionssystem

Das Injektionssystem dient zum Einbringen einer exakt vorgegebenen Menge der Probenlösung in einem möglichst scharf begrenzten Elutionsmittelintervall in das chromatographische Trennsystem. Dieses Einbringen kann manuell oder automatisch erfolgen.

Beim Füllen und beim Einschleusen in den chromatographischen Flüssigkeitsstrom ist durch ausreichend große Spülvolumina sicherzustellen, dass auch bei Vorliegen von Laminar-Strömungs-Effekten das Volumen der Injektionsvorrichtung exakt mit dem Volumen der Probenlösung gefüllt und anschließend restlos wieder ausgespült wird.

Memory-Effekte in dem Injektionssystem durch vorhergehende Probenlösungen sind konstruktiv oder durch ausreichende Spülungen auszuschließen.

5.5 Trennsäulen

Das Trennsystem besteht aus einer oder mehreren hintereinander geschalteten Säulen, die mit einem kugelförmigen porösen Trennmateriale gefüllt sind, wobei der Durchmesser der Porenöffnungen der Knäuelgröße der zu untersuchenden Polymermoleküle entspricht.

Das Trennmateriale besteht typischerweise aus einem durch spezielle Polymerisationsverfahren hergestellten Acrylatcopolymer mit OH-Funktionalität und ohne basische Gruppen. Das Trennmateriale darf sich durch das Elutionsmittel nur wenig verändern und sich bei dem Druck, der sich bei dem gewählten Durchfluss einstellt, nicht verformen.

Um adsorptive Wechselwirkungen zwischen der Trennmaterialeoberfläche und den zu untersuchenden Polymermolekülen möglichst gering zu halten, dürfen Silika- und modifizierte Silikaphasen nicht verwendet werden. Darüber hinaus darf die zu analysierende Probe in dem chromatographischen System chemisch und strukturell nicht verändert werden.

Auf Grund spezifischer Wechselwirkungen (z. B. Adsorption) zwischen injizierter Probe und Trennmaterialeoberfläche kann in Einzelfällen der GPC-Trennmechanismus gestört werden. Einzelheiten über Erscheinungsformen derartiger Effekte und Hinweise auf mögliche Gegenmaßnahmen werden im Anhang C beschrieben. Sollen die Analysen solcher Proben aus verschiedenen Laboratorien miteinander verglichen werden, so sind über diese Norm hinausgehende Vereinbarungen über die Versuchsbedingungen zu treffen.

Um das Ziel dieser Norm zu erreichen, dass in verschiedenen Laboratorien auf verschiedenen GPC-Apparaturen für dieselbe Probe möglichst übereinstimmende Resultate erhalten werden, sind bezüglich Peakverbreiterung (ausgedrückt durch die Zahl der theoretischen Böden) und Trennleistung die im Folgenden festgelegten Mindestanforderungen einzuhalten:

a) Zahl der theoretischen Böden

In der benutzten Apparatur wird die theoretische Bodenzahl N je 1 m Säulenlänge nach dem Halbe-Höhen-Verfahren bestimmt (siehe Bild 2). Unter den auch für die Polymeranalysen benutzten Versuchsbedingungen werden max. 20 µg Ethylenglykol je Säule injiziert, wobei das Injektionsvolumen 20 µl nicht überschreiten darf (siehe Anhang A). Das resultierende Chromatogramm wird nach folgender Gleichung ausgewertet:

$$N = 5,54 \times \left(\frac{V_e}{W_{1/2}} \right)^2 \times \frac{100}{L} \quad (1)$$

Dabei ist

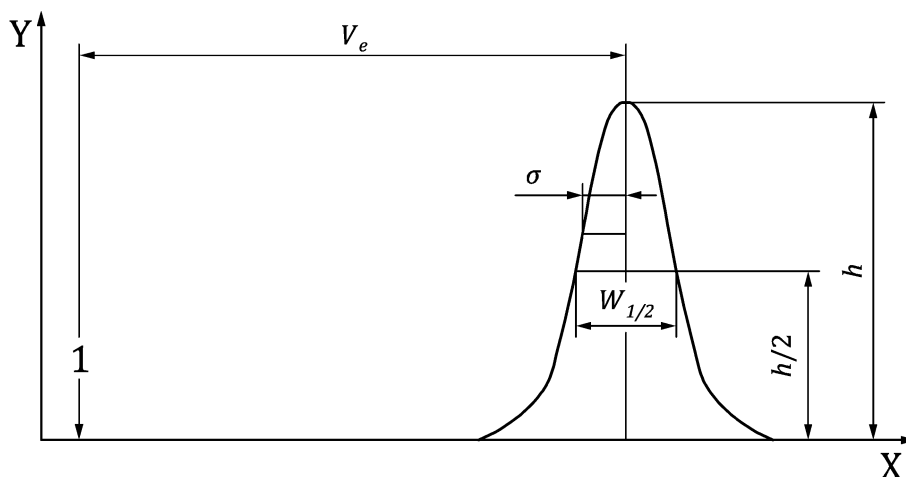
V_e das Elutionsvolumen am Peakmaximum;

$W_{1/2}$ die Peakbreite bei der halben Maximalhöhe (siehe Bild 2); für V_e und $W_{1/2}$ sind die gleichen Maßeinheiten zu benutzen;

L die Länge der Säule(nkombination), in cm.

Das Resultat wird relativ angegeben als Zahl der theoretischen Böden je 1 m Säulenlänge. Für eine dieser Norm entsprechende Säulenkombination müssen mindestens 10 000 theoretische Böden je Meter erreicht werden.

ANMERKUNG Bezüglich Schiefe und Tailing des Bodenzahlpeaks siehe Anhang C.



Legende

X	Elutionsvolumen
Y	Peakintensität
1	Injektion
V_e	Elutionsvolumen am Peakmaximum
$W_{1/2}$	Peakbreite bei der halben Maximalhöhe des Peaks
h	maximale Peakhöhe

Bild 2 — Bestimmung der theoretischen Bodenzahl nach dem Halbe-Höhen-Verfahren

b) Trennleistung

Zum Erzielen einer ausreichenden Trennung darf die Kalibrierkurve $\log_{10} M$ gegen Elutionsvolumen V_e der benutzten Säulenkombination eine bestimmte Steigung nicht übersteigen; im Rahmen dieser Norm muss im Bereich des Peakmaximums der zu untersuchenden Polymerprobe folgende Relation gelten:

$$\frac{V_{e, M_x} - V_{e, (10 \times M_x)}}{A_c} > 6,0 \quad (2)$$

Dabei ist

V_{e, M_x} das Elutionsvolumen, in cm^3 , für die Pullulan-Molmasse M_x ;

$V_{e, (10 \times M_x)}$ das Elutionsvolumen, in cm^3 , für die zehnfache Molmasse;

A_c die Säulenquerschnittsfläche (en. „cross-sectional area of the column“), in cm^2 ;

M_x ist so zu wählen, dass das Peakmaximum der zu untersuchenden Polymerprobe etwa in der Mitte zwischen diesen beiden Elutionsvolumina liegt.

5.6 Temperiereinrichtungen

Die Analysen werden bei Raumtemperatur (15 °C bis 35 °C) oder bei erhöhter Temperatur bis maximal 40 °C durchgeführt; dabei darf sich die Säulentemperatur während einer Analyse nicht um mehr als 1 °C ändern (siehe Anhang C).

5.7 Detektor

Als Detektor wird das Differentialrefraktometer vorgeschrieben. Das Küvettenvolumen darf nicht größer als 0,010 ml sein (siehe Anhang A).

ANMERKUNG Bezüglich der Beschränkung auf einen einzigen Detektortyp siehe Anhang C.

Bei den unten angegebenen Injektionsmengen muss der Rauschpegel bei der niedrigsten einstellbaren elektrischen Dämpfung kleiner sein als 1 % der maximalen Höhe des Polymerpeaks.

Die von dem Detektionssystem ausgehenden Signale werden durch ein elektronisches Datensystem erfasst; Einzelheiten siehe Abschnitt 11.

6 Reagenzien (Elutionsmittel)

Als Elutionsmittel wird eine Lösung von Natriumchlorid (Qualität „zur Analyse“), $c(\text{NaCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$, in Wasser der Qualität 1 nach DIN ISO 3696 (Leitfähigkeit $< 0,01 \text{ mS/m}$, Extinktion bei 254 nm und 1 cm optischer Weglänge 0,001) verwendet. Der pH-Wert wird mit wässriger Natriumhydroxid-Lösung auf 7,5 bis 8,5 eingestellt. Weitere Komponenten dürfen nicht zugesetzt werden.

Im Rahmen dieser Norm wird sowohl bei der Konditionierung der Säulen als auch bei den Analysen das einmal benutzte Elutionsmittel verworfen und nicht in das Elutionsmittelvorratsgefäß zurückgeführt.

7 Kalibrierung der Apparatur

7.1 Allgemeines

Die Kalibrierung der GPC-Apparatur erfolgt mit eng verteilten, streng linear aufgebauten Pullulanstandards, die durch unabhängige Absolutverfahren charakterisiert wurden. Im niedermolekularen Bereich werden Glukose, Maltose und Maltotriose zur Kalibrierung verwendet. Das Ergebnis ist eine Kalibrierkurve zur Auswertung der GPC-Analysen von linear aufgebauten Pullulanproben. Wird diese Kalibrierkurve auf Analysen von Proben anderer Zusammensetzung und Struktur angewandt, sind die Resultate als „Pullulan-Molmassenäquivalente“ zu bezeichnen.

7.2 Anforderungen an die Kalibrierstandards

Die Verteilungsbreite der Standards liegt in Abhängigkeit von der Molmasse M_p am Peakmaximum unterhalb folgender Grenzen:

$M_p < 2\,000 \text{ g/mol}$	$M_w/M_n \leq 1,3$
$2\,000 \text{ g/mol} \leq M_p < 400\,000 \text{ g/mol}$	$M_w/M_n \leq 1,2$
$400\,000 \text{ g/mol} \leq M_p$	$M_w/M_n \leq 1,5$

An die Charakterisierung jedes einzelnen zur Kalibrierung benutzten Pullulan-Standards sind folgende Mindestanforderungen zu stellen:

- Messung mindestens eines Molmassen-Mittelwertes M_n , M_w oder M_z durch ein Absolutverfahren;
- Bestimmung der Molmassenverteilung durch mindestens ein Verfahren;