

DIN EN ISO 13885-3



ICS 87.060.20

Entwurf

Einsprüche bis 2021-06-23
Vorgesehen als Ersatz für
DIN 55672-3:2016-03

**Gelpermeationschromatographie (GPC) –
Teil 3: Wasser als Elutionsmittel (ISO 13885-3:2020);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 13885-3:2021**

Gel permeation chromatography (GPC) –
Part 3: Water as eluent (ISO 13885-3:2020);
German and English version prEN ISO 13885-3:2021

Chromatographie par perméation de gel (GPC) –
Partie 3: Eluant à l'eau (ISO 13885-3:2020);
Version allemande et anglaise prEN ISO 13885-3:2021

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2021-04-23 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an nab@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an den DIN-Normenausschuss Beschichtungsstoffe und Beschichtungen (NAB), 10772 Berlin oder Saatwinkler Damm 42/43, 13627 Berlin.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 63 Seiten

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

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 13885-3:2020 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 35 „Paints and varnishes“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 139 „Lacke und Anstrichstoffe“ als prEN ISO 13885-3:2021 übernommen, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Normungsgremium ist der Arbeitskreis NA 002-00-02-03 AK „Gelpermeationschromatographie“ im DIN-Normenausschuss Beschichtungsstoffe und Beschichtungen (NAB).

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Für die in diesem Dokument zitierten Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 1513	siehe	DIN EN ISO 1513
ISO 3696	Siehe	DIN ISO 3696
ISO 4618	siehe	DIN EN ISO 4618
ISO 5725-1	siehe	DIN ISO 5725-1
ISO 15528	siehe	DIN EN ISO 15528

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Änderungen

Gegenüber DIN 55672-3:2016-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der Status wurde durch die Übernahme der Europäischen Norm EN ISO 13885-3 geändert;
- b) die normativen Verweisungen wurden aktualisiert;
- c) das Dokument wurde redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

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

DIN EN ISO 4618, *Beschichtungsstoffe — Begriffe*

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

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

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

— Leerseite —

Titel de: Gelpermeationschromatographie (GPC) — Teil 3: Wasser als Elutionsmittel
(ISO 13885-3:2020)

Titel en: Gel-permeation chromatography (GPC) — Part 3: Water as eluent
(ISO 13885-3:2020)

Titel fr: Chromatographie par perméation de gel (GPC) — Partie 3: Utilisation de
l'eau comme éluant (ISO 13885-3:2020)

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	7
4 Kurzbeschreibung	7
5 Geräte	8
5.1 Elutionsmittelversorgung	8
5.2 Pumpe	8
5.3 Injektionssystem	9
5.4 Trennsäulen	9
5.5 Temperiereinrichtung	11
5.6 Detektor	11
6 Reagenzien	11
7 Kalibrierung der Apparatur	11
7.1 Allgemeines	11
7.2 Anforderungen an die Kalibrierstandards	12
7.3 Präparation der Kalibrier-Injektionslösungen	12
7.4 Bedingungen für die Kalibriermessungen	13
7.5 Messung des Elutionsvolumens	13
7.6 Konstruktion der Kalibrierkurve	13
8 Probenahme	14
9 Vorbereitung der Prüfung	14
9.1 Präparation der Injektionslösung	14
9.2 Vorbereitung der Analysenapparatur	14
10 Analysenparameter	15
11 Datenerfassung und Auswertung	15
11.1 Allgemeines	15
11.2 Berechnung des Nettochromatogramms aus den Rohdaten	16
11.2.1 Ermittlung der Basislinie	16
11.2.2 Nachbearbeitung der Messwerte bzw. des Nettochromatogramms	16
11.2.3 Auswertegrenzen	16
11.3 Berechnung der Mittelwerte	16
11.4 Berechnung der Verteilungskurven	18
12 Präzision	18
12.1 Allgemeines	18
12.2 Wiederholpräzision	18
12.3 Vergleichpräzision	19
13 Prüfbericht	19
13.1 Allgemeines	19
13.2 Allgemeine Angaben zu Geräten und Einstellungen	19

13.2.1 Angaben zu den verwendeten Geräten.....	19
13.2.2 Angaben zur Kalibrierung.....	20
13.2.3 Auswertung.....	20
13.3 Spezielle Angaben zur untersuchten Probe.....	21
Anhang A (informativ) Umrechnung der experimentellen Parameter bei abweichenden Säulendimensionen	22
Anhang B (informativ) Beispiel für ein Datenblatt eines Polymerstandards	24
Anhang C (informativ) Erläuterungen.....	26
Literaturhinweise.....	32

Europäisches Vorwort

Der Text von ISO 13885-3:2020 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 35 „Paints and varnishes“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und vom Technischen Komitee CEN/TC 139 „Lacke und Anstrichstoffe“ als prEN ISO 13885-3:2021 übernommen, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 13885-3:2020 wurde von CEN als prEN ISO 13885-3:2021 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC-Direktiven, Teil 1 beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 35, *Paints and varnishes*, erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 13885 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt die Ermittlung der Molmassenverteilung und der Molmassenmittelwerte M_n (Zahlenmittel) und M_w (Gewichtsmittel) von wasserlöslichen Polymeren durch Gelpermeationschromatographie (GPC) fest.

ANMERKUNG Im Englischen auch als „size exclusion chromatography“ (SEC), übersetzt „Größenausschlusschromatographie“, bekannt.

Dieses Verfahren ist anwendbar auf neutrale Polymere und Polyanionen (z.B. Polycarboxylate, Polysaccharide, vollverseifte Polyvinylalkohole und hochmolekulare Polyethylenoxide). Es 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 spezifischer Wechselwirkungen (z.B. Adsorption) in dem System aus Probe/Elutionsmittel/Trennmateriale möglich, dass dieses Verfahren auf einzelne Polymere nicht angewandt werden kann (siehe auch Abschnitt 12).

Die in diesem Dokument festgelegten Bedingungen sind nicht anwendbar bei GPC-Analysen von Polymerproben mit M_w -Werten größer 10^6 g/mol und/oder von Polymeren, deren Elutionsgrenzen außerhalb des Kalibrierbereiches liegen (siehe 7.6 und Anhang C).

Dieses Dokument umfasst keine Korrekturverfahren (z.B. Elimination der Peakverbreiterung). Wenn absolute Molmassenwerte benötigt werden, kann auf ein Absolutverfahren (z.B. Membranosmometrie für M_n oder Lichtstreuung für M_w) zurückgegriffen werden.

WARNUNG — Dieses Dokument kann den Umgang mit gefährlichen Substanzen und Ausrüstungsteilen und die Ausführung gefährlicher Arbeitsgänge einschließen. Es erhebt nicht den Anspruch, auf alle gegebenenfalls vorhandenen und mit seiner Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme hinzuweisen. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und die Übereinstimmung mit jeglichen nationalen Bestimmungen sicherzustellen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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).

ISO 1513, *Paints and varnishes — Examination and preparation of test samples*

ISO 4618, *Paints and varnishes — Terms and definitions*

ISO 15528, *Paints, varnishes and raw materials for paints and varnishes — Sampling*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die Begriffe nach ISO 4618 und die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: verfügbar unter <http://www.electropedia.org/>

3.1

Gelpermeationschromatographie

GPC

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

[QUELLE: ISO 13885-1:2020, 3.1]

3.2

Systempeak

Signal, das bei Verwendung eines Brechzahl-detektors für die *Gelpermeationschromatographie* (3.1) typisch ist

Anmerkung 1 zum Begriff: Diese Signale erscheinen an der totalen Penetrationsgrenze der Säulen und werden nicht durch die Probe, sondern durch das Trennsystem als Ganzes ausgelöst.

[QUELLE: ISO 13885-1:2020, 3.2]

3.3

Polykation

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

3.4

Polyanion

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

3.5

neutrales Polymer

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

4 Kurzbeschreibung

Die (molekulardispers) gelösten Moleküle einer Polymerprobe werden nach der Größe der Moleküle (bzw. genauer gesagt nach der Größe der im Elutionsmittel entstandenen Polymerknäuel) an einer porösen Trennmatrix fraktioniert. Dabei diffundieren kleine Moleküle häufiger in die Poren der Trennmatrix und werden so stärker retardiert als große Moleküle. Große Moleküle werden somit früher, kleine Moleküle später eluiert. Das Elutionsvolumen ist unter den gegebenen Prüfbedingungen eine eindeutige Funktion der Knäuelgröße der analysierten Moleküle.

Der Polymergehalt der zu untersuchenden Probe wird bestimmt, dann wird mit dem Elutionsmittel eine verdünnte Lösung der Probe mit einer Massenkonzentration von weniger als 5 g/l 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 jeweilige GPC-System bestimmten Kalibrierkurve die relative Molmassenverteilung und die relativen Größen M_n und M_w und der Heterogenitäts- bzw. Polydispersitätsindex M_w/M_n berechnet.

5 Geräte

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

Alle Teile, die mit dem Elutionsmittel oder der Probenlösung in Berührung kommen, dürfen keinerlei Adsorptions- und Memory-Effekte und bei der erhöhten Temperatur keinerlei Quelleffekte zeigen.

Das im Abschnitt 6 beschriebene Elutionsmittel kann bei längerer Nutzung 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.

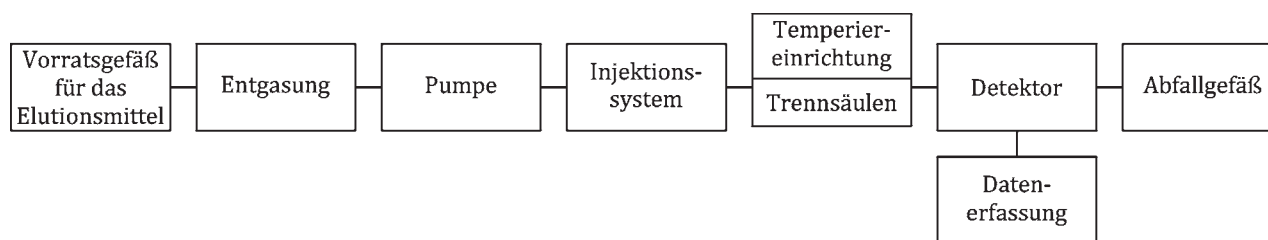


Bild 1 — Blocksaltbild einer GPC-Apparatur

5.1 Elutionsmittelversorgung

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

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

Fehlfunktionen der Pumpe oder Blasenbildung im Detektor müssen durch Entgasen des Elutionsmittels vor dem Einfüllen in das Vorratsgefäß für das Elutionsmittel oder durch eine zwischen dem Vorratsgefäß für das Elutionsmittel und der Pumpe eingebaute Vorrichtung verhindert werden. Das Entgasungsverfahren (z. B. Blasenfalle, Online-Begasung mit Helium, Vakuumentgasung) ist freigestellt.

5.2 Pumpe

Die Pumpe muss für einen möglichst gleichmäßigen und pulsationsfreien Transport des Elutionsmittels durch die Trennsäulen sorgen. Der Durchfluss muss 1 ml/min betragen (siehe Anhang A). Zur Erfüllung dieser Anforderungen muss die Pumpe bei diesem Durchfluss in ihrem optimalen Förderbereich arbeiten.

Der Durchfluss der verwendeten Pumpe darf eine Grenzabweichung von höchstens 0,1 % haben.

Durch eine entsprechende Konstruktion der Pumpe oder durch einen nachgeschalteten Pulsationsdämpfer muss sichergestellt werden, dass die in 5.6 geforderten Festlegungen des Detektorrauschens eingehalten werden können.

5.3 Injektionssystem

Das Injektionssystem dient zum schnellen und gleichmäßigen Einbringen einer exakt vorgegebenen Menge der Probenlösung in das chromatographische Trennsystem. Dieses Einbringen kann manuell oder automatisch erfolgen.

Wenn das Einbringen manuell erfolgt, muss sichergestellt werden, dass die Probenschleife vollständig mit Lösemittel gefüllt ist, bevor die Probe eingebracht wird.

Memory-Effekte im Injektionssystem durch vorhergehende Probenlösungen müssen konstruktiv oder durch ausreichende Spülungen ausgeschlossen werden.

5.4 Trennsäulen

Das Trennsystem muss aus einer oder mehreren hintereinander geschalteten Säulen bestehen, die mit einem kugelförmigen porösen Trennmaterial gefüllt sind, wobei der Durchmesser der Poren der Größe der zu untersuchenden Polymermoleküle entsprechen muss.

Das Trennmaterial besteht typischerweise aus einem durch spezielle Polymerisationsverfahren hergestellten Acrylatcopolymer mit OH-Funktionalität und ohne basische Gruppen. Das Trennmaterial darf im Elutionsmittel nur leicht quellen und kann sich somit bei dem Druck, der sich bei dem gewählten Durchfluss einstellt, nicht verformen.

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

Wechselwirkungen zwischen bestimmten Polymeren und der Trennmaterialoberfläche (z. B. durch Adsorption) und andere Effekte können in Einzelfällen den GPC-Trennmechanismus stören. Einzelheiten über derartige Effekte und Hinweise auf mögliche Gegenmaßnahmen werden in Anhang C diskutiert. Sollen die Analysen solcher Polymere aus verschiedenen Laboratorien miteinander verglichen werden, so müssen die Laboratorien über dieses Dokument hinausgehende Vereinbarungen über die Prüfbedingungen treffen.

Um eine gute Wiederholpräzision der Prüfergebnisse zu erreichen, müssen die im Folgenden festgelegten Mindestanforderungen bezüglich Peakverbreiterung (ausgedrückt durch die Zahl der theoretischen Böden) und Trennleistung eingehalten werden.

a) Zahl der theoretischen Böden

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

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

Dabei ist

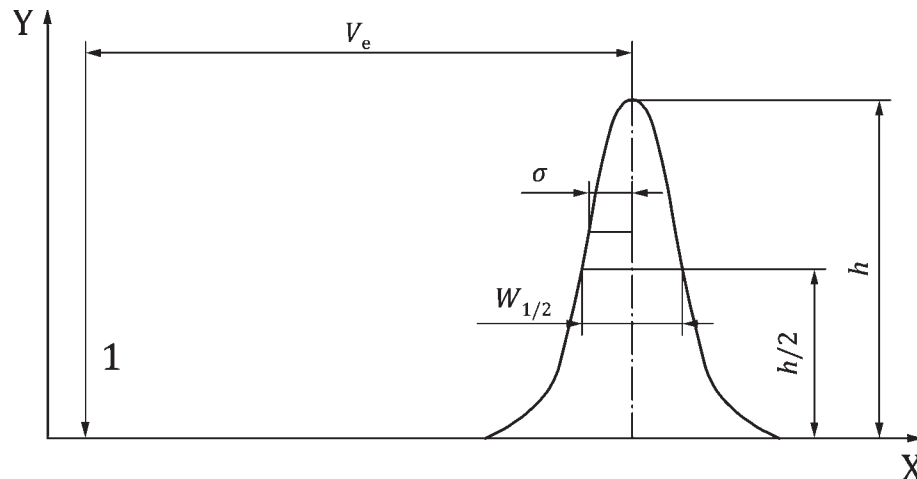
V_e das Elutionsvolumen am Peakmaximum;

$W_{1/2}$ die Peakbreite bei der halben Maximalhöhe (siehe Bild 2); für V_e und $W_{1/2}$ müssen dieselben Maßeinheiten benutzt werden;

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

Das Resultat wird als Zahl der theoretischen Böden je Meter Säulenlänge angegeben. Für eine diesem Dokument entsprechende Säulenkombination müssen mindestens 10 000 theoretische Böden je Meter erreicht werden.

ANMERKUNG Bezüglich Tailing und Fronting (Asymmetrie) 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
- σ Standardabweichung

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 das Elutionsvolumen, V_e , der benutzten Säulenkombination eine bestimmte Steigung nicht übersteigen. Im Rahmen dieses Dokuments muss im Bereich des Peakmaximums der zu untersuchenden Polymerprobe die in Gleichung (2) angegebene 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 Kubikzentimeter, für die Pullulan-Molmasse M_x ;
- $V_{e,(10 \times M_x)}$ das Elutionsvolumen, in Kubikzentimeter, für die 10-fache Molmasse;
- A_c die Säulenquerschnittsfläche (en: cross-sectional area of the column), in Quadratzentimeter;
- M_x die Molmasse für Pullulan, die so gewählt werden muss, dass das Peakmaximum der zu untersuchenden Polymerprobe etwa in der Mitte zwischen diesen beiden Elutionsvolumina liegt.

5.5 Temperiereinrichtung

Die Prüfungen werden bei Raumtemperatur (15 °C bis 35 °C) oder bei einer höheren Temperatur bis höchstens 40 °C durchgeführt. Dabei darf sich die Säulentemperatur während einer Analyse nicht um mehr als 1 °C ändern (siehe Anhang C).

5.6 Detektor

Als Detektor wird ein Differentialrefraktometer verwendet. 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 in diesem Dokument festgelegten Injektionsmengen muss der Rauschpegel des Detektorsignals bei der niedrigsten einstellbaren elektrischen Dämpfung kleiner sein als 1 % der maximalen Höhe des Polymerpeaks.

Die von dem Detektor ausgehenden Signale werden durch ein elektronisches Datensystem erfasst (Einzelheiten siehe Abschnitt 11).

6 Reagenzien

Als Elutionsmittel wird eine Lösung von Natriumchlorid (Qualität „zur Analyse“), $c(\text{NaCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$, in Wasser der Qualität 1 nach 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.

Das bei der Konditionierung der Säulen oder den Analysen einmal benutzte Elutionsmittel wird verworfen und nicht in das Elutionsmittelvorratsgefäß zurückgeführt.

7 Kalibrierung der Apparatur

7.1 Allgemeines

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 für Polymerproben mit anderem chemischen Aufbau sind daher nur innerhalb gleichartig aufgebauter Probengruppen vergleichbar.

Die Kalibrierung der GPC-Apparatur erfolgt mit eng verteilten, streng linear aufgebauten Pullulan-Proben (siehe Anhang C), deren Molmassen durch unabhängige Absolutverfahren ermittelt 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 Pullulan-Proben. Wird diese Kalibrierkurve auf Analysen von Proben anderer Zusammensetzung, die Moleküle anderer Struktur enthalten, angewandt, müssen die Resultate als „Pullulan-Molmassenäquivalente“ bezeichnet werden.

7.2 Anforderungen an die Kalibrierstandards

Die Verteilungsbreite der Molmassen der Standards muss in Abhängigkeit von der Molmasse M_p am Peakmaximum unterhalb folgender Grenzen liegen:

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

An die Charakterisierung jedes einzelnen zur Kalibrierung benutzten Pullulan-Standards müssen folgende Mindestanforderungen gestellt werden:

- a) mindestens ein Molmassen-Mittelwert M_n , M_w oder M_z muss durch ein Absolutverfahren gemessen werden;
- b) zur Bestimmung der Molmassenverteilung muss mindestens ein Verfahren angewandt werden;
- c) alle zur Durchführung dieses Verfahrens benutzten Parameter müssen angegeben werden;
- d) die Resultate und Daten für jede untersuchte Charge müssen in einer für den Anwender nachvollziehbaren Form vorliegen.

ANMERKUNG Ein Beispiel für ein derartiges Datenblatt ist als Anhang B beigelegt.

Wenn die Kalibrierstandards nieder- bzw. hochmolekulare Schultern, Vorpeaks oder ein Tailing besitzen, so muss der Flächenanteil dieser Störungen kleiner als 2,0 % der Peakfläche sein, anderenfalls muss der Kalibrierstandard verworfen werden.

7.3 Präparation der Kalibrier-Injektionslösungen

Die Kalibrierstandards werden in dem Elutionsmittel bei Raumtemperatur ohne Schütteln und Rühren gelöst. Die Mindestlösezeit beträgt 12 h; anschließend werden die Lösungen vorsichtig homogenisiert. Die Lösungen werden bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Beim Lösen der Kalibrierstandards sind die Quellzeiten relativ lang. Während der Quellphase darf nicht geschüttelt werden, damit die Polymerketten nicht reißen.

Die Lösungen werden manuell durch ein Membranfilter mit einer Porengröße von 0,2 µm bis 0,45 µm filtriert. Tritt bei der Filtration eine merkbare Verstopfung ein, so ist diese Probe für eine Kalibrieranalyse nicht geeignet.

Die Lösungen müssen innerhalb von 48 h verwendet werden.

Mit einer Injektion dürfen mehrere Kalibrierstandards gleichzeitig analysiert werden, vorausgesetzt, es liegt eine Basislinientrennung aller Peaks vor.

Die Massenkonzentration der einzelnen Kalibrierstandards in der Injektionslösung muss in Abhängigkeit von der Molmasse am Peakmaximum, M_p , folgende Werte aufweisen

$$\begin{array}{ll} M_p < 400\,000 \text{ g/mol} & 1,0 \text{ g/l} \\ 400\,000 \text{ g/mol} \leq M_p & 0,5 \text{ g/l} \end{array}$$

Die Anpassung der injizierten Mengen an die Säulendimensionen darf nicht über die Konzentration erfolgen, sondern über die Injektionsvolumina. Die entsprechend den Anforderungen nach Abschnitt 10 bestimmten Injektionsvolumina müssen sowohl für Kalibrier- als auch für Probenmessungen verwendet werden.

7.4 Bedingungen für die Kalibriermessungen

Die Bedingungen der Kalibriermessungen, mit Ausnahme der Konzentrationen der Injektionslösungen, müssen mit denen der Probenanalysen identisch sein.

7.5 Messung des Elutionsvolumens

Das Elutionsvolumen, V_e , muss ab Startpunkt der Injektion bis zum Basislinienpunkt, an dem das Peakmaximum erreicht wird, gemessen werden. Bei der Ermittlung des Maximums wird eine lineare Basisliniendrift von 5 % der maximalen Peakhöhe bezogen auf die Analysendauer von Injektion bis Systempeaks toleriert. Bei stärkerer Drift oder bei Basislinienschwankungen im Bereich des Peaks muss die Analyse wiederholt werden.

Die Messung des Elutionsvolumens kann mit einem internen Standard oder einem ungestörten Systempeak kontrolliert und gegebenenfalls linear korrigiert werden.

ANMERKUNG Als interner Standard kann Schwefel oder ein Systempeak verwendet werden.

7.6 Konstruktion der Kalibrierkurve

Die Kalibrierkurve muss mit $\log_{10} M_p$ als Ordinate gegen das Elutionsvolumen, V_e , als Abszisse konstruiert werden. Je Molmassen-Dekade müssen mindestens zwei Kalibrierpunkte gemessen werden, insgesamt müssen wenigstens fünf Kalibrierpunkte vorhanden sein. Im niedermolekularen Bereich muss die Kalibrierkurve unter Verwendung von Glukose, Maltose und Maltotriose bis an die Systempeaks heran extrapoliert werden.

Im hochmolekularen Bereich muss zum einen das Maximum des zuerst eluierten Kalibrierstandards vor der hochmolekularen Grenze der zu analysierenden Proben liegen; zum anderen muss die Lage der Ausschlussgrenze bestimmt werden.

Die Kalibrierkurve kann entweder tabellarisch oder durch eine bzw. durch mehrere Ausgleichskurven beschrieben oder in ein Computerprogramm eingegeben werden. Sie muss durch entsprechende Ausdrücke jederzeit einer direkten Überprüfung zugänglich sein. Da bei der Auswertung die Umwandlung der Chromatogramme in differentielle Verteilungskurven erforderlich ist, für die der Kehrwert der ersten Ableitung der Kalibrierkurve benötigt wird (siehe 11.4), muss der funktionale Zusammenhang $\log_{10} M = f(V_e \text{ bzw. } t_R)$ differenzierbar sein.

Zur Kontrolle der Güte der Anpassung der konstruierten Kalibrierkurve an die Messungen muss für die einzelnen Kalibrierpunkte die prozentuale Abweichung

$$\frac{M_{p,\text{Kalibrierwert}} - M_{p,\text{berechnet}}}{M_{p,\text{Kalibrierwert}}} \times 100$$

graphisch gegen V_e bzw. t_R dargestellt werden. Anhand dieser Zeichnung kann geprüft werden, ob positive oder negative Differenzen längs der Elutionsabszisse V_e bzw. t_R statistisch verteilt sind. Regressionsmodelle für Kalibrierkurven, die zu Häufungen positiver oder negativer Differenzen in einzelnen Elutionsbereichen führen, sind ungeeignet. Wenn mit den in einem Labor vorhandenen Regressionsmodellen (siehe Anhang C) derartige Residuenverteilungen nicht verbessert werden können, muss mit größeren Fehlern in den Resultaten gerechnet werden, auf die im Prüfbericht hingewiesen werden muss.

Die Prüfung der Residuenverteilungen braucht bei Kalibrierkurven-Konstruktionen, die methodisch bedingt zu einem Zusammenfallen von Mess- und Kalibrierkurvenpunkten führen, wie dies etwa bei einem Polygonzug oder Spline-Algorithmen ohne Ausgleich der Fall ist, nicht durchgeführt zu werden. Bei diesen Verfahren muss auf andere Weise sichergestellt werden, dass die berechneten Kalibrierkurven keine physikalisch unsinnigen Bereiche enthalten, wie z. B. relative Extrema.

8 Probenahme

Es wird eine repräsentative Probe des zu prüfenden Produktes nach ISO 15528 genommen. Jede Probe wird nach ISO 1513 untersucht und zur Prüfung vorbereitet.

9 Vorbereitung der Prüfung

9.1 Präparation der Injektionslösung

Ein aliquoter Teil der Polymerprobe wird eingewogen und mit dem Elutionsmittel (siehe Abschnitt 6) aus dem Vorratsgefäß des vorgesehenen Chromatographen aufgelöst. Die Lösung wird bei Raumtemperatur aufbewahrt. Die Probenlösung wird mit wässriger NaOH-Lösung ($c = 0,1 \text{ mol/l}$) oder wässriger Salzsäure ($c = 0,1 \text{ mol/l}$) auf pH 7,5 bis 8,5 eingestellt.

Die Konzentration der Injektionslösung ist keine unabhängige Größe. Sie ergibt sich im Zusammenhang mit dem Gesamtvolumen der benutzten Trennsäulen und dem Injektionsvolumen; Einzelheiten siehe Abschnitt 10.

Eine Anwendung von Ultraschall ist wegen der Möglichkeit von Polymerabbau nicht zugelassen. Die Anwendung von Lösetemperaturen von mehr als 80°C sollte vermieden werden. Ausnahmefälle müssen im Prüfbericht begründet werden.

In der Regel muss für die Einwaage eine nahezu lösemittelfreie Polymerprobe benutzt werden. Enthält die Probe jedoch Lösemittel und handelt es sich um empfindliche Proben, können die Originallösungen in ihrer ursprünglichen Konzentration verwendet werden oder sie müssen vor dem Einwiegen schonend bei Raumtemperatur unter Vakuum konzentriert werden. Der Polymergehalt der Originallösungen muss durch eine gesonderte Bestimmung ermittelt werden; das angewandte Verfahren muss im Prüfbericht angegeben werden. Kommt es bei derartigen Proben zu einer Überlappung von System- und Polymerpeaks, so muss die Auswertung auf den ungestörten Polymerbereich beschränkt werden und die Auswertegrenze muss im Prüfbericht in Molmasseneinheiten angegeben werden. Bei Vergleichsprüfungen verschiedener Proben muss die Auswertegrenze identisch gewählt werden.

Unlösliche Begleitstoffe (z. B. Pigmente, Füllstoffe, Schlagfestkomponenten) werden durch geeignete Maßnahmen (z. B. Ultrazentrifugation, Filtration oder Membranfiltration) aus der Injektionslösung entfernt. Auch bei optisch klaren Lösungen wird generell eine Membranfiltration über Porengrößen zwischen $2 \mu\text{m}$ und $0,2 \mu\text{m}$ empfohlen. Diese Maßnahmen sowie die Vorkehrungen zur Einhaltung der vorgegebenen Injektionskonzentrationen müssen im Prüfbericht festgehalten werden.

Wenn die Probe unlösliche Polymeranteile (z. B. Mikrogel) enthält, so muss im Prüfbericht ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass die GPC-Resultate sich nur auf die löslichen Anteile beziehen. Die gemachten Beobachtungen müssen beschrieben werden.

Die Injektionslösungen müssen innerhalb von 48 h verwendet werden.

9.2 Vorbereitung der Analysenapparatur

Die Apparatur muss mit den im Abschnitt 10 angegebenen Parametern in Betrieb genommen werden. Vorab wird solange Elutionsmittel durch die gesamte Apparatur gepumpt, bis bei der für die Analysen vorgesehenen Detektorempfindlichkeit der in 5.6 festgelegte Rauschpegel unterschritten wird und die in 7.5 festgelegte Basislinienbedingung voraussichtlich eingehalten werden kann. Von diesem Zeitpunkt an können die Analysen oder ggf. die Kontrollanalysen durchgeführt werden.

10 Analysenparameter

Die Konzentration der Injektionslösung muss 0,5 mg/ml bis 5,0 mg/ml betragen.

Das Injektionsvolumen muss auf den benutzten Säulensatz abgestimmt werden und darf nicht mehr als 100 µl je (300 × 7,8) mm-Säule betragen; ein Wert von insgesamt 250 µl darf nicht überschritten werden (siehe Anhang A).

Bei engen Molmassenverteilungen und hohen Molmassen hängt das Elutionsvolumen empfindlich von der injizierten Polymermenge ab. Werden bei einer bestimmten Probe ungewöhnliche Peakformen beobachtet, so muss die Konzentration der Injektionslösung solange halbiert werden, bis die Auswirkungen auf den M_w -Wert kleiner als 5 % werden.

Von jeder Probe müssen mehrere Injektionen vorgenommen werden. Im Prüfbericht muss die Gesamtanzahl der Injektionen angegeben werden. Die drei letzten Injektionen müssen einzeln ausgewertet werden und die Resultate müssen einzeln angegeben werden. Ihre Stellung in der Injektionsreihenfolge muss erkennbar sein.

Bei Vergleichsprüfungen zwischen verschiedenen Laboratorien müssen Injektionen mit mindestens zwei getrennt angesetzten Injektionslösungen vorgenommen werden.

Über die übliche, im Abschnitt 11 beschriebene GPC-Auswertung der Chromatogramme hinaus müssen die Chromatogrammflächen bestimmt und gegebenenfalls auf dieselbe Injektionsmenge normiert werden. Die Flächen aufeinanderfolgender Analysen dürfen sich bei identischen Auswertegrenzen um nicht mehr als ± 3 % unterscheiden. Ist eine stetige Zu- oder Abnahme der Chromatogrammflächen aufeinanderfolgender Analysen zu beobachten, so müssen solange weitere Analysen durchgeführt werden, bis ein im Rahmen dieser Grenzabweichungen konstantes Niveau erreicht ist. Derartige Erscheinungen und andere Beobachtungen, die auf Adsorptionswechselwirkungen zwischen injizierter Probe und Trennmateriäloberfläche nach 5.4 hinweisen, müssen im Prüfbericht angegeben werden.

ANMERKUNG Warum im Vergleich zu der in ISO 13885-1 beschriebenen Bestimmung mit THF diese Bedingung hier hinzugefügt wurde, wird in Anhang C näher begründet.

11 Datenerfassung und Auswertung

11.1 Allgemeines

Die Erfassung des Chromatogramms muss mit einer elektronischen Datenerfassungsanlage erfolgen. Die Datenspeicherung muss an einem Punkt vor der Ausschlussgrenze der verwendeten Säulenkombination beginnen und bis zur Rückkehr der Kurve auf die Basislinie nach Elution des letzten Systempeaks fortgeführt werden.

Die Dichte der als äquidistant vorausgesetzten Messpunkte muss mindestens 20 Messpunkte für eine M -Dekade der benutzten Kalibrierkurve betragen; dabei müssen auf einen auszuwertenden Einzelpeak mindestens 25 Messpunkte entfallen.

Die Auflösung der Detektorsignalamplitude muss zwischen dem kleinsten noch nachzuweisenden Messwert und dem Peakmaximum im Chromatogramm nach Abzug der Basislinie mindestens 1:500 betragen.

Die Rohdaten der Proben- und der Kalibrieranalysen müssen mindestens ein Jahr so aufbewahrt werden, dass eine Auswertung ggf. wiederholt werden kann.