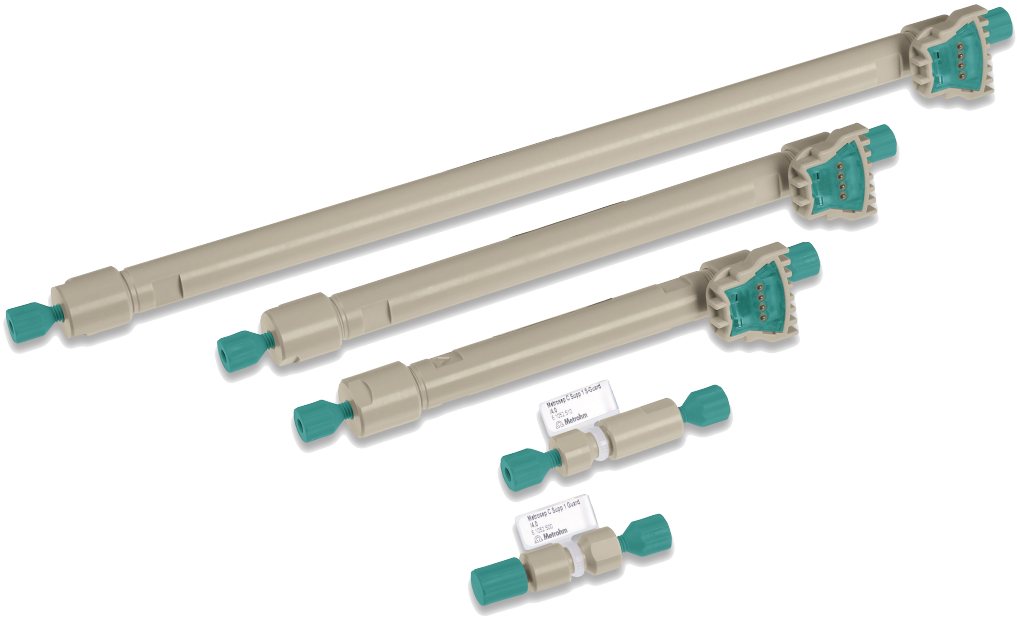
Säulenhandbuch



Metrosep C Supp 1 (6.1052.4X0)

Handbuch

8.107.8043DE / 2015-08-06

Metrohm

Metrohm AG
CH-9100 Herisau
Schweiz
Telefon +41 71 353 85 85
Fax +41 71 353 89 01
info@metrohm.com
www.metrohm.com

Säulenhandbuch

Metrosep C Supp 1 (6.1052.4X0)

Handbuch

8.107.8043DE / 2015-08-06 zst

Technische Dokumentation
Metrohm AG
CH-9100 Herisau
techdoc@metrohm.com

Diese Dokumentation ist urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte vorbehalten.

Diese Dokumentation wurde mit grösster Sorgfalt erstellt. Dennoch sind Fehler nicht vollständig auszuschliessen. Bitte richten Sie diesbezügliche Hinweise an die obenstehende Adresse.

Inhaltsverzeichnis

1 Allgemeine Informationen 1

1.1 Bestellinformationen ... 1

1.2 Technische Spezifikationen ... 1

2 Allgemeines ABC des Arbeitens mit Trennsäulen 3

3 Eluentherstellung 7

3.1 Chemikalien ... 7

3.2 Herstellung des Standardeluenten ... 7

4 Inbetriebnahme 9

4.1 Vorsäule anschliessen und spülen ... 9

4.2 Trennsäule anschliessen ... 11

4.3 Konditionierung ... 15

5 Applikationen 17

5.1 Standardchromatogramm ... 17

5.2 Einfluss der Temperatur ... 18

5.3 Einfluss der Guard: RP 2 Guard vs C Supp 1 Guard ... 22

5.4 Variation des Eluenten ... 24

5.5 Bestimmung von Spurenmetallgehalten in einem Magnesium-Sportgetränk ... 32

5.6 Ultraspurenanalyse von Lithium und Natrium in Kernkraftwerksproben mit Monoethanolamin-Matrix ... 33

5.7 Spurenanalyse der Standardkationen und Mangan, Zink und Monoethanolamin ... 34

5.8 Bestimmung von aliphatischen Aminen ... 35

5.9 Analyse von Leitungswasser ... 36

5.10 Bestimmung der biogenen Amine neben den Standardkationen ... 37

5.11 Bestimmung von Choline in Babynahrung ... 38

6 Problembehandlung 40

6.1 Regeneration ... 40

6.2 Abnehmende Auflösung / Peakformen ... 41

6.3 Instabile Retentionszeiten ... 42

6.4 Unbekannte Peaks 42
6.5 Steigender Rückdruck 42

7 Literatur 44

Index 45

1 Allgemeine Informationen

Diese Kationen-Trennsäule eignet sich speziell für die Bestimmung von Kationen, Übergangsmetallen und Aminen mit sequenzieller Suppression. Durch das tiefe Basislinienrauschen nach der sequenziellen Suppression werden Nachweisgrenzen im tiefsten µg/L-Bereich erreicht.

1.1 Bestellinformationen

Tabelle 1 Säulen

Bestellnummer	Bezeichnung
6.1052.410	Metrosep C Supp 1 - 100/4.0
6.1052.420	Metrosep C Supp 1 - 150/4.0
6.1052.430	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0

Tabelle 2 Vorsäulen

Bestellnummer	Bezeichnung
6.1052.500	Metrosep C Supp 1 Guard/4.0
6.1052.510	Metrosep C Supp 1 S-Guard/4.0

1.2 Technische Spezifikationen

Säulenmaterial Polyvinylalkohol mit Carboxylgruppen

Partikelgrösse 5 µm

Abmessungen

Bestellnummer	Abmessungen
6.1052.410	100 x 4.0 mm
6.1052.420	150 x 4.0 mm
6.1052.430	250 x 4.0 mm

pH-Bereich 1 bis 12

Temperaturbereich 20 bis 40 °C

Empfohlene Standardtemperatur 40 °C

Maximaler Druck 15 MPa (150 bar)

Flussrate

Bestellnummer	empfohlene Flussrate	maximale Flussrate
6.1052.410	1.0 mL/min	1.5 mL/min
6.1052.420	1.0 mL/min	1.5 mL/min
6.1052.430	1.0 mL/min	1.5 mL/min

Standardeluent

5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium (aus $RbNO_3$-Salz)

Erlaubte organische Zusätze

Im Eluenten

0 bis 30 % Aceton, 0 bis 50 % Acetonitril, kein Methanol

In der Probenmatrix

0 bis 30 % Aceton, 0 bis 50 % Acetonitril, kein Methanol

Vorbereitung

1. Die Säule während 2 h mit Eluent spülen.

Zur Vermeidung von hohem Gegendruck empfehlen wir, die Säule beim Einbau bei niedriger Flussrate (0.4 mL/min) etwa 20 min zu spülen.

Typischer Druck

Für Säulen mit Vorsäule unter Standardbedingungen mit sequenzieller Suppression (MSM-HC C und MCS)

Bestellnummer	Typischer Druck
6.1052.410	5.6 ± 2 MPa
6.1052.420	6.7 ± 2 MPa
6.1052.430	10.5 ± 2 MPa

Säulengehäuse

Intelligente Säule mit Chip, sogenannte iColumn aus PEEK

Anwendung

Einsatz bei Trennungen von Standard- und Übergangsmetallkationen sowie Aminen im tiefen Konzentrationsbereich. Die Leitfähigkeitsdetektion nach sequenzieller Suppression ermöglicht tiefe Nachweisgrenzen dank tiefem Basislinienrauschen.

2 Allgemeines ABC des Arbeitens mit Trennsäulen

Aufbewahrung

Spülen Sie die Säule mit Reinstwasser. Wenn sich der Rückdruck in Ihrem Ionenchromatographen abgebaut hat, bauen Sie die Säule bei Raumtemperatur aus. Verschliessen Sie die Säule beidseitig mit den originalen Stopfen (6.2744.060). Bewahren Sie sie gekühlt bei 4 bis 8 °C auf.

Bakterienwachstum

Bakterienwachstum verschlechtert die Chromatographie signifikant und zerstört Trennsäulen. Sehr viele chromatographische Probleme sind auf den Bewuchs mit Algen, Bakterien und Pilzen zurückzuführen.

Um Bakterienwachstum zu verhindern, setzen Sie Eluenten, Spüllösungen und Regenerierlösungen immer frisch an. Verwenden Sie keine Lösungen, die Sie länger nicht gebraucht haben. Wir empfehlen, alle Gefässe vor dem erneuten Befüllen wie folgt zu reinigen:

1. Gründlich mit hochreinem und UV-behandeltem Wasser (> 18.2 MΩ) spülen.
2. Mit einem Aceton-Wasser-Gemisch ausschwenken.
3. Nochmals mit Reinstwasser spülen.

Wenn sich trotz dieser Vorsichtsmassnahmen Bakterien oder Algen bilden, dürfen Sie dem Eluenten 5 % Acetonitril oder Aceton zusetzen. Aber nur wenn Sie *keine Membransuppressoren* verwenden. Membransuppressoren können durch organische Lösungsmittel zerstört werden. Das Metrohm Suppressor Module ist 100 % lösungsmittelbeständig.

Chemikalienqualität

Sämtliche Chemikalien müssen mindestens die Qualität p.a. oder puriss. aufweisen. Standardlösungen müssen speziell für die Ionenchromatographie geeignet sein.

Chemischer Stress

Obwohl viele Trennphasen von der Spezifikation her einen grossen pH-Bereich abdecken, bedeutet das nicht, dass sie chemisch inert sind. Trennsäulen erreichen die längste Lebensdauer unter konstanten chemischen Bedingungen. Eine Säule darf niemals austrocknen und muss immer gut verschlossen sein.

Eluentenflaschen

Die Eluenten werden in speziellen Eluentenflaschen meist direkt auf dem IC-System platziert. Damit keine Feuchtigkeit und kein Kohlendioxid in den Eluenten gelangt, sind die Flaschen mit einem Adsorberrohr versehen. Im Normalfall ist das Adsorberrohr mit Molekularsieb und für Natriumhydroxid-Eluenten und Carbonateluenten mit Natronkalk – als schwacher CO_2-Adsorber – befüllt.

Entgasen des Eluenten

Um Blasenbildung zu verhindern, empfehlen wir, die hergestellten Eluenten vor ihrer Verwendung im IC-System zu entgasen. Legen Sie dafür für ca. zehn Minuten mit einer Wasserstrahlpumpe oder einer Ölpumpe ein Vakuum an. Alternativ verwenden Sie ein Ultraschallbad, oder arbeiten Sie mit dem Eluent-Degasser.

Filter

Wenn Probleme mit IC-Systemen auftreten, so stehen sie meistens im Zusammenhang mit Partikeln. Diese können aus folgenden Quellen eingeschleppt werden:

- durch Bakterienwachstum
- durch nicht filtrierte Eluenten
- aus der Probe
- durch die Spüllösung und/oder Regenerierlösung

Minimieren Sie dieses Risiko, indem Sie einen Ansaugfilter (6.2821.090), den Inline-Filter (6.2821.120) und Vorsäulen verwenden. Die Filter gehören zur Grundausrüstung der Metrohm-Ionenchromatographen und sind im Lieferumfang enthalten. Wir empfehlen auch, die Filter regelmässig zu ersetzen.

Filtrieren des Eluenten

Alle Eluenten müssen unmittelbar vor ihrer Verwendung mikrofiltriert (0.45 µm) werden.

Partikel

Sämtliche Lösungen, Proben, Regenerierlösungen, das Wasser und die Eluenten müssen frei von Partikeln sein. Partikel verstopfen mit der Zeit die Trennsäulen (der Säulendruck steigt an). Achten Sie besonders bei der Herstellung der Eluenten auf Partikelfreiheit. Der Eluent fliesst kontinuierlich durch die Säule, pro Arbeitstag 500 bis 1000 mL im Vergleich zu ca. 0.5 mL Probenlösung. Filtrieren oder dialysieren Sie die Probe vollautomatisch mit einer der Metrohm Inline-Probenvorbereitungstechniken (MISP).

Probenvorbereitungskartuschen

Probenvorbereitungskartuschen dienen der Vorbereitung kritischer Proben, die nicht direkt in die Trennsäule injiziert werden dürfen. Sie entfernen z. B. organische Verunreinigungen oder neutralisieren stark alkalische oder saure Proben. Probenvorbereitungskartuschen sind Verbrauchsmaterialien, die in der Regel nicht regeneriert werden können. Probenvorbereitungskartuschen ersetzen nicht die Vorsäule, die mit jeder Trennsäule standardmässig verwendet werden sollte. Alternativ zu Probenvorbereitungskartuschen bieten sich Metrohm Inline-Probenvorbereitungstechniken (MISP) an.

Pulsationsdämpfer

Wir empfehlen, immer einen Pulsationsdämpfer zu verwenden. Vor allem die Polymethacrylat-Säulen und Polyvinylalkohol-Säulen müssen vor kurzen Druckstössen, die zwangsläufig beim Schalten der Ventile entstehen, geschützt werden. Dies ist bei der Verwendung des Pulsationsdämpfers

(6.2620.150), der in den Ionenchromatographen von Metrohm bereits eingebaut ist, gewährleistet.

Mechanischer Stress

Jede mechanische Belastung der Säule sollte vermieden werden. Wenn die Säule beispielsweise auf eine harte Oberfläche aufschlägt, kann in der Säulenpackung (Trennphasenmaterial) ein Bruch oder eine Lücke entstehen. Das wirkt sich auf die Chromatographie aus. Die Säule wird dadurch irreversibel zerstört.

Regenerieren von Trennsäulen

Wenn Trennsäulen mit sauberen Eluenten betrieben und mit partikelfreien Proben beladen werden, so ist in der Regel eine sehr lange Lebensdauer zu erwarten. Eine Regeneration der Säule ist dann nicht erforderlich und nach einer Vielzahl von Injektionen auch nicht mehr möglich.

Falls dennoch unerwartet der Druck der Säule ansteigen oder die Trennleistung nachlassen sollte, dann können die zu jeder Säule angegebenen Regenerationsschritte durchgeführt werden. Generell ist zu beachten, dass die Regeneration ausserhalb der analytischen Linie stattfindet. Schliessen Sie die Trennsäule direkt an die Pumpe an. Leiten Sie die Regenerierlösung durch die Säule direkt in den Abfallbehälter. Bevor die Trennsäule wieder eingebaut wird, muss sie ausreichend mit frischem Eluenten gespült werden.

Stilllegen des Ionenchromatographen

Wenn Sie über längere Zeit (> 1 Woche) nicht mit dem Ionenchromatographen arbeiten, dann empfehlen wir, die Trennsäule auszubauen und mit den mitgelieferten Stopfen zu verschliessen. Spülen Sie den Ionenchromatographen inkl. aller drei Kammern des Suppressors mit Methanol/Wasser (1:4). Achtung: Spülen Sie auch alle drei Kammern des Suppressors. Lagern Sie die Trennsäule in dem auf dem Säulenmerkblatt verzeichneten Medium am besten zwischen 4 und 8 °C.

Wenn Sie das Gerät wieder in Betrieb nehmen, spülen Sie den Ionenchromatographen mit frischem Eluenten. Bringen Sie Trennsäule wieder auf Raumtemperatur, bevor Sie sie einbauen. Anschliessend ggf. die Temperatur erhöhen.

Spass

Ionenchromatographie soll Spass machen und nicht Ihre Nerven strapazieren. Metrohm setzt alles daran, dass Ihre IC-Systeme mit einem Minimum an Unterhalt, Wartung und Kosten zuverlässig arbeiten. Metrosep-Trennsäulen stehen für Qualität, lange Lebensdauer und ausgezeichnete Ergebnisse.

Umweltschutz

Ein grosser Vorteil der Ionenchromatographie ist, dass meistens mit wässrigen Medien gearbeitet wird. Die in der Ionenchromatographie verwendeten Chemikalien sind deshalb weitestgehend ungiftig und belasten die Umwelt nicht. Sofern Sie jedoch mit Säuren, Basen, organischen Lösungs-

mitteln oder Schwermetallstandards arbeiten, entsorgen Sie diese nach Gebrauch ordnungsgemäss.

Vorsäulen

Vorsäulen dienen dem Schutz der Trennsäulen. Ihre Verwendung wird dringend empfohlen. Sie enthalten in der Regel die gleiche stationäre Phase, die auch in den Trennsäulen verwendet wird. Um einen Einfluss auf die Chromatographie zu verhindern, ist die Menge jedoch deutlich geringer. Vorsäulen entfernen kritische Verunreinigungen, die mit dem Säulenmaterial reagieren könnten, zudem entfernen sie wirkungsvoll Partikel und bakterielle Verunreinigungen. Ersetzen Sie die Vorsäule in folgenden Fällen:

- wenn der Gegendruck im System ansteigt
- wenn sich die Chromatographie verschlechtert

Vorsäulen sind für alle Metrosep-Trennsäulen erhältlich. Wir empfehlen, die Vorsäule während der Lebensdauer der analytischen Säule drei- bis viermal zu ersetzen.

Wasserqualität

In der Ionenchromatographie wird vorwiegend mit wässrigen Medien gearbeitet. Die Wasserqualität ist deshalb ganz entscheidend für eine gute Chromatographie. Wenn die Wasserqualität ungenügend ist, so sind es die Ergebnisse definitiv auch. Zusätzlich besteht die Gefahr, dass Geräte und Trennsäulen durch ungenügende Wasserqualität beschädigt werden. Das verwendete Reinstwasser sollte einen spezifischen Widerstand grösser als 18.2 MΩ·cm aufweisen und partikelfrei sein. Wir empfehlen deshalb, das Wasser durch ein 0.45-µm-Filter zu filtrieren und mit UV zu behandeln. Moderne Reinstwasseranlagen für den Laborbedarf garantieren diese Wasserqualität (Typ I).

3 Eluentherstellung

Wir empfehlen, sowohl für die Standardherstellung als auch für die Eluentherstellung Chemikalien von hohem Reinheitsgrad zu wählen.

3.1 Chemikalien

Empfohlene Chemikalien

- Salpetersäure, HNO_3, 2 mol/L
  Sigma Aldrich Bestellnummer: 35278
- Rubidiumnitrat, $RbNO_3$, 99.7 %
  Sigma Aldrich Bestellnummer: 289299
- Reinstwasser vom Typ I (siehe ASTM D1193)
  Widerstand >18.2 MΩ·cm (25 °C)
  TOC < 10 µg/L

3.2 Herstellung des Standardeluenten

Um 2 L des Standardeluenten mit 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium herzustellen, gehen Sie wie folgt vor:

2 L Standardeluent herstellen

1
- Die Eluentenflasche mehrmals mit Reinstwasser vorspülen.
- 1.9 L Reinstwasser vorlegen.

2 Falls der Eluent nicht mit einem Eluent-Degasser entgast wird:
- Das Reinstwasser für den Eluenten mit einer Vakuumpumpe entgasen. Dadurch werden Probleme mit Luftblasen in der Hochdruckpumpe vermieden.

3 Eine Stocklösung von 1g/L Rubidium (=1000 ppm) herstellen:
- 86.27 mg des Rubidiumnitrat Salz abwägen
- in 50 mL Reinstwasser lösen

4 Eluenten herstellen:
- 100 µL der Rubidiumstocklösung in die Eluentenflasche pipettieren.
- 5 mL der 2 mol/L Salpetersäure in die Eluentenflasche pipettieren.
- Die Eluentenflasche mit Reinstwasser auf 2 L auffüllen.

- Kurz rühren.

Mit diesem Eluenten (5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium) und sequenzieller Suppression kann eine Hintergrundleitfähigkeit von < 0.3 µS/cm erreicht werden. Typischerweise beträgt das Rauschen weniger als 0.1 nS/cm.

4 Inbetriebnahme

4.1 Vorsäule anschliessen und spülen

Vorsäulen schonen die Trennsäulen und erhöhen deren Lebensdauer beträchtlich. Die bei Metrohm erhältlichen Vorsäulen sind entweder eigentliche Vorsäulen oder Vorsäulenkartuschen, welche zusammen mit einem Kartuschenhalter verwendet werden. Die Installation einer Vorsäulenkartusche in den zugehörigen Halter ist im Merkblatt der Vorsäule beschrieben.

HINWEIS

Metrohm empfiehlt, immer mit Vorsäulen zu arbeiten. Diese schützen die Trennsäulen und können bei Bedarf regelmässig ersetzt werden.

HINWEIS

Welche Vorsäule für Ihre Trennsäule geeignet ist, entnehmen Sie bitte dem **Metrohm IC-Säulenprogramm** (das über Ihre Metrohm-Vertretung erhältlich ist), dem mitgelieferten Merkblatt Ihrer Trennsäule, den Produktinformationen zur Trennsäule auf *http://www.metrohm.com* (Produktbereich Ionenchromatographie) oder lassen Sie sich direkt von Ihrer Vertretung beraten.

VORSICHT

Neue Vorsäulen sind mit Lösung gefüllt und beidseitig mit Stopfen oder Kappen verschlossen.

Stellen Sie vor dem Einsetzen der Vorsäule sicher, dass diese Lösung mit dem verwendeten Eluenten mischbar ist (Angaben des Herstellers beachten).

HINWEIS

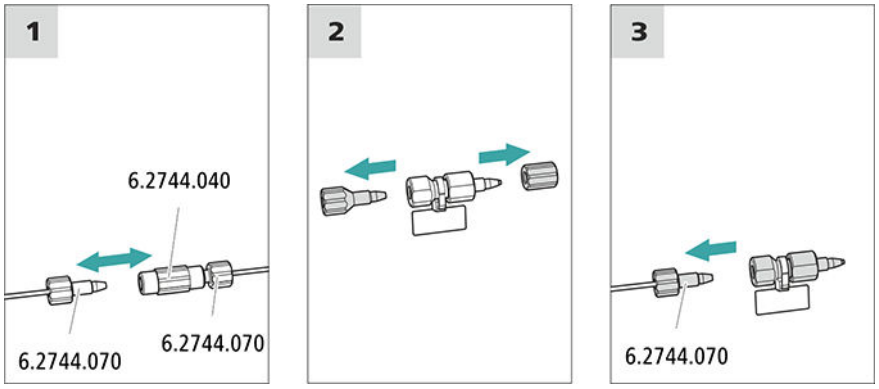
Die Vorsäule darf erst angeschlossen werden, nachdem das Gerät bereits einmal in Betrieb genommen wurde . Bis dahin müssen die Vorsäule und die Trennsäule durch eine Kupplung (6.2744.040) ersetzt werden.

Zubehör

Für diesen Arbeitsschritt brauchen Sie das folgende Zubehör:

- Vorsäule (passend zur Trennsäule)

Vorsäule anschliessen



1 Kupplung entfernen

Die Kupplung, die für die erste Inbetriebnahme zwischen der Säulen-Einlasskapillare und der Säulen-Auslasskapillare montiert wurde, entfernen.

2 Vorsäule vorbereiten

- Den Stopfen und die Verschlusskappe von der Vorsäule abnehmen.

3 Vorsäule anschliessen

VORSICHT

Achten Sie beim Einsetzen der Vorsäule immer darauf, dass diese gemäss der eingezeichneten Flussrichtung (wenn angegeben) richtig eingesetzt wird.

- Den Eingang der Vorsäule mit einer kurzen Druckschraube (6.2744.070) an der Säulen-Einlasskapillare befestigen.
- Falls die Vorsäule mit einer Verbindungskapillare an der Trennsäule angeschlossen wird, diese Verbindungskapillare mit einer Druckschraube am Ausgang der Vorsäule befestigen.

Vorsäule spülen

1 Vorsäule spülen

- Ein Becherglas unter den Ausgang der Vorsäule stellen.
- In MagIC Net die manuelle Bedienung starten und die Hochdruckpumpe auswählen: **Manuell ▶ Manuelle Bedienung ▶ Pumpe**
  - **Fluss**: **gemäss Säulenmerkblatt**
  - **Ein**
- Die Vorsäule ca. 5 Minuten mit Eluent spülen.
- In der manuellen Bedienung von MagIC Net die Hochdruckpumpe wieder stoppen: **Aus**.

4.2 Trennsäule anschliessen

Die intelligente Trennsäule (iColumn) ist das Herz der ionenchromatographischen Analyse. Sie trennt die unterschiedlichen Komponenten entsprechend ihrer Wechselwirkungen mit der Säule auf. Die Metrohm-Trennsäulen sind mit einem Chip ausgestattet, auf dem ihre technischen Spezifikationen und ihre Geschichte (Inbetriebnahme, Betriebsstunden, Injektionen usw.) abgespeichert sind.

HINWEIS

Welche Trennsäule für Ihre Applikation geeignet ist, entnehmen Sie bitte dem **Metrohm Säulenprogramm**, den Produktinformationen zur Trennsäule oder lassen Sie sich von Ihrer Vertretung beraten.

Die Produktinformationen zur Trennsäule finden Sie auf *http://www.metrohm.com* im Produktbereich Ionenchromatographie.

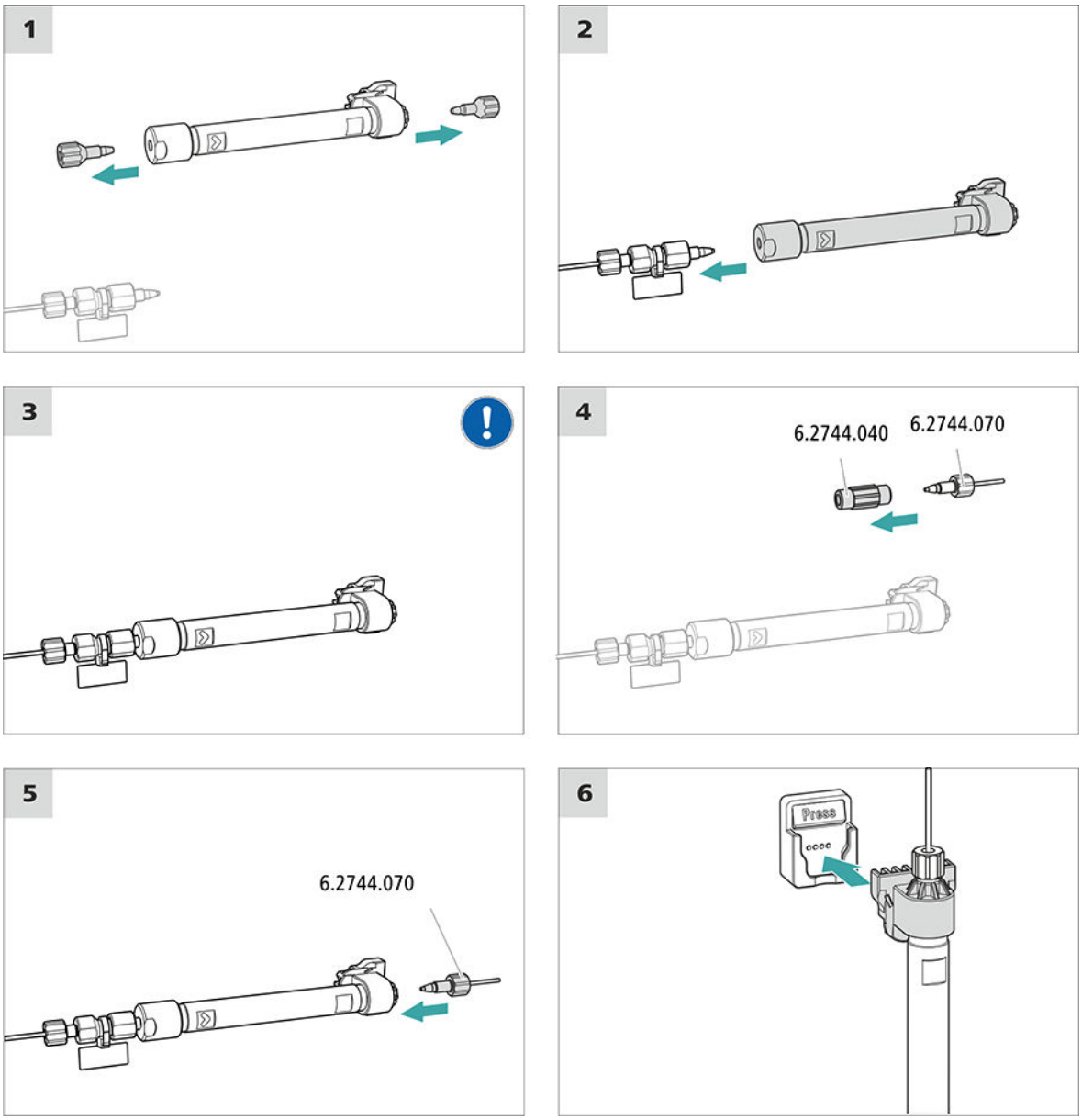
Die von Metrohm erhältlichen Trennsäulen und Vorsäulen finden Sie im Metrohm Säulenprogramm, oder im Internet unter *http://www.metrohm.com* im Produktbereich Ionenchromatographie. Jeder Säule liegt ein Testchromatogramm und ein Merkblatt bei. Detaillierte Informationen zu speziellen IC-Applikationen finden Sie in den entsprechenden "**Application Bulletins**" oder "**Application Notes**". Diese sind im Internet unter *http://www.metrohm.com* im Bereich Applikationen zu finden oder können bei der zuständigen Metrohm-Vertretung kostenlos angefordert werden.

VORSICHT

Neue Trennsäulen sind mit Lösung gefüllt und beidseitig mit Stopfen verschlossen. Stellen Sie vor dem Einsetzen der Säule sicher, dass diese Lösung mit dem verwendeten Eluenten mischbar ist (Angaben des Herstellers beachten).

HINWEIS

Schliessen Sie die Trennsäule erst während der ersten Inbetriebnahme des Gerätes an. Setzen Sie bis dahin anstelle der Vorsäule und der Trennsäule eine Kupplung (6.2744.040) ein.



Die Trennsäule wie folgt spülen.

Trennsäule anschliessen

1 Stopfen entfernen

- Die Stopfen von der Trennsäule abnehmen.

2 Eingang der Trennsäule montieren

VORSICHT

Achten Sie beim Einsetzen der Säule immer darauf, dass diese gemäss der eingezeichneten Flussrichtung richtig eingesetzt wird.

Es gibt drei Möglichkeiten:

- Das untere Ende der Trennsäule direkt auf die Vorsäule aufschrauben.
  oder
- Falls die Vorsäule mit einer Verbindungskapillare an der Trennsäule angeschlossen wird: Das untere Ende der Trennsäule mit der PEEK-Druckschraube (6.2744.070) an der Auslasskapillare der Vorsäule anschliessen.
  oder
- Falls keine Vorsäule verwendet wird (nicht empfohlen): Die Säulen-Einlasskapillare mit einer kurzen Druckschraube (6.2744.070) am Eingang der Trennsäule befestigen.

3 Trennsäule spülen

- Ein Becherglas unter den Ausgang der Trennsäule stellen.
- In MagIC Net die manuelle Bedienung starten und die Hochdruckpumpe auswählen: **Manuell ► Manuelle Bedienung ► Pumpe**
  - **Fluss**: **gemäss Säulenmerkblatt**
  - **Ein**
- Die Trennsäule ca. zehn Minuten mit Eluent spülen.
- In der manuellen Bedienung von MagIC Net die Hochdruckpumpe wieder stoppen: **Aus**.

4 Kupplung entfernen

- Die Kupplung (6.2744.040) von der Säulen-Auslasskapillare entfernen.

5 Ausgang der Trennsäule montieren

- Die Säulen-Auslasskapillare mit einer kurzen PEEK-Druckschraube (6.2744.070) am oberen Ende der Trennsäule befestigen.

6 Trennsäule einsetzen

- Die Trennsäule mit dem Chip im Säulenhalter einsetzen, bis sie hörbar einrastet.

Die Trennsäule wird jetzt von MagIC Net erkannt.

4.3 Konditionierung

In den folgenden Fällen muss das System so lange mit Eluent konditioniert werden, bis eine stabile Basislinie erreicht ist:

- nach der Installation
- nach jedem Einschalten des Gerätes
- nach jedem Eluentenwechsel

HINWEIS

Nach einem Eluentenwechsel kann sich die Konditionierzeit deutlich verlängern.

System konditionieren

1 Software vorbereiten

VORSICHT

Achten Sie darauf, dass die eingestellte Flussrate nicht höher ist als die für die entsprechende Säule zulässige Flussrate (siehe Säulenmerkblatt und Chip-Datensatz).

- Das PC-Programm **MagIC Net** starten.
- In MagIC Net die Registerkarte **Equilibrierung** öffnen: **Arbeitsplatz ► Ablauf ► Equilibrierung**.
- Eine geeignete Methode auswählen (oder erstellen).
  Siehe auch: *MagIC Net Bedienungslehrgang* und Online-Hilfe.

2 Gerät vorbereiten

- Sicherstellen, dass die Säule gemäss der auf dem Aufkleber eingezeichneten Flussrichtung richtig eingesetzt ist (Pfeil muss in Flussrichtung zeigen).
- Sicherstellen, dass der Eluent-Ansaugschlauch in den Eluenten eingetaucht ist und genügend Eluent in der Eluentenflasche vorhanden ist.

3 Equilibrierung starten

- In MagIC Net die Equilibrierung starten: **Arbeitsplatz ► Ablauf ► Equilibrierung ► Start HW**.

- Visuell kontrollieren, ob alle Kapillaren und deren Anschlüsse von der Hochdruckpumpe bis zum Detektor dicht sind. Wenn irgendwo Eluent austritt, dann die entsprechende Druckschraube stärker anziehen oder die Druckschraube lösen, das Kapillarende prüfen und ggf. mit dem Kapillarschneider kürzen und die Druckschraube wieder anziehen.

4 System konditionieren

Das System so lange mit Eluent spülen, bis die gewünschte Stabilität der Basislinie erreicht ist.

Das Gerät ist nun bereit für Messungen von Proben.

5 Applikationen

5.1 Standardchromatogramm

Probenvorbereitung: -

Detektion: Leitfähigkeit

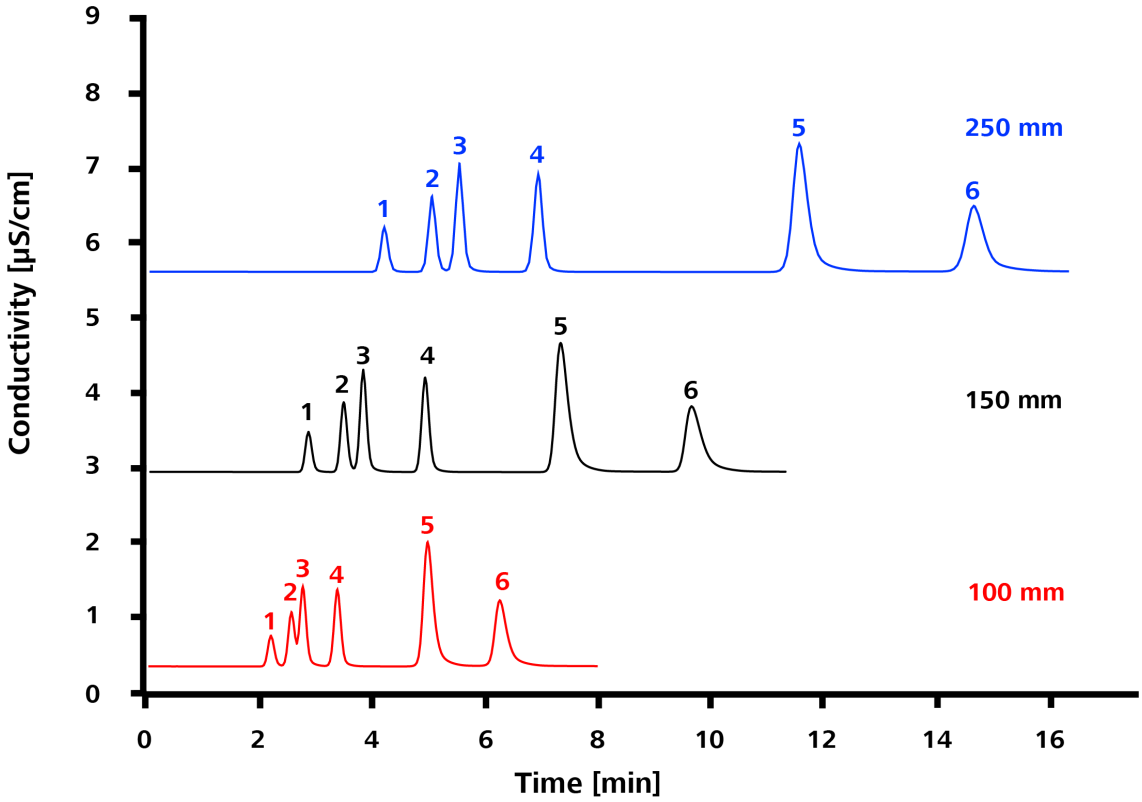
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent: 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium

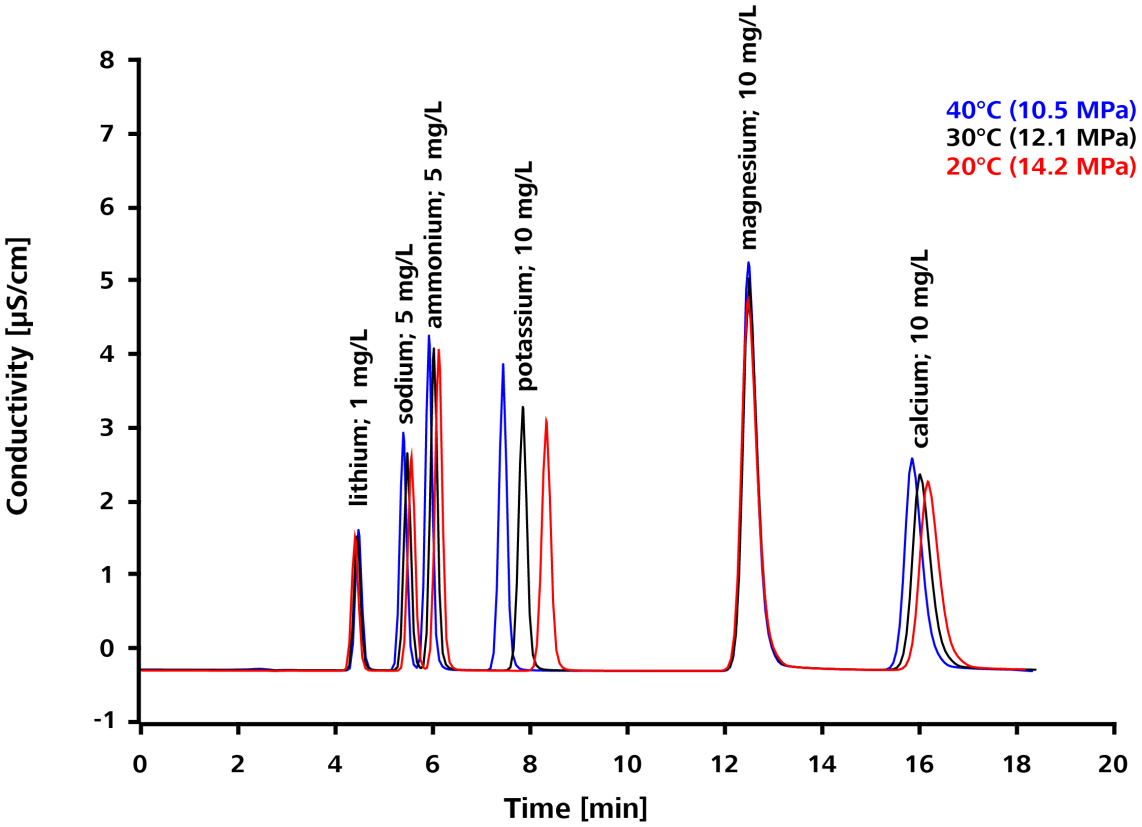


C Supp 1 - XX0/4.0	
1	1 mg/L Lithium
2	5 mg/L Natrium

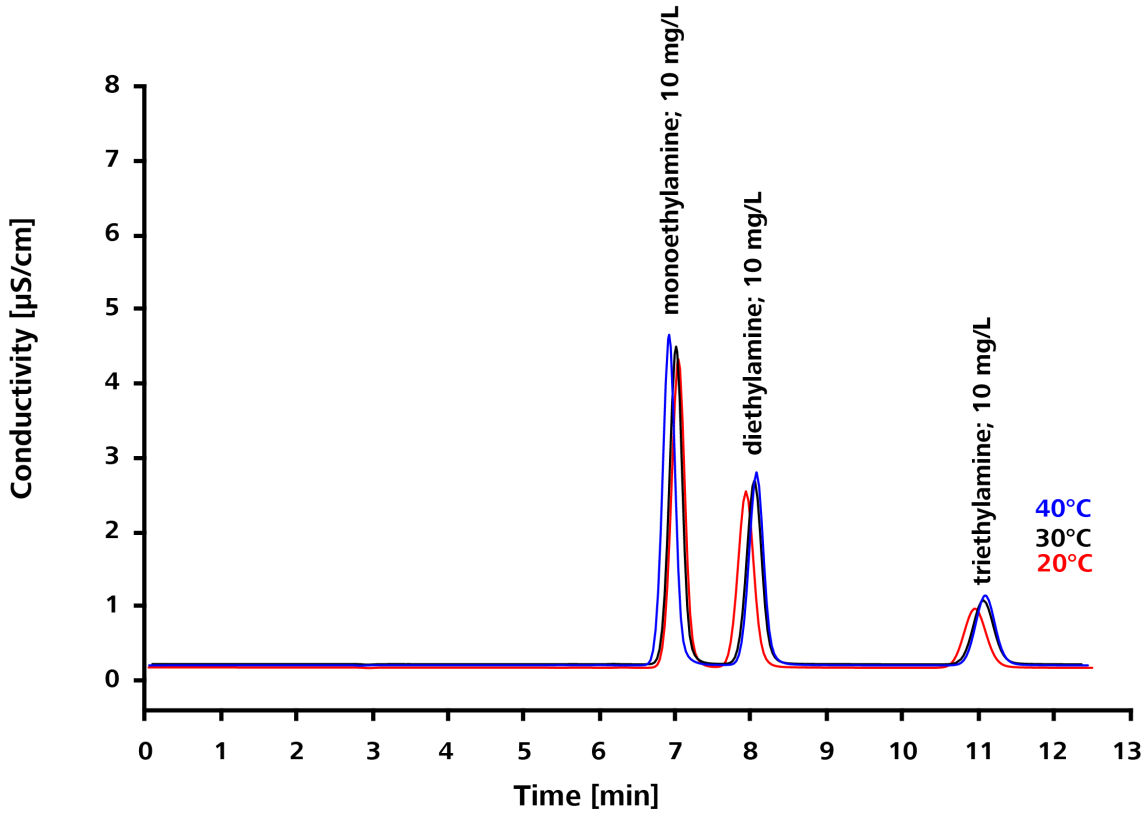
C Supp 1 - XX0/4.0	
3	5 mg/L Ammonium
4	10 mg/L Kalium
5	10 mg/L Magnesium
6	10 mg/L Calcium

5.2 Einfluss der Temperatur

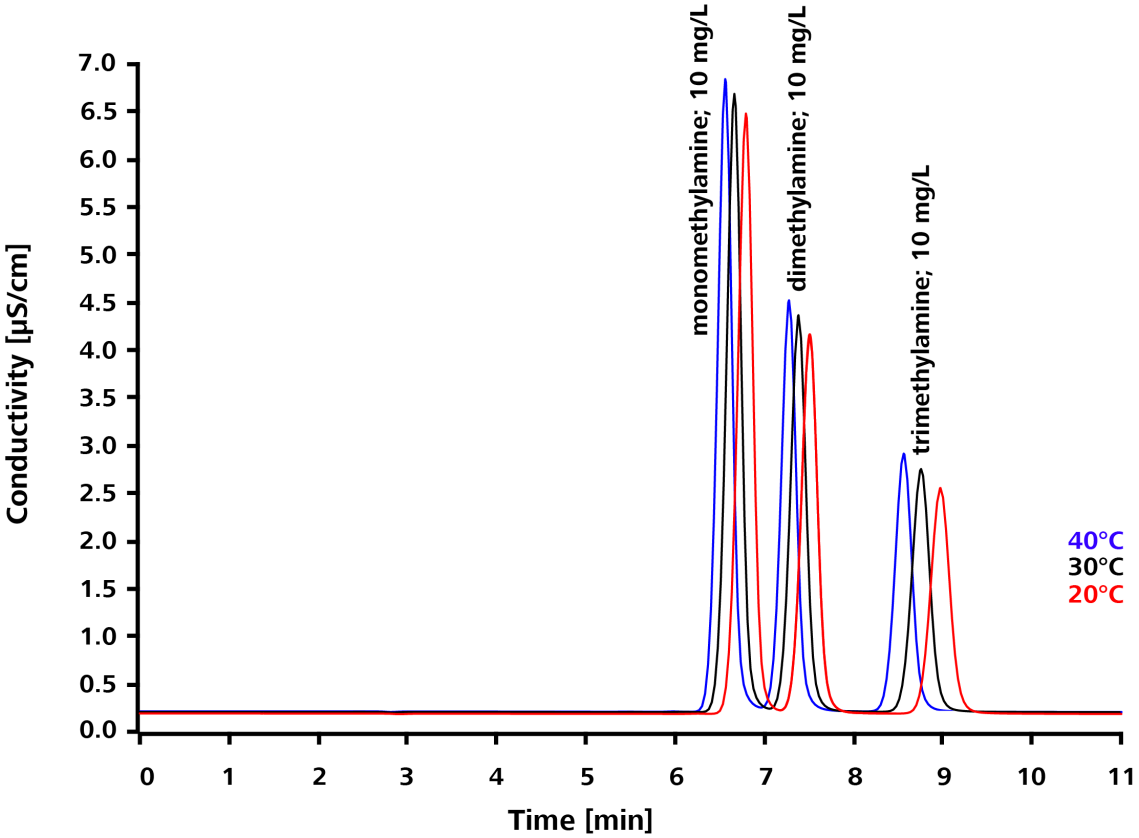
Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	-
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	20 bis 40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



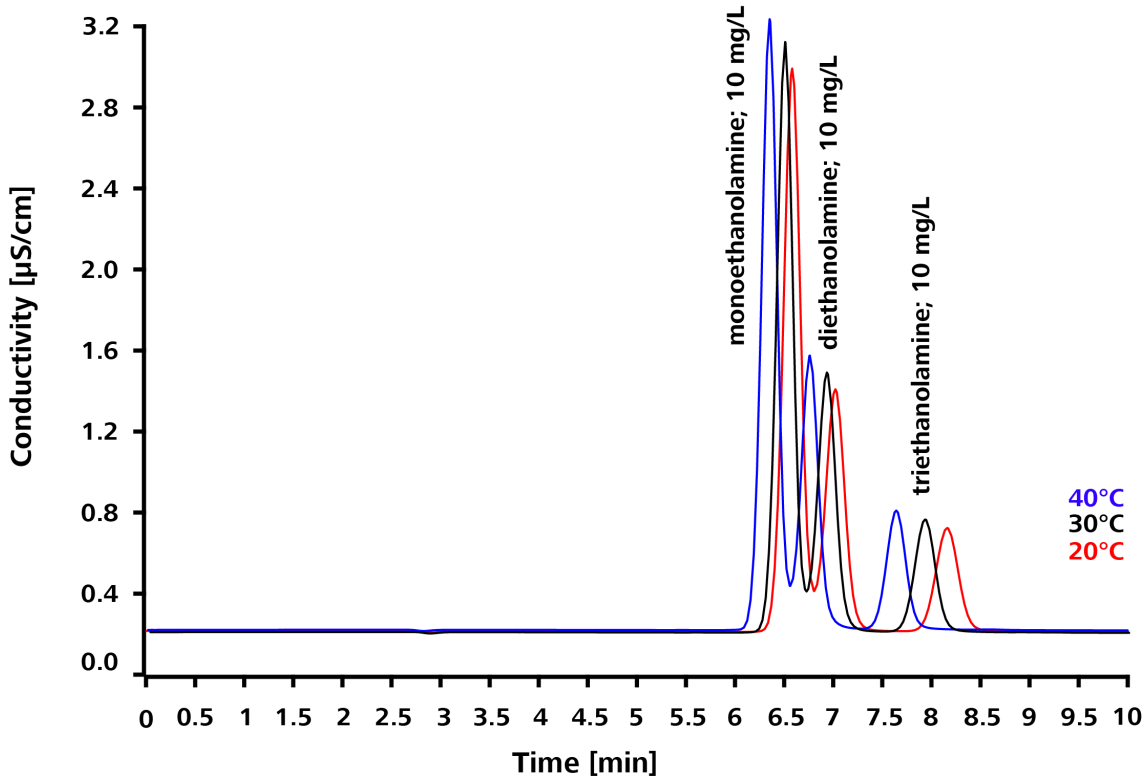
Monovalente Ionen haben mit höherer Temperatur kürzere Retentionszeiten, insbesondere Kalium.



Diethyl- und Triethylamin tendieren bei höheren Temperaturen zu leicht längeren Retentionszeiten, während das Ethylamin zu leicht kürzeren neigt.



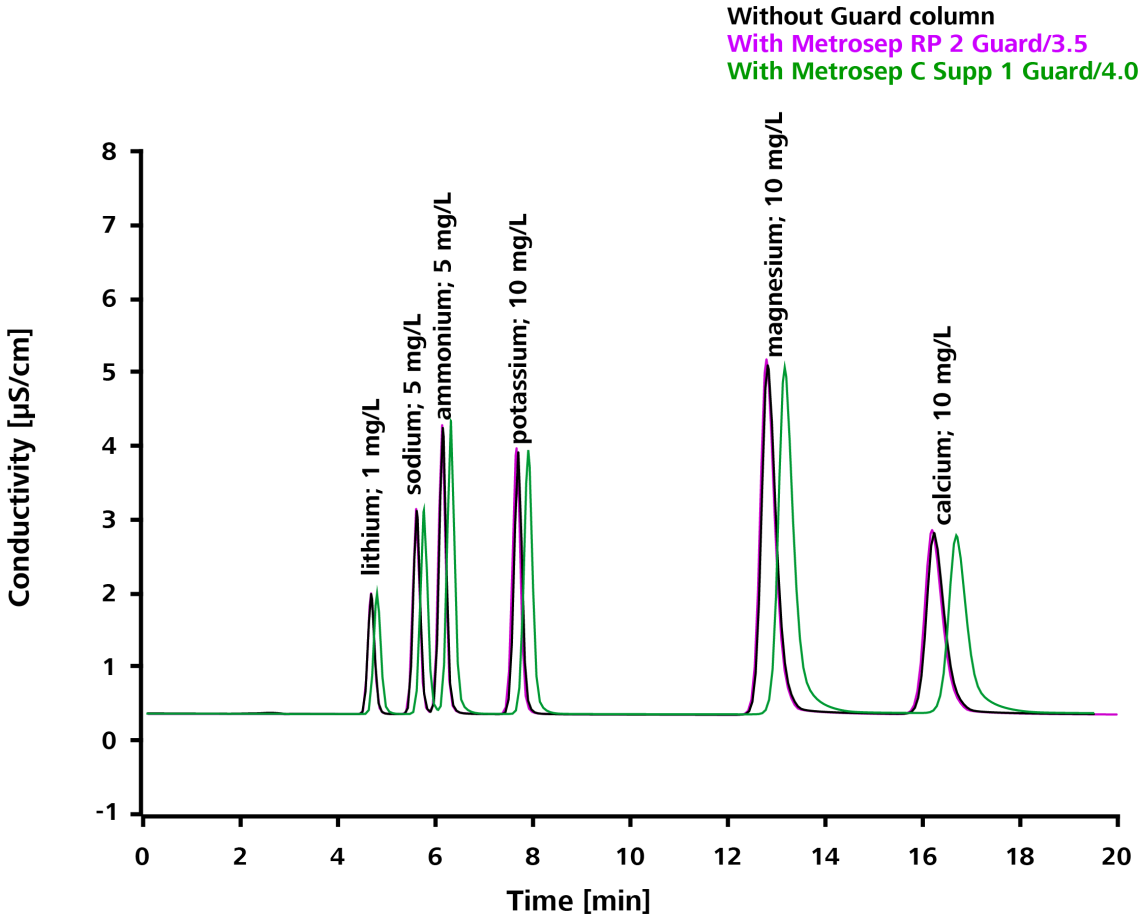
Mit höherer Temperatur ist eine leichte Verkürzung der Retentionszeiten der Metylamine zu beobachten.



Mit höherer Temperatur ist eine Verkürzung der Retentionszeiten der Ethanolamine zu beobachten.

5.3 Einfluss der Guard: RP 2 Guard vs C Supp 1 Guard

Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	-
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



Die Metrosep C Supp 1 Guard/4.0 erhöht die Kapazität leicht und hat somit etwas längere Retentionszeiten. Die Metrosep RP 2 Guard/3.5 hat keinen Einfluss auf die Trennung und zeigt gleiche Retentionszeiten wie eine Säule ohne Guard.

Die Metrosep RP 2 Guard/3.5 kann als alternative Guard eingesetzt werden, da kein Einfluss auf die Chromatographie zu beobachten ist.

5.4 Variation des Eluenten

Variation der HNO_3 Konzentration

Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	-
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	3.0, 5.0, 7.0 und 9.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium

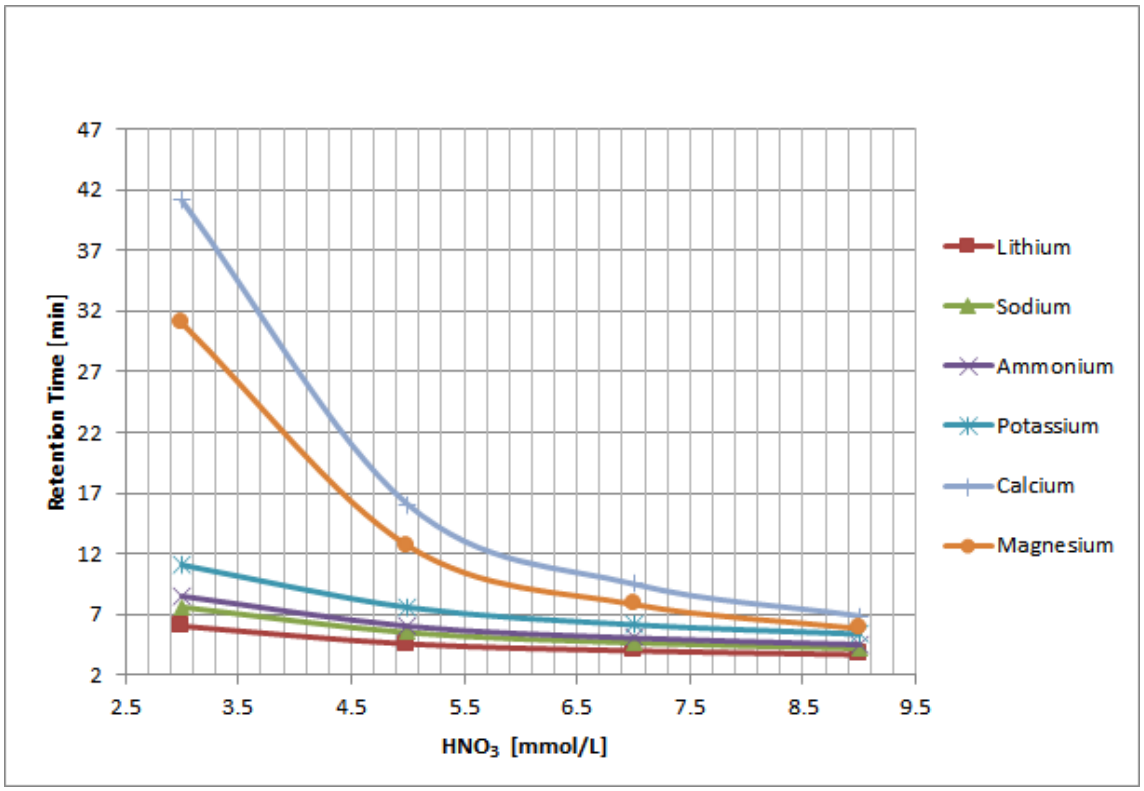


Abbildung 1 Salpetersäure-Variationen – Standardkationen

Mit stärkeren Eluenten werden mehrwertige Kationen wie Magnesium und Calcium überproportional zu den einwertigen beschleunigt.

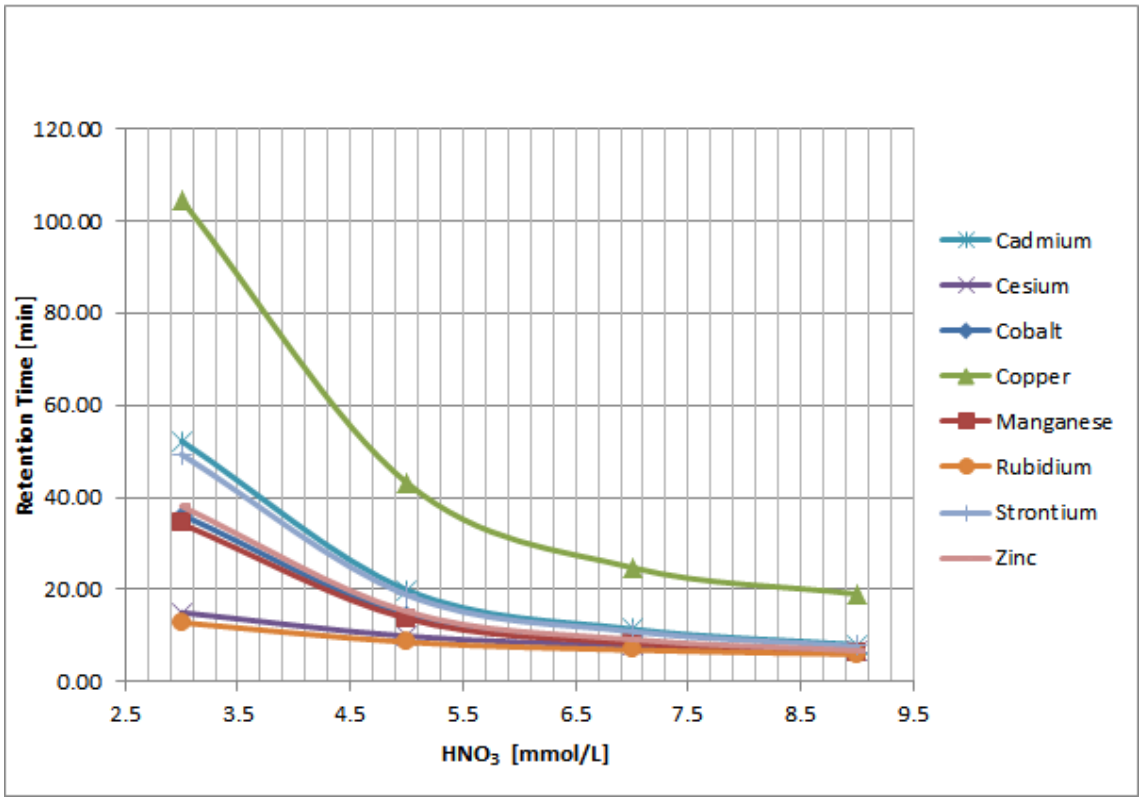


Abbildung 2 Salpetersäure-Variationen – Übergangsmetalle

Auch die Übergangsmetalle werden durch Erhöhung der Eluentenkonzentration stark beschleunigt. Kupfer eluiert als extrem breiter Peak. Mit einem 5 mmol/L HNO_3 Eluenten ist ein 10-mg/L-Kupferpeak etwa 20 Minuten breit.

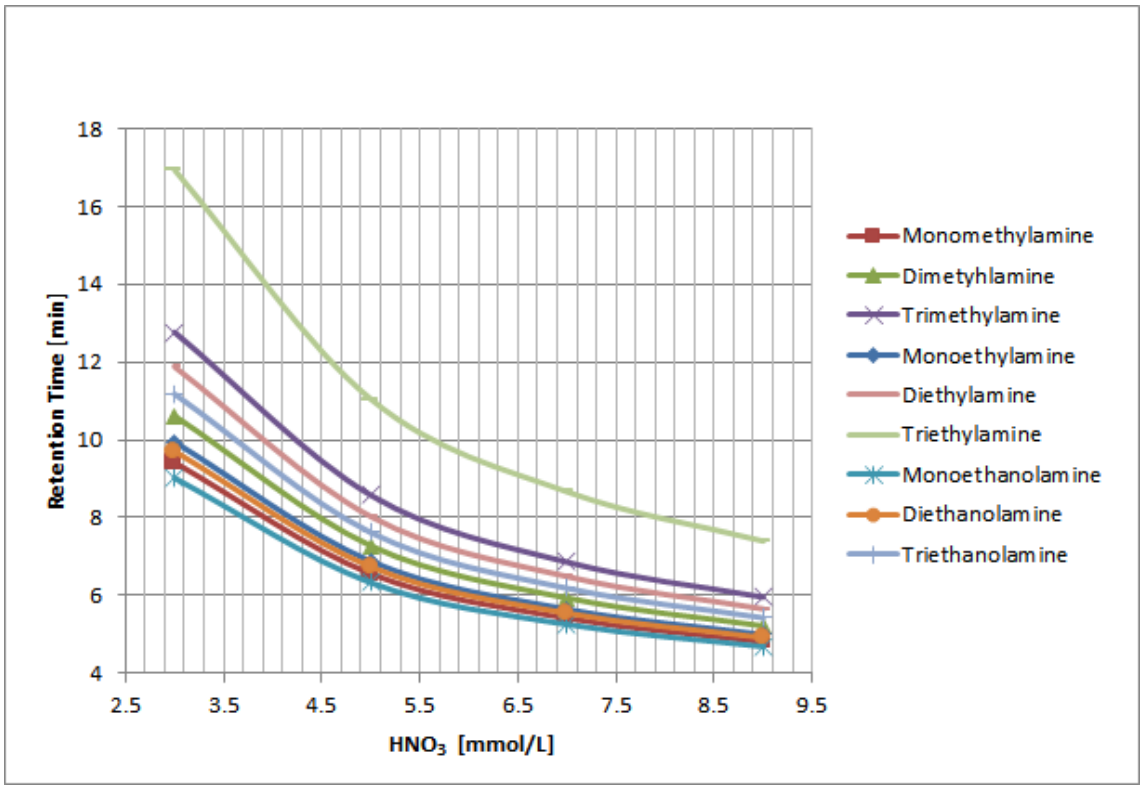


Abbildung 3 Salpetersäure-Variationen – Amine

Mit zunehmender Eluentenstärke nehmen die Retentionszeiten der Amine kontinuierlich ab.

Variation des organischen Modifiers Aceton

Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	-
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	Jeweils 0, 5, 10, 15, 20 Vol.-% Aceton, alle mit 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium

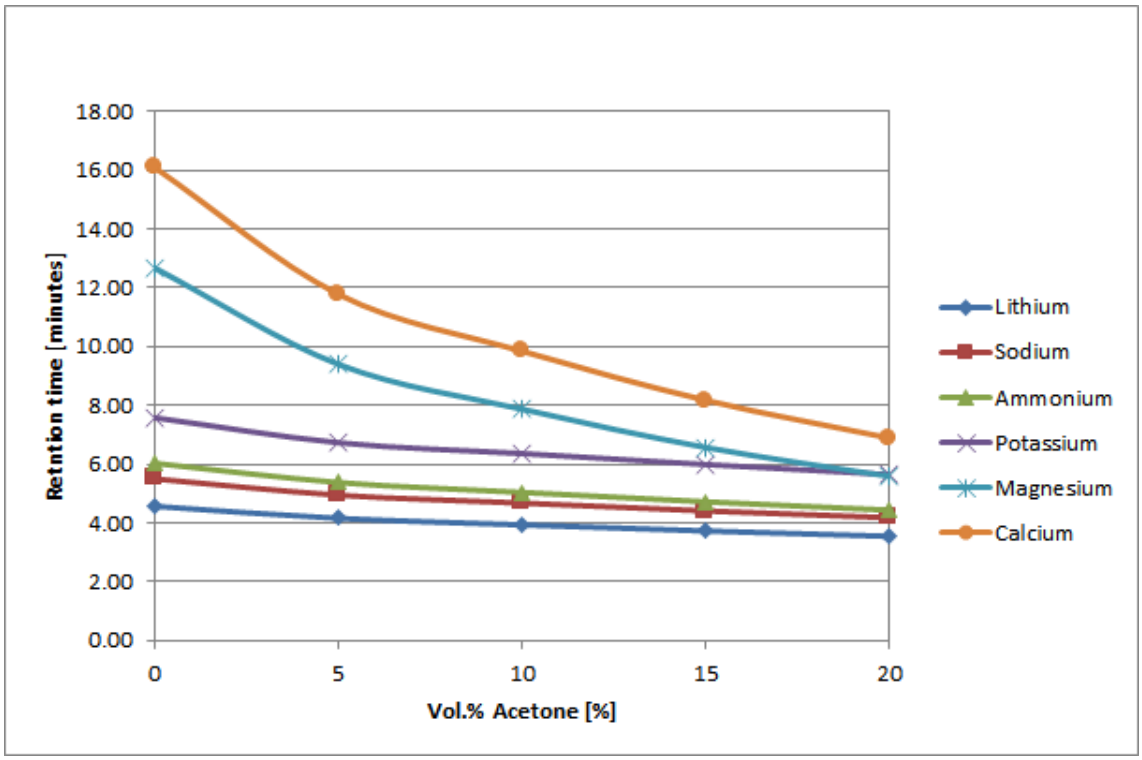


Abbildung 4 Aceton-Variationen – Standardkationen

Mit zunehmdem Acetonanteil werden mehrwertige Kationen wie Magnesium und Calcium überproportional zu den einwertigen beschleunigt.

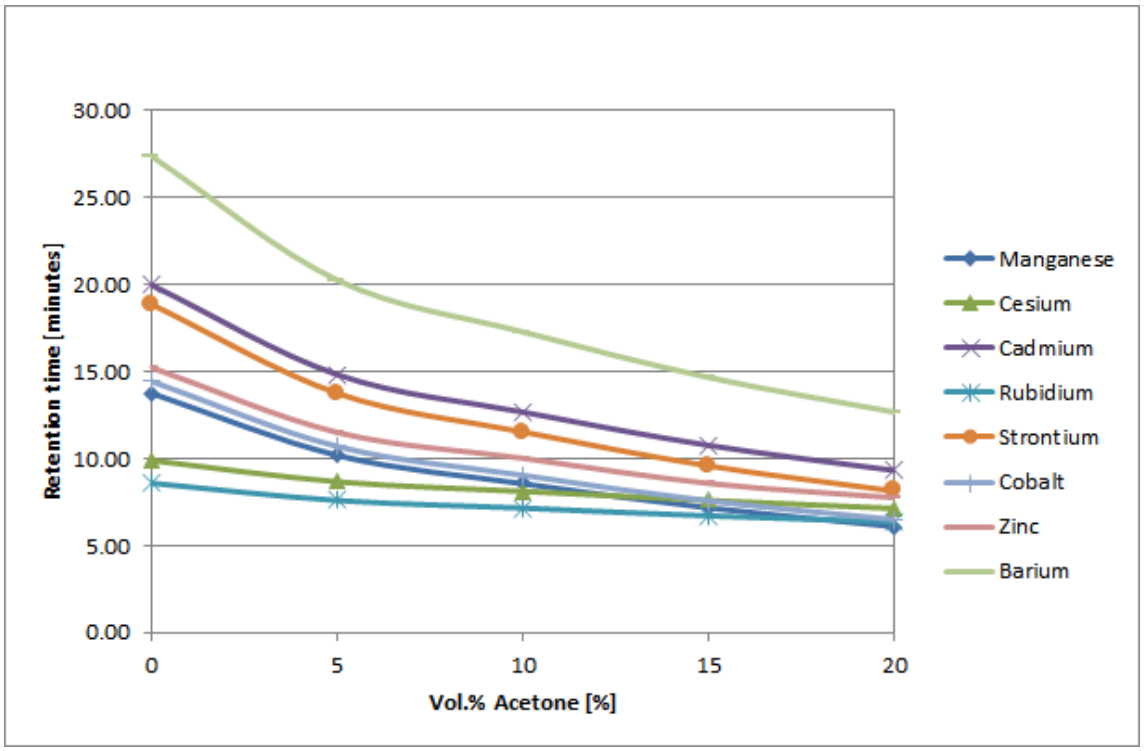


Abbildung 5 Aceton-Variationen – Übergangsmetalle

Auch die Übergangsmetalle werden durch Erhöhen des Acetonanteils überproportional stark beschleunigt.

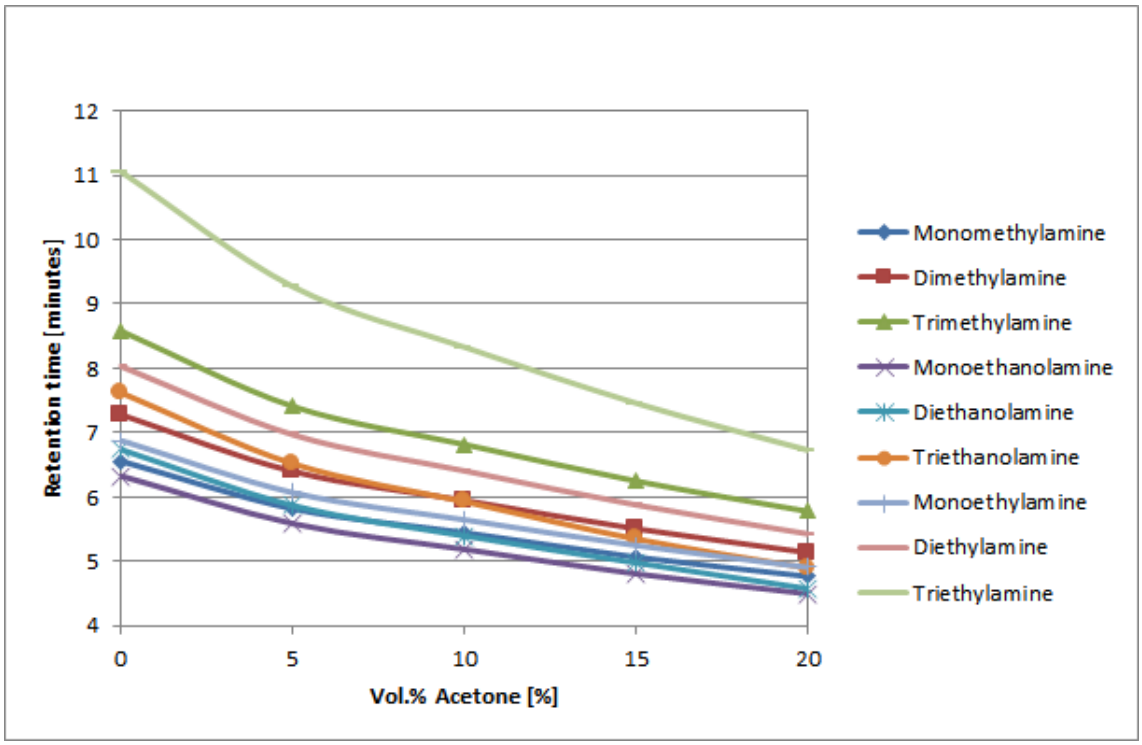


Abbildung 6 Aceton-Variationen – Amine

Mit zunehmender Acetonkonzentration nehmen die Retentionszeiten der Amine kontinuierlich ab. Triethanolamin und Dimethylamin als auch Monomethylamin und Diethanolamin beispielsweise tauschen die Retentionsreihenfolge.

Variation des organischen Modifiers Acetonitril

Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	-
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	0, 5, 10, 15, 20 Vol.-% Acetonitril, alle mit 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium

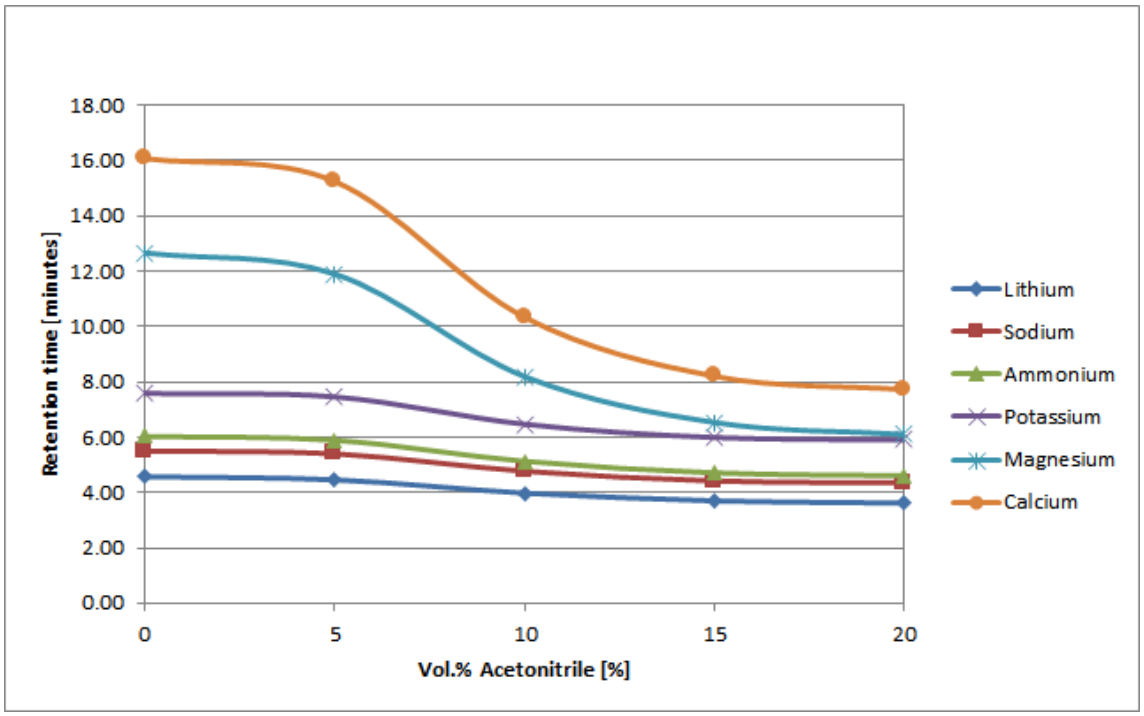


Abbildung 7 Acetonitril-Variationen – Standardkationen

Mit zunehmendem Acetonitrilanteil werden mehrwertige Kationen wie Magnesium und Calcium überproportional zu den einwertigen beschleunigt. Zwischen 15 und 20 % ist kein grosser Unterschied mehr festzustellen.

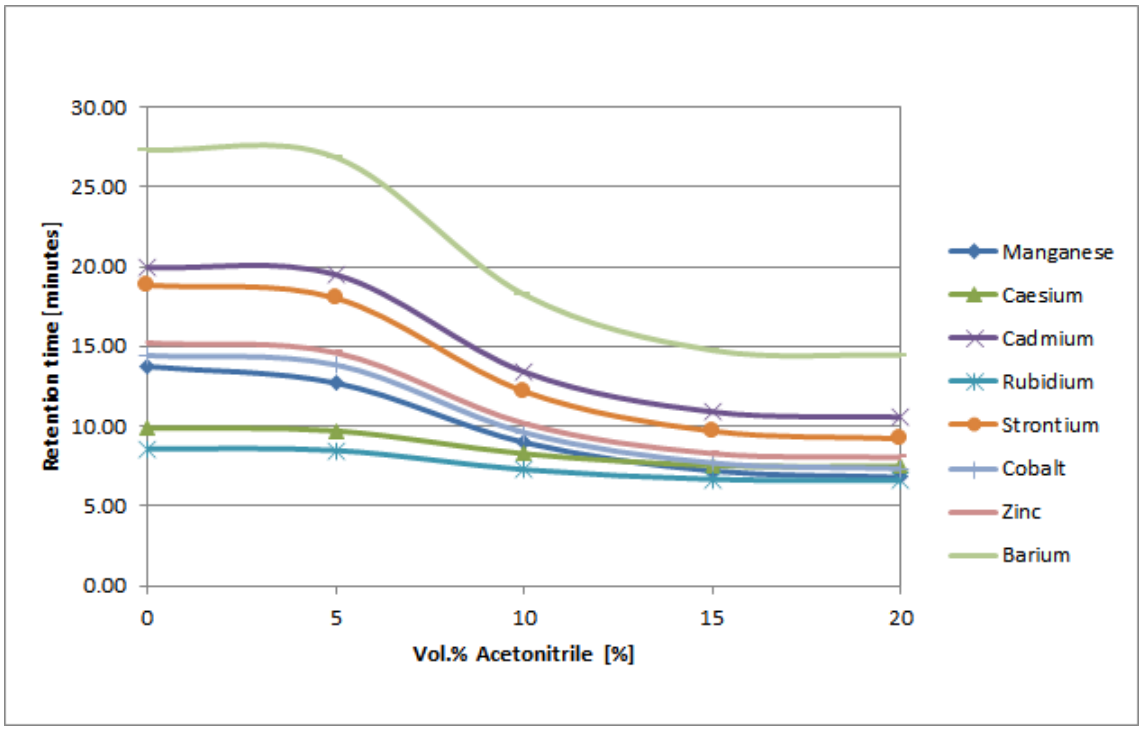


Abbildung 8 Acetonitril-Variationen – Übergangsmetalle

Mit zunehmendem Acetonitrilanteil werden auch die Übergangsmetalle überproportional beschleunigt. Zwischen 15 und 20 % ist kein grosser Unterschied mehr festzustellen.

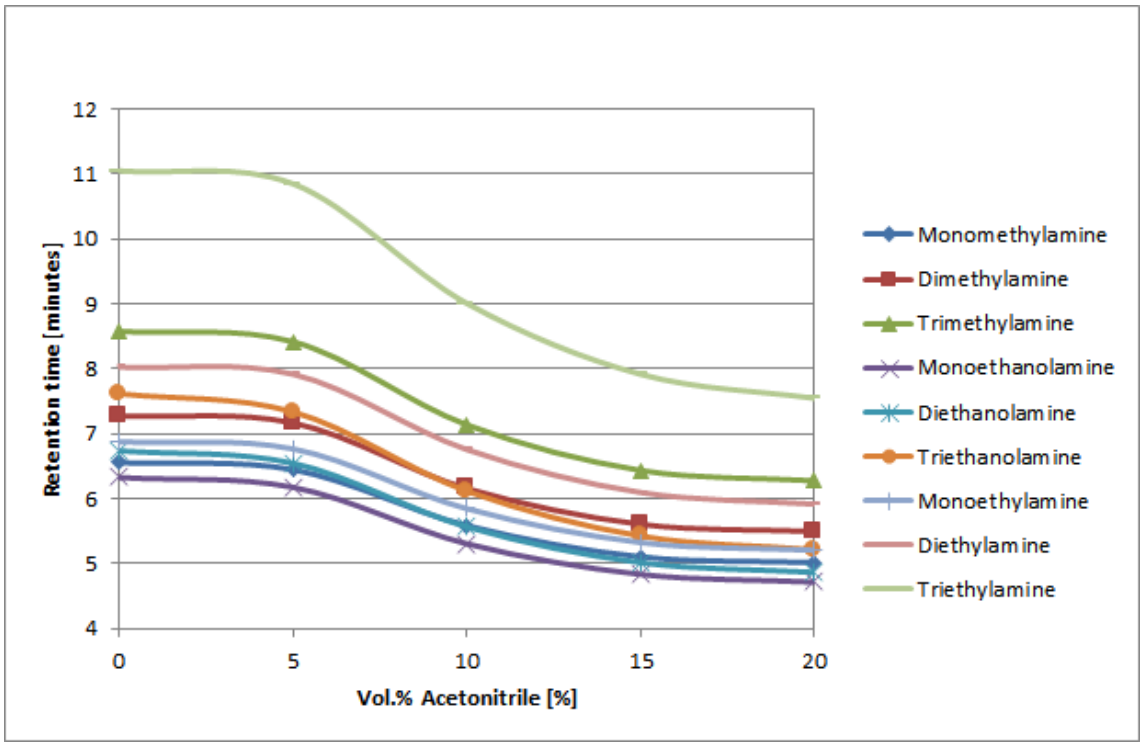


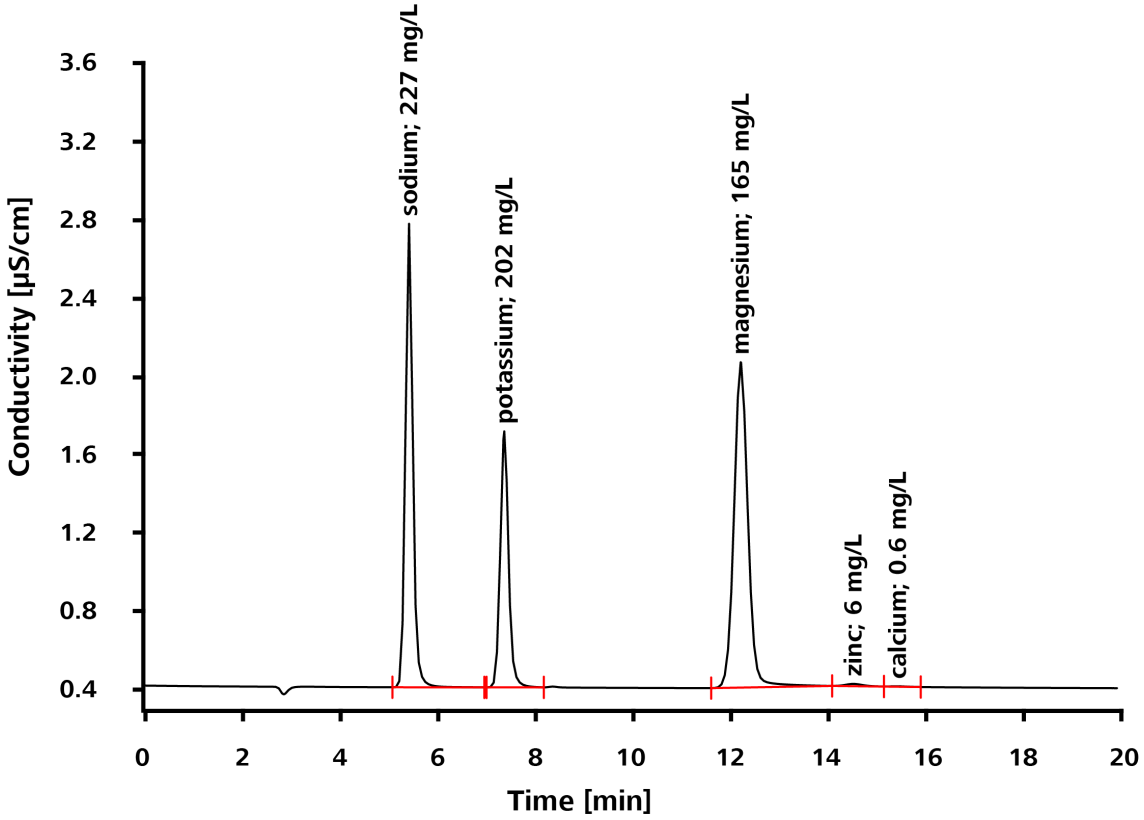
Abbildung 9 Acetonitril-Variationen – Amine

Mit zunehmender Acetonitrilkonzentration nehmen die Retentionszeiten der Amine ab. Wiederum sind es Triethanolamin und Dimethylamine als auch Monotheylamin und Diethanolamin welche die Retentionsreihenfolge tauschen.

5.5 Bestimmung von Spurenmetallgehalten in einem Magnesium-Sportgetränk

Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	1 Sachet à 4.5 g in 1L Reinstwasser gelöst und für 5 Minuten bei 30 mbar entgast. Anschliessend manuell 1:50 verdünnt.
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min

Eluent: 5.0 mmol/L Salpetersäure und 200 µg/L Rubidium



5.6 Ultraspurenanalyse von Lithium und Natrium in Kernkraftwerksproben mit Monoethanolamin-Matrix

Säule Metrosep C Supp 1 - 250/4.0

Probenvorbereitung: Inline-Matrixeliminierung und Inline-Anreicherung mit Metrosep C PCC 1 HC/4.0 (6.1010.310)

Detektion: Leitfähigkeit

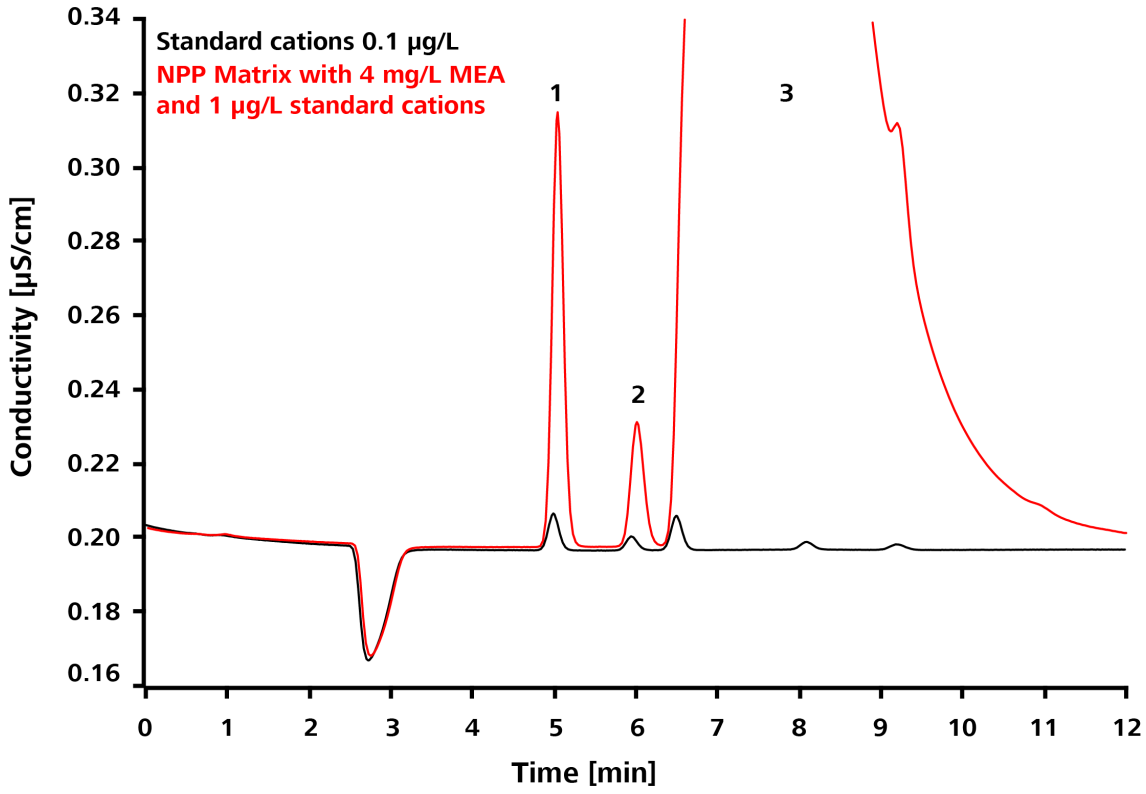
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

Loop: 2000 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent: 4.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0	Standardkationen (schwarz)	Kernkraftwerk (NPP) Matrix (rot)
1	Lithium	0.1 µg/L	1.0 µg/L
2	Sodium	0.1 µg/L	1.0 µg/L
3	Monoethanolamin (MEA)	0 mg/L	4 mg/L

5.7 Spurenanalyse der Standardkationen und Mangan, Zink und Monoethanolamin

Säule Metrosep C Supp 1 - 250/4.0

Probenvorbereitung: Inline-Matrixeliminierung und Inline-Anreicherung mit Metrosep C PCC 1 HC/4.0 (6.1010.310)

Detektion: Leitfähigkeit

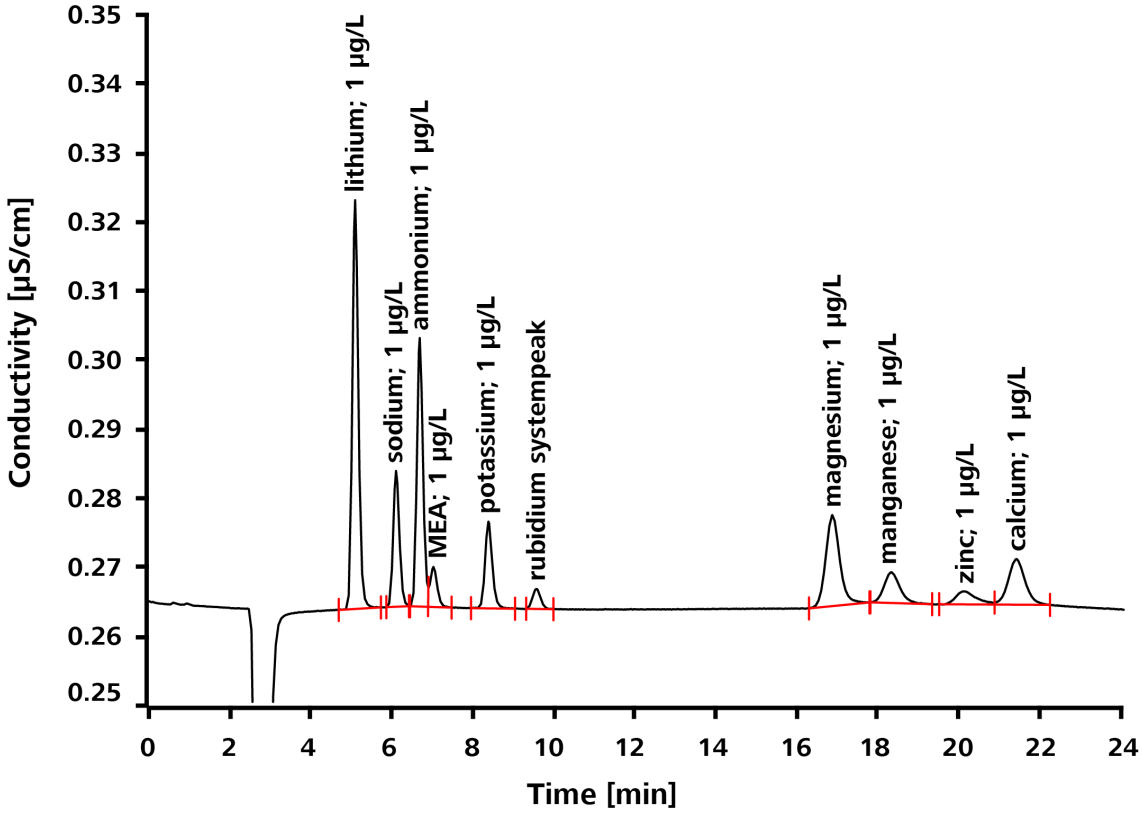
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

Loop: 1000 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent: 4.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



5.8 Bestimmung von aliphatischen Aminen

Säule Metrosep C Supp 1 - 250/4.0

Probenvorbereitung: -

Detektion: Leitfähigkeit

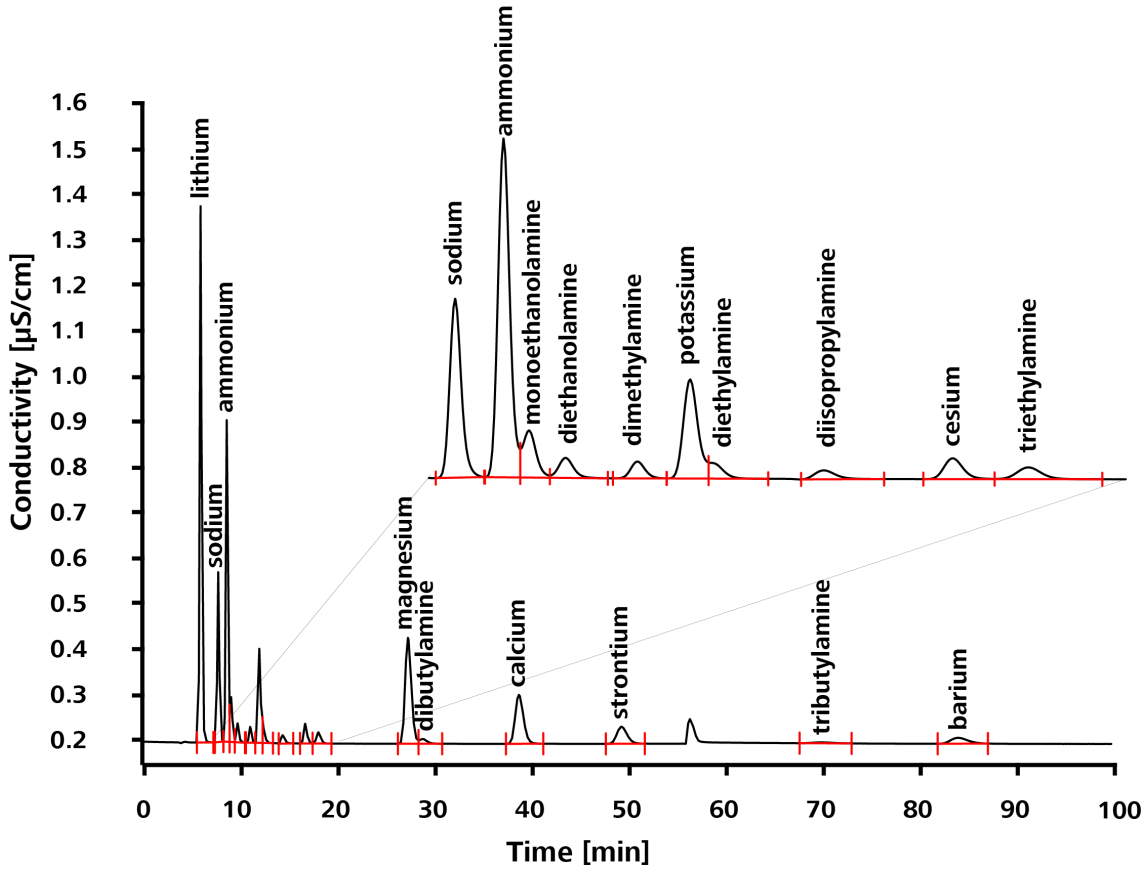
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

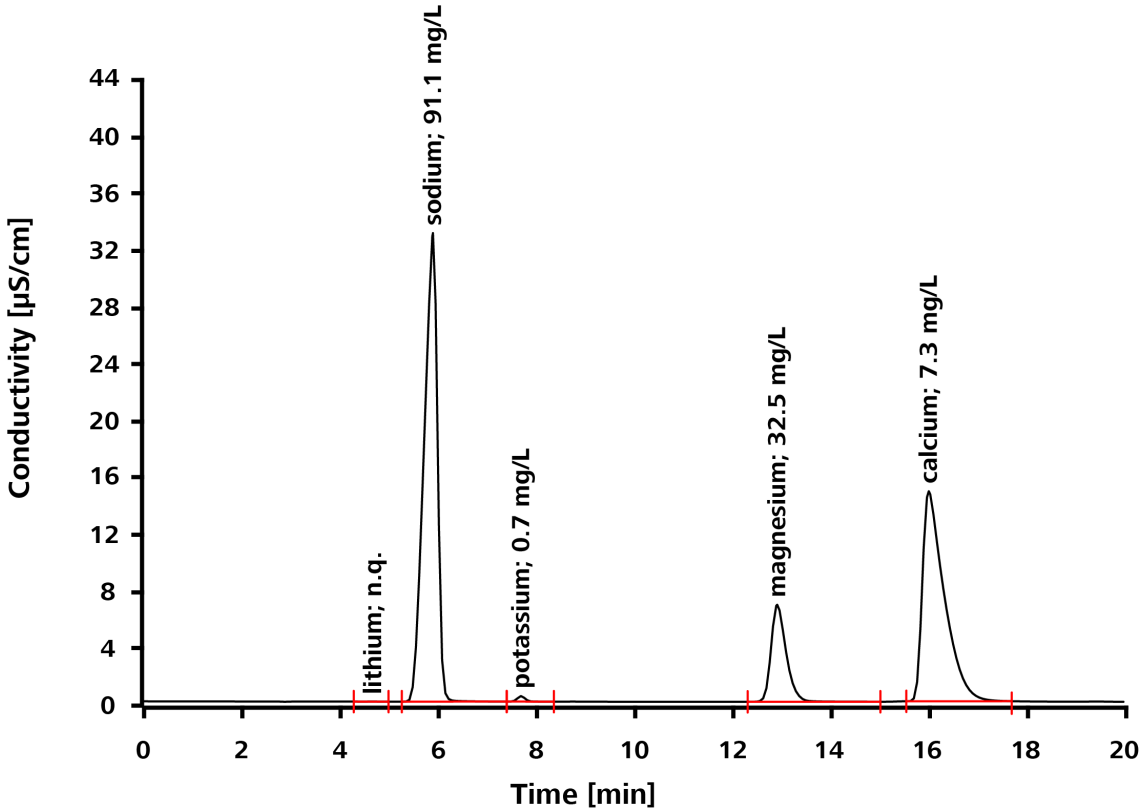
Flussrate: 0.4 mL/min

Eluent: 2.5 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium, 7.5 % (v/v) Acetonitril



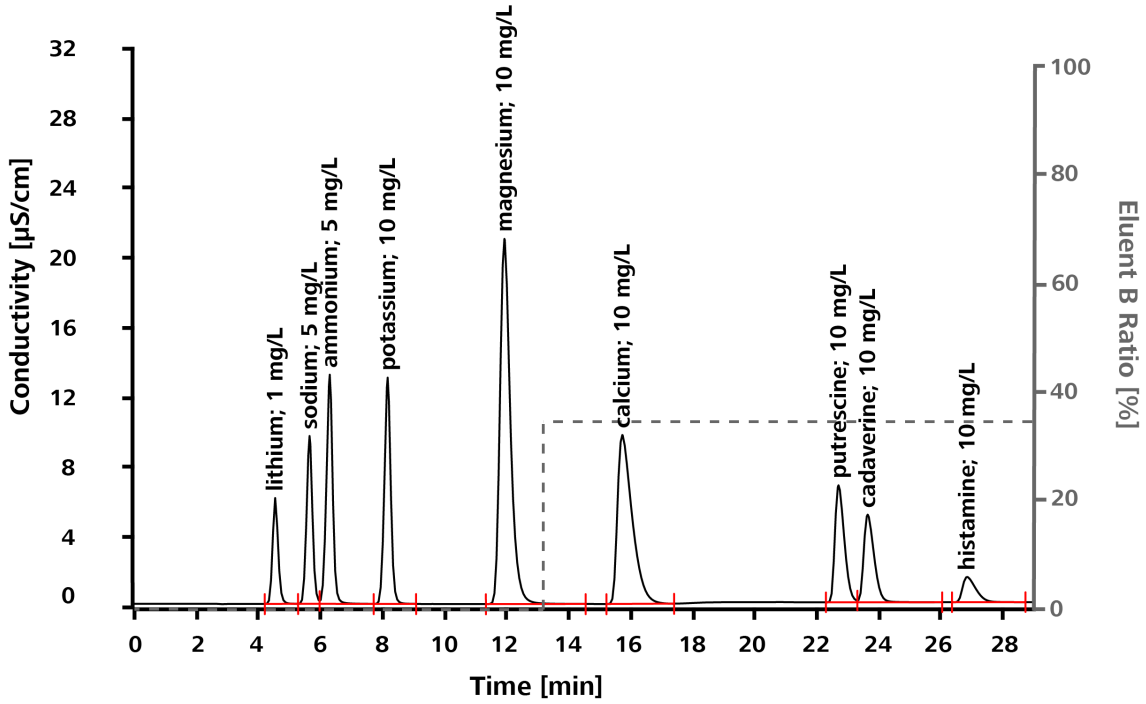
5.9 Analyse von Leitungswasser

Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	-
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



5.10 Bestimmung der biogenen Amine neben den Standardkationen

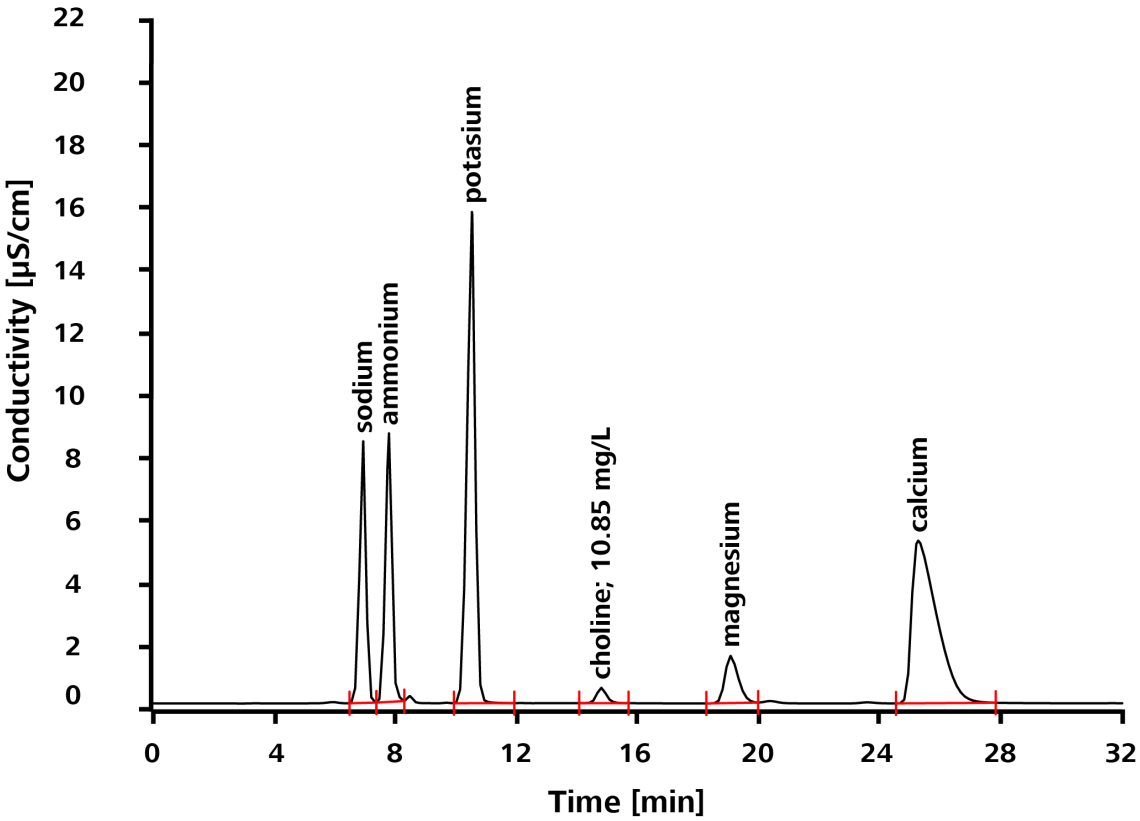
Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	-
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	Dose-in Gradient: Eluent A: 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium Eluent B: 25.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



Durch den Dose-in Gradient kann die Retentionszeit der biogenen Amine stark verkürzt werden. Unter Standardbedingungen mit 5 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium eluiert Putrescin bei 45 Minuten, Cadaverin bei 51 Minuten und Histamine erst bei 71 Minuten.

5.11 Bestimmung von Choline in Babynahrung

Säule	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
Probenvorbereitung:	Analog zur Norm AOAC 2012.20
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
Temperatur:	40 °C
Loop:	20 µL
Flussrate:	1.0 mL/min
Eluent:	4.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



Berechnet auf die Probeneinwaage beträgt der Cholingehalt 82 mg/100 g Milchpulver.

6 Problembehandlung

6.1 Regeneration

VORSICHT

Die Säule nicht präventiv regenerieren!

Jede Regeneration bedeutet Stress für die Trennsäule und verkürzt ihre Lebensdauer *siehe "Regenerieren von Trennsäulen", Seite 5*.

Problem

- Der Rückdruck steigt an.
- Doppelpeaks treten auf.
- Tailing-Effekte treten auf.
- Die Retentionszeiten verkürzen sich.
- Die Auflösung verschlechtert sich.

Behebung

Trennsäule regenerieren

Wenn oben genannte Probleme auftreten, dann zuerst die Vorsäule ersetzen. Erst wenn diese Massnahme nicht hilft, die Trennsäule wie folgt regenerieren.

1 Trennsäule vom IC-System trennen

- Den Ausgang der Trennsäule vom Eingang des Suppressors oder des Detektors trennen.
  Den Flüssigkeitsstrom in einem Becherglas auffangen.

2 Trennsäule regenerieren

Je nach Art der Verunreinigung muss die Trennsäule unterschiedlich regeneriert werden:

Tabelle 3 Organische Verunreinigungen

	Spülen mit	Richtung	Dauer [min]	Flussrate [mL/min]
1	Reinstwasser	gegen Flussrichtung	60	1
2	Acetonitril-Wasser Gemisch (30:70)	gegen Flussrichtung	60	1

	Spülen mit	Richtung	Dauer [min]	Flussrate [mL/min]
3	Reinstwasser	gegen Flussrichtung	60	1

Tabelle 4 Anorganische Verunreinigungen

	Spülen mit	Richtung	Dauer [min]	Flussrate [mL/min]
1	Standardeluent mit 30 % Aceto-nitril	gegen Flussrichtung	60	1

6.2 Abnehmende Auflösung / Peakformen

Problem

Die Auflösung der Peaks verschlechtert sich oder die Peakformen sind asymmetrisch.

Ursachen und Vermeidung

Ursachen	Vermeidung / Behebung
Die Trennsäule wurde überladen	Die Trennsäule kann z. B. durch hohe Salzgehalte in der Probenmatrix überladen werden. ▪ Probe verdünnen. ▪ Weniger Probe injizieren.
Im IC-System besteht Totvolumen	▪ Überprüfen, ob alle Kapillaren einen Durchmesser von ≤ 0.25 mm (6.1831.010) besitzen. Falls nicht, grössere Kapillaren ersetzen. ▪ Überprüfen, ob alle Kapillaren korrekt installiert wurden. Im Multi Media Guide IC Maintenance wird die Installation Schritt für Schritt gezeigt.

6.3 Instabile Retentionszeiten

Problem

Die Retentionszeiten sind instabil.

Ursachen und Vermeidung

Ursachen	Vermeidung / Behebung
Luftblasen im Eluenten	Der Fluss des Eluenten wird durch Luftblasen instabil. Ein instabiler Fluss zeigt sich u. a. am Rückdruck. Der Rückdruck sollte innerhalb von ±0.5 MPa stabil bleiben. ▪ Die Hochdruckpumpe entlüften. ▪ Den Eluent-Degasser einsetzen.

6.4 Unbekannte Peaks

Problem

Das Chromatogramm enthält breitere, unbekannte Peaks.

Ursachen und Vermeidung

Ursachen	Vermeidung / Behebung
Spät eluierende Analyten	Etwas breitere unbekannte Peaks können durch spät eluierende Probenkomponenten entstehen. Diese stammen in diesen Fällen aus der vorhergehenden Injektion. ▪ Chromatogrammdauer verlängern.

6.5 Steigender Rückdruck

Problem

Der Rückdruck steigt an.

Ursachen und Vermeidung

Ursachen	Vermeidung / Behebung
Partikel auf der Vorsäule	▪ Vorsäule ersetzen.
Partikel auf der Trennsäule	Die Trennsäule gegen die Flussrichtung spülen. ▪ Den Säulenauslass in ein Becherglas halten. ▪ Die Trennsäule während ca. 1 h spülen. ▪ Die Trennsäule in Flussrichtung wieder einbauen.

Ursachen	Vermeidung / Behebung
Partikel in der Probe	▪ Probenvorbereitung, z. B. Partikel entfernen durch Inline-Ultrafiltration.

7 Literatur

Wir empfehlen folgende Literatur zur Vertiefung:

- Broschüre Kationensuppressor in der Ionenchromatographie, 8.000.5163
- Säulenkatalog, 8.000.5117
- Application Note CS-001 Reproducibility of standard cations with suppressed cation chromatography at 10 µg/L
- Application Note CS-002 Linearity of ammonium with suppressed cation chromatography
- Application Note CS-003 Determination of biogenic amines with suppressed conductivity detection applying a Dose-in gradient
- Application Note CS-004 Determination of choline in baby milk powder
- Application Note CS-005 Determintion of tetrabutylammonium in Atorvastatin calcium

Index

B
Basislinie
Konditionieren 16
Bestellnummer 1

E
Eluent 7
Equilibrierung 15

F
Flussrate 2

I
IC-Säule
siehe "Trennsäule" 11
Installation
Trennsäule 11
Vorsäule 9

K
Konditionieren 16

S
Säule
siehe "Trennsäule" 11
Spezifikation 1
Spülen
Trennsäule 14
Vorsäule 11

T
Trennsäule
Installation 11
Spülen 14

V
Vorsäule
Installation 9
Spülen 11