



Application Note AN-M-013

Chromspeziation mittels IC-ICP-MS

Analyse von Cr(III) und Cr(VI) in Wasser mittels Metrohm IC gekoppelt mit Agilents ICP-MS, vollständig betrieben in ICP-MS MassHunter

Die Unterscheidung zwischen dreiwertigem (Cr(III)) und sechswertigem Chrom (Cr(VI), Chromat) ist aufgrund ihrer gegensätzlichen toxikologischen Profile von entscheidender Bedeutung. Cr(III) ist ein essentieller Nährstoff für den Glucose- und Fettstoffwechsel, während Cr(VI) selbst in geringen Mengen hochgiftig und krebserregend ist [1,2]. Daher ist die Bestimmung des Gesamtchromgehalts allein für eine genaue Risikobewertung oft nicht

ausreichend. Zur Unterscheidung zwischen diesen beiden Spezies wurden verschiedene Analyseverfahren entwickelt. Neben der Ionenpaarchromatographie auf C8- oder C18-Säulen [3] hat sich die Kopplung der Ionenchromatographie (IC) mit der Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit und Präzision durchgesetzt. In dieser Application Note ist der in der ISO 24384 [4]

beschriebene Ansatz mit einer EDTA-chelatierenden Behandlung, einer anschließenden Trennung von Cr(III) und Cr(VI) durch Anionenaustauschchromatographie und einer Massendetektion mittels ICP-MS dargestellt. Die Einbindung des Metrohm ICs in die ICP-MS-Software

MassHunter von Agilent über den Metrohm IC-Treiber optimiert den Prozess, spart Zeit und erhöht die Effizienz und Sicherheit des gesamten Analyseverfahrens.

PROBEN UND PROBENVORBEREITUNG

Die Proben (Leitungswasser aus Herisau, Schweiz) und Standards (von 0,1 bis 20 µg/L Cr(III) und Cr(VI)) wurden wie in ISO 24384 [4] beschrieben vor der Analyse mit IC-ICP-MS mittels einer Komplexierung vorbereitet.

Als Chelatbildner wurde eine 0,025 mol/L EDTA-Lösung verwendet (9,31 g Ethylendiamin-N,N,N',N'-tetraessigsäure-Dinatriumsalz (Supelco) in 1000 mL Reinstwasser (UPW)). Es wurden 2 mL der EDTA-Lösung in einen 20-mL-Messkolben überführt und

dann bis zur Markierung mit den jeweiligen Standardvolumina der 100-µg/L-Stammlösungen für Cr(III) (hergestellt aus Chrom(III)-chloridhexahydrat, Sigma-Aldrich), Cr(VI) (hergestellt aus Chromatstandard für IC, Supelco) und UPW oder Probenlösung aufgefüllt. Der pH-Wert wurde mit Salpetersäure oder Natriumhydroxid auf $\text{pH } 6,9 \pm 0,1$ eingestellt. Nach vorsichtigem Mischen wurden die Lösungen in Reagenzgläser mit Schraubverschluss gefüllt und 60 Minuten lang bei $70 \pm 3^\circ\text{C}$ erhitzt.

DURCHFÜHRUNG

Nach der Chelatierung der Probe und der Standards wurde die Speziationsanalyse durch Kopplung von IC mit ICP-MS durchgeführt (Abbildung 1).

Die Steuerung der beiden Geräte im ICP-MS MassHunter (Agilent ICP-MS MassHunter 5.3, Version D.0103) wird durch den Metrohm-Treiber für IC (Metrohm IC Driver 1.0, ICP-MS MassHunter) ermöglicht (Abbildung 2). Die Remote Box (Remote Box MSB, 6.2148.010) und die Connection Box (IC-Ausrüstung, Verbindung Agilent ICP-MS, 6.05330.400) sind zwingend erforderlich, um eine bidirektionale Kommunikation zu gewährleisten (z.B. um beide Geräte im Notfall zu stoppen).

Die Handhabung der Proben und Standards erfolgte mit dem 889 IC Sample Center - cool (Abbildung 1), wodurch die Stabilität der zu messenden Flüssigkeiten erhöht wurde. Eine Full-Loop-Injektion (250 µL) auf die Trennsäule wurde mit dem schnellen 889 Autosampler durchgeführt.



Abbildung 1. Aufbau zur Chromspeziation in Wasser mit einem Metrohm 940 Professional IC, einem 889 IC Sample Center - cool und einem 7850x ICP-MS von Agilent Technologies.

[illegible]

Die Trennung von Cr(III) und Cr(VI) erfolgte auf einer Metrosep Carb 2 - 100/4.0-Trennsäule (ausgestattet mit einer Metrosep Carb 2-Guardsäule) unter isokratischen Bedingungen mit einem Ammoniumnitrat-Eluenten (150 mmol/L Salpetersäure, Sigma-Aldrich, Reinheit p.a., $\geq 65\%$) und 234 mmol/L Ammoniaklösung (ACS-Reagenz, 28-30%, Sigma-Aldrich) bei pH 9 ± 0.1 .

Die Kalibrierung (0,5-20,0 µg/L) erfolgte durch die Injektion von Einzelstandards im angegebenen Bereich. Durch den Einsatz der intelligenten Partial-Loop-Injektionstechnik (MiPT) von Metrohm konnte die Gesamtleistung verbessert werden, indem die Kalibrierung mit einem einzigen Standard durchgeführt wurde.

Das ICP-MS (7850x, G8422A) wurde im TRA-Modus (zeitaufgelöste Analyse) mit He (4,2 mL/min) als Kollisionsgas betrieben, um Masseninterferenzen zu reduzieren [4]. Die Isotope ^{52}Cr und ^{53}Cr wurden überwacht (HF-Leistung 1550 W, Zerstäubergasfluss 1,07 L/min) mit einer Integrationszeit pro Masse von 0,3 Sekunden. Für die Datenauswertung und Quantifizierung von Cr(III) und Cr(VI) wurden nur die Daten für ^{52}Cr verwendet. Um sicherzustellen, dass die volle Fähigkeit zur Auswertung chromatographischer Daten in Agilent ICP-MS MassHunter 5.3 zur Verfügung steht, wurde die Software mit dem Chromatographic Software Package aufgerüstet.

ERGEBNISSE

Durch die im Vergleich zur ISO 24384 erhöhten Eluentstärke und eine Flussrate von 1,0 mL/min wurden Cr(III) und Cr(VI) in weniger als vier Minuten getrennt (**Abbildung 3**). Im Vergleich zu einer 2-mm-Säule hat die 4-mm-Version (bei gleicher Länge) eine höhere Kapazität. Insbesondere bei Wässern mit einer höheren Matrixbelastung ist die Analyse robuster und leidet nicht unter einer Matrixüberlastung der Säule. Die Spike-Tests mit Wiederfindungen von 99,7 %

bzw. 114,0 % für Cr(III) und Cr(VI) zeigen die Zuverlässigkeit der gesamten Analyse (**Tabellen 1 und 2**). Die Kalibrierung im Bereich von 0,1 bis 20 µg/L ergab R-Werte zwischen 1,0 und 0,998 für beide Spezies (Cr(III) und Cr(VI)). Die Peakhöhen für den niedrigsten Standard (0,1 µg/L) lagen bei über 2500 cps (der Blindwert lag unter 150 cps) und zeigen, dass eine Kalibrierung unterhalb der in ISO 24384 festgelegten Grenze möglich ist.

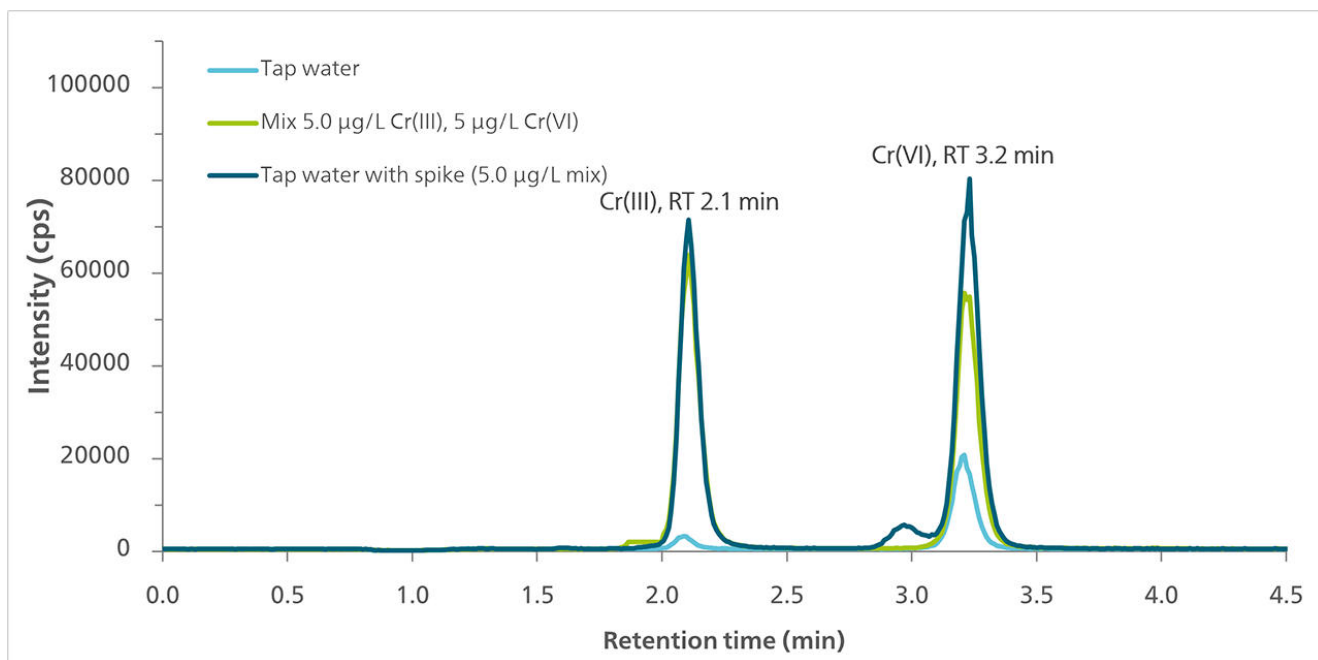


Abbildung 3. Überlagerung der Chromatogramme eines gemischten Standards von 5 µg/L und einer dotierten und einer unverfälschten Leitungswasserprobe (250 µl Injektionsvolumen). Die Chromatogramme zeigen die für m/z 52 gemessenen Intensitäten. Die Elution erfolgte auf einer Metrosep Carb 2 - 100/4.0-Trennsäule unter Verwendung eines Ammoniumnitrat-Eluenten unter isokratischen Bedingungen mit einer Flussrate von 1,0 mL/min.

Tabelle 1. Ergebnisse für die Analyse von $^{52}\text{Cr(III)}$ in Leitungswasser und dotiertem Leitungswasser. Die Wiederfindung betrug 99,7 % für $^{52}\text{Cr(III)}$.

$^{52}\text{Cr(III)}$			
Probe	RT (min)	Fläche	Konz. (µg/L)
5 µg/L Mischstandard	2,11	380574	5,0
Leitungswasser	2,10	15018	0,2
Dotiertes Leitungswasser (5 µg/L Mischung aus Cr(III) und Cr(VI))	2,11	394429	5,2

Tabelle 2. Ergebnisse für die Analyse von $^{52}\text{Cr(VI)}$ in Leitungswasser und dotiertem Leitungswasser. Die Wiederfindung für $^{52}\text{Cr(VI)}$ wurde mit 114 % berechnet.

$^{52}\text{Cr(VI)}$			
Probe	RT (min)	Fläche	Konz. ($\mu\text{g/L}$)
5 $\mu\text{g/L}$ Mischstandard	3,21	362578	5,0
Leitungswasser	3,22	129449	1,8
Dotiertes Leitungswasser (5 $\mu\text{g/L}$ Mischung aus Cr(III) und Cr(VI))	3,23	542830	7,5

FAZIT

Diese Application Note beschreibt eine empfindliche und zuverlässige Methode zur Bestimmung von sechswertigem und dreiwertigem Chrom in Wasser durch Ionenchromatographie gekoppelt mit induktiv gekoppelter Plasmamassenspektrometrie nach einer chelatbildenden Vorbehandlung wie in ISO 24384 beschrieben.

EDTA wird als Komplexbildner verwendet, um mit Cr(III) einen stabilen anionischen Komplex zu bilden, der die Trennung von Cr(VI) mittels Anionenaustauschchromatographie erleichtert. Die Verwendung einer Anionenaustauschersäule mit hoher Kapazität, d. h. der Metrosep Carb 2, ermöglicht die Basislinientrennung der beiden Spezies und garantiert Robustheit, hohe Wiederfindungsraten und Genauigkeit auch bei Wasserquellen mit höherer

Matrixbelastung. Der Ammoniumnitrat-Eluent ohne zusätzliche Additive wird bevorzugt, um die Empfindlichkeit und Selektivität der ICP-MS-Detektion bei $m/z = 52$ zu erhalten.

Die gesamte Analyse wird mit dem ICP-MS MassHunter von Agilent und dem **Metrohm IC Driver 1.0 für ICP-MS MassHunter** durchgeführt, der eine einheitliche Softwarelösung für eine **benutzerfreundliche, empfindliche Cr(III)- und Cr(VI)-Spezifizierung** bietet. Dieser Aufbau gewährleistet maximale analytische Sicherheit durch bidirektionale Kommunikation. Außerdem ist es weniger anfällig für manuelle Fehler (z. B. bei der Gerätesteuerung oder der Dateneingabe in die Software), gewährleistet die Datenintegrität und steigert die Gesamteffizienz durch eine geringere Arbeitsbelastung.

REFERENZEN

1. Zhitkovich, A. Chromium in Drinking Water: Sources, Metabolism, and Cancer Risks. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, 24 (10), 1617–1629.
[DOI:/10.1021/tx200251t](#)
2. Costa, M.; Klein, C. B. Toxicity and Carcinogenicity of Chromium Compounds in Humans - PubMed. *Crit. Rev. Toxicol.* **2006**, 36 (2), 155–163.
[DOI:10.1080/10408440500534032](#)
3. Chang, Y.-L.; Jiang, S.-J. Determination of Chromium Species in Water Samples by Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Dynamic Reaction Cell-Mass Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2001**, 16 (8), 858–862.
[DOI:10.1039/B103509F](#)
4. International Organization for Standardization (ISO). *ISO 24384:2024 Water Quality — Determination of Chromium(VI) and Chromium(III) in Water — Method Using Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LC-ICP-MS) after Chelating Pretreatment*; Vernier, CH, 2024.

CONTACT

Metrohm Inula
Shuttleworthstraße 25
1210 Wien

office@metrohm.at

KONFIGURATION



Metrohm IC Driver 1.0, ICP-MS MassHunter

Software-Treiber zum Einbinden von Metrohm IC-Geräten in Agilent's ICP-MS MassHunter Software 5.3 und höher.

[Lernen Sie mehr über die Kopplung von IC und Massenspektrometern](#)



IC-Ausrüstung, Verbindung Agilent ICP-MS

IC-Ausrüstung für die Verbindung und bidirektionale Steuerung von Metrohm IC und Agilent ICP-MS (IC-ICP/MS)



Metrosep Carb 2 - 100/4.0

Die IC-Säule Metrosep Carb 2 - 100/4.0 eignet sich speziell für die Bestimmung von Kohlenhydraten unter Verwendung alkalischer Eluenten und gepulster amperometrischer Detektion. Die hochkapazitive Anionenaustauschsäule basiert auf einem Styrol/Divinylbenzol-Copolymer. Sie ist im Bereich von pH = 0–14 stabil und trennt Glucose, Fructose und Sucrose. Darüber hinaus ist sie auch für die Analyse von einigen Zuckeralkoholen und Oligosacchariden geeignet. Auf der 100-mm-Variante der Metrosep Carb 2 Trennsäule lassen sich kurze Analysenzeiten erreichen.



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

Der 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP ist das intelligente **Zwei-Kanal-IC-Gerät** mit **sequenzieller Suppression** (ein Kanal) und einer **Peristaltikpumpe** zur Suppressorregeneration. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Standardgerät für parallele Anionen- und Kationenbestimmungen
- Spurenanalytik für Anionen und Kationen
- Online-Monitoring für Anionen und Kationen



889 IC Sample Center – cool

Das 889 IC Sample Center – cool ist die geeignete Automationslösung, wenn Sie nur über sehr wenig Probe verfügen. Er verfügt gegenüber dem 889 IC Sample Center zusätzlich über eine Kühlfunktion und ist damit der ideale Probenwechsler für biochemisch relevante oder thermisch instabile Proben.