



Application Note AN-S-404

Prüfung der Wasserqualität mit EPA 300.1

Steigern Sie Ihre Laboreffizienz mit automatisierter Eluentherstellung und Single-Run-Analysen von Anionen und Desinfektions-Nebenprodukten

Standardanalytische Methoden wie die **U.S. EPA-Methode 300.1 (Teile A und B)**, ISO 10304-1 und ISO 10304-4 gewährleisten die Einhaltung der Vorschriften bei der Überwachung von Wasserverunreinigungen, die die menschliche Gesundheit beeinträchtigen. Insbesondere Desinfektionsnebenprodukte (DBPs) werden mit Krebs und Fortpflanzungsproblemen in Verbindung gebracht [1–5]. EPA 300.1 Teil A und ISO 10304-1 beschreiben die analytischen Anforderungen für die ionenchromatographische Bestimmung der wichtigsten anorganischen Anionen. Schädliche DBPs (Chlorit und Chlorat) sind in ISO 10304-4 und EPA 300.1 Teil B enthalten (plus Bromat und Dichloressigsäure / DCAA). Das Erreichen von Nachweisgrenzen (engl. „Method Detection Limits“,

kurz „MDL“) für Analyten mit signifikanten relativen Konzentrationsunterschieden kann eine Herausforderung sein. Die hochkapazitive **Metrosep A Supp 21** Anionenaustauschsäule für Hydroxid-Eluenten und sequenziell suppressierte Leitfähigkeitsdetektion ermöglichen eine Single-Run-Analyse, die diese Anforderungen erfüllt. Das **948 Continuous IC Module, CEP**, automatisiert die Herstellung von KOH-Eluenten. Dadurch entfällt die manuelle Vorbereitung und es werden stabile Retentionszeiten sowie eine extrem niedrige Basislinie gewährleistet. Zusammen mit einer **Kalibrierung mit einem einzigen Standard** bietet dieser analytische Ansatz eine hocheffiziente, nachhaltige und zuverlässige Lösung für Wasserprüflabore.

PROBE UND PROBENVORBEREITUNG

Die Probenserie enthielt zwei Leitungswasserproben, eine künstliche Leitungswasserprobe und eine handelsübliche Mineralwasserprobe. Die Proben wurden gemäß den Anforderungen der US-amerikanischen EPA-Methode 300.1 [1] aufbereitet. Wie angegeben, wurden, um Chlorit zu stabilisieren, 50 mg/L EDA (Ethylendiamin) zu den Standards und Proben hinzugefügt. EDA verschiebt den pH-Wert der Probe in den basischen Bereich, was die Stabilität von Chlorit gewährleistet.

Um die Wiederfindung zu beurteilen, wurde den Wasserproben eine gemischte Standardlösung (d. h. Spike-Lösung, **Tabelle 1**) zugesetzt. Ein separater

Mischstandard (mit Anionenkonzentrationen entsprechend **Tabelle 1**) wurde mit hohen Konzentrationen an Chlorid, Nitrat, Sulfat und Carbonat (jeweils 20–500 mg/l) und früheluierenden organischen Säuren wie Glykolat, Acetat und Formiat (jeweils 1 mg/l) aufgestockt, um die Matrixkompatibilität zu bewerten.

Zur Kalibrierung des Ionenchromatographie-Systems (IC) wurde ein einzelner Standard erstellt (**Tabelle 1**) und unterschiedliche Volumina (4–200 µl) wurden mithilfe der intelligenten Partial-Loop-Injektionstechnik (MiPT) von Metrohm injiziert.

Tabelle 1. Zusammensetzung der Standard- und Spike-Lösungen.

Analyt	Standard 1 (µg/L)	Spike-Lösung (µg/L)
Fluorid	100	100
Chlorit	10	5
Bromat	10	5
Chlorid	10,000	10,000
Nitrit	20	20
Bromid	20	20
Chlorat	10	5
Nitrat	10,000	10,000
Dichloracetat	1,000	1,000
Sulfat	10,000	10,000
Phosphat	100	nicht gespiket

DURCHFÜHRUNG

Die Proben und Standards wurden direkt in das IC-System injiziert, das mit einem 948 Continuous IC Module, CEP und einem MiPT-Aufbau ausgestattet war (**Abbildung 1**).

Für die Systemkalibrierung wird ein automatisierter Ansatz (MiPT) verwendet. Durch die Injektion unterschiedlicher Volumina (4–200 µL) aus einem einzigen Standard (**Tabelle 1**) entsteht eine hochpräzise Kalibrierreihe (Fluorid, Phosphat: 8–400 µg/L; Chlorit, Bromat, Chlorat: 0,8–40 µg/L; Chlorid, Nitrat, Sulfat: 0,8–40 mg/L; Nitrit, Bromid: 1,6–80 µg/L; DCAA: 0,08–4 mg/L).

Die Proben wurden mit einem Volumen von 50 µL injiziert. Jede Probe wurde viermal analysiert. Die Ergebnisse zeigen die Wiederfindung der Messungen.

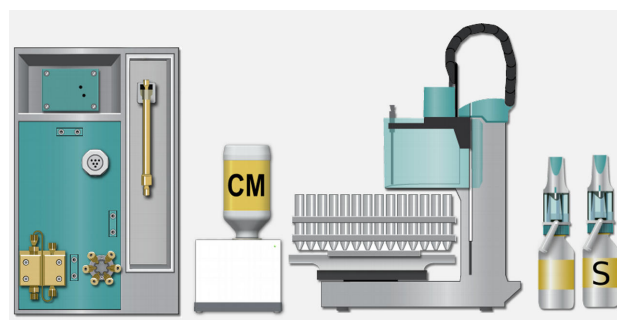


Abbildung 1. Aufbau für Trinkwasseruntersuchungen mit einem 930 Compact IC Flex mit automatischer KOH-Eluentenherstellung (948 Continuous IC Module, CEP), einem 858 Professional Sample Processor und der intelligenten Partial-Loop-Injektionstechnik (MiPT) von Metrohm.

Die Elution der Analyten erfolgt mit einem Hydroxid-Eluentengradienten (18–80 mmol/L KOH, Konzentrat: 4 mol/l Kaliumhydroxidlösung (Supelco, Merck), **Abbildung 2**) auf der hochkapazitiven Metrosep A Supp 21 Säule bei 45 °C unter Verwendung des 948 Continuous IC Module, CEP.

Die kontinuierliche Erzeugung von Hydroxid-Eluenten funktioniert wie folgt. Die On-Demand-Eluentenproduktion mit dem 948 Continuous IC Module, CEP, basiert auf der Elektrolyse von Wasser. Durch Anlegen eines definierten elektrischen Stroms (dem «Faradaischen Strom») werden Hydroxid (OH^-)-Ionen aus dem Reinstwasserstrom an der Platinelektrode der Eluent Production Cartridge (EPC A) des 948 Continuous IC Moduls gebildet.

Die jeweilige Menge an Kalium (K^+)-Ionen ergänzt die Hydroxid-Ionen. Diese werden aus dem hochreinen Kaliumhydroxid-Konzentrat (entweder gekauft oder selbst hergestellt in einer Konzentration von 4 mol/L oder höher) durch das Passieren der ionenselektiven Membran zugeführt. Der angelegte Strom wird ständig überwacht, um maximale Genauigkeit, Präzision und Reproduzierbarkeit für die definierten isokratischen oder gradienten OH^- -Konzentrationen zu gewährleisten. Die manuelle Aufbereitung von korrosiven und schwer zu handhabenden Hydroxid-Eluenten ist nicht erforderlich. Das Problem der Carbonatanziehung aus der Umgebungsluft wird ebenfalls minimiert, was zu stabilen Retentionszeiten und einer extrem niedrigen Basislinie für die Bestimmung selbst von Spurenkonzentrationen von Analyten führt.

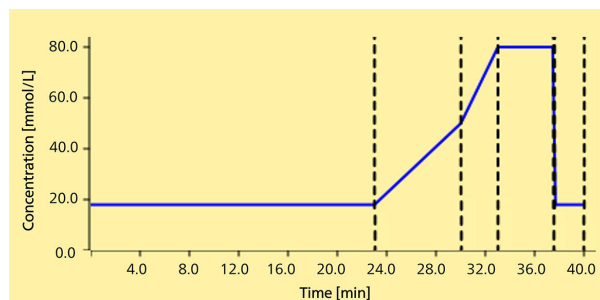


Abbildung 2. Das Gradientenprofil von KOH wird mit dem 948 Continuous IC Module, CEP (Konzentrat: 4 mol/L Kaliumhydroxidlösung, 67109, Supelco, Merck) sichergestellt.

Tabelle 2. Chromatographische Bedingungen für die Analyse von häufigen Anionen und DBPs gemäß U.S. EPA 300.1 A und B.

Gradient (948 Continuous IC Module, CEP)	18–80 mmol/L KOH (Abbildung 2)
Säule/Vorsäule	Metrosep A Supp 21 - 250/4.0 Metrosep A Supp 21 Guard/4.0
Flussrate Eluent	0,80 mL/min
Säulentemperatur	45 °C
Aufnahmedauer	40 min
Injektionsvolumen	4–200 µL (MiPT) 50 µL für Proben
Suppression	Sequenzielle Suppression
MSM	MSM-HC Rotor A, Hydroxid
MSM-Intervallschritte	10 min
Dosino-Regenerationsvolumen	10 mL (200 mmol/L Schwefelsäure)
Detektion	Leitfähigkeit

Nach der sequenziellen Suppression wird das Signal mittels Leitfähigkeitsdetektion (IC Conductivity Detector MB) aufgezeichnet. Um die beste

Systemleistung zu erzielen, wird unter Hydroxidbedingungen der dafür entwickelte MSM-HC Rotor A, Hydroxid verwendet.

ERGEBNISSE

Die Analyse der Zielanalyten erfolgte innerhalb von 40 Minuten (**Abbildung 3**). Die Analysen für die U.S. EPA-Methode 300.1 Teil A und B werden in einer einzigen IC-Methode kombiniert und verwenden ein Injektionsvolumen von 50 µl für die Proben.

Obwohl die Auflösungen zwischen den Peaks im Text der U.S. EPA-Methode 300.1 nicht explizit erwähnt werden, wurden ihre Werte während der gesamten Analysereihe überwacht. Zum Vergleich erfordern ISO 10304-1 und ISO 10304-4 für eine korrekte

Quantifizierung eine Mindestauflösung von 1,3. Dabei ist die Auflösung zwischen Bromid und Chlorat sowie zwischen Chlorit und Bromat am kritischsten. In einer Messreihe von 95 Proben und Standards, einschließlich des dargestellten Mineralwassers (**Abbildung 3**), betrug die Auflösung zwischen Bromid und Chlorat durchschnittlich 2,1 und die durchschnittliche Auflösung zwischen Chlorit und Bromat 1,9 – weit über den Anforderungen der ISO-Normen.

Die analysierten Wasserproben enthielten hohe Konzentrationen (d. h. mg/L-Bereich) an Chlorid (8,2–10,9 mg/L), Sulfat (4,8–13,9 mg/L) und Nitrat (3,8–9,6 mg/L). Fluorid (57–72 µg/L), Bromid (8–9 µg/L) und Chlorat (Mineralwasser, 3 µg/L) wurden in geringen Konzentrationen nachgewiesen. In den Proben wurden weder Chlorit, Bromat, Phosphat noch DCAA gefunden.

Die relativen Standardabweichungen (RSDs) für die wiederholte Wasseranalyse lagen unter 2,5 % (mit Ausnahmen für Chlorit und Bromat <5 %), und die Wiederfindungsraten der Aufstockungen von 89 bis 102 % lagen innerhalb der Standardqualitätskriterien, was die Wiederholbarkeit, Genauigkeit und Robustheit der IC-Methode verdeutlicht.

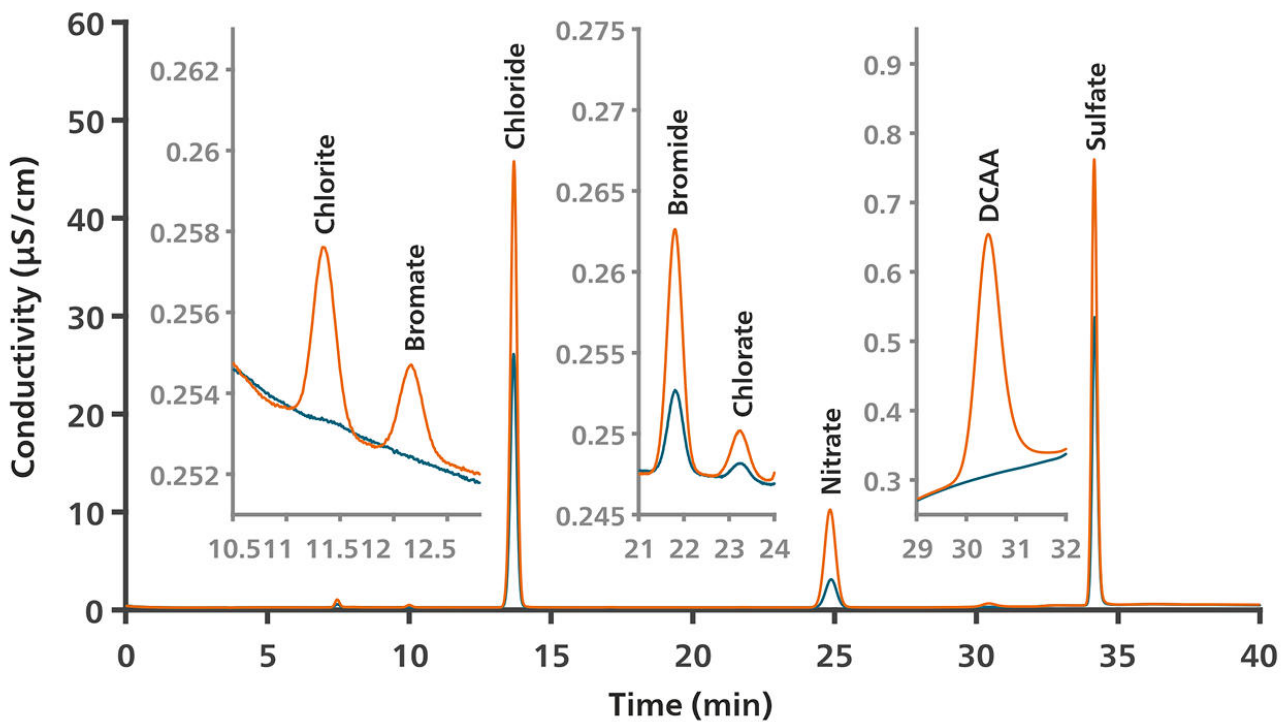


Abbildung 3. Chromatogramm einer Mineralwasserprobe, analysiert nach U.S. EPA 300.1 Teile A und B [1]. Die blaue Linie entspricht der ursprünglichen Wasserprobe (72 µg/L Fluorid mit einer Retentionszeit von 7,6 min; 0 µg/L Chlorit, Bromat, Phosphat und DCAA; 10,9 mg/L Chlorid; 9 µg/L Bromid; 3 µg/L Chlorat; 3,8 mg/L Nitrat; 13,9 mg/L Sulfat). Die orangefarbene Linie entspricht der Mineralwasserprobe, die mit einer gemischten Spike-Lösung versetzt wurde (Tabelle 1). Die Gradientenelution der Analyten (18–80 mmol/L KOH) erfolgte auf der hochkapazitiven Metrosep A Supp 21 Säule (Injektionsvolumen 50 µl) vor der sequenziell suppressierten Leitfähigkeitsdetektion.

Da die Matrixkompatibilität bei der Analyse der Trinkwasserqualität immer ein Thema ist, wurde die Wirkung mehrerer Matrixkomponenten (z. B. Chlorid, wie in **Abbildung 4** dargestellt) getestet, um die Trennqualität zu überprüfen. Hohe Chloridkonzentrationen wirken sich in der Regel auf die Peaks von Bromat und Nitrit aus und beeinträchtigen die richtige Integration. Bei einer

Konzentration von bis zu 500 mg/L Chlorid sind die Bromat- und Nitrit-Peaks jedoch gut von Chlorid getrennt (Auflösung >3), was eine genaue Quantifizierung ermöglicht.

Es traten keine Störungen auf, wenn Nitrat (das sich auf Chlorat auswirkt) bis zu 200 mg/L und Sulfat (mit Wirkung auf DCAA) in Konzentrationen von bis zu 500 mg/L vorhanden waren.

Interferenzen können auch von früh eluierenden organischen Säuren (z. B. Glykolat, Formiat und Acetat) auftreten. Die Tests zeigten, dass, selbst wenn Glykolat, eine organische Säure, die direkt neben

Fluorid eluiert, vorhanden war, keine Coelution zwischen diesen beiden Ionen beobachtet wurde und eine angemessene Auflösung erreicht wurde (2.1).

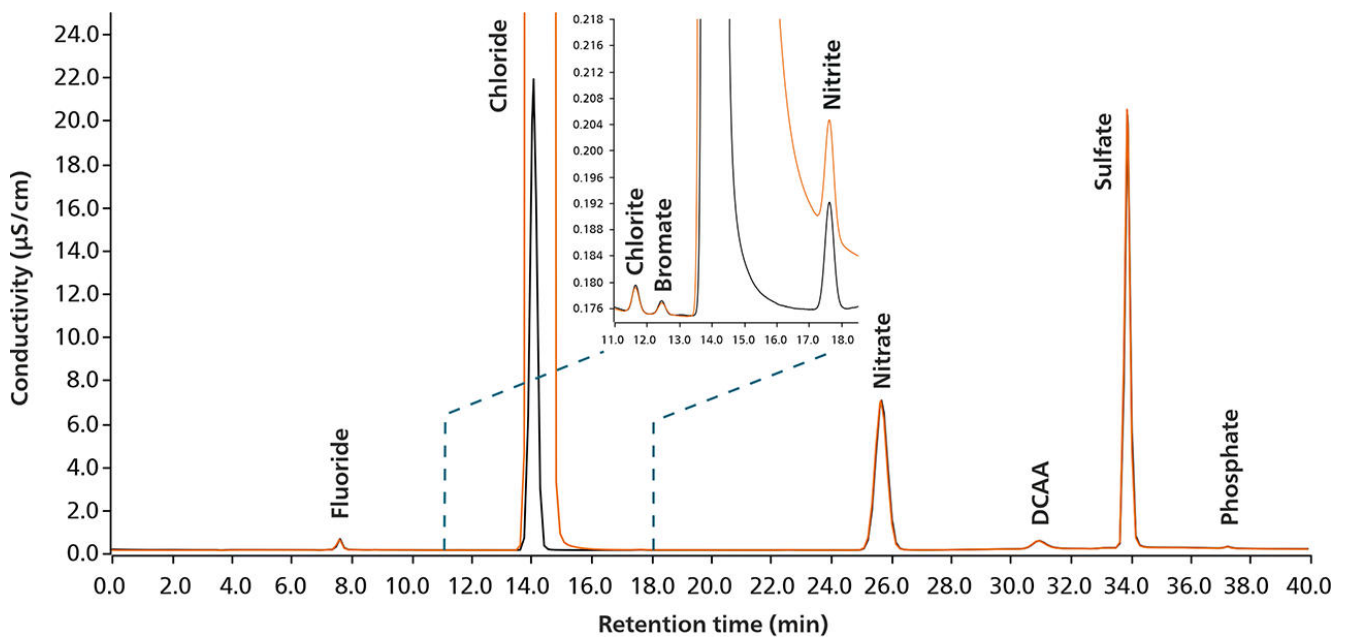


Abbildung 4. Chromatogramm-Overlay für einen gemischten Standard (Tabelle 1, Spike-Lösung, schwarz), angereichert mit 300 mg/l Chlorid (orange). Die Gradientenelution der Analyten (18–80 mmol/L KOH) vor der sequenziell suppressierten Leitfähigkeitsdetektion wurde mit der hochkapazitiven Metrosep A Supp 21 Säule (Injektionsvolumen 50 µL) durchgeführt. Die Wiederfindung der am stärksten beeinflussten Ionen für hohe Chloridgehalte ergab 98 % für Nitrit und 97 % für Bromat.

FAZIT

Diese Applikation beschreibt die Trennung und Messung hoher Konzentrationen anorganischer Anionen (z. B. Chlorid, Nitrat und Sulfat) zusammen mit niedrigeren Konzentrationen von Desinfektionsnebenprodukten (DBPs, d. h. Bromat, Chlorit und Chlorat) sowie Nitrit und Bromid in einem einzigen Analyselauf mittels Ionenchromatographie. Für präzise Messungen über einen breiten Konzentrationsbereich ist ein Detektor mit hoher Linearität erforderlich, wie der IC-Leitfähigkeitsdetektor MB (Linearitätsbereich von 0–15.000 µS/cm). Zudem wird eine Säule mit hoher Kapazität (Metrosep A Supp 21) für eine optimale Peaktrennung sowie eine niedrige Basislinie mit hervorragendem Signal-Rausch-Verhältnis benötigt, um die niedrigsten Nachweisgrenzen zu erreichen.

Das 948 Continuous IC Module, CEP, garantiert in Kombination mit dem für Hydroxid-Eluenten (MSM-HC Rotor A, Hydroxid) entwickelten Suppressor die besten analytischen Bedingungen – einen hochreinen Eluenten, eine niedrige Basislinie und beste Signal-Rausch-Verhältnisse. Die automatische, nahezu reagenzienfreie Herstellung von Hydroxid-Eluenten aus einem hochreinen Konzentrat (4 mol/L Kaliumhydroxidlösung, Supelco, Merck) und die einfache, unkomplizierte Gradientengenerierung eliminieren alle manuellen Schritte und damit verbundene menschliche Fehler. Dies sorgt für stabile Elutionsbedingungen, was zu stabilen Retentionszeiten führt, und ist eine nachhaltige, kosteneffiziente Lösung für jedes Labor.

Die für Hydroxid-Eluenten konzipierte Metrosep A

Supp 21 Säule ermöglicht eine hohe Auflösung aller Analyten, die in der US-amerikanischen EPA-Methode 300.1 Teil A und B sowie in ISO 10304-1 und ISO 10304-4 benötigt werden. Ursprünglich waren diese Normen dafür vorgesehen, dass die Analyse mit zwei getrennten Methoden durchgeführt werden sollte, um die Spurenanionen neben den hochkonzentrierten Standardanionen genau zu bestimmen. In der Tat fehlt es vielen Methoden an einer angemessenen Auflösung und ausreichenden Empfindlichkeit, und für die Analysen sind zwei separate Methoden erforderlich, was den Probendurchsatz drastisch reduziert.

Metrohm bietet eine sehr umfassende Möglichkeit,

die beiden Teile des EPA 300.1 ohne Qualitätsverluste zu kombinieren, indem es einen Aufbau mit der Metrosep A Supp 21 - 250/4.0 Trennsäule in Kombination mit der automatischen Erzeugung von hochreinem Hydroxid-Eluenten und der Leitfähigkeitsdetektion nach sequenzieller Suppression und automatischer Inline-Kalibrierung verwendet.

Mit diesem effizienten Setup können Wasserlabore die üblichen Trinkwasser Normen erfüllen und ihre Arbeitseffizienz insgesamt steigern. Insgesamt stellt dies eine umfassende, robuste und effiziente Lösung dar.

REFERENZEN

1. U.S. EPA. U.S. EPA Method 300.1: Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography, Revision 1.0, 1997.
2. Boorman, G. A.; Dellarco, V.; Dunnick, J. K.; et al. Drinking Water Disinfection Byproducts: Review and Approach to Toxicity Evaluation. *Environmental Health Perspectives* **1999**, *107*, 207–217. DOI:10.2307/3434484
3. Jackson, P. E. Ion Chromatography in Environmental Analysis. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, Meyers, R. A., Ed.; Wiley, 2000. DOI:10.1002/9780470027318.a0835
4. ISO. ISO 10304-4:2022 - Water Quality — Determination of Dissolved Anions by Liquid Chromatography of Ions — Part 4: Determination of Chlorate, Chloride and Chlorite in Water with Low Contamination, 2022.
5. ISO. ISO 10304-1:2007 - Water Quality — Determination of Dissolved Anions by Liquid Chromatography of Ions — Part 1: Determination of Bromide, Chloride, Fluoride, Nitrate, Nitrite, Phosphate and Sulfate, 2007.

CONTACT

Metrohm Deutschland
In den Birken 3
70794 Filderstadt

info@metrohm.de

KONFIGURATION



948 Continuous IC Module, CEP

Mit dem 948 Continuous IC Module werden Hydroxideluentsen automatisiert hergestellt. Es können sowohl isokratische Eluentsen hergestellt als auch Gradienten gefahren werden.

Das 948 Continuous IC Module, CEP besteht aus folgenden Bestandteilen:

- 948 Continuous IC Module
- Eluent Producer Cartridge (EPC, 6.02850.200)
- kontinuierliche Anion Trap (CT, 6.02850.100)
- Hochdruckdegasser (H-DEG, 6.02850.000)

Beispielmethoden gemäss Handbuch 948 Continuous IC Module.



930 Compact IC Flex SeS/Deg

Der 930 Compact IC Flex SeS/Deg ist das intelligente Compact-IC-Gerät mit **sequenzieller Suppression** und eingebautem **Degasser**. Zur Regeneration des Suppressors kann ein 800 Dosino eingesetzt werden. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Anionen- oder Kationenbestimmungen mit sequenzieller Suppression und Leitfähigkeitsdetektion



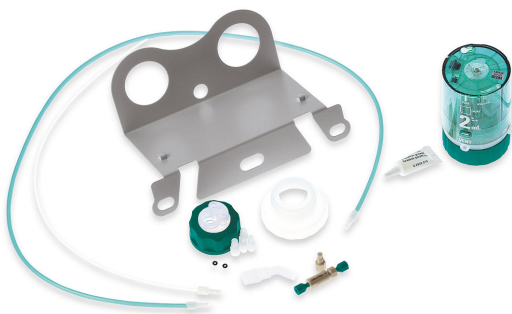
Metrosep A Supp 21 - 250/4.0

Die Metrosep A Supp 21-Säulen sind für den Betrieb mit Eluenten auf Hydroxidbasis ausgelegt und bieten eine hervorragende Trennleistung gekoppelt mit einer sehr hohen Kapazität. Die kleinen Partikel (4,6 µm) auf Basis von hydrophiliertem Polystyrol / Divinylbenzol garantieren scharfe Peaks. Die stationäre Phase weist eine hohe Stabilität gegenüber Temperatur, Druck und pH-Wert auf und ist daher für extreme Arbeitsbedingungen geeignet. Die längere Metrosep A Supp 21 - 250/4.0 Säulenversion wurde speziell für die Bestimmung von Oxohalogeniden (Chlorit, Bromat, Chlorat), Standardanionen (Fluorid, Chlorid, Nitrit, Bromid, Nitrat, Sulfat und Phosphat) und DCAA (Dichloracetat) entwickelt. Mit ihrer Trennleistung übertrifft sie die Anforderungen der US EPA-Methode 300.1 A+B und der DIN EN ISO 10304-1&4 Norm. Die hohe Säulenkapazität ermöglicht die Quantifizierung von Anionen und Oxohalogeniden in niedrigen µg/L-Konzentrationen mit hervorragender Reproduzierbarkeit, selbst in den anspruchsvollsten Probenmatrizen. Mit der großen Spanne an verfügbaren Elutionsbedingungen ist es auch möglich, andere anionische Komponenten zu bestimmen, wie z. B. niedermolekulare organische Säuren.



IC-Ausrüstung: MiPT

Zubehörset zur Montage eines Dosino für Partial-Loop-Injektion.



IC-Ausrüstung: Dosino Regeneration

Zubehörset zur Montage eines Dosinos zur automatischen Regeneration des Metrohm Suppressor Module (MSM).