



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 2 (6.01053.XX0)

Handbuch

Technical Communication
Metrohm AG
CH-9100 Herisau
techcom@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	Eluentenherstellung	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	Variation der Temperatur	18
5.3	Variation der Eluentenflussrate	20
5.4	Variation der Eluentenstärke	21
5.5	Variation mit organischem Modifier	24
5.5.1	Variation der Acetonkonzentration	24
5.5.2	Variation der Acetonitrilkonzentration	27
5.6	Spurenanalyse	30
5.7	Nicht suppressiert	32
5.8	Standardkationen mit Zink, Mangan, Cobalt und Nickel	33
5.9	Dose-in Gradient	35
5.10	40 ppm Ethanolamin zu 10 ppm Standardkationen	36
5.11	Schnelle Bestimmung von Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium	38
5.12	Bestimmung von Aminen	39
6	Problembehandlung	41
6.1	Regeneration	41
6.2	Abnehmende Auflösung / Peakformen	42



6.3	Instabile Retentionszeiten	43
6.4	Unbekannte Peaks	43
6.5	Steigender Rückdruck	43
7	Literatur	45
	Index	46

1 Allgemeine Informationen

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

1.1 Bestellinformationen

Tabelle 1 Säulen 4 mm

Bestellnummer	Bezeichnung
6.01053.410	Metrosep C Supp 2 - 100/4.0
6.01053.420	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0
6.01053.430	Metrosep C Supp 2 - 250/4.0

Tabelle 2 Vorsäule

Bestellnummer	Bezeichnung
6.01053.500	Metrosep C Supp 2 Guard/4.0

1.2 Technische Spezifikationen

Säulenmaterial Polystyrol-Divinylbenzol-Copolymer mit Carboxylgruppen

Partikelgrösse 5 µm

Abmessungen

Bestellnummer	Abmessungen
6.01053.410	100 x 4.0 mm
6.01053.420	150 x 4.0 mm
6.01053.430	250 x 4.0 mm

pH-Bereich Eluent 0 bis 12

pH-Bereich Probe 0 bis 14

Temperaturbereich 10 bis 60 °C

Empfohlene Standardtemperatur 40 °C

Maximaler Druck 4 mm 25 MPa (250 bar)



<i>Flussrate</i>	Bestellnummer	Empfohlene Flussrate	Maximale Flussrate
	6.01053.410	1.0 mL/min	3.8 mL/min
	6.01053.420	1.0 mL/min	3.1 mL/min
	6.01053.430	1.0 mL/min	2.0 mL/min
<i>Standardeluent</i>	5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium (aus RbNO ₃ -Salz)		
<i>Erlaubte organische Zusätze</i>			
<i>Im Eluenten</i>	0 bis 100 % Acetonitril, Aceton und kein Alkohol		
<i>In der Probenmatrix</i>	0 bis 100 % Acetonitril, Aceton und Alkohol		
<i>Vorbereitung</i>	Die Säule während 3 h mit Eluent spülen.		
<i>Aufbewahrung</i>	Die Säule im Standardeluenten und bei Raumtemperatur lagern.		
<i>Typischer Druck</i>	Für Säulen mit Vorsäule unter Standardbedingungen mit sequenzieller Suppression (MSM-HC C und MCS):		
	Bestellnummer	Typischer Druck	
	6.01053.410	7 ± 2 MPa	
	6.01053.420	10 ± 2 MPa	
	6.01053.430	14 ± 2 MPa	
<i>Säulengehäuse</i>	PEEK		
<i>Anwendung</i>	Bestimmung von einwertigen und zweiwertigen Kationen mit Suppression und Leitfähigkeitsdetektion.		

2 Allgemeines ABC des Arbeitens mit Trennsäulen

- Aufbewahrung* Sobald sich der Rückdruck in Ihrem Ionenchromatographen abgebaut hat, bauen Sie die Säule bei Raumtemperatur aus. Verschiessen Sie die Säule beidseitig mit den originalen Stopfen (6.2744.060). Bewahren Sie die Säule im Standardeluent und bei Raumtemperatur 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 M Ω) spülen.
 2. Mit einem Acetonitril-Wasser-Gemisch ausschwenken.
 3. Nochmals mit Reinstwasser spülen.
- Falls sich trotz dieser Vorsichtsmassnahmen Bakterien oder Algen bilden, dürfen Sie dem Eluenten 5 % Acetonitril oder Aceton zusetzen. Dies ist aber nur möglich, falls Sie *keine Membransuppressoren* verwenden. Membransuppressoren können durch organische Lösungsmittel zerstört werden. Die Metrohm Suppressor Module ("MSM", "MSM-HC" und "MSM-LC") sind 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 gelangen, sind die Flaschen mit einem Adsorberrohr versehen. Im Normalfall ist das Adsorberrohr mit Molekularsieb und für Natriumhydroxid-Eluenten und Carbonateluents mit Natronkalk – als schwacher CO₂-Adsorber – befüllt.



<i>Entgasen des Eluenten</i>	Um Blasenbildung zu verhindern, empfehlen wir, die hergestellten Eluenten vor ihrer Verwendung im IC-System zu entgasen. Legen Sie dafür für ca. 10 Minuten mit einer Wasserstrahlpumpe oder einer Ölpumpe ein Vakuum an. Alternativ verwenden Sie ein Ultraschallbad, oder arbeiten Sie mit dem Eluent-Degasser.
<i>Filter</i>	<p>Falls Probleme mit IC-Systemen auftreten, dann stehen sie meistens im Zusammenhang mit Partikeln. Diese können aus folgenden Quellen eingeschleppt werden:</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Durch Bakterienwachstum▪ Durch nicht filtrierte Eluenten▪ Aus der Probe▪ Durch die Spüllösung und/oder die Regenerierlösung <p>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.</p>
<i>Filtrieren des Eluenten</i>	Alle Eluenten müssen unmittelbar vor ihrer Verwendung mikrofiltriert (0.45 µm) werden.
<i>Mechanischer Stress</i>	Jede mechanische Belastung der Säule sollte vermieden werden. Falls die Säule beispielsweise auf eine harte Oberfläche aufschlägt, dann kann in der Säulenpackung (Trennphasenmaterial) ein Bruch oder eine Lücke entstehen. Das wirkt sich auf die Chromatographie aus. Die Säule wird dadurch irreversibel zerstört.
<i>Partikel</i>	Sämtliche Lösungen, Proben, Regenerierlösungen, das Wasser und die Eluenten müssen frei von Partikeln sein. Partikel verstopfen mit der Zeit die Trennsäulen. Dadurch steigt der Säulendruck 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).
<i>Probenvorbereitungskartuschen</i>	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 z. B. für die Neutralisation alkalischer Proben.

- Pulsationsdämpfer* Wir empfehlen, immer einen Pulsationsdämpfer (6.2620.150) 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.
- Regenerieren von Trennsäulen* Falls Trennsäulen mit sauberen Eluenten betrieben und mit partikelfreien Proben beladen werden, dann 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 ansteigt oder die Trennleistung nachlässt, dann können die zu jeder Säule angegebenen Regenerationschritte 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* Falls 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). Lagern Sie die Trennsäule in dem auf dem Säulenmerkblatt verzeichneten Medium und falls nicht anderes erwähnt am besten zwischen 4 und 8 °C.
- Bevor Sie das Gerät wieder in Betrieb nehmen, spülen Sie den Ionenchromatographen zuerst mit Reinstwasser und anschliessend mit frischem Eluenten. Bringen Sie die 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 Lösungsmitteln 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:

- Falls der Gegendruck im System ansteigt.
- Falls sich die Chromatographie verschlechtert.

Vorsäulen sind für alle Metrosep-Trennsäulen erhältlich.

Wir empfehlen, die Vorsäule während der Lebensdauer der analytischen Säule 3 bis 4 Mal zu ersetzen.

Wasserqualität

In der Ionenchromatographie wird vorwiegend mit wässrigen Medien gearbeitet. Die Wasserqualität ist deshalb ganz entscheidend für eine gute Chromatographie. Falls die Wasserqualität ungenügend ist, dann 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 M Ω ·cm aufweisen und partikelfrei sein. Wir empfehlen deshalb, das Wasser durch ein 0.45- μ m-Filter zu filtrieren und mit UV zu behandeln. Moderne Reinstwasseranlagen für den Laborbedarf garantieren diese Wasserqualität (Typ I).

3 Eluentenherstellung

Wir empfehlen, sowohl für die Standardherstellung als auch für die Eluentenherstellung 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 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ (25 °C)
TOC < 10 $\mu\text{g/L}$

3.2 Herstellung des Standardeluenten

Wie folgt vorgehen, um 2 L des Standardeluenten mit 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 $\mu\text{g/L}$ Rubidium herzustellen:

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 während 5-10 min 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-Salzes 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, 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 Säulenprogramm** (das über Ihre Metrohm-Vertretung erhältlich ist), dem Säulenmerkblatt und den Produktinformationen 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.

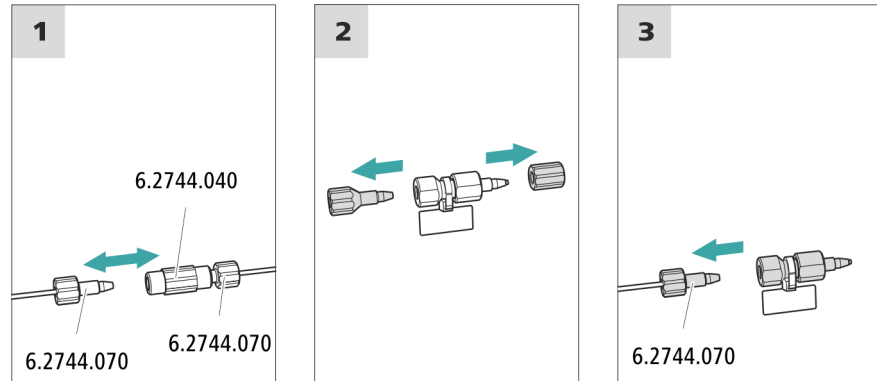


Zubehör

Für diesen Arbeitsschritt brauchen Sie das folgende Zubehör:

- Vorsäule (passend zur Trennsäule)

Vorsäule anschliessen



1 Kupplung entfernen

Die Kupplung (6.2744.040), die für die erste Inbetriebnahme zwischen der Säulen-Einlasskapillare und der Säulen-Auslasskapillare montiert wurde, entfernen.

2 Vorsäule vorbereiten

- Die Stopfen oder ggf. den Stopfen und die Verschlusskappe von der Vorsäule abschrauben.

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.

Jeder Säule liegt ein Testchromatogramm bei. Das Säulenmerkblatt ist im Internet unter <http://www.metrohm.com> beim jeweiligen Artikel zu finden. 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.



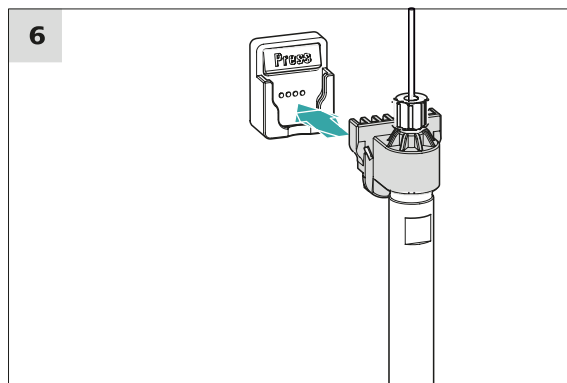
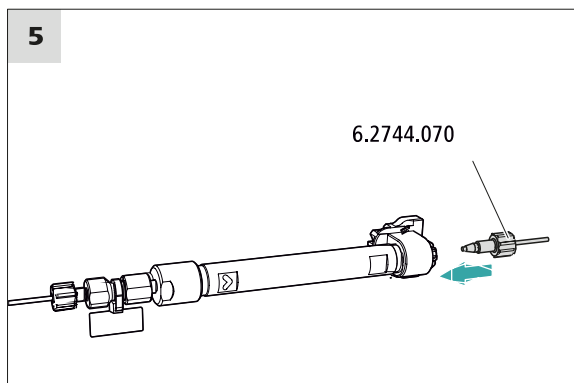
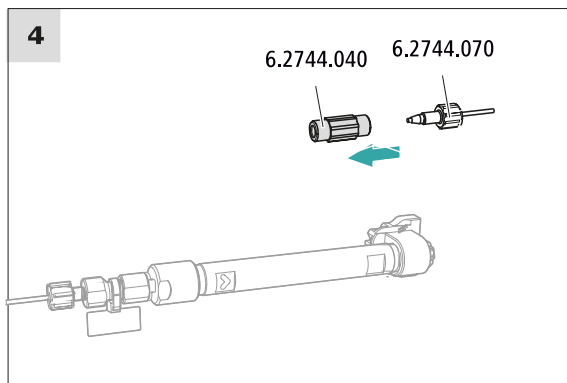
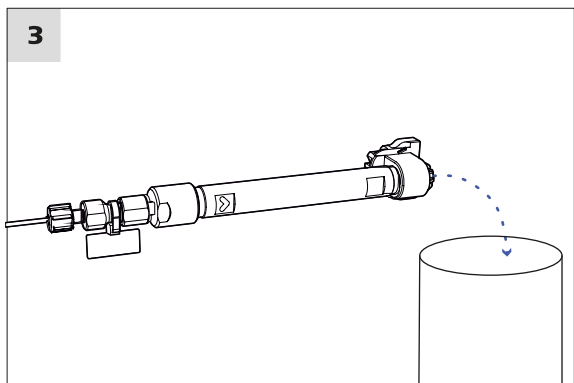
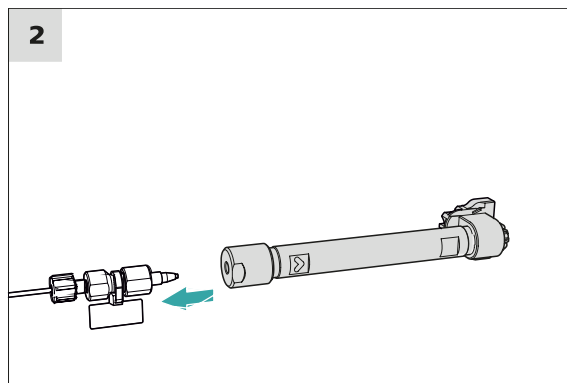
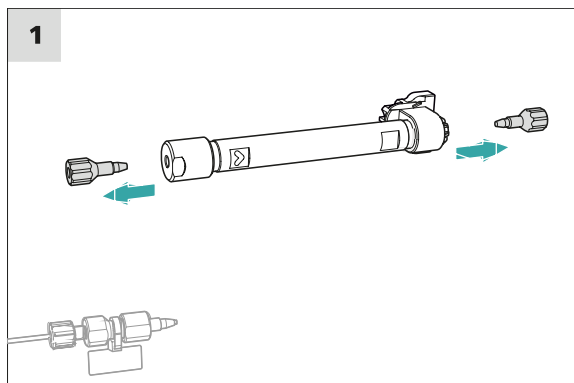
VORSICHT

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



Trennsäule anschliessen

1 Stopfen entfernen

- Die Stopfen von der Trennsäule abschrauben.



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 3 Möglichkeiten:

- Den Säuleneinlass direkt auf die Vorsäule aufschrauben, oder
- falls die Vorsäule mit einer Verbindungskapillare an der Trennsäule angeschlossen wird: Den Säuleneinlass 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**: schrittweise auf die im Säulenmerkblatt empfohlene Flussrate erhöhen.
 - **Ein**
- Die Trennsäule ca. 10 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 Säulenauslass befestigen.

6 Trennsäule einsetzen

- Die Trennsäule mit dem Chip in den 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

Bei geänderter Zusammensetzung des Eluenten 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

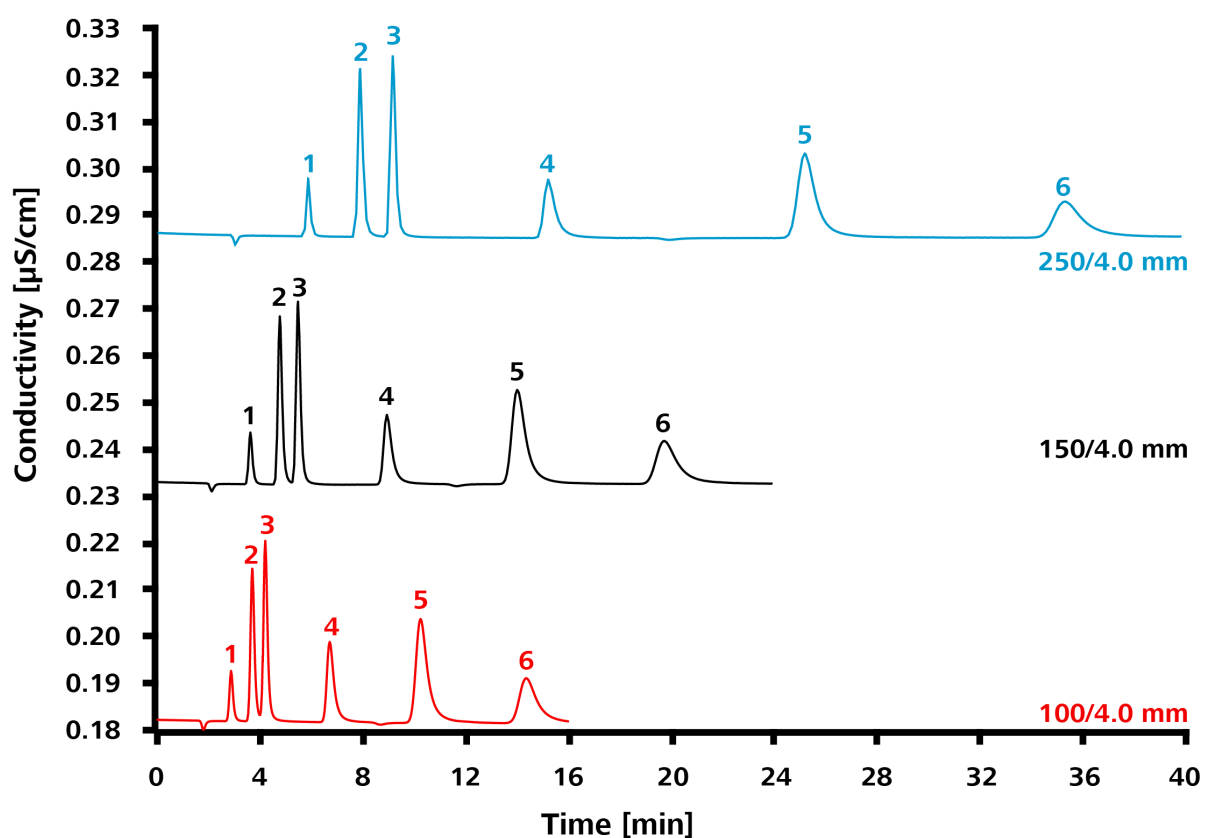
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

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





	Metrosep C Supp 2 - XX0/4.0	mg/L
1	Lithium	0.025
2	Natrium	0.125
3	Ammonium	0.125
4	Kalium	0.250
5	Magnesium	0.250
6	Calcium	0.250

5.2 Variation der Temperatur

Säule: Metrosep C Supp 2 - 150/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

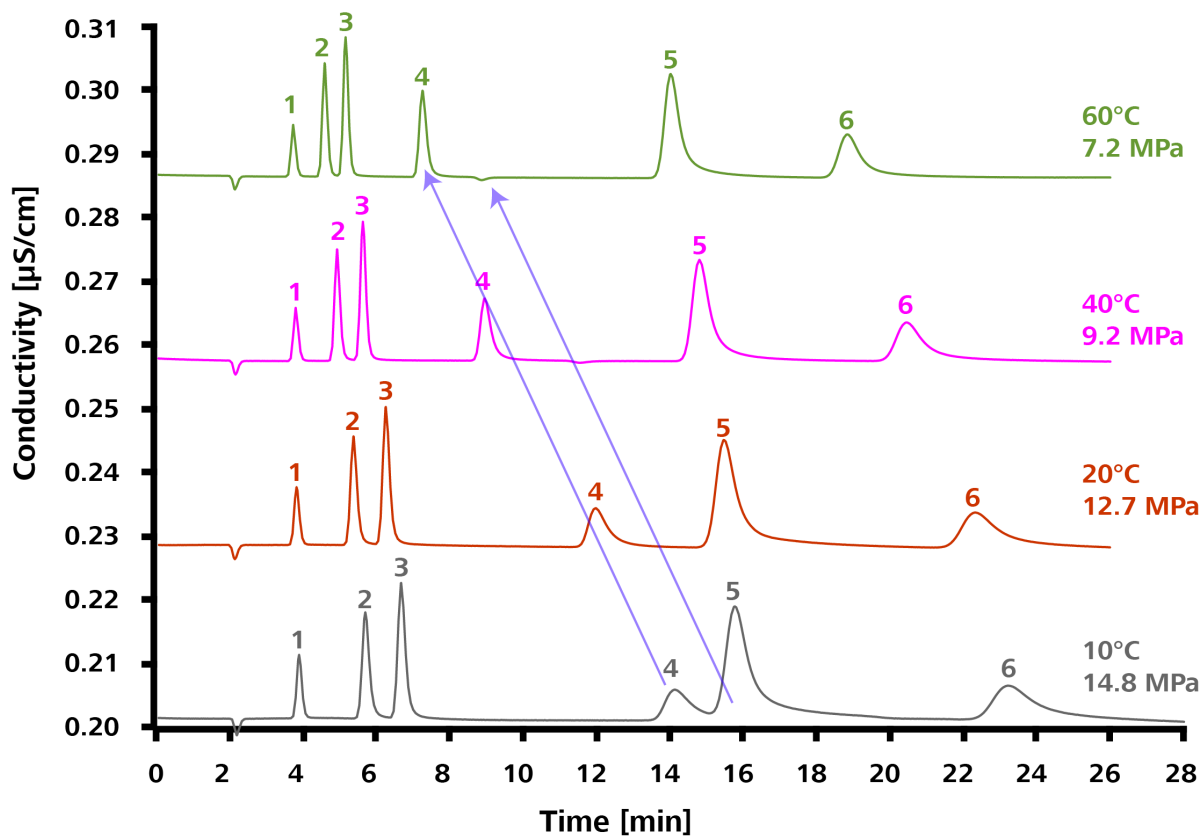
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 10 bis 60 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

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



	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	0.025
2	Natrium	0.125
3	Ammonium	0.125
4	Kalium	0.250
5	Magnesium	0.250
6	Calcium	0.250

Mit steigender Temperatur nehmen die Retentionszeiten von Kalium und Rubidium (Systempeak) überproportional ab. Die Retentionszeiten von Kalium und Rubidium verkürzen sich gleich stark. Bei 10 °C coeluieren Rubidium und Magnesium.

Mit steigender Temperatur nimmt der Rückdruck der Säule ab.



5.3 Variation der Eluentenflussrate

Säule: Metrosep C Supp 2 - 150/4.0

Probenvorbereitung: -

Detektion: Leitfähigkeit

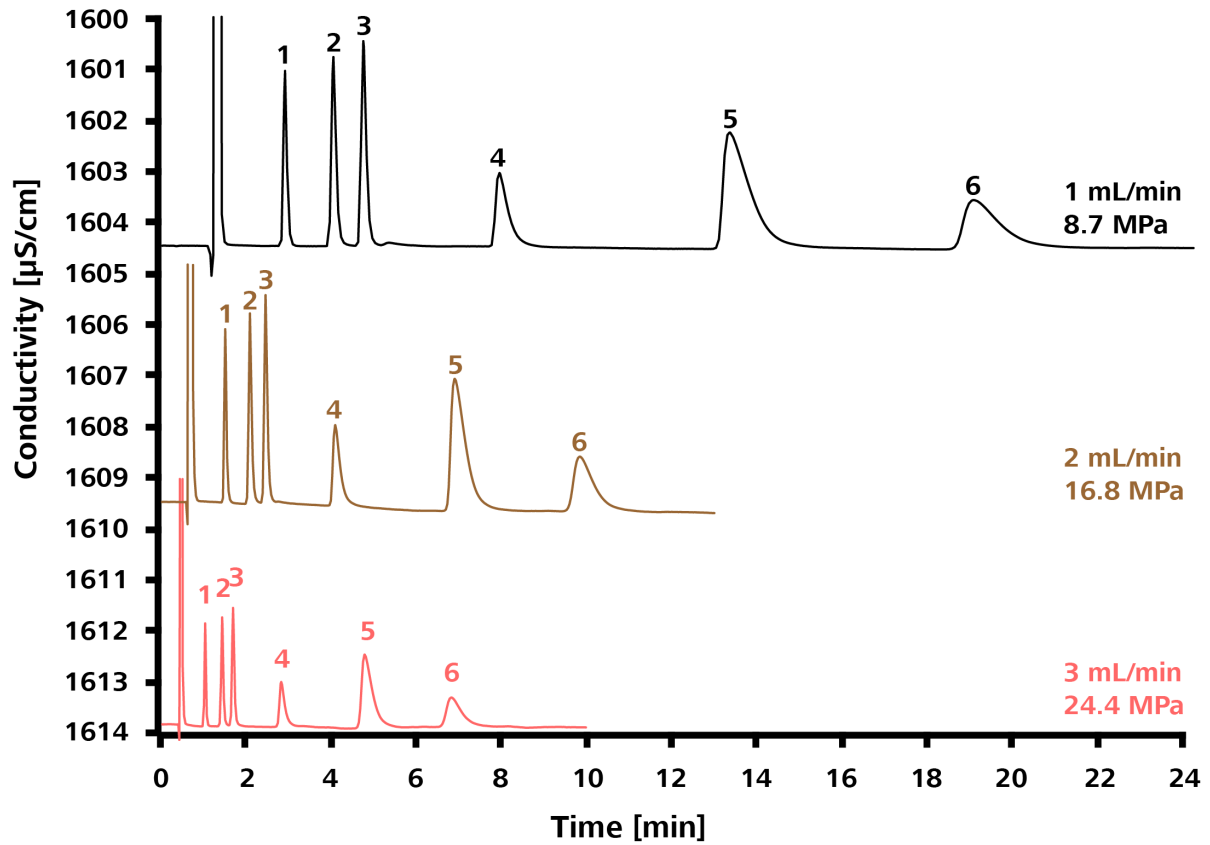
Suppression: -

Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 bis 3.0 mL/min

Eluent: 5.0 mmol/L Salpetersäure



Metrosep C Supp 2 - 150/4.0		mg/L
1	Lithium	1

	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0	mg/L
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Magnesium	10
6	Calcium	10

Alle Kationen eluieren schneller bei höherer Flussrate.

5.4 Variation der Eluentenstärke

Säule: Metrosep C Supp 2 - 250/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

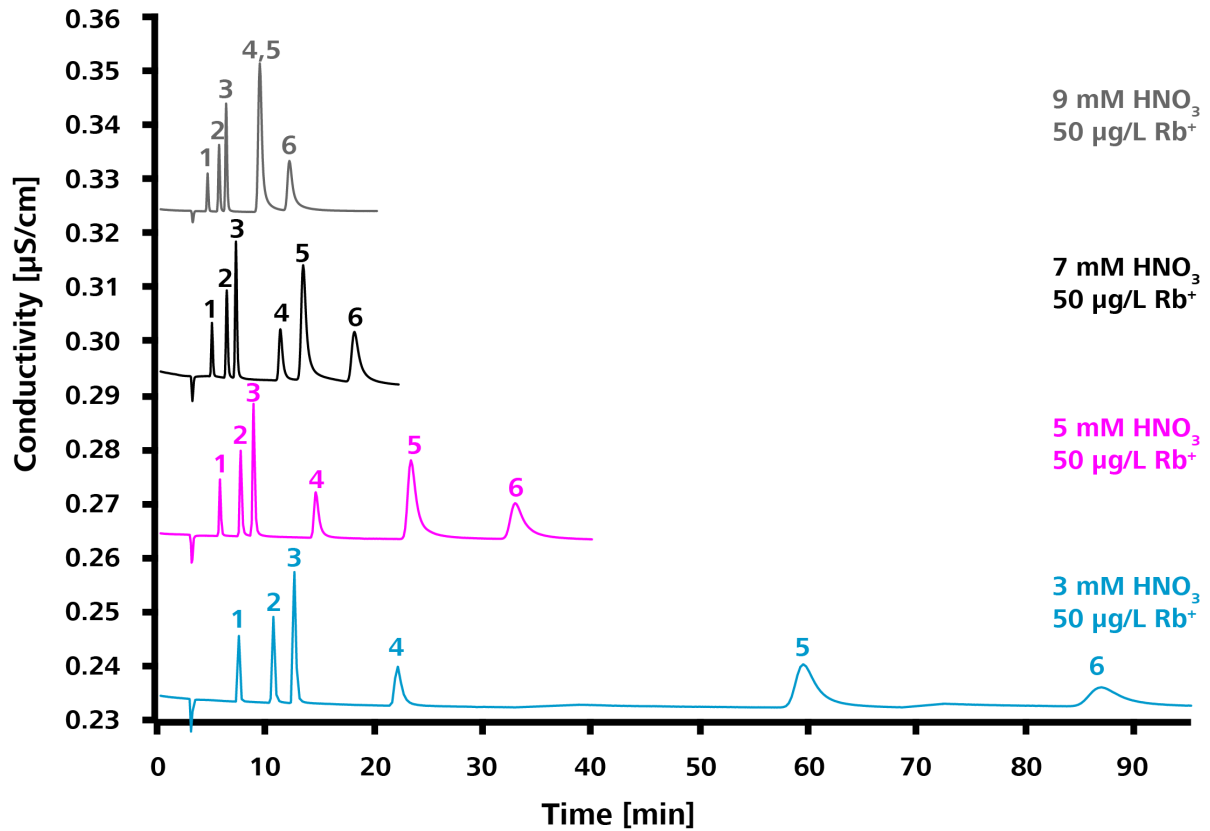
Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent:

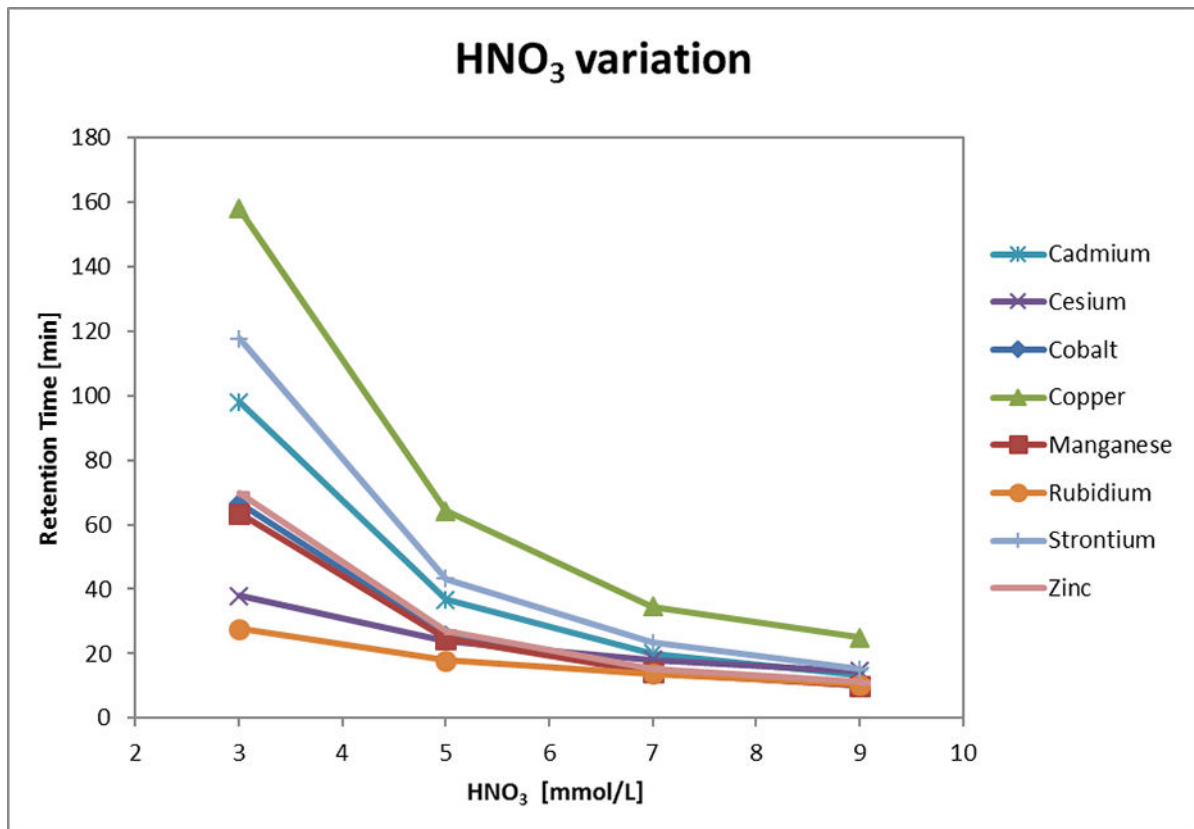
- A) 3.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium
- B) 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium
- C) 7.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium
- D) 9.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



	Metrosep C Supp 2 - 250/4.0	mg/L
1	Lithium	0.025
2	Natrium	0.125
3	Ammonium	0.125
4	Kalium	0.250
5	Magnesium	0.250
6	Calcium	0.250

Die Retentionszeiten werden mit zunehmender HNO_3 -Konzentration verkürzt. Insbesondere mehrwertige Kationen wie Magnesium und Calcium werden überproportional zu den einwertigen Kationen beschleunigt. Bei 9 mmol/L Salpetersäure haben Magnesium und Kalium dieselbe Retentionszeit.

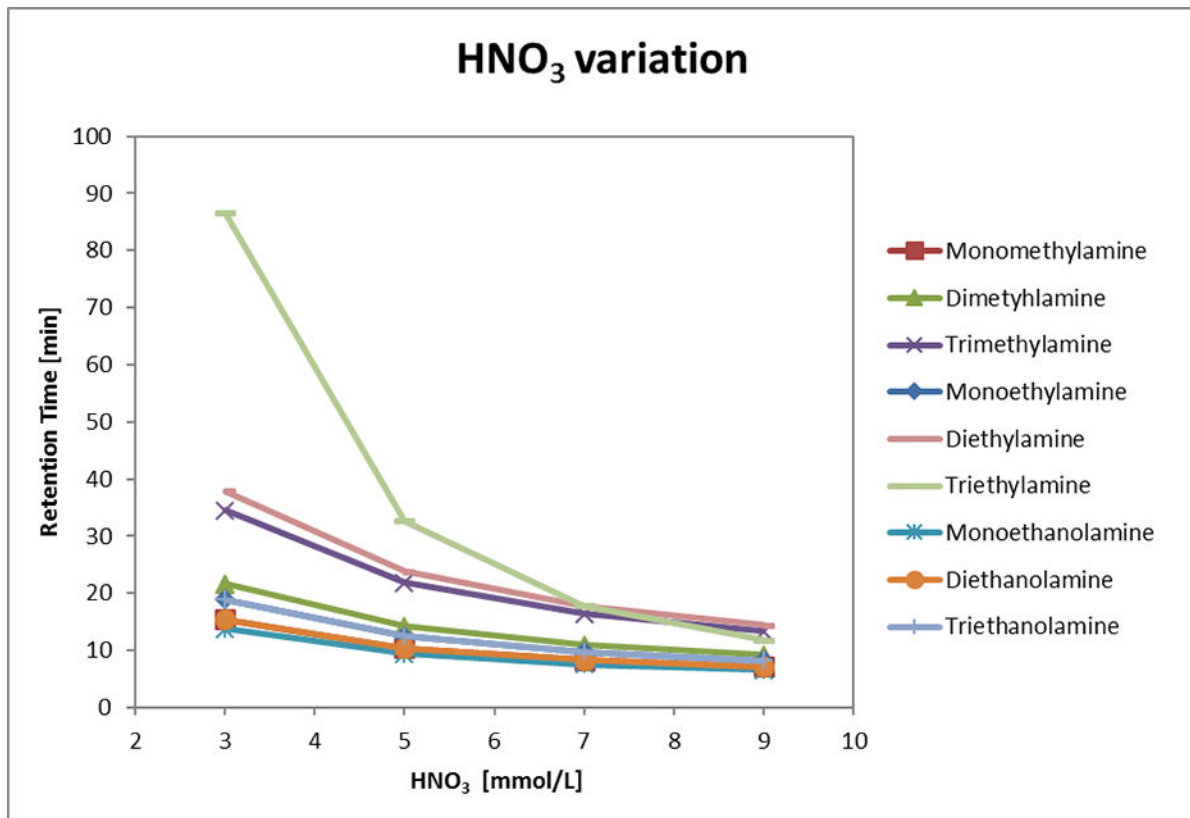
Übergangsmetalle



Bei den Übergangsmetallen werden die mehrwertigen Kationen stärker beschleunigt als die einwertigen wie Rubidium und Caesium. Kupfer eluiert als extrem breiter Peak. Bei 5.0 mmol/L Salpetersäure ist der Kupferpeak ungefähr 20 min breit und daher unempfindlich.



Amine



Mit zunehmender Eluentenstärke nehmen die Retentionszeiten der Amine kontinuierlich ab. Bei Triethylamin ist die Abnahme am stärksten. Bei 9 mmol/L Salpetersäure eluiert Triethylamin bereits vor Diethylamin und Trimethylamin.

5.5 Variation mit organischem Modifier

5.5.1 Variation der Acetonkonzentration

Säule: Metrosep C Supp 2 - 250/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

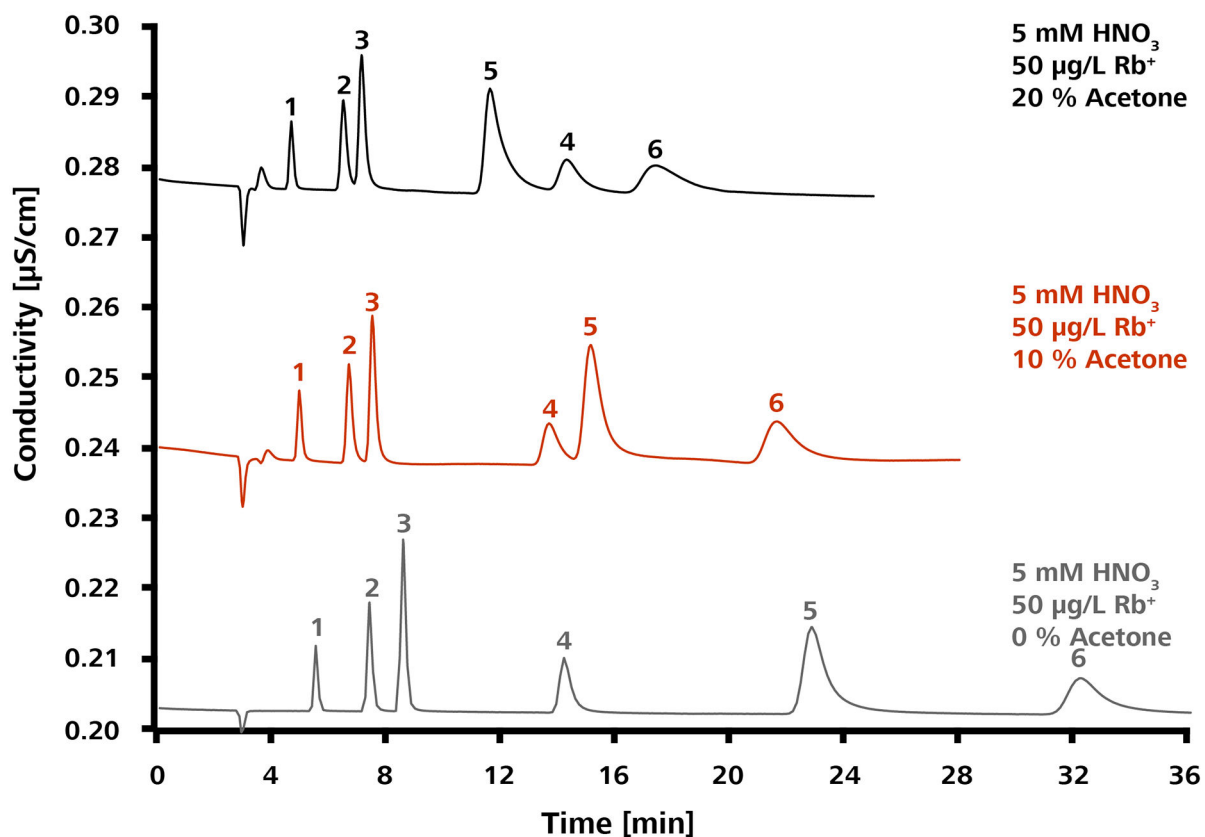
Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent:

- A) 5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium und 0 % Aceton
 B) 5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium und 10 % Aceton
 C) 5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium und 20 % Aceton

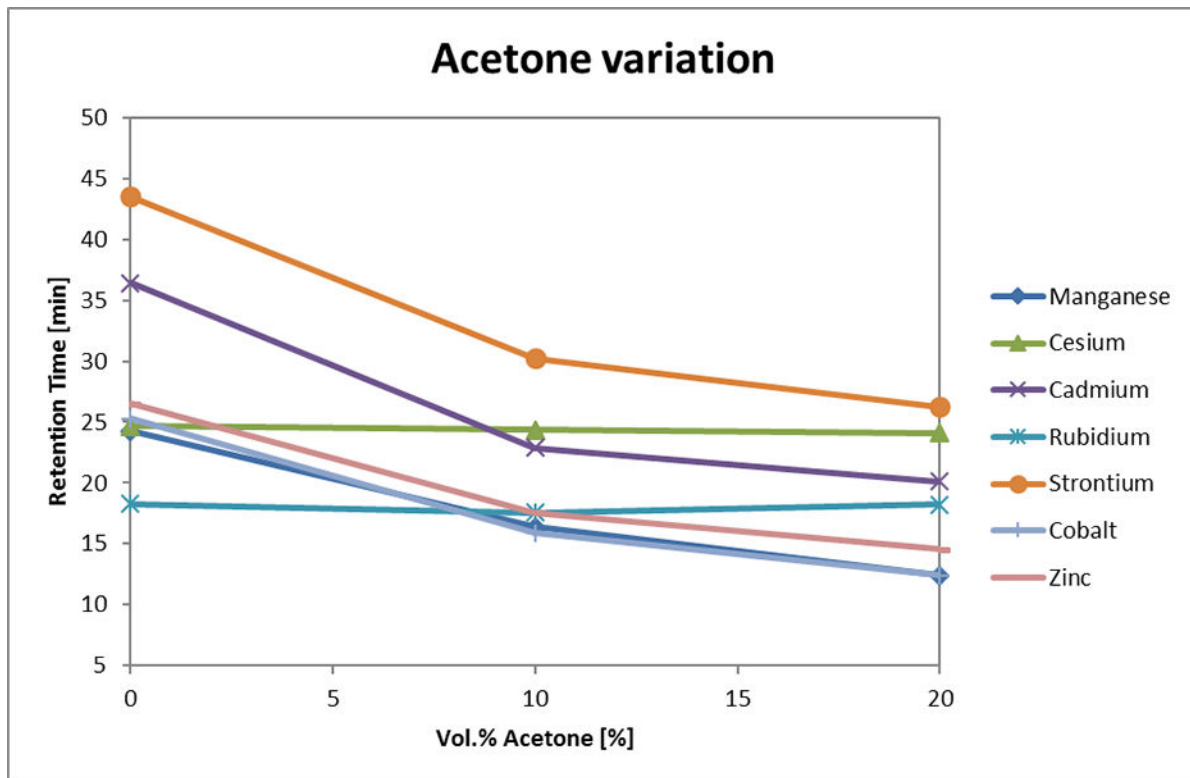


	Metrosep C Supp 2 - 250/4.0	mg/L
1	Lithium	0.025
2	Natrium	0.125
3	Ammonium	0.125
4	Kalium	0.250
5	Magnesium	0.250
6	Calcium	0.250

Durch die Zugabe von Aceton zum Eluenten verkürzen sich die Retentionszeiten aller Kationen. Der Effekt ist bei den mehrwertigen Kationen wie Magnesium und Calcium stärker sichtbar als bei den einwertigen Kationen. Ab 20 % Aceton im Eluenten eluiert Magnesium vor Kalium. Ein höherer Anteil an Aceton im Eluenten führt zu einer Verschlechterung der Peakform.

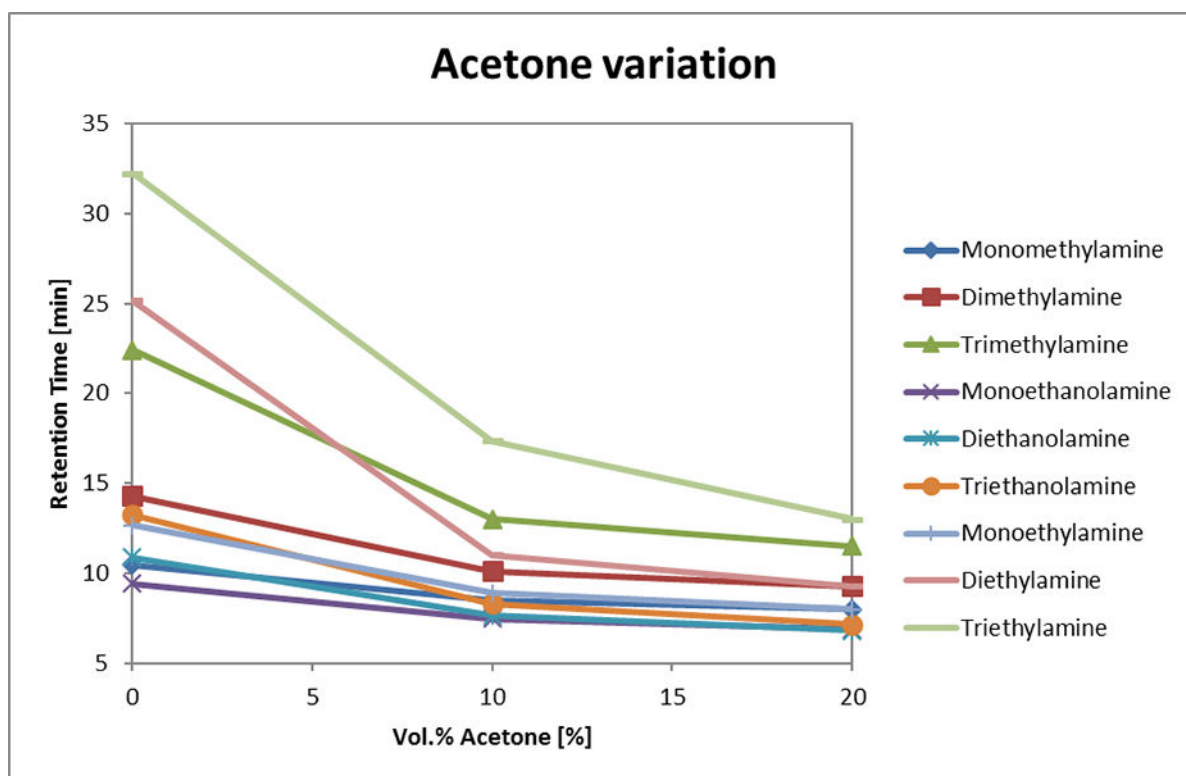


Übergangsmetalle



Aceton hat einen geringen Einfluss auf die Retentionszeit von Rubidium und Cäsium. Die Retentionszeiten der weiteren Übergangsmetalle werden mit zunehmender Acetonkonzentration verkürzt. Ein höherer Anteil an Aceton im Eluenten führt zu einer Verschlechterung der Peakform.

Amine



Mit zunehmender Acetonkonzentration nehmen die Retentionszeiten aller Amine ab. Diethylamin und Trimethylamin wie auch Triethanolamin und Monomethylamin tauschen die Retentionsreihenfolge. Ein höherer Anteil an Aceton im Eluenten führt zu einer Verschlechterung der Peakform.

5.5.2 Variation der Acetonitrilkonzentration

Säule: Metrosep C Supp 2 - 250/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

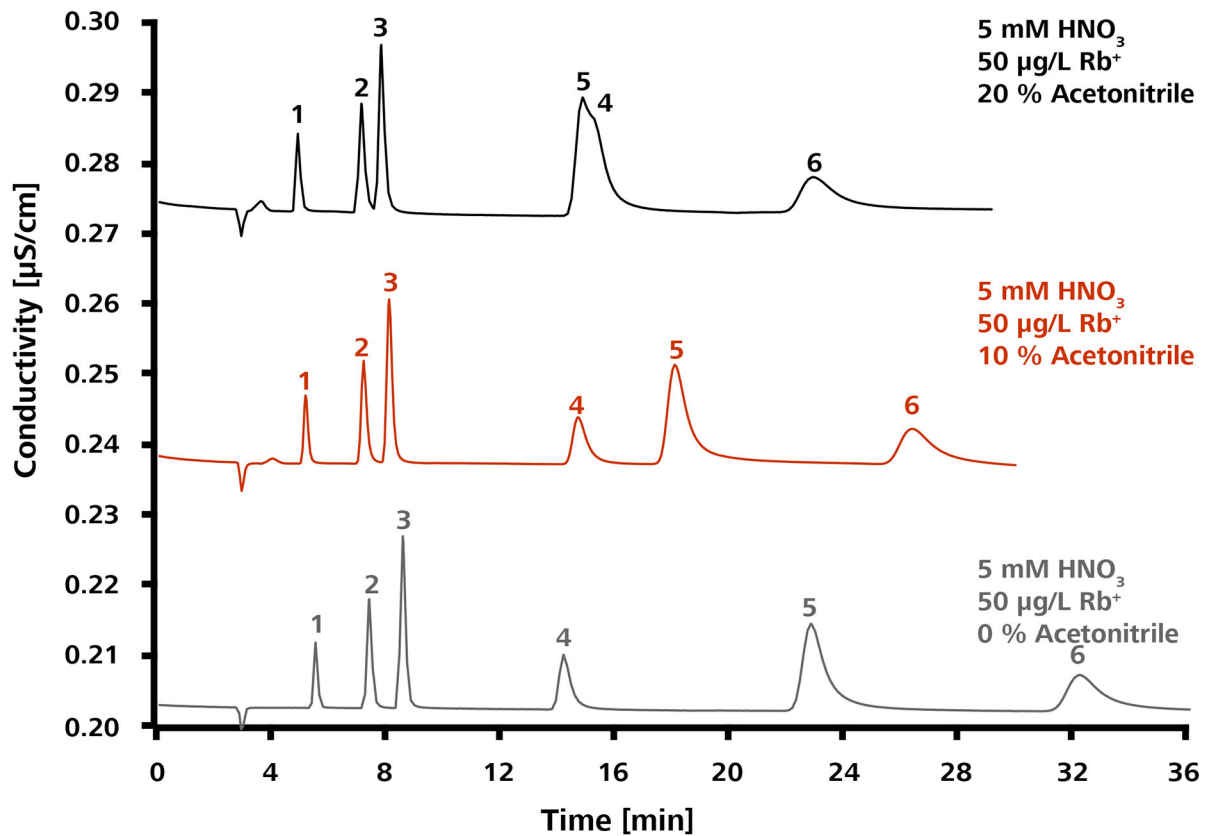
Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent:
 A) 5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium und 0 % Acetonitril
 B) 5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium und 10 % Acetonitril

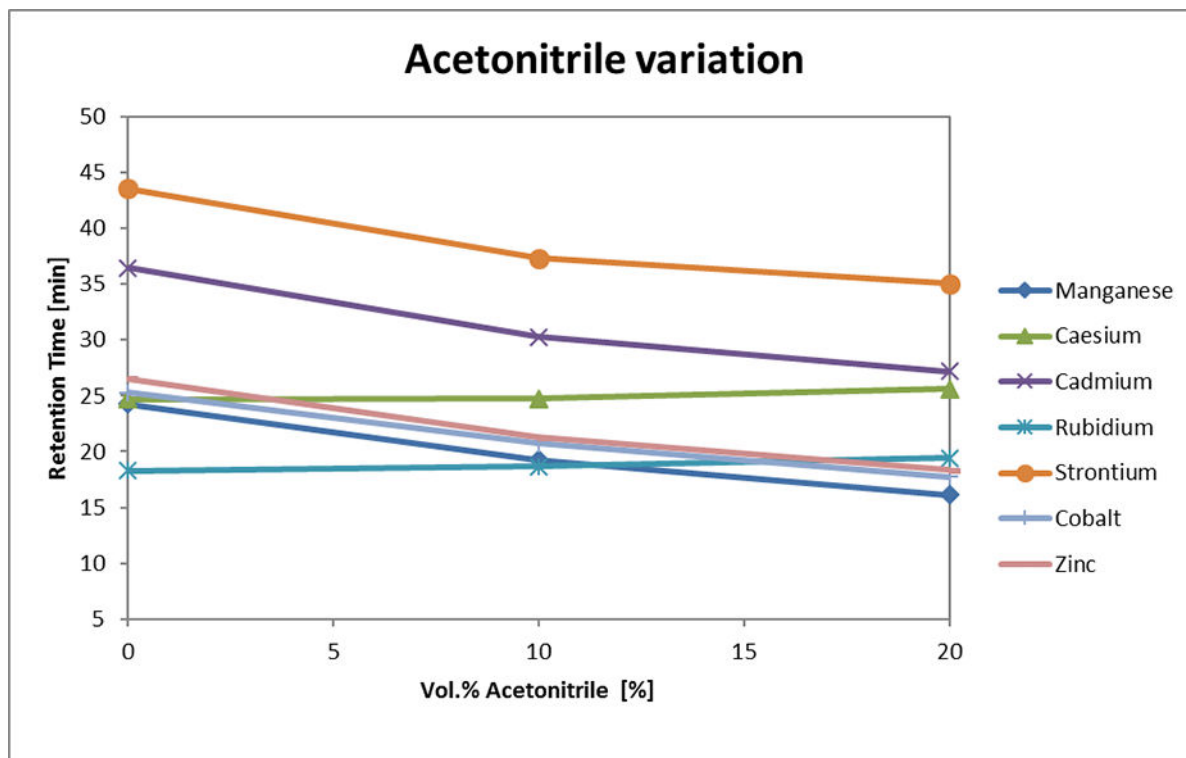


C) 5.0 mmol/L Salpetersäure, 50 µg/L Rubidium und 20 % Acetonitril



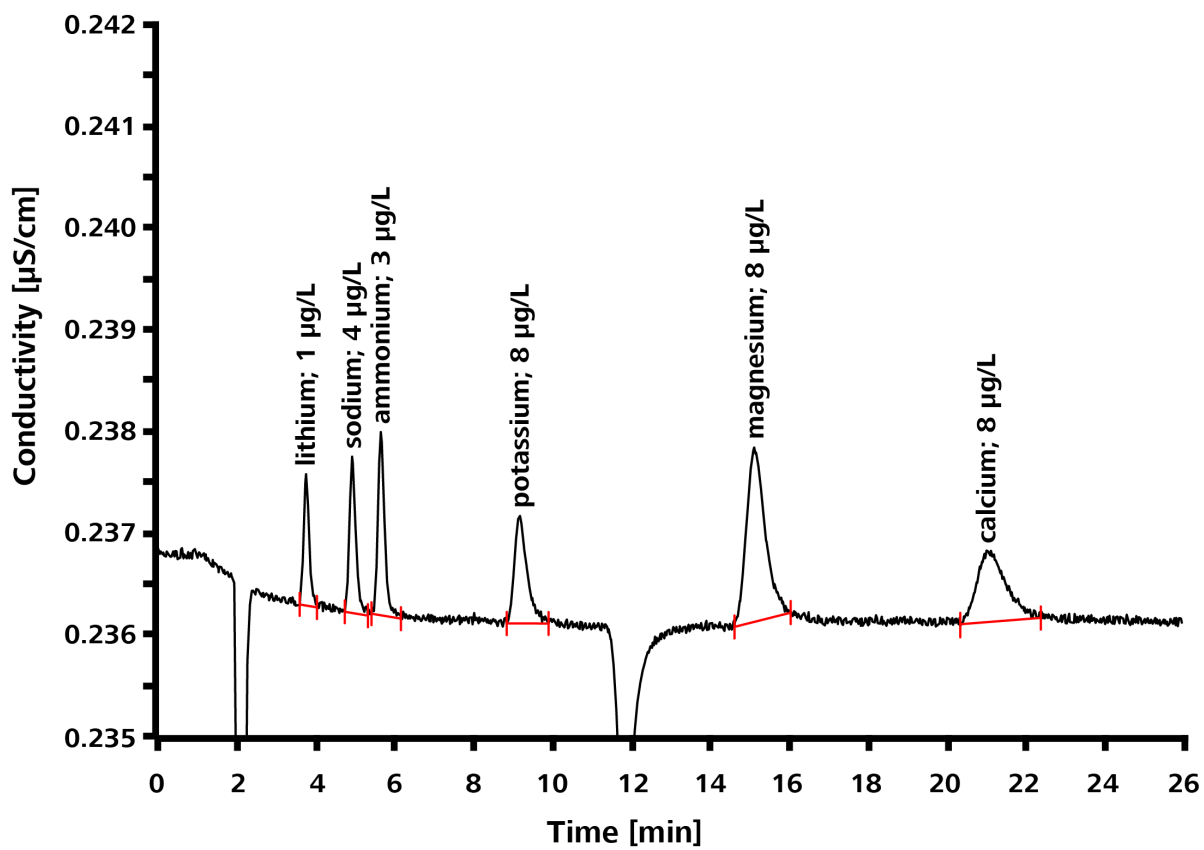
	Metrosep C Supp 2 - 250/4.0	mg/L
1	Lithium	0.025
2	Natrium	0.125
3	Ammonium	0.125
4	Kalium	0.250
5	Magnesium	0.250
6	Calcium	0.250

Mit zunehmender Acetonitrilkonzentration sinken die Retentionszeiten der zweiwertigen Kationen wie Magnesium und Calcium überproportional zu den Retentionszeiten einwertiger Kationen. Ab 20 % Acetonitril im Eluenten eluiert Magnesium vor Kalium.

Übergangsmetalle

Acetonitril hat einen geringen Einfluss auf die Retentionszeit von Rubidium und Cäsium.

Die Retentionszeiten der weiteren Übergangsmetalle werden mit zunehmender Acetonitrilkonzentration verkürzt. Ein höherer Anteil an Acetonitril im Eluenten führt zu einer Verschlechterung der Peakform.



	Metrosep C Supp 2 -	µg/L
	150/4.0	
1	Lithium	1
2	Natrium	4
3	Ammonium	3
4	Kalium	8
5	Magnesium	8
6	Calcium	8



5.7 Nicht suppressiert

Säule: Metrosep C Supp 2 - 250/4.0

Probenvorbereitung: -

Detektion: Leitfähigkeit

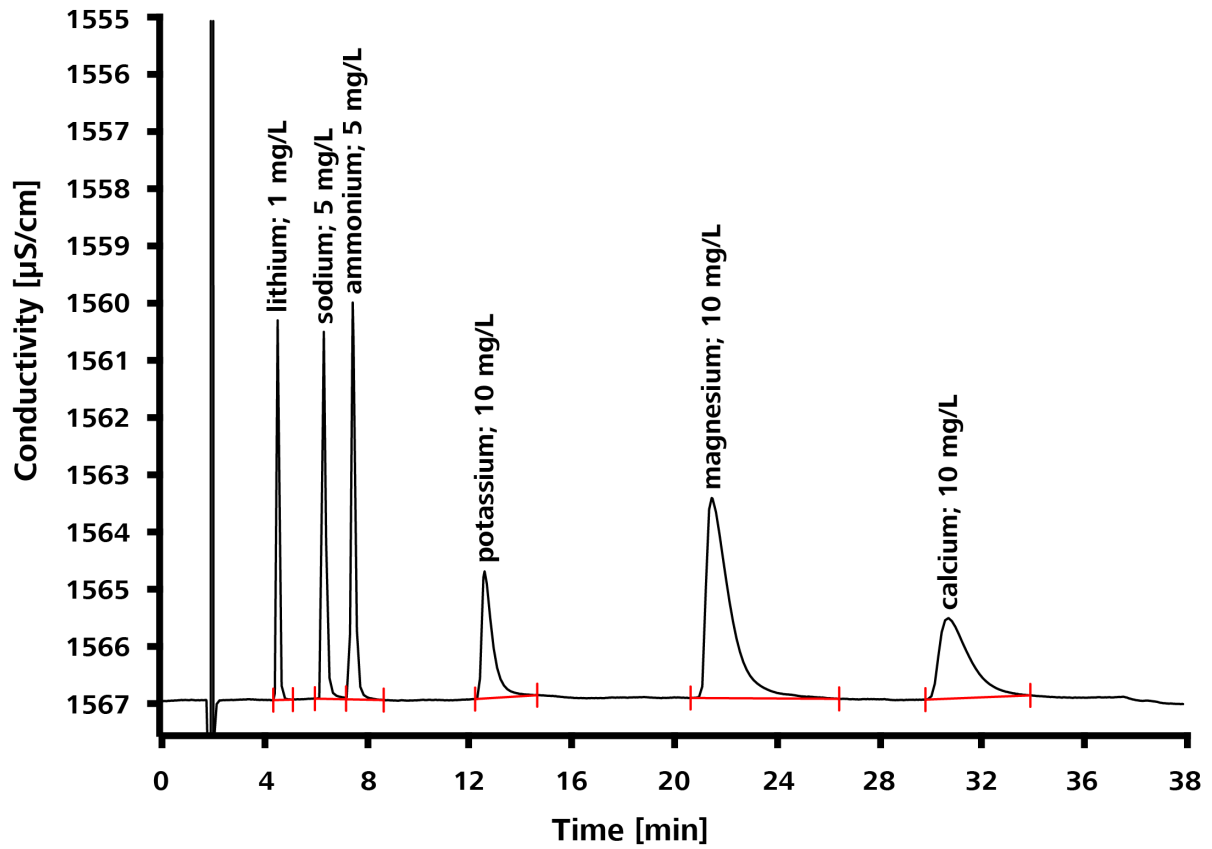
Suppression: -

Temperatur: 40 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

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



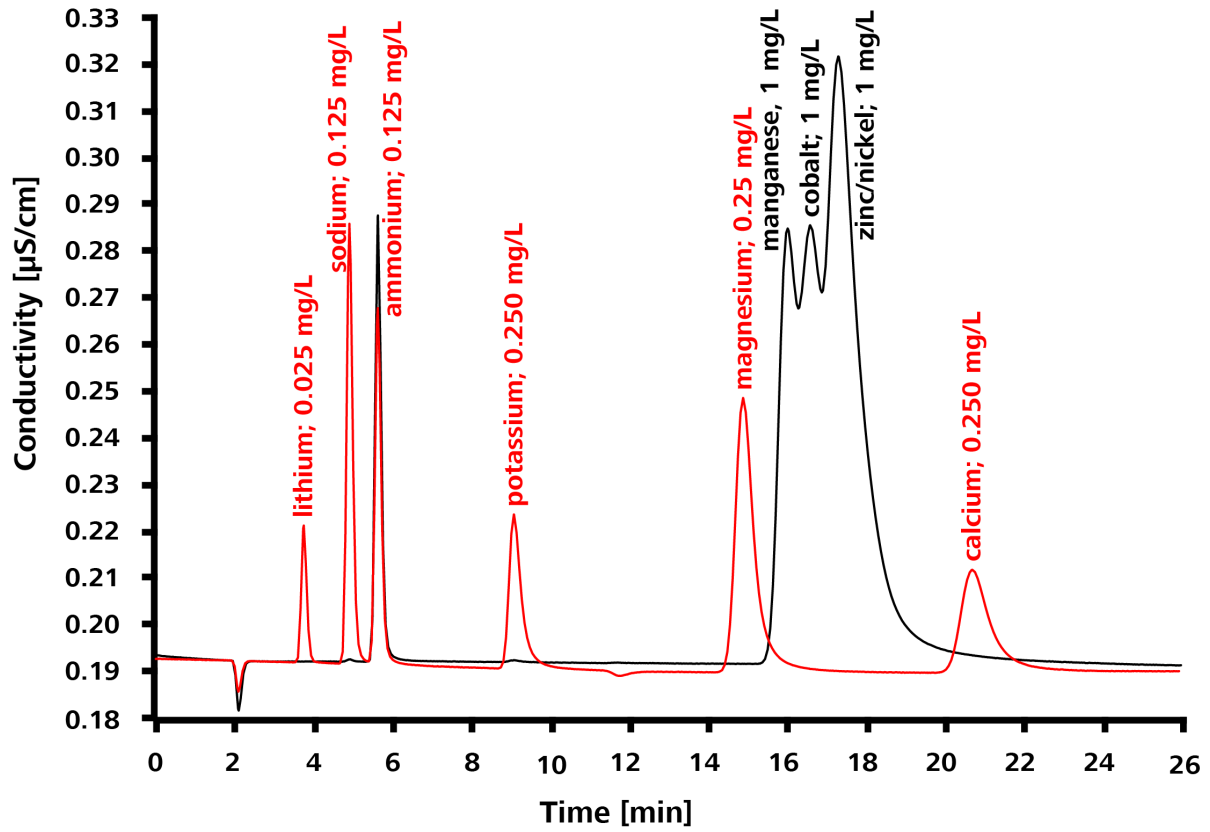
Metrosep C Supp 2 - 250/4.0	
	mg/L
1 Lithium	1

	Metrosep C Supp 2 - 250/4.0	mg/L
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Magnesium	10
6	Calcium	10

Die Auflösung von Natrium und Ammonium liegt auf der Metrosep C Supp 2 zwischen den Auflösungen auf der Metrosep C 4 und der Metrosep C 6.

5.8 Standardkationen mit Zink, Mangan, Cobalt und Nickel

<i>Säule:</i>	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	–
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
<i>Temperatur:</i>	40 °C
<i>Loop:</i>	20 µL
<i>Flussrate:</i>	1.0 mL/min
<i>Eluent:</i>	5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	0.025
2	Natrium	0.125
3	Ammonium	0.125
4	Kalium	0.250
5	Magnesium	0.250
6	Calcium	0.250

Mangan, Cobalt, Zink und Nickel beeinflussen die Messung von Standardkationen nicht.

5.9 Dose-in Gradient

Säule: Metrosep C Supp 2 - 250/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

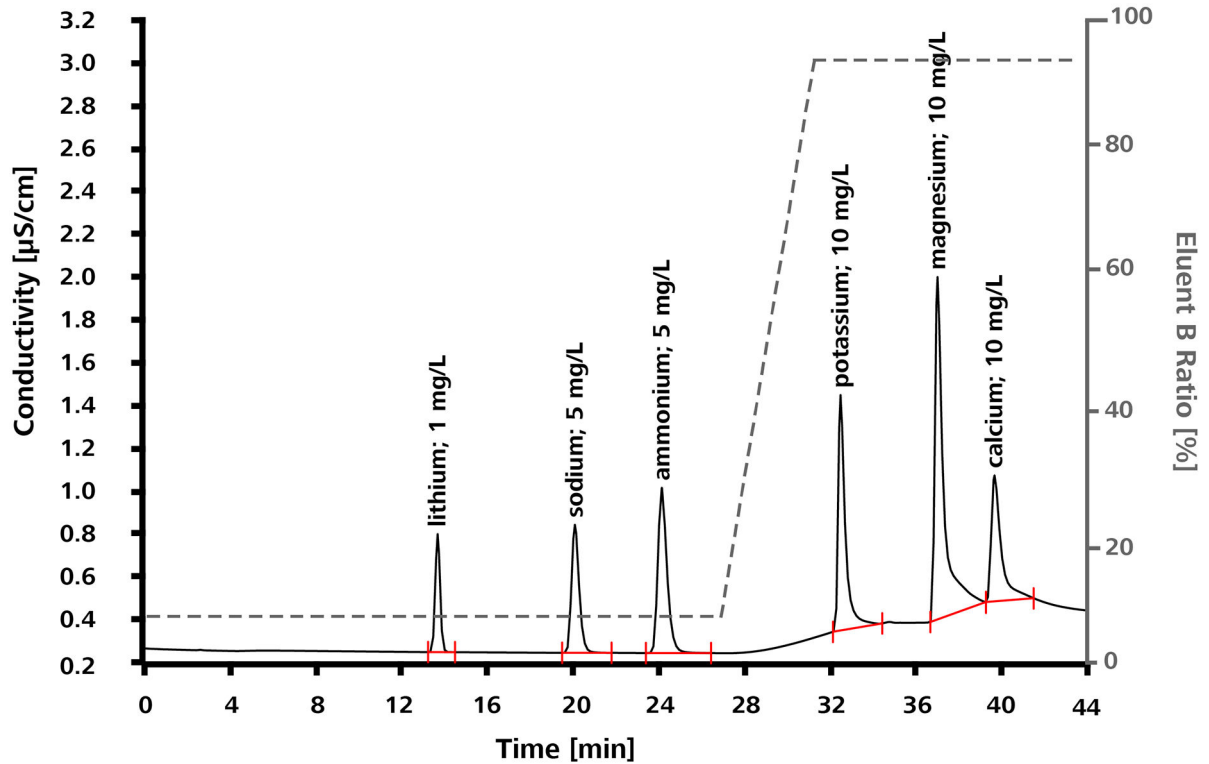
Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent:
 A) 0.5 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium
 B) 10 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium
 Linearer Gradient

- 0-23 min: A: 90 %, B: 10 %
- 23-28 min: A: 90...5 %, B: 10...95 %
- 28-40 min: A: 5 %, B: 95 %



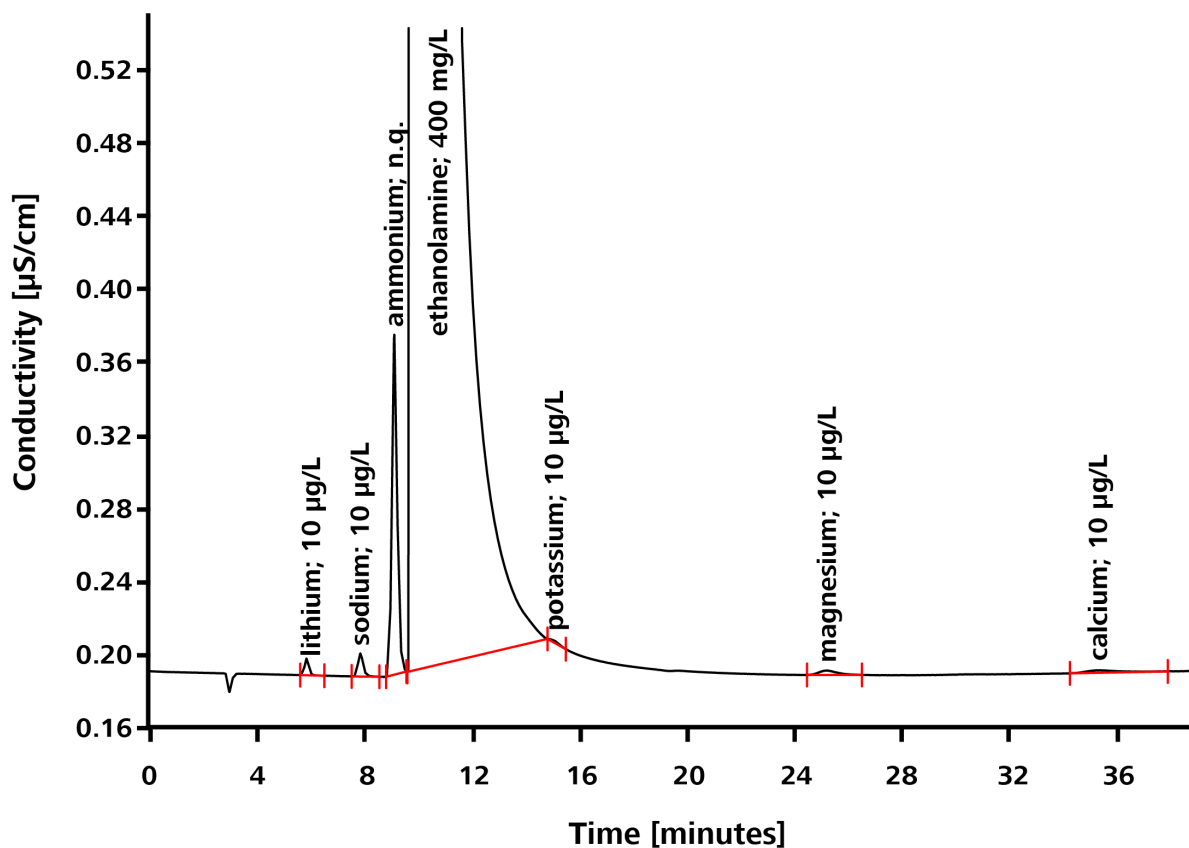


	Metrosep C Supp 2 - 250/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Magnesium	10
6	Calcium	10

Die Auflösung zwischen Natrium und Ammonium ist mit 5.7 sehr hoch. Durch die Anwendung des Gradienten kann bei dieser hohen Auflösung die Chromatogrammdauer trotzdem auf 44 min beschränkt werden.

5.10 40 ppm Ethanolamin zu 10 ppm Standardkationen

<i>Säule:</i>	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	–
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
<i>Temperatur:</i>	40 °C
<i>Loop:</i>	20 µL
<i>Flussrate:</i>	1.0 mL/min
<i>Eluent:</i>	5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



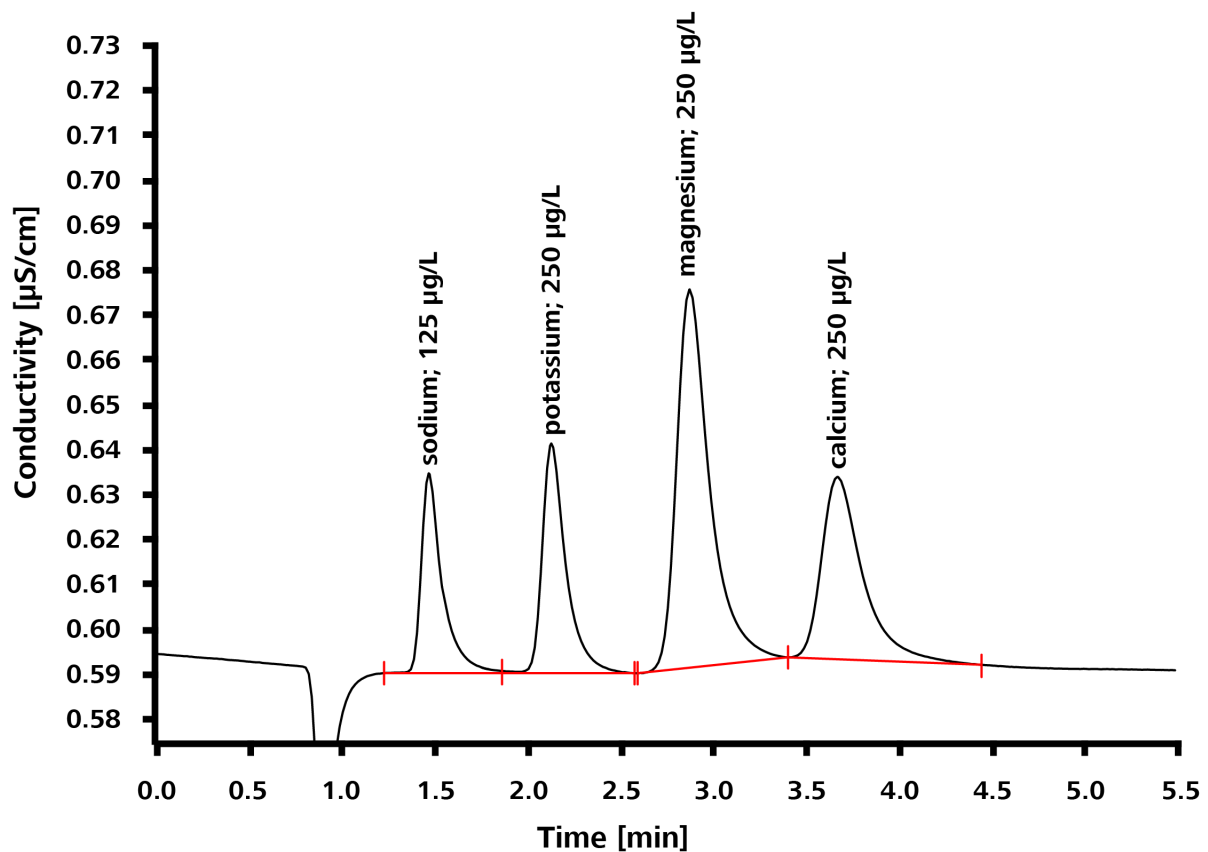
	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0	µg/L
1	Lithium	10
2	Natrium	10
3	Ammonium	nicht quantifizierbar
4	Ethanolamin	400'000
5	Kalium	10
6	Magnesium	10
7	Calcium	10

Bei einer Spurenanalyse mit Anreicherungstechnik und einem Injektionsvolumen von 2000 µL entsprechen die angegebenen Werte Konzentrationen von 4 ppm Ethanolamin und 0.1 ppb der Standardkationen.



5.11 Schnelle Bestimmung von Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium

<i>Säule:</i>	Metrosep C Supp 2 - 100/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	–
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
<i>Temperatur:</i>	60 °C
<i>Loop:</i>	20 µL
<i>Flussrate:</i>	2.0 mL/min
<i>Eluent:</i>	7.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium

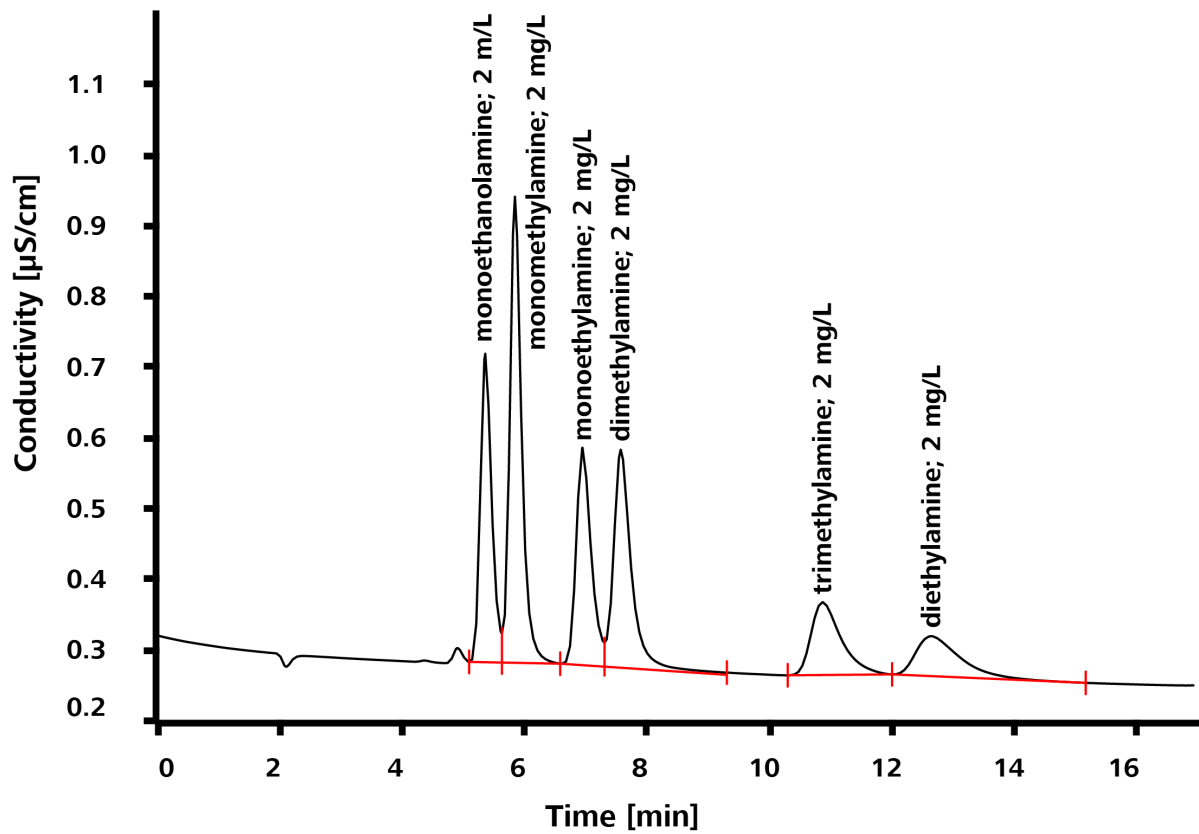


	Metrosep C Supp 2 - 100/4.0	mg/L
1	Natrium	0.125
2	Kalium	0.250
3	Magnesium	0.250
4	Calcium	0.250

Natrium, Kalium, Magnesium und Calcium können in unter 5 Minuten bestimmt werden.

5.12 Bestimmung von Aminen

<i>Säule:</i>	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	-
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
<i>Temperatur:</i>	60 °C
<i>Loop:</i>	20 µL
<i>Flussrate:</i>	1.0 mL/min
<i>Eluent:</i>	5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



	Metrosep C Supp 2 - 150/4.0	mg/L
1	Monoethanolamin	2
2	Monomethylamin	2
3	Monoethylamin	2
4	Dimethylamin	2
5	Trimethylamin	2
6	Diethylamin	2

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

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

1 Trennsäule vom IC-System trennen

Den Ausgang der Trennsäule von nachfolgenden Funktionseinheiten wie Suppressor oder Detektor trennen.

Den Flüssigkeitsstrom in einem Becherglas auffangen.

2 Trennsäule regenerieren

Je nach Art der Verunreinigung die Trennsäule wie folgt regenerieren:

- Verunreinigung mit organischen Komponenten (*siehe Tabelle 3, Seite 42*).
- Verunreinigung mit anorganischen Komponenten (*siehe Tabelle 4, Seite 42*).

Bei der Verwendung von organischen Modifiern zur Regeneration ist stets auf den maximalen Rückdruck zu achten.



Tabelle 3 Verunreinigung mit organischen Komponenten

	Spülen mit	Dauer [min]	Flussrate [mL/min]
1	Reinstwasser, gegen die Flussrichtung	60	1.0
2	Acetonitril/Wasser (40/60), gegen die Flussrichtung	60	1.0
3	Reinstwasser, gegen die Flussrichtung	60	1.0

Tabelle 4 Verunreinigung mit anorganischen Komponenten

	Spülen mit	Dauer [min]	Flussrate [mL/min]
1	Reinstwasser, gegen die Flussrichtung	30	1.0
2	50 mmol/L Salpetersäure, gegen die Flussrichtung	60	1.0
3	Reinstwasser, gegen die Flussrichtung	30	1.0

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. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Probe verdünnen. ▪ Weniger Probe injizieren.
Im IC-System besteht Totvolumen.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 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	Die Flussrate des Eluenten wird durch Luftblasen instabil. Eine instabile Flussrate zeigt sich u. a. am Rückdruck. Der Rückdruck sollte innerhalb von ± 0.1 MPa stabil bleiben. <ul style="list-style-type: none"> ▪ 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. <ul style="list-style-type: none"> ▪ Chromatogrammdauer verlängern.

6.5 Steigender Rückdruck

Problem Der Rückdruck steigt an.

Ursachen und Vermeidung

Ursachen	Vermeidung / Behebung
Partikel auf der Vorsäule	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vorsäule ersetzen.
Partikel auf der Trennsäule	Die Trennsäule gegen die Flussrichtung spülen. <ul style="list-style-type: none"> ▪ 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:

- Prospekt: Kationensuppression in der Ionenchromatographie – Kationenbestimmung im Spurenbereich (8.000.5163)
- Application Note CS-016: Metrosep C Supp 2 - 150/4.0: Amines applying suppressed cation chromatography
- Application Note CS-017: Metrosep C Supp 2 - 250/4.0: Ammonium in acidic absorption solution – proof of concept
- Application Note CS-018: Metrosep C Supp 2 - 250/4.0: Cations in wastewater applying a Dose-in gradient
- Application Note CS-019: Trace ammonium and trimethylamine in 30% hydrogen peroxide applying sequential suppression
- Application Note CS-020: Fast IC with Metrosep C Supp 2 - 100/4.0: Four cations in five minutes



Index

A

Aufbewahrung 2

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