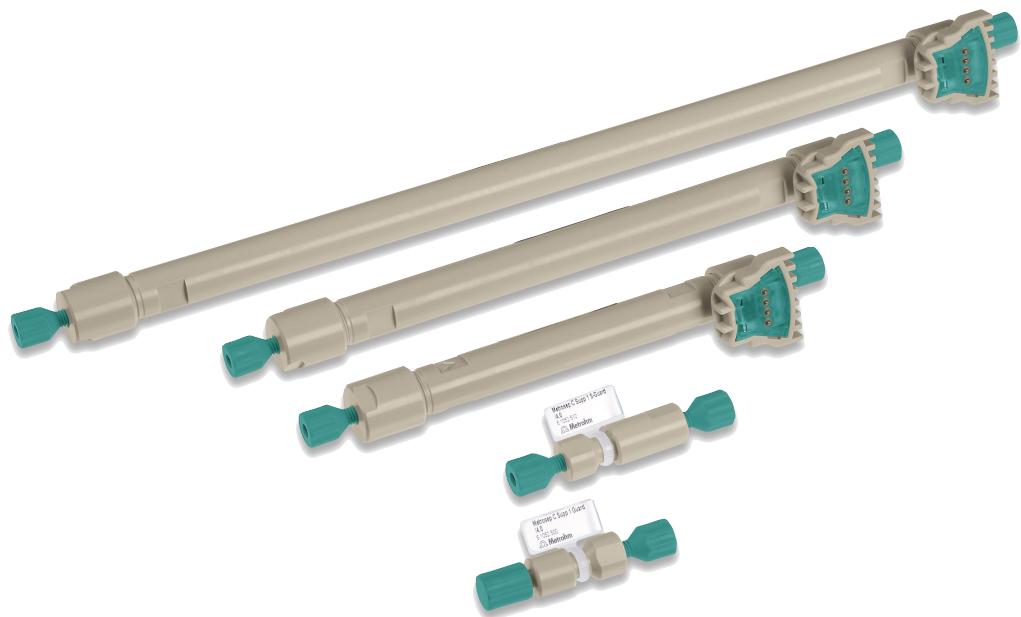


Säulenhandbuch



Metrosep C Supp 1 (6.1052.4X0)

Handbuch

8.107.8043DE / 2015-08-06



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

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	30
5.6	Ultrapurenalyse von Lithium und Natrium in Kernkraftwerksproben mit Monoethanolamin-Matrix	31
5.7	Spurenanalyse der Standardkationen und Mangan, Zink und Monoethanolamin	32
5.8	Bestimmung von aliphatischen Aminen	33
5.9	Analyse von Leitungswasser	34
5.10	Bestimmung der biogenen Amine neben den Standardkationen	35
5.11	Bestimmung von Choline in Babynahrung	36
6	Problembehandlung	38
6.1	Regeneration	38
6.2	Abnehmende Auflösung / Peakformen	39
6.3	Instabile Retentionszeiten	40



6.4	Unbekannte Peaks	40
6.5	Steigender Rückdruck	40
7	Literatur	42
	Index	43

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

<i>Abmessungen</i>	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)



<i>Flussrate</i>	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
<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 30 % Aceton, 0 bis 50 % Acetonitril, kein Methanol		
<i>In der Probenmatrix</i>	0 bis 30 % Aceton, 0 bis 50 % Acetonitril, kein Methanol		
<i>Vorbereitung</i>	<p>1. Die Säule während 2 h mit Eluent spülen.</p> <p>Zur Vermeidung von hohem Gegendruck empfehlen wir, die Säule beim Einbau bei niedriger Flussrate (0.4 mL/min) etwa 20 min zu spülen.</p>		
<i>Typischer Druck</i>	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	
<i>Säulengehäuse</i>	Intelligente Säule mit Chip, sogenannte iColumn aus PEEK		
<i>Anwendung</i>	Einsatz bei Trennungen von Standard- und Übergangsmetallkationen sowie Aminien 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. Verschiessen 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 Carbonat-Eluenten 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. zehn 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>Wenn Probleme mit IC-Systemen auftreten, so 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 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>Partikel</i>	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).
<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.
<i>Pulsationsdämpfer</i>	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 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ aufweisen und partikelfrei sein. Wir empfehlen deshalb, das Wasser durch ein $0.45\text{-}\mu\text{m}$ -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 $>18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ (25 °C)
TOC $< 10 \mu\text{g/L}$

3.2 Herstellung des Standardeluenten

Um 2 L des Standardeluenten mit 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 $\mu\text{g/L}$ 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).

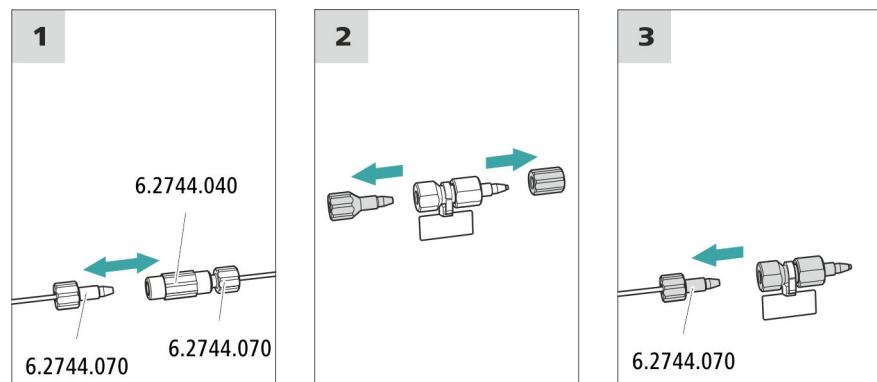
**HINWEIS**

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.



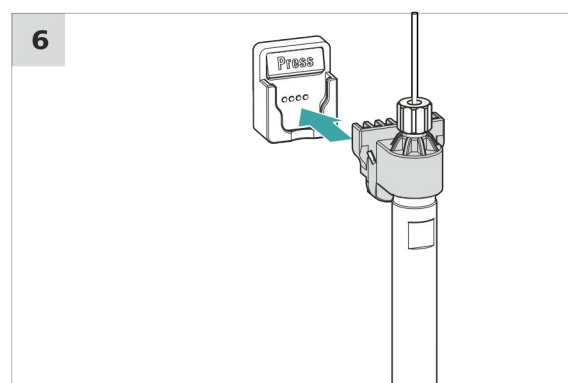
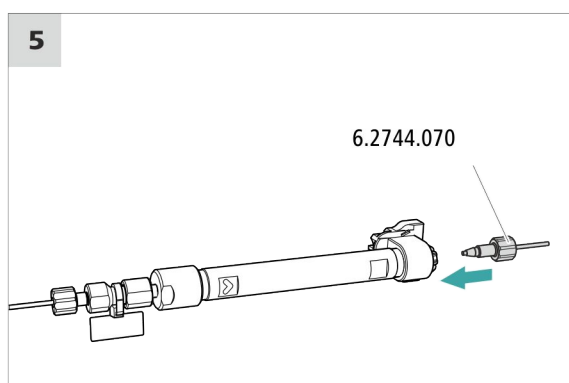
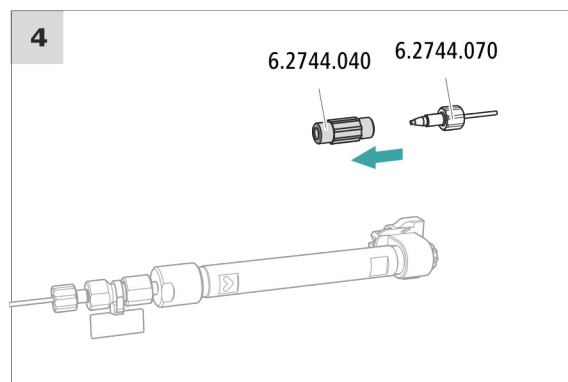
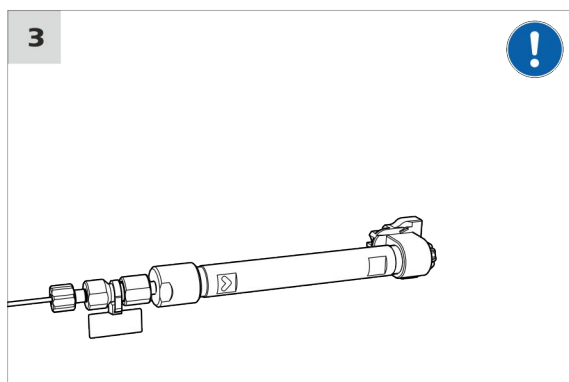
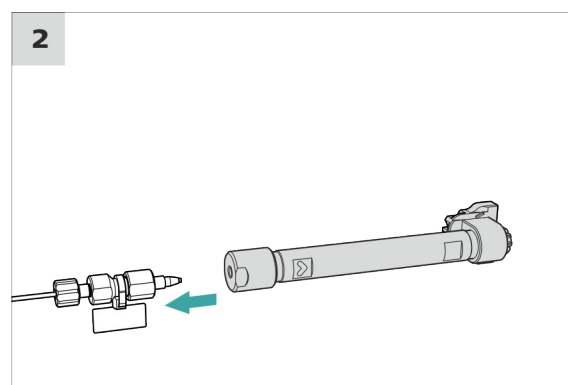
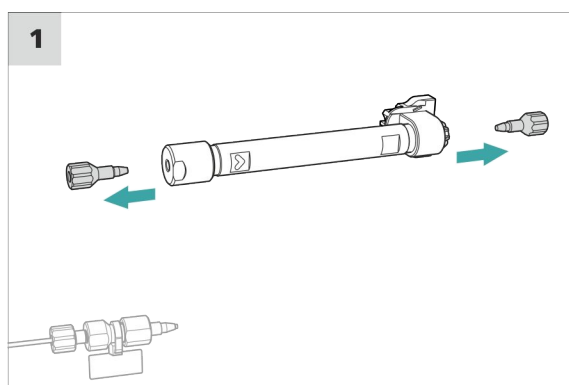
VORSICHT


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

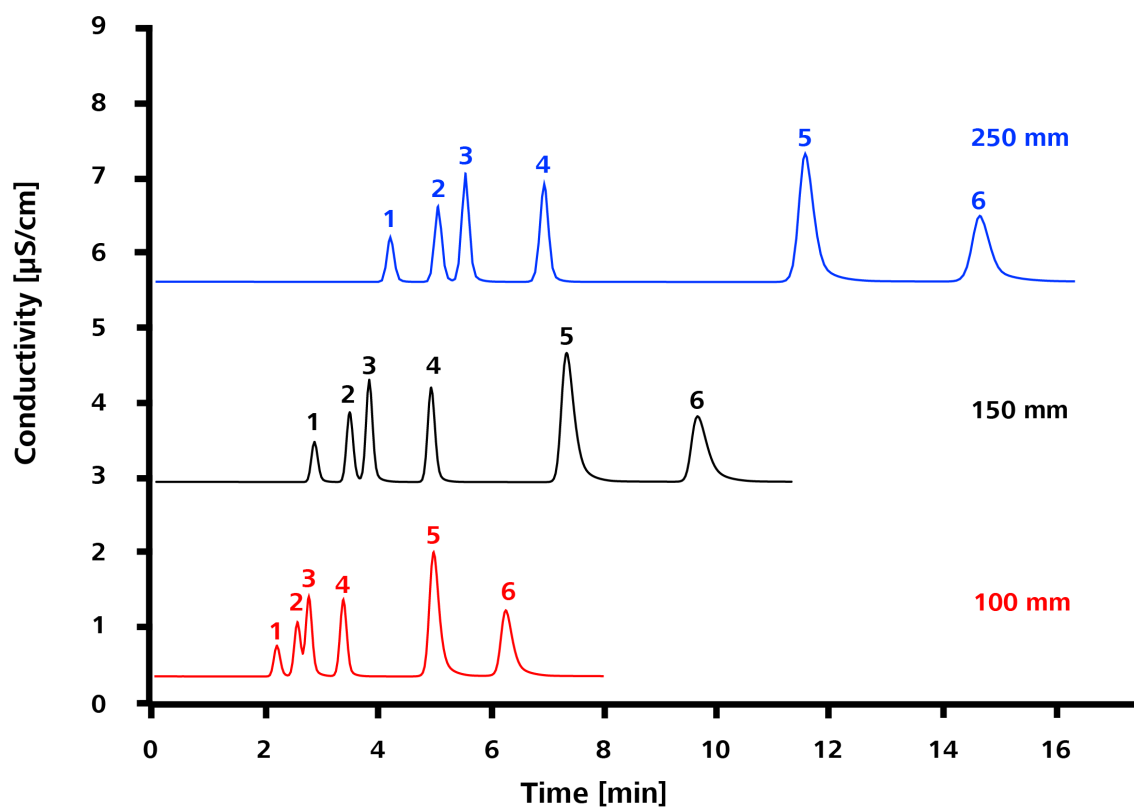
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

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

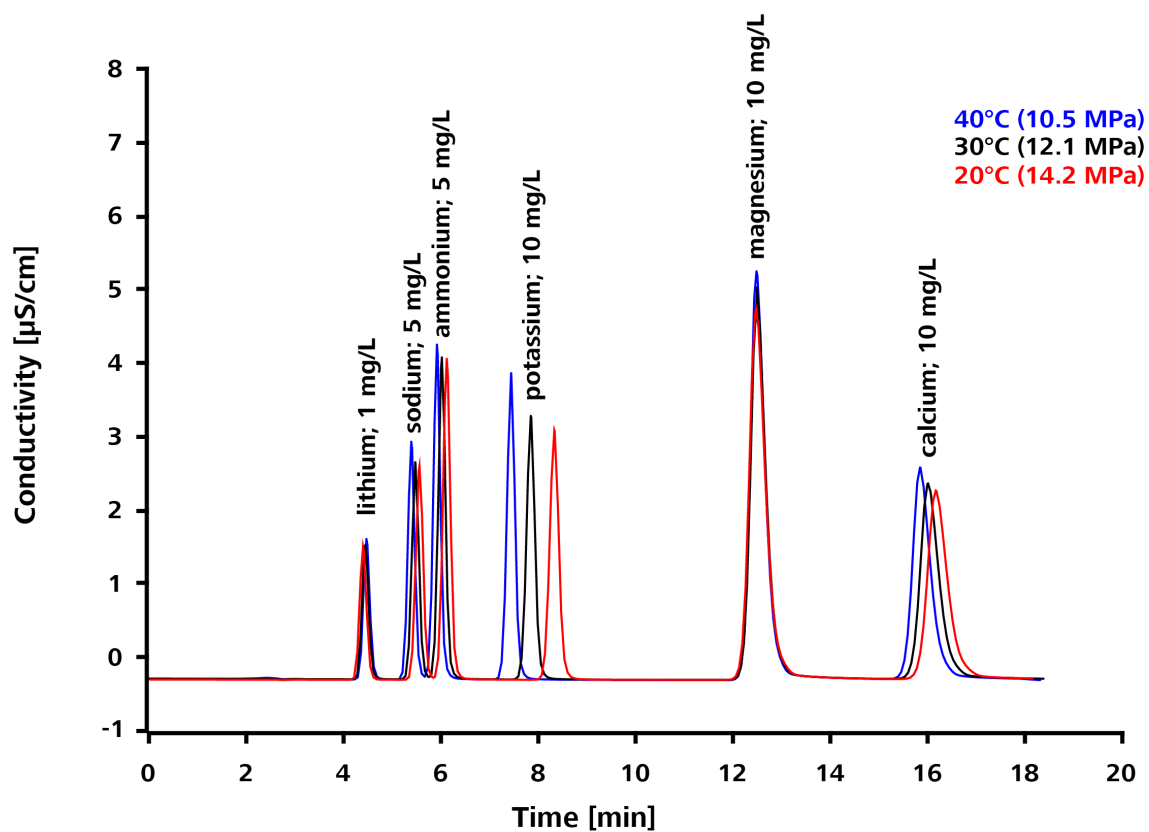


C Supp 1 - XX0/4.0

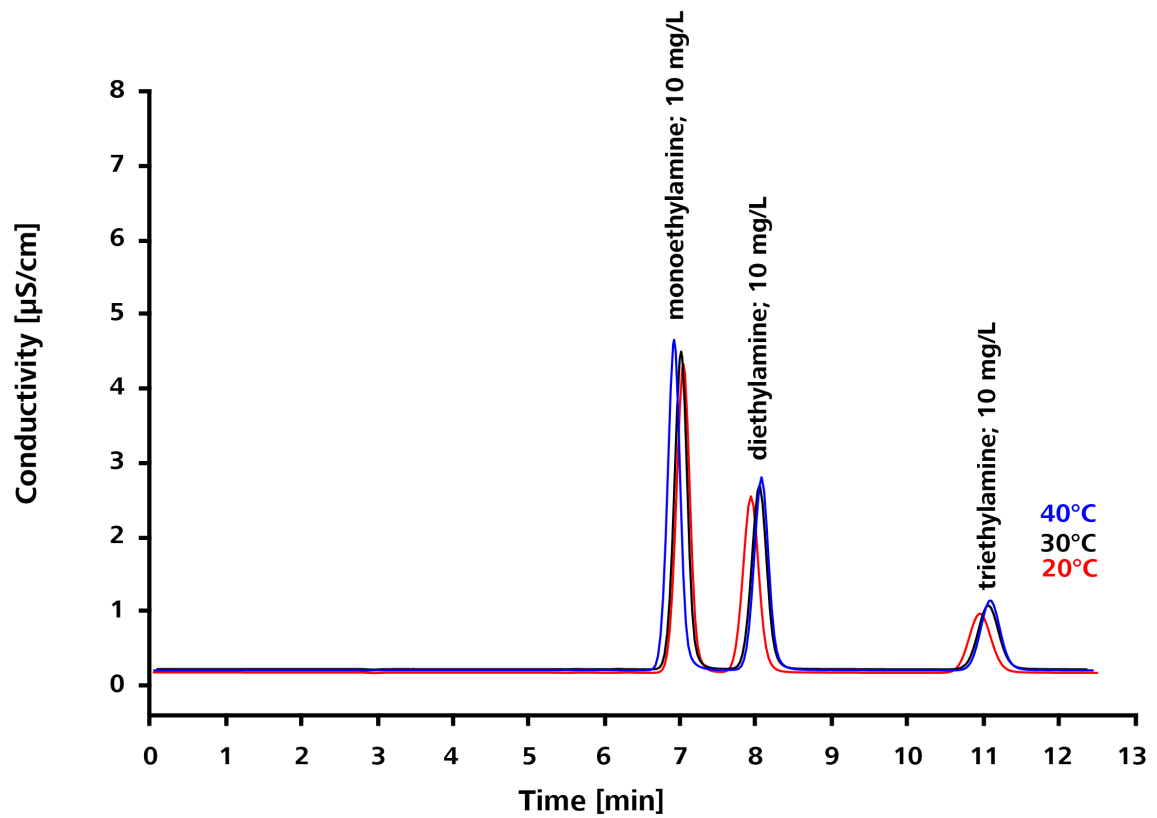
- | | |
|---|-------------------|
| 3 | 5 mg/L Ammonium |
| 4 | 10 mg/L Kalium |
| 5 | 10 mg/L Magnesium |
| 6 | 10 mg/L Calcium |
-

5.2 Einfluss der Temperatur

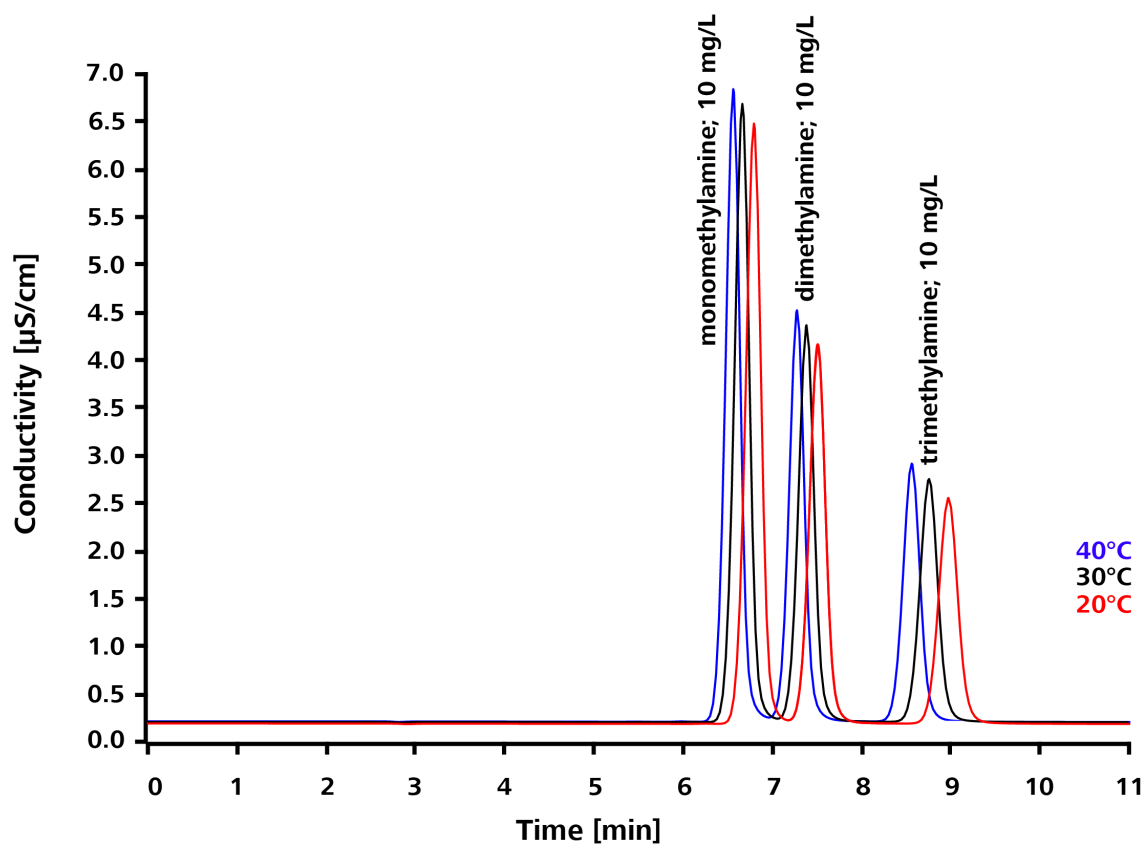
<i>Säule</i>	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	-
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS
<i>Temperatur:</i>	20 bis 40 °C
<i>Loop:</i>	20 µL
<i>Flussrate:</i>	1.0 mL/min
<i>Eluent:</i>	5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 µg/L Rubidium



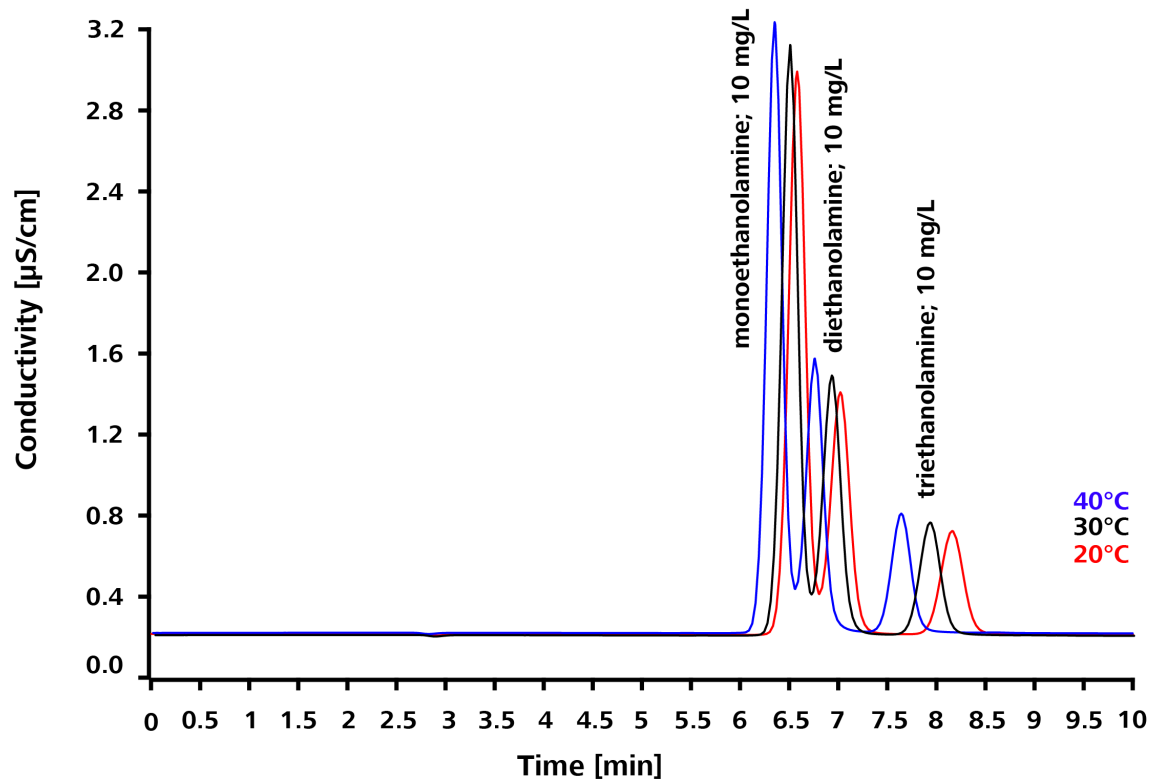
Monovalente Ionen haben mit höherer Temperatur kürzere Retentionszeiten, insbesondere Kalium.



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



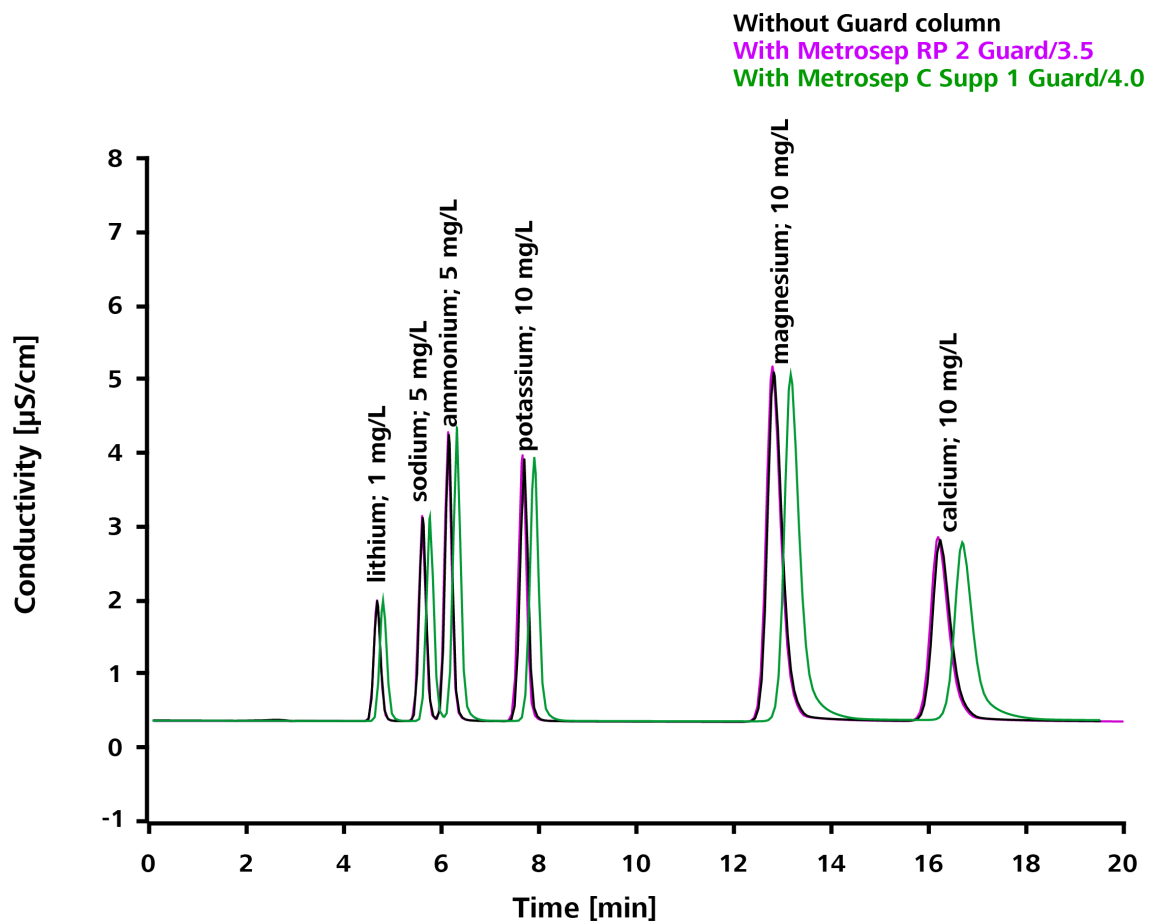
Mit höherer Temperatur ist eine leichte Verkürzung der Retentionszeiten der Methylamine zu beobachten.



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 $\mu\text{g/L}$ Rubidium

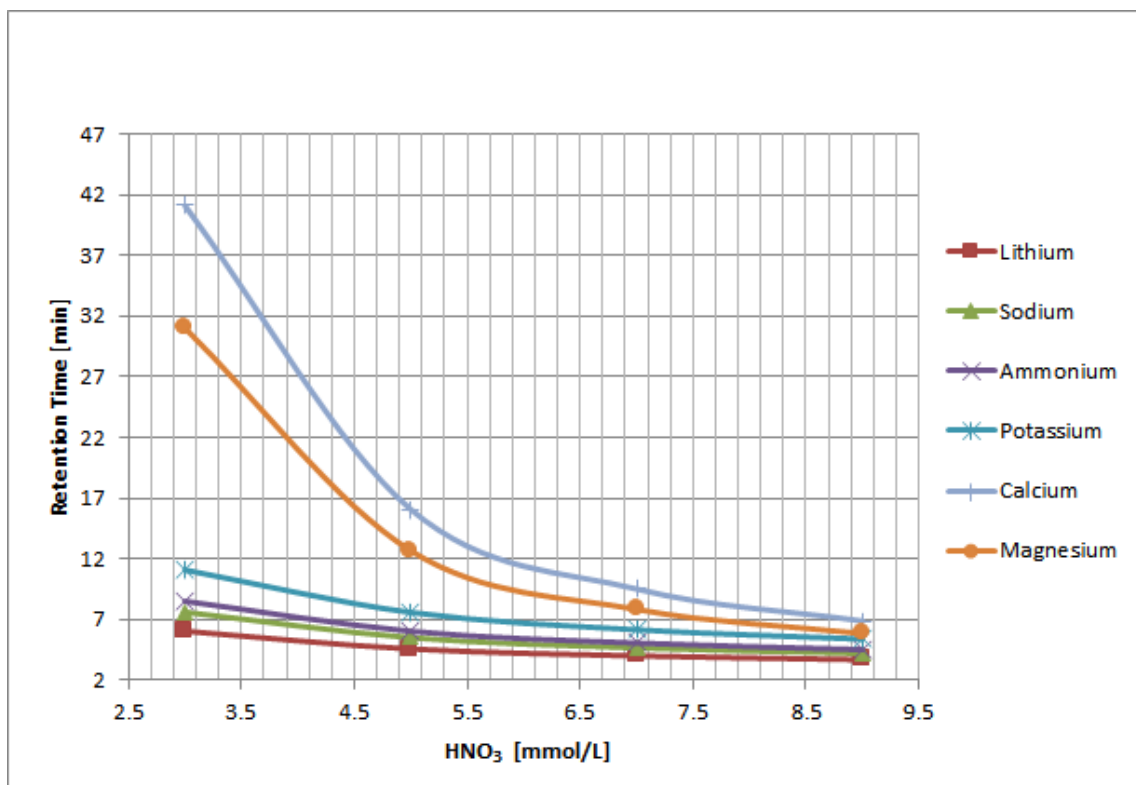


Abbildung 1 Salpetersäure-Variationen – Standardkationen

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

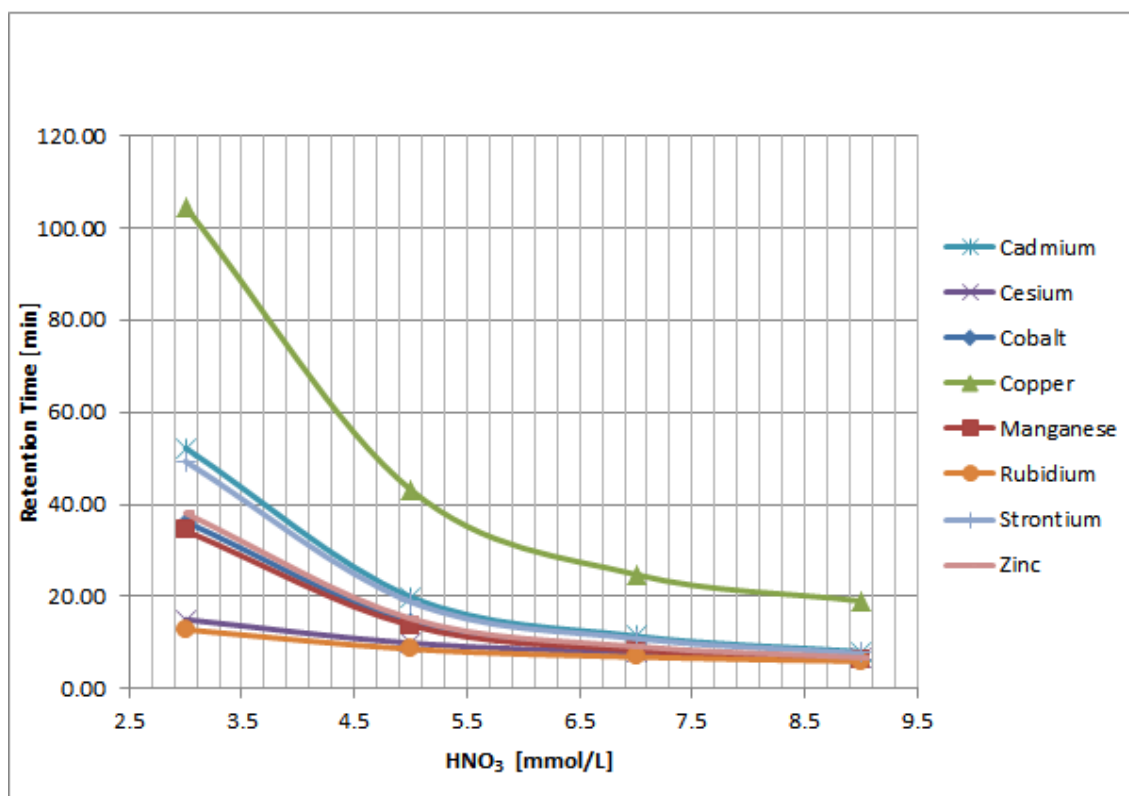


Abbildung 2 Salpetersäure-Variationen – Übergangsmetalle

Auch die Übergangsmetalle werden durch Erhöhung der Eluentenkonzentration stark beschleunigt. Kupfer eluiert als extrem breiter Peak. Mit einem 5 mmol/L HNO₃ Eluenten ist ein 10-mg/L-Kupferpeak etwa 20 Minuten breit.

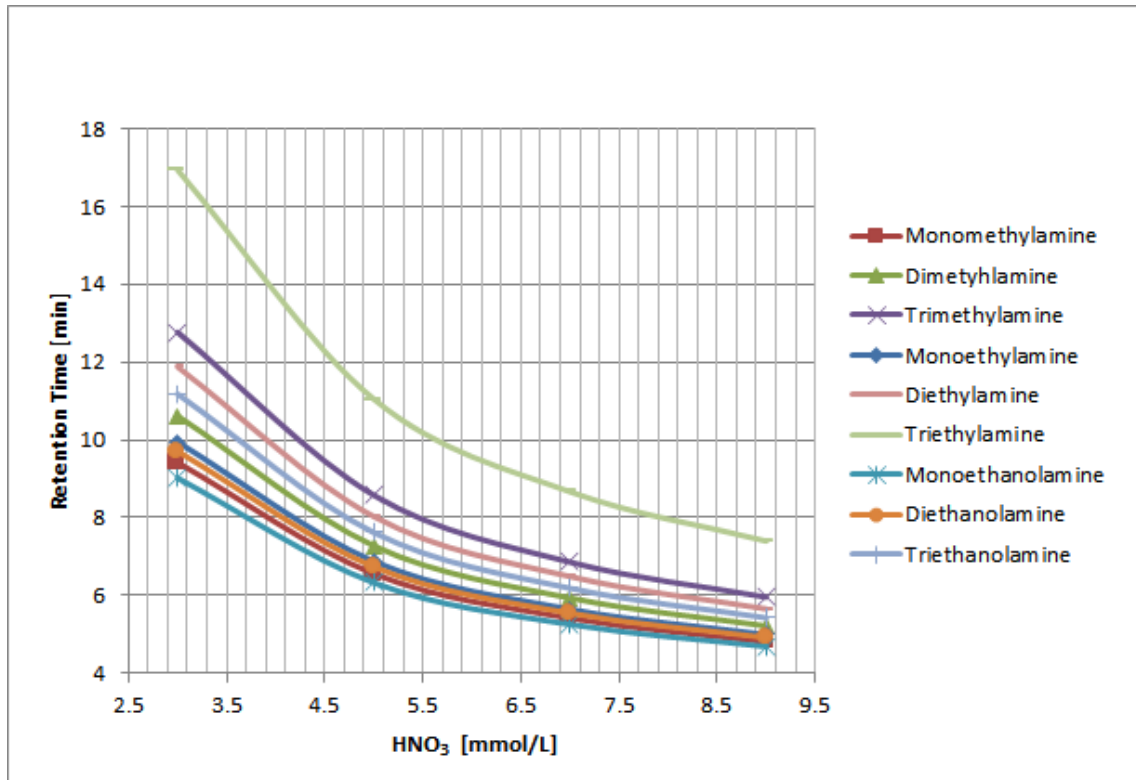


Abbildung 3 Salpetersäure-Variationen – Amine

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

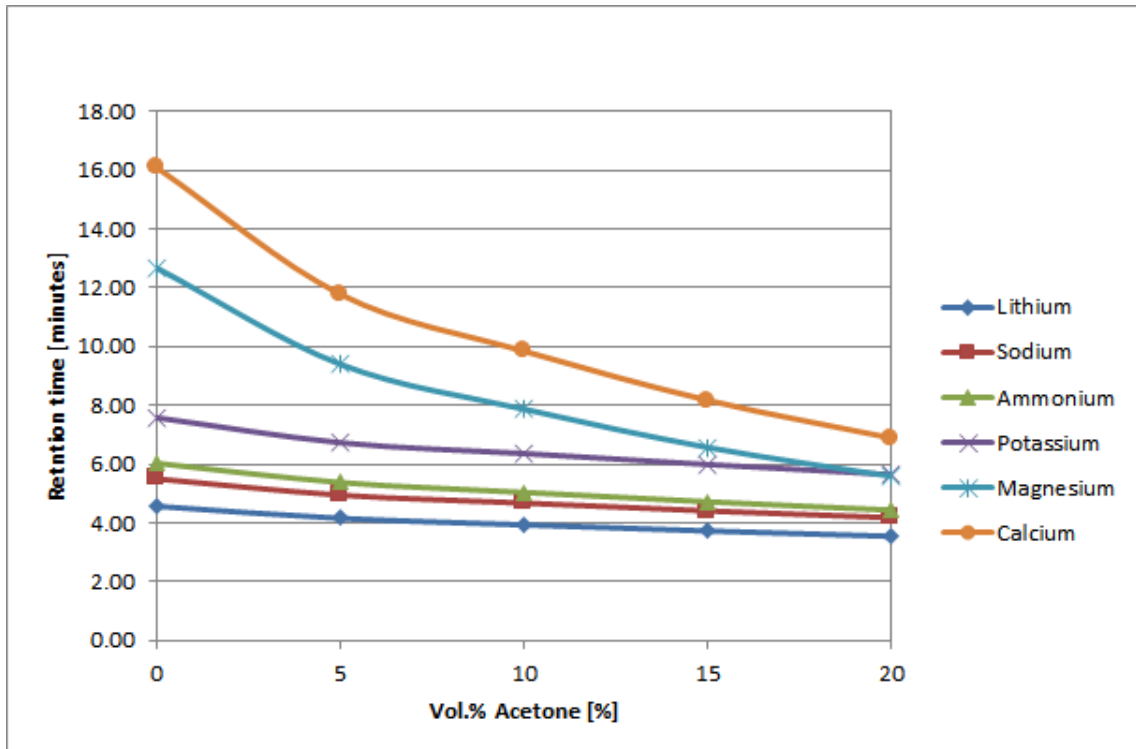


Abbildung 4 Aceton-Variationen – Standardkationen

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

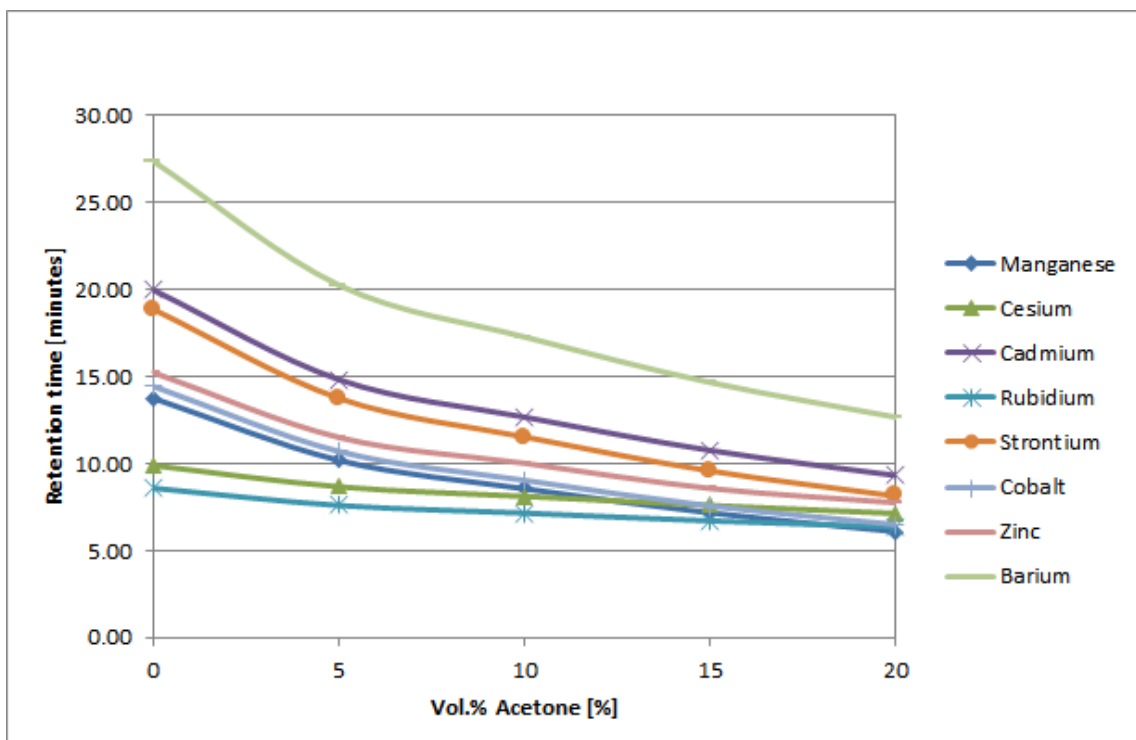


Abbildung 5 Aceton-Variationen – Übergangsmetalle



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

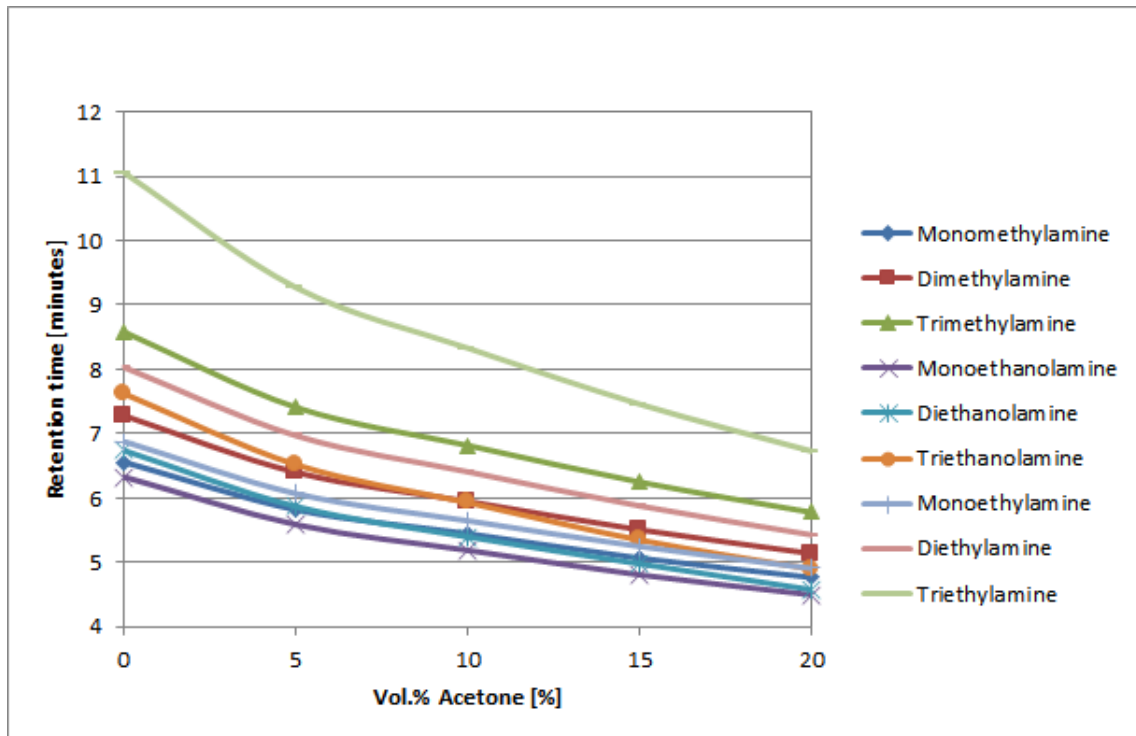


Abbildung 6 Aceton-Variationen – Amine

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

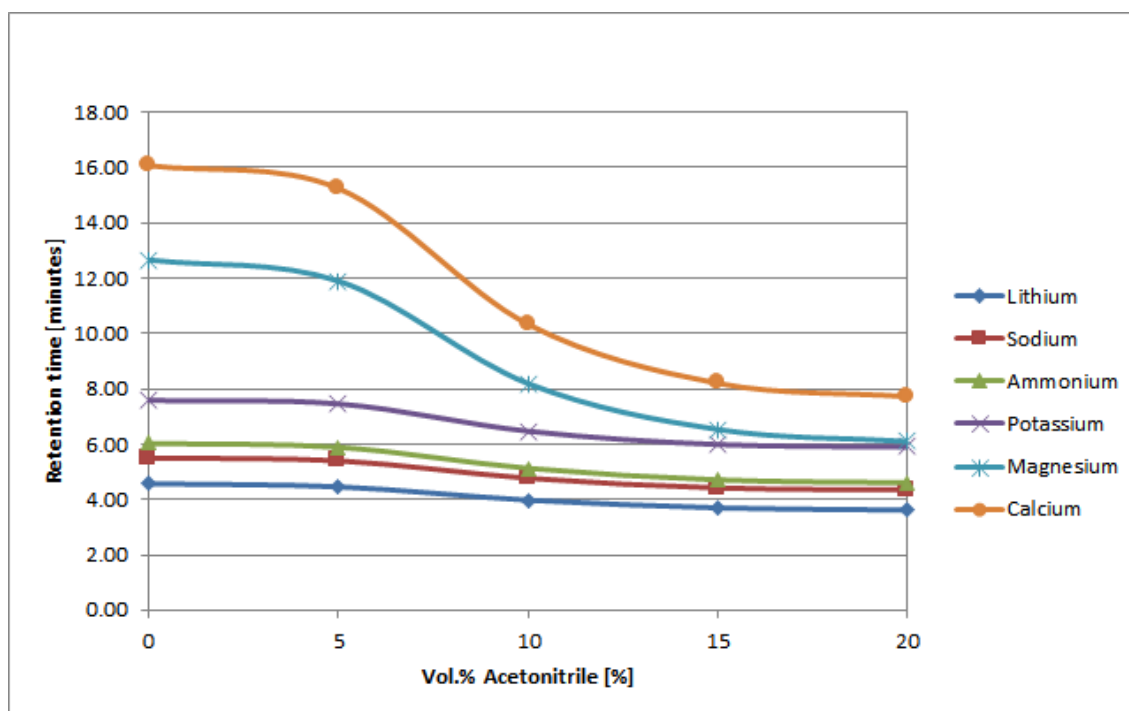


Abbildung 7 Acetonitril-Variationen – Standardkationen

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.

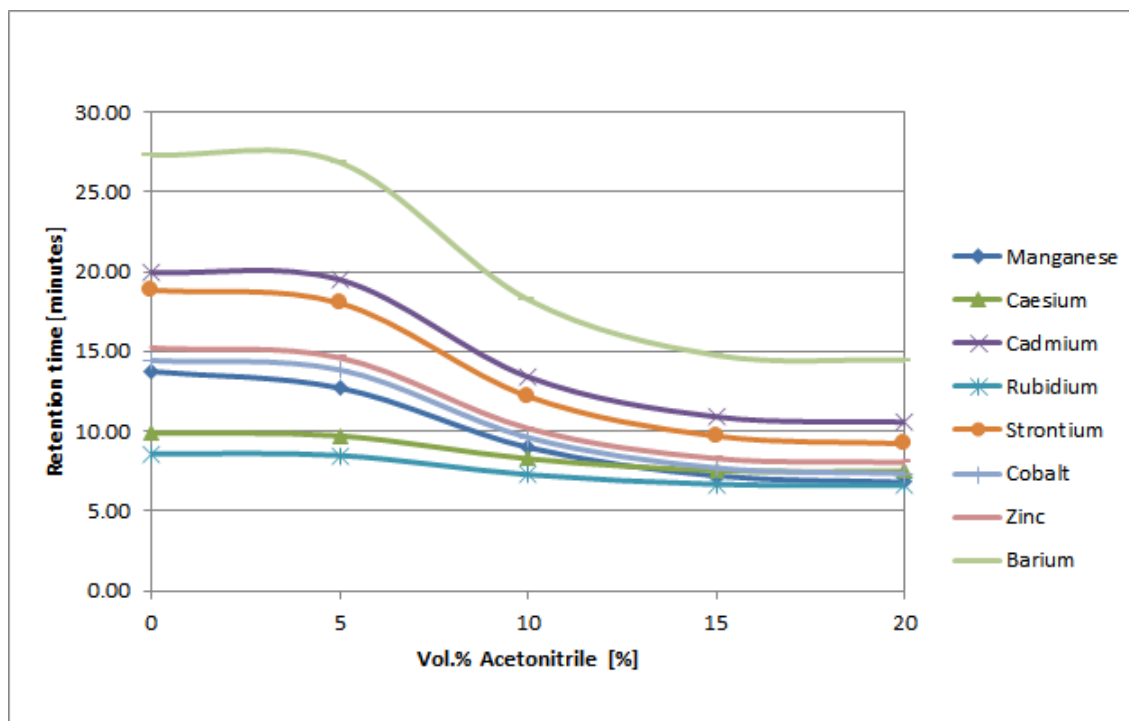


Abbildung 8 Acetonitril-Variationen – Übergangsmetalle



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

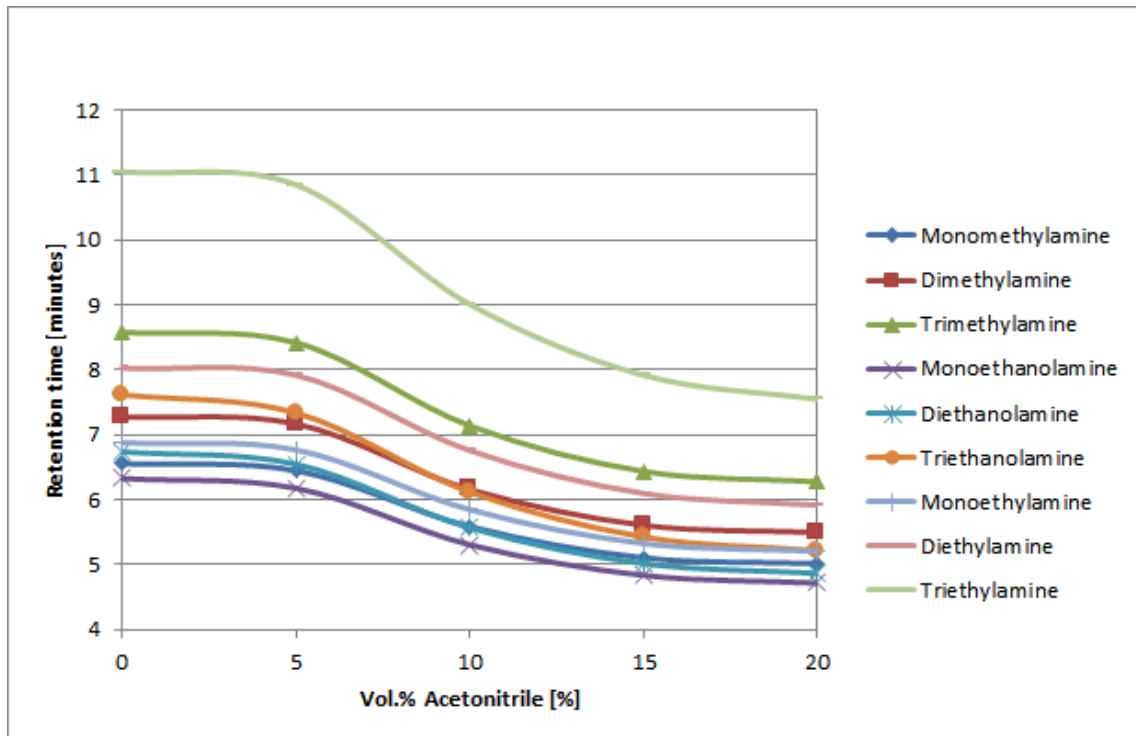


Abbildung 9 Acetonitril-Variationen – Amine

Mit zunehmender Acetonitrilkonzentration nehmen die Retentionszeiten der Amine ab. Wiederum sind es Triethanolamin und Dimethylamine als auch Monoethylamin 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

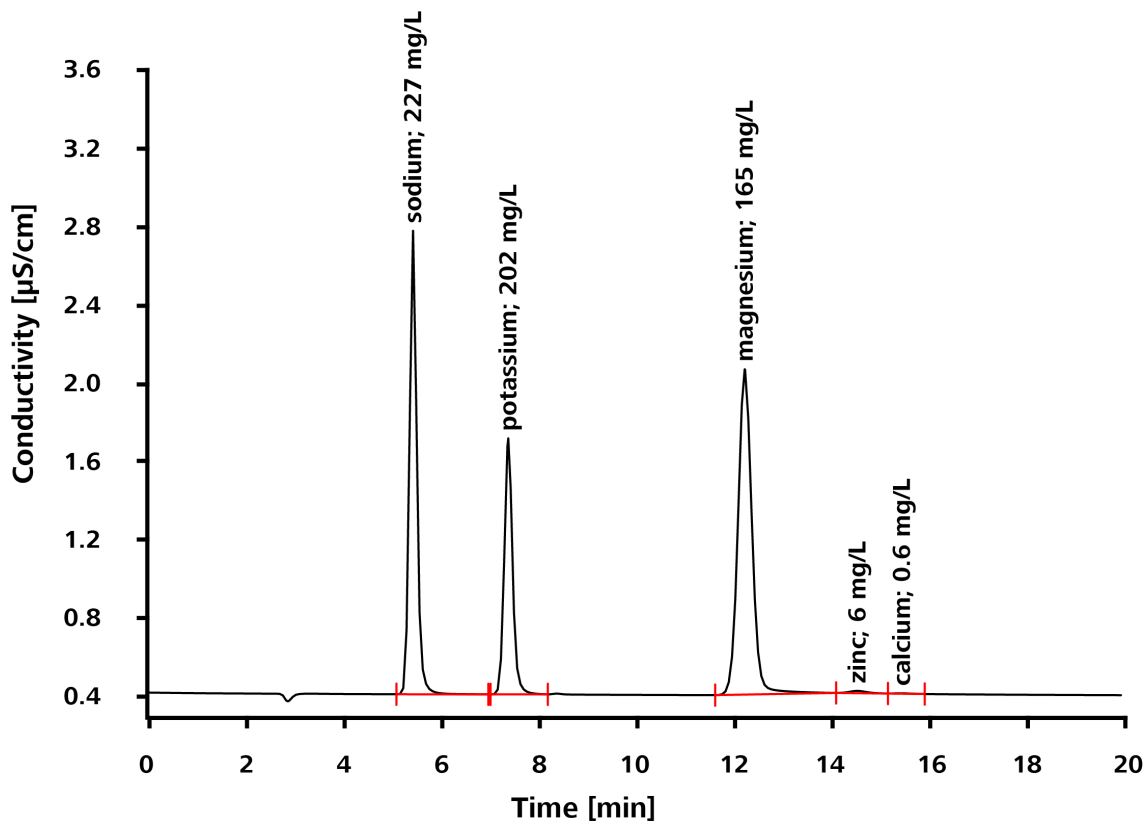
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

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



5.6 Ultrapurenalyse 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

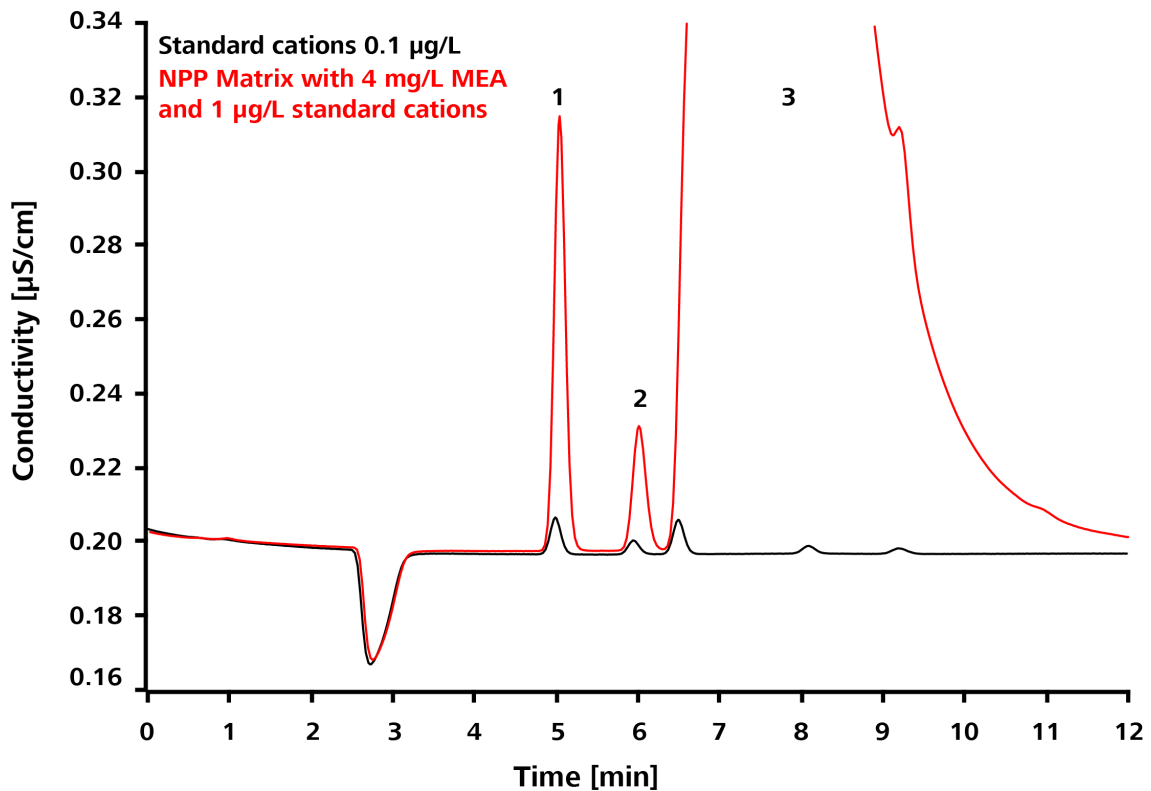
Temperatur: 40 °C

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

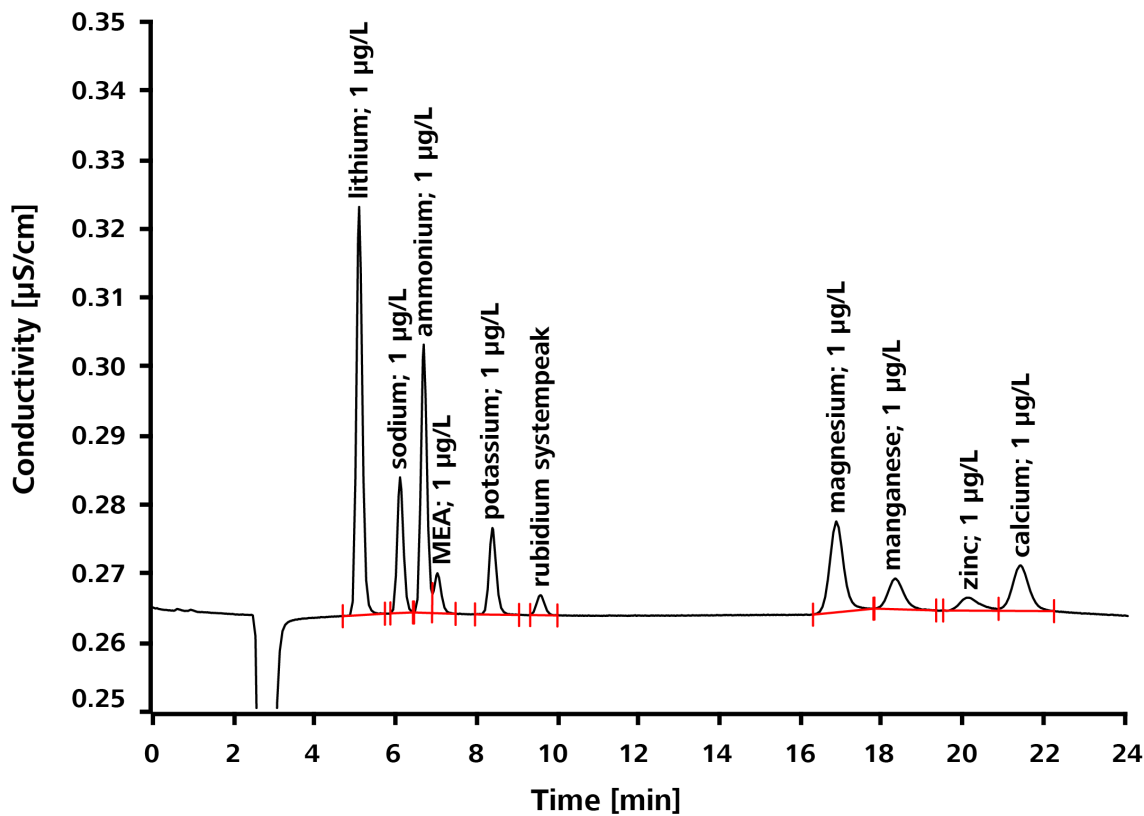
Probenvorbereitung: Inline-Matrixeliminierung und Inline-Anreicherung mit Metrosep C PCC 1 HC/4.0 (6.1010.310)

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

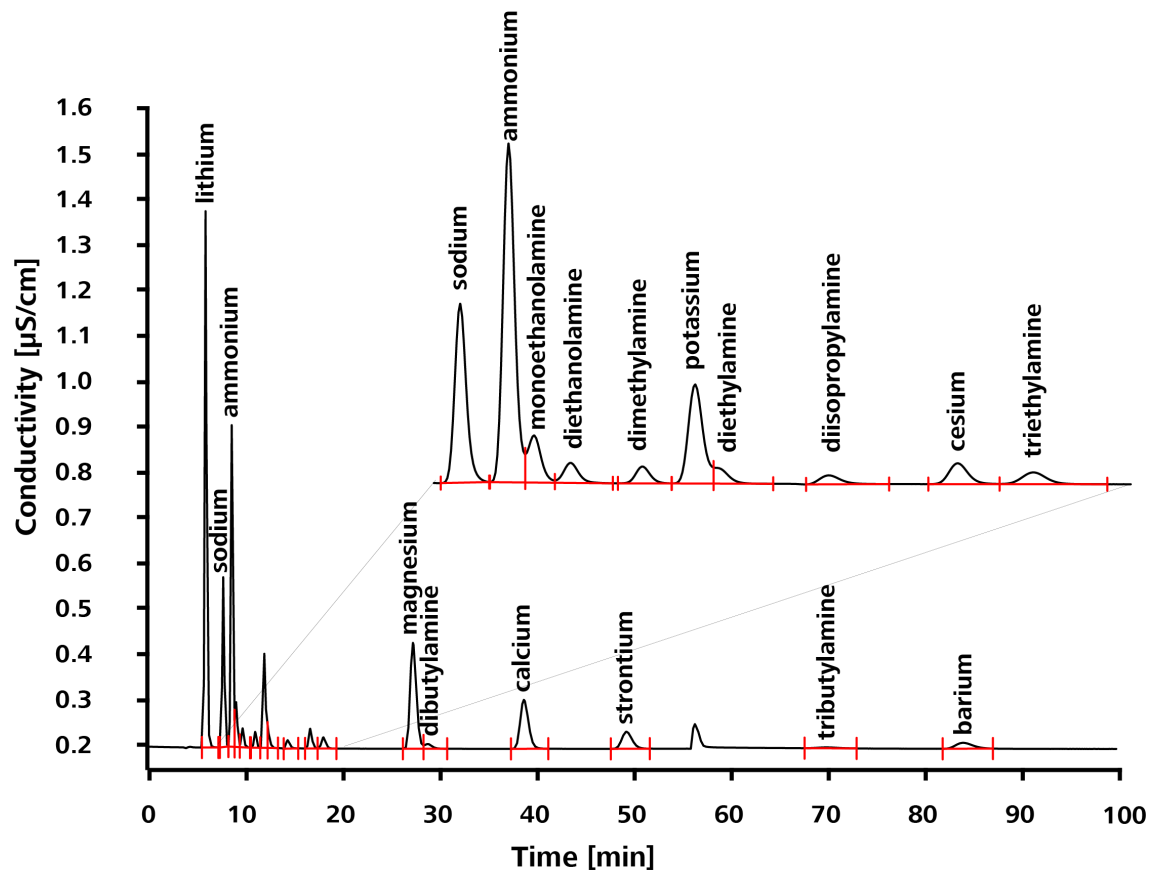
Temperatur: 40 °C

Loop: 1000 μL
 Flussrate: 1.0 mL/min
 Eluent: 4.0 mmol/L Salpetersäure und 50 $\mu\text{g/L}$ 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 $^{\circ}\text{C}$
 Loop: 20 μL
 Flussrate: 0.4 mL/min
 Eluent: 2.5 mmol/L Salpetersäure, 50 $\mu\text{g/L}$ Rubidium, 7.5 % (v/v) Acetonitril



5.9 Analyse von Leitungswasser

Säule Metrosep C Supp 1 - 250/4.0

Probenvorbereitung: -

Detektion: Leitfähigkeit

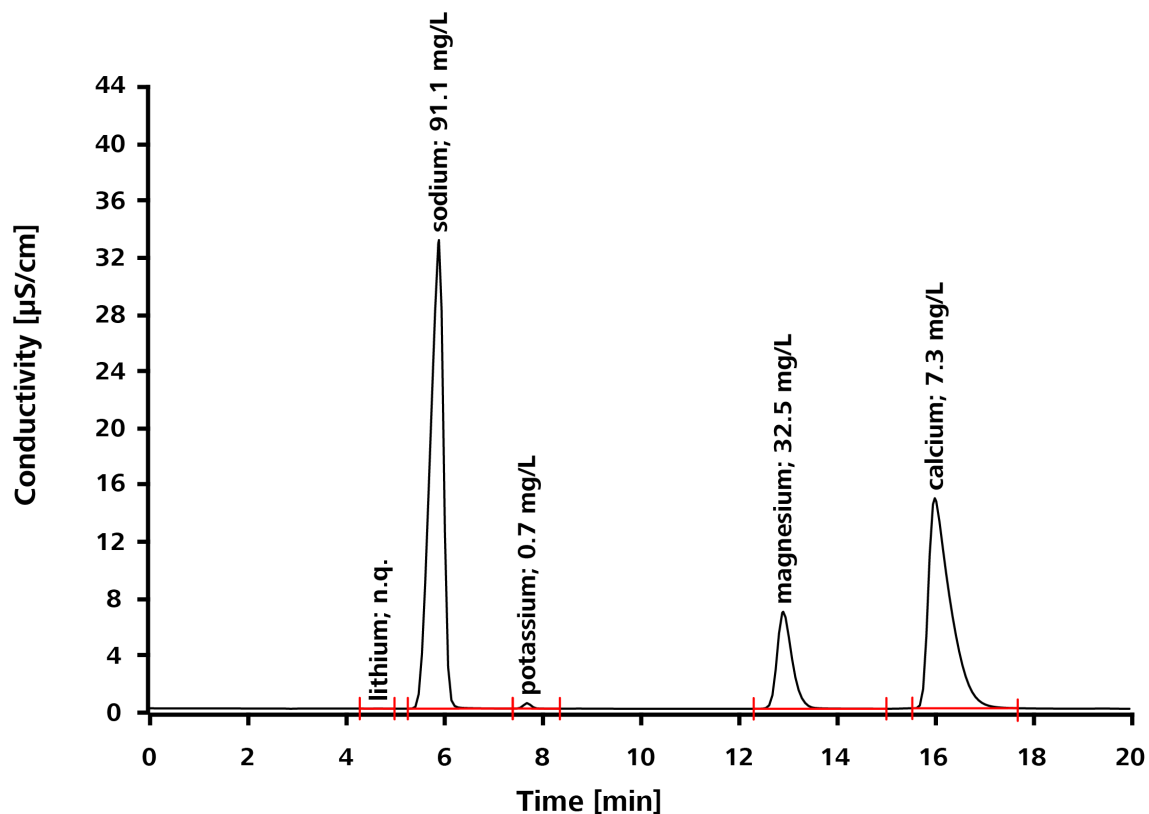
Suppression: Sequenzielle Suppression mit MSM-HC C und MCS

Temperatur: 40 °C

Loop: 20 μL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent: 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 $\mu\text{g/L}$ 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

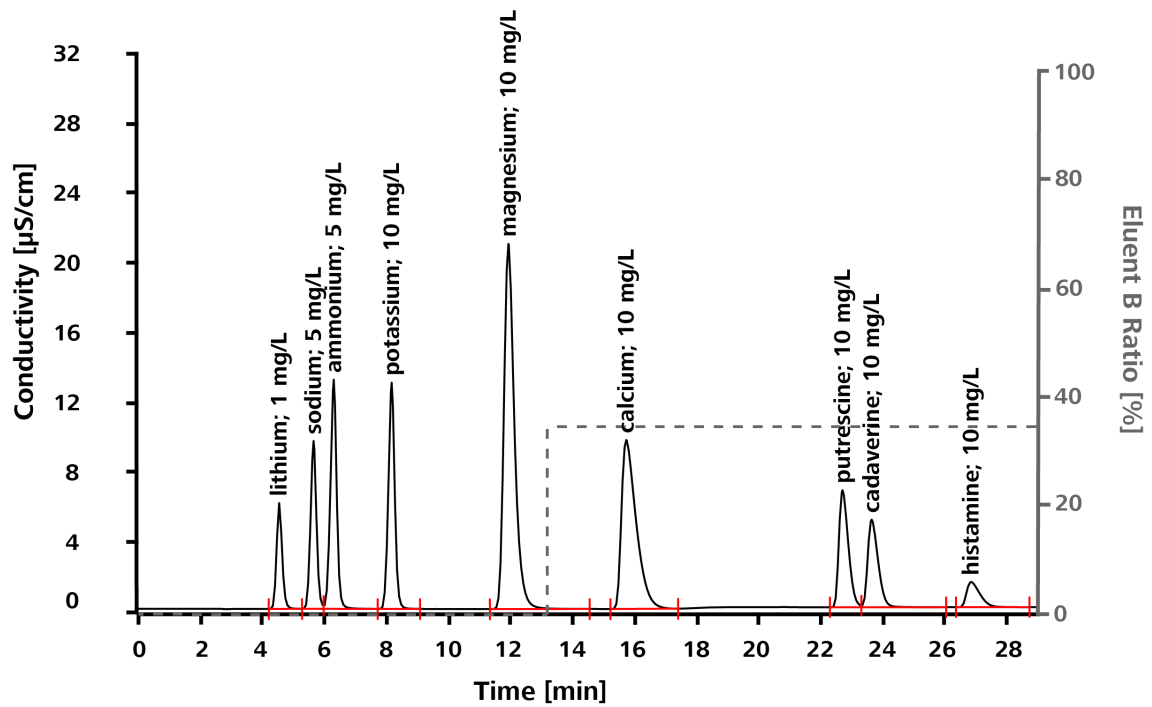
Loop: 20 μL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent: Dose-in Gradient:

Eluent A: 5.0 mmol/L Salpetersäure und 50 $\mu\text{g/L}$ Rubidium

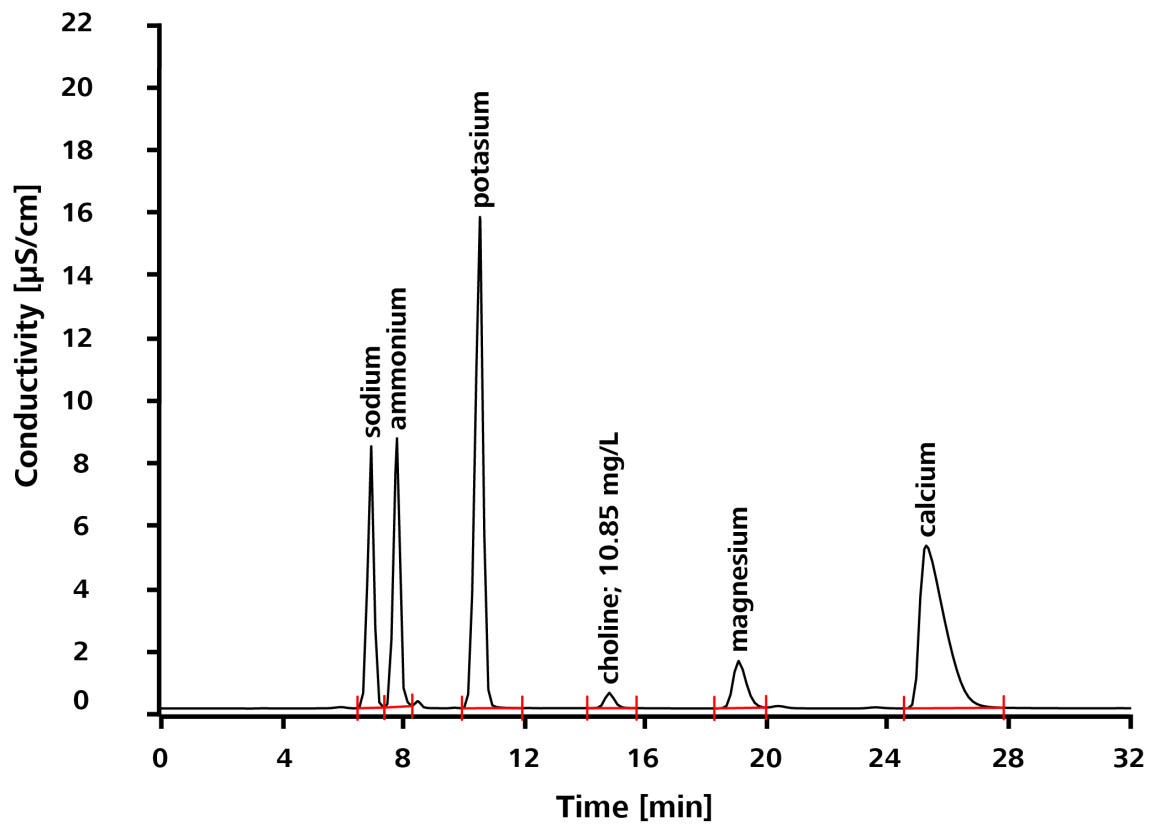
Eluent B: 25.0 mmol/L Salpetersäure und 50 $\mu\text{g/L}$ Rubidium



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

5.11 Bestimmung von Choline in Babynahrung

<i>Säule</i>	Metrosep C Supp 1 - 250/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	Analog zur Norm AOAC 2012.20
<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>	4.0 mmol/L Salpetersäure und 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ Rubidium



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

	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 % Acetonitril	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. <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	<p>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.</p> <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	<p>Etwas breitere unbekannte Peaks können durch spät eluierende Probenkomponenten entstehen. Diese stammen in diesen Fällen aus der vorhergehenden Injektion.</p> <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	<p>Die Trennsäule gegen die Flussrichtung spülen.</p> <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.



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 Determination 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