

Säulenhandbuch



Metrosep C 4 (6.1050.XX0)

Handbuch

8.107.8049DE / 2017-08-28



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 4 (6.1050.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	2
2	Allgemeines ABC des Arbeitens mit Trennsäulen	4
3	Eluentenherstellung	8
3.1	Chemikalien	8
3.2	Herstellung des Standardeluenten	8
4	Inbetriebnahme	10
4.1	Vorsäule anschliessen und spülen	10
4.2	Trennsäule anschliessen	12
4.3	Konditionierung	16
5	Applikationen	18
5.1	Standardchromatogramm	18
5.2	Einfluss der Temperatur	20
5.3	Eluent-Flussratenvariation	22
5.4	Variation des Eluenten	23
5.4.1	Variation der Salpetersäurekonzentration	23
5.4.2	Variation der Dipicolinsäure-Konzentration	27
5.4.3	Variation der Oxalsäurekonzentration	29
5.5	Variation organischer Modifizier	31
5.5.1	Variation der Acetonkonzentration	31
5.5.2	Variation der Acetonitrilkonzentration	32
5.6	Spurenanalyse in Kernkraftwerken	34
5.7	Schnelle Bestimmung der Standardkationen in Trinkwasser	35
5.8	Messstabilität bei der Alkoholbestimmung	36
5.9	Aminbestimmung neben Standardkationen	37
5.10	Bestimmung von Aminen in Colesevelam HCl	38
5.11	Bestimmung von Kationen in Bier	39
5.12	Bestimmung von Piperazin und N-Methyldiethanolamin in Waschlösungen	40
5.13	Bestimmung von Kationen in Dünger	41



5.14	Nährstoffanalyse einer Zellkultur	42
5.15	Bestimmung von Kationen mit IC-MS und Leitfähigkeitsdetektion	43
6	Problembehandlung	45
6.1	Regeneration	45
6.2	Abnehmende Auflösung / Peakformen	46
6.3	Instabile Retentionszeiten	47
6.4	Unbekannte Peaks	47
6.5	Steigender Rückdruck	48
7	Literatur	49
	Index	51

1 Allgemeine Informationen

Diese Trennsäule ist die Standardsäule für die Kationenanalytik. Mit der Metrosep C 4 lassen sich neben den Standardkationen eine grosse Anzahl an Aminen sowie verschiedene Übergangsmetalle bestimmen.

1.1 Bestellinformationen

Tabelle 1 Säulen 4 mm

Bestellnummer	Bezeichnung
6.1050.450	Metrosep C 4 - 50/4.0
6.1050.410	Metrosep C 4 - 100/4.0
6.1050.420	Metrosep C 4 - 150/4.0
6.1050.430	Metrosep C 4 - 250/4.0

Tabelle 2 Säulen 2 mm

Bestellnummer	Bezeichnung
6.1050.210	Metrosep C 4 - 100/2.0
6.1050.220	Metrosep C 4 - 150/2.0
6.1050.230	Metrosep C 4 - 250/2.0

Tabelle 3 Vorsäulen

Bestellnummer	Bezeichnung
6.1050.500	Metrosep C 4 Guard/4.0
6.1050.510	Metrosep C 4 S-Guard/4.0
6.1050.530	Metrosep C 4 S-Guard - 50/4.0
6.1050.600	Metrosep C 4 Guard/2.0
6.1050.610	Metrosep C 4 S-Guard/2.0



1.2 Technische Spezifikationen

Säulenmaterial Silicagel mit Carboxyl-Gruppen

Partikelgrösse 5 µm

Abmessungen

Bestellnummer	Abmessungen
6.1050.450	50 x 4.0 mm
6.1050.410	100 x 4.0 mm
6.1050.420	150 x 4.0 mm
6.1050.430	250 x 2.0 mm
6.1050.210	100 x 2.0 mm
6.1050.220	150 x 2.0 mm
6.1050.230	250 x 2.0 mm

pH-Bereich 2...7

Temperaturbereich 20...60 °C

Empfohlene Standardtemperatur 25 °C

Maximaler Druck

4 mm	25 MPa (250 bar)
2 mm	25 MPa (250 bar)

Flussrate

Bestellnummer	Empfohlene Flussrate	Maximale Flussrate
6.1050.450	0.9 mL/min	2.0 mL/min
6.1050.410	0.9 mL/min	2.0 mL/min
6.1050.420	0.9 mL/min	2.0 mL/min
6.1050.430	0.9 mL/min	2.0 mL/min
6.1050.210	0.2 mL/min	0.6 mL/min
6.1050.220	0.2 mL/min	0.6 mL/min
6.1050.230	0.2 mL/min	0.6 mL/min

Standardeluent 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure

Erlaubte organische Zusätze

Im Eluenten

0 bis 100 % Aceton und Acetonitril (kein Alkohol)

In der Probenmatrix

0 bis 100 % Aceton, Acetonitril und Alkohole

Kapazität

Bestellnummer	Kapazität
6.1050.450	5
6.1050.410	10
6.1050.420	15
6.1050.430	25
6.1050.210	3
6.1050.220	4
6.1050.230	6

Vorbereitung

1. Die Säule mit einem Flussgradienten innerhalb von 2 min auf den Standardfluss einstellen.
2. Anschliessend warten, bis die Basislinie gegeben ist.

Aufbewahrung

Die Säule in Standardeluent oder Reinstwasser lagern.

Typischer Druck

Für Säulen ohne Vorsäule unter Standardbedingungen

Bestellnummer	Typischer Druck
6.1050.450	3.3 ± 2 MPa
6.1050.410	4.9 ± 2 MPa
6.1050.420	7.7 ± 2 MPa
6.1050.430	10.9 ± 2 MPa
6.1050.210	3.2 ± 2 MPa
6.1050.220	5.2 ± 2 MPa
6.1050.230	6.9 ± 2 MPa

Säulengehäuse

Intelligente Säule mit Chip, sogenannte iColumn aus PEEK

Anwendung

Bestimmung von Standardkationen, Alkalimetallen und Erdalkalimetallen sowie Aminen und Übergangsmetallen in wässrigen Medien.



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 wenn möglich 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 ($> 18.2 \text{ M}\Omega$) 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. 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 Natriumhyd-

	<p>oxid-Eluenten und Carbonateluenten mit Natronkalk – als schwacher CO₂-Adsorber – befüllt.</p>
<i>Entgasen des Eluenten</i>	<p>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.</p>
<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 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>	<p>Alle Eluenten müssen unmittelbar vor ihrer Verwendung mikrofiltriert (0.45 µm) werden.</p>
<i>Mechanischer Stress</i>	<p>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.</p>
<i>Partikel</i>	<p>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).</p>
<i>Probenvorbereitungskartuschen</i>	<p>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 Probenvorbereitungskartu-</p>

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 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
- Dipicolinsäure, $\text{C}_7\text{H}_5\text{NO}_4$, 99 %
Sigma Aldrich Bestellnummer: 63808
- 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 1.7 mmol/L Salpetersäure und 0.7 mmol/L Dipicolinsäure herzustellen, gehen Sie wie folgt vor:

2 L Standardeluent herstellen

- 1 Die Eluentenflasche mehrmals mit Reinstwasser vorspülen.
 - 1.8 L Reinstwasser vorlegen.
- 2 Wenn 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 Folgende Mengen an Chemikalien abmessen:
 - Salpetersäure: 1.7 mL
 - Dipicolinsäure: 234 mg
- 4
 - 1.7 mL Salpetersäure in die Eluentenflasche pipettieren.
 - Ca. 100 mL Reinstwasser in ein Becherglas geben.
 - 234 mg Dipicolinsäure in das Becherglas geben.

- Das Becherglas während 1 Minute auf höchster Stufe in der Mikrowelle erwärmen.
Falls keine Mikrowelle vorhanden ist, die Suspension auf 80 °C erwärmen.
- Das Becherglas danach schwenken, bis die Dicolinsäure gelöst ist.
- Die Lösung in die Eluentenflasche geben.
- Die Eluentenflasche mit Reinstwasser auf 2 L auffüllen.

Mit diesem Eluenten (1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dicolinsäure) kann eine Hintergrundleitfähigkeit von etwa 700 $\mu\text{S}/\text{cm}$ erreicht werden. Typischerweise beträgt das Rauschen weniger als 2 nS/cm.



HINWEIS

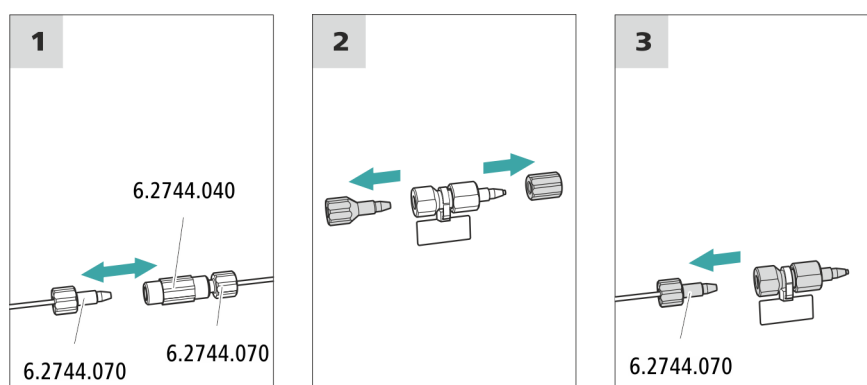
Die Vorsäule darf erst angeschlossen werden, nachdem das Gerät bereits einmal in Betrieb genommen wurde. Bis dahin müssen die Vorsäule und die Trennsäule durch eine Kupplung (6.2744.040) ersetzt werden.

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

- Den Stopfen und die Verschlusskappe von der Vorsäule abschrauben.

3 Vorsäule anschliessen



VORSICHT

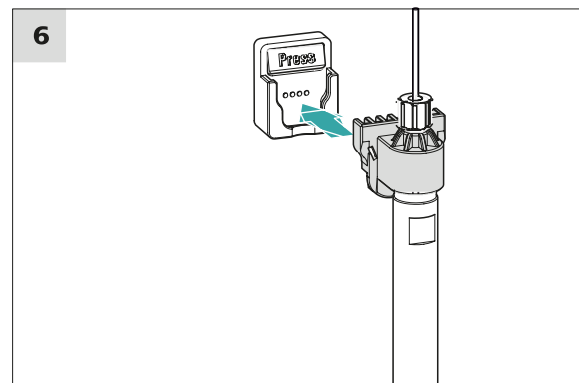
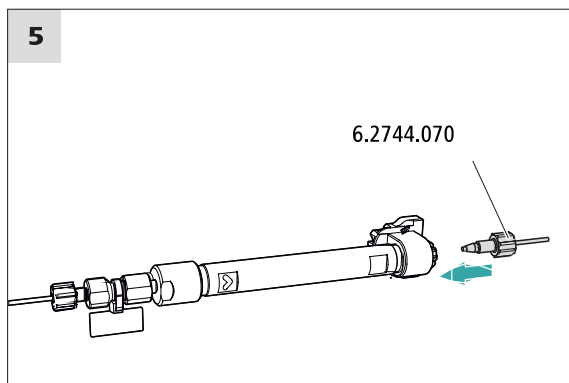
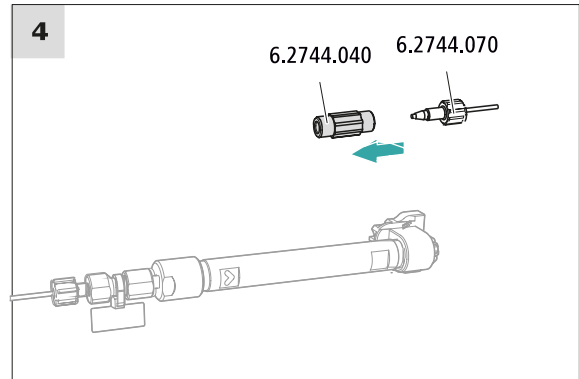
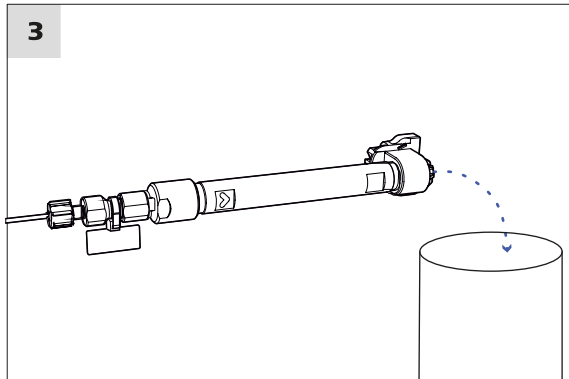
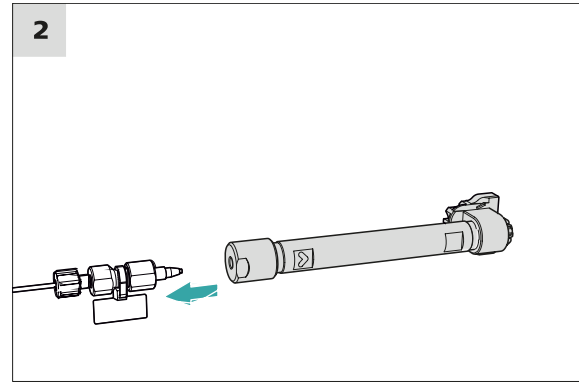
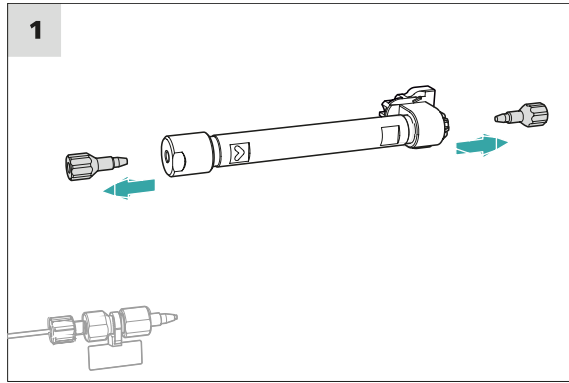
Achten Sie beim Einsetzen der Vorsäule immer darauf, dass diese gemäss der eingezeichneten Flussrichtung (wenn angegeben) richtig eingesetzt wird.

**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 Säuleneinlasskapillare 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 Säulemerkblatt 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.

- 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.

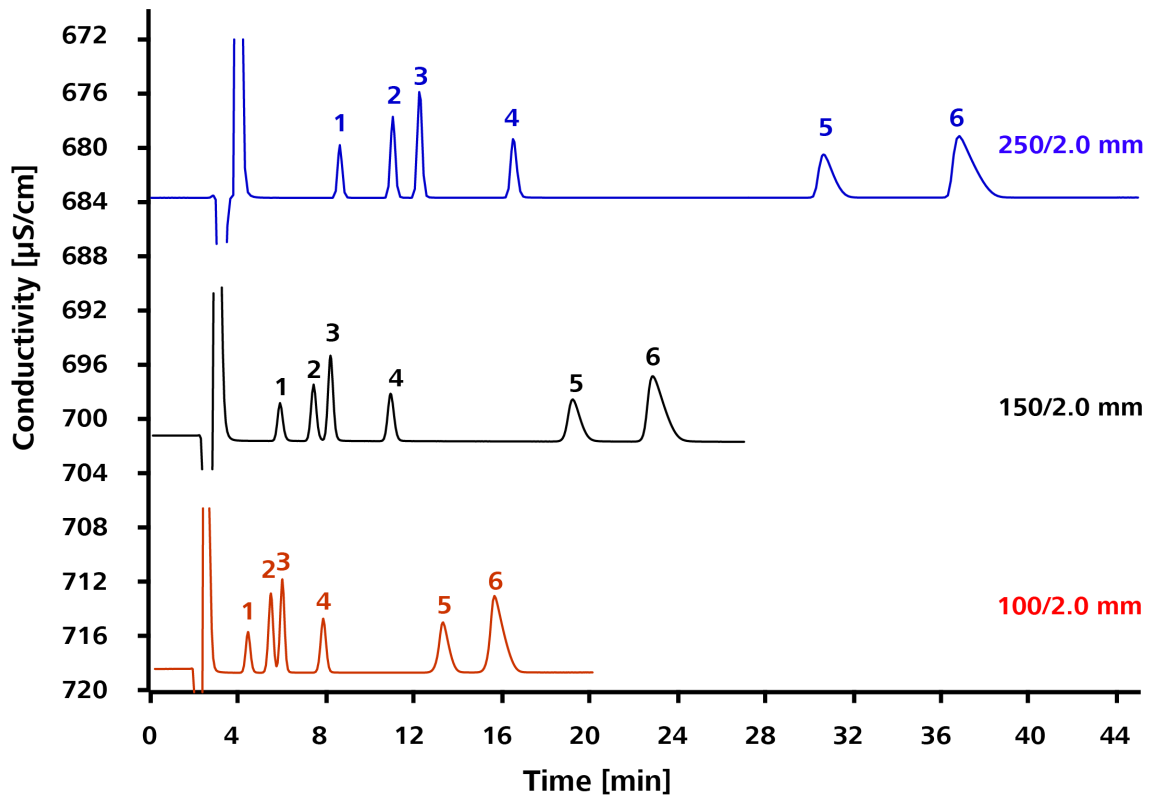


5 Applikationen

5.1 Standardchromatogramm

2-mm-Säulen

Probenvorbereitung: –
Detektion: Leitfähigkeit
Suppression: –
Temperatur: 25 °C
Loop: 10 µL
Flussrate: 0.2 mL/min
Eluent: 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure

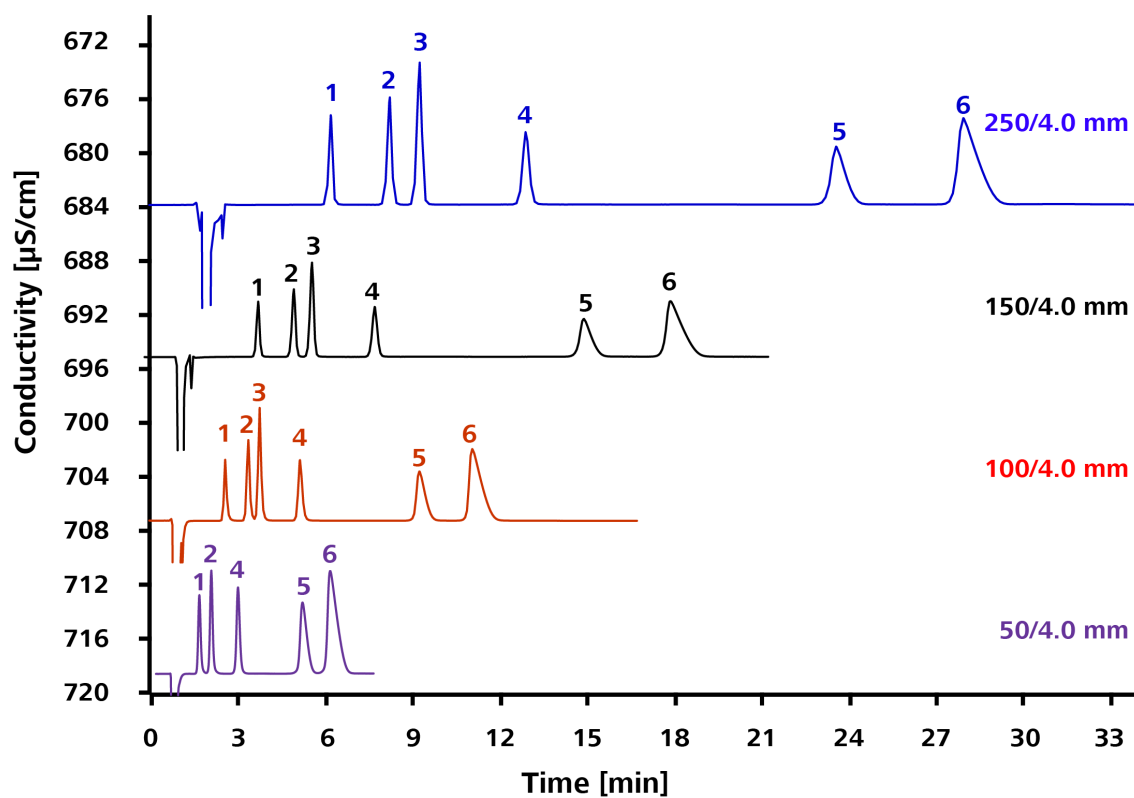


Metrosep C 4 - XX0/2.0		mg/L
1	Lithium	1

	Metrosep C 4 - XX0/2.0	mg/L
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10

4-mm-Säulen

Probenvorbereitung:	–
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	–
Temperatur:	25 °C
Loop:	10 µL
Flussrate:	0.9 mL/min
Eluent:	1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dypicolinsäure

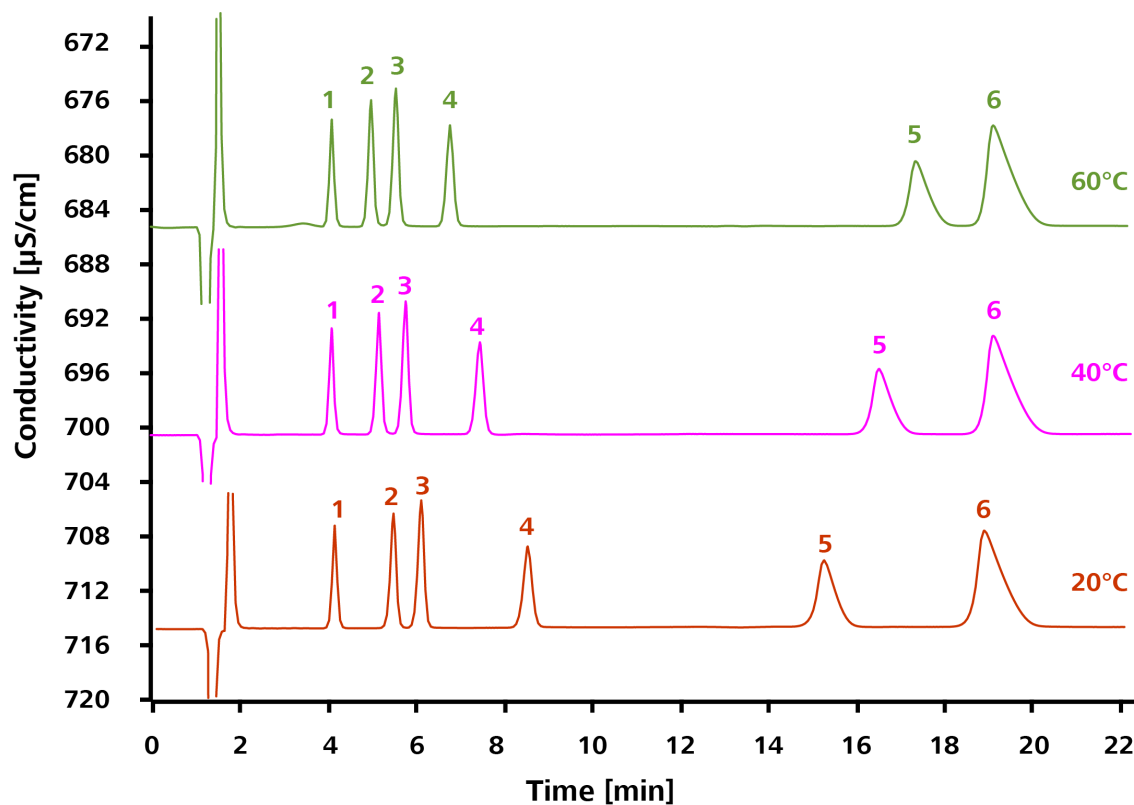




	Metrosep C 4 - XX0/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10

5.2 Einfluss der Temperatur

<i>Säule:</i>	Metrosep C 4 - 150/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	–
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	–
<i>Temperatur:</i>	20 bis 60 °C
<i>Loop:</i>	10 µL
<i>Flussrate:</i>	0.9 mL/min
<i>Eluent:</i>	1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure



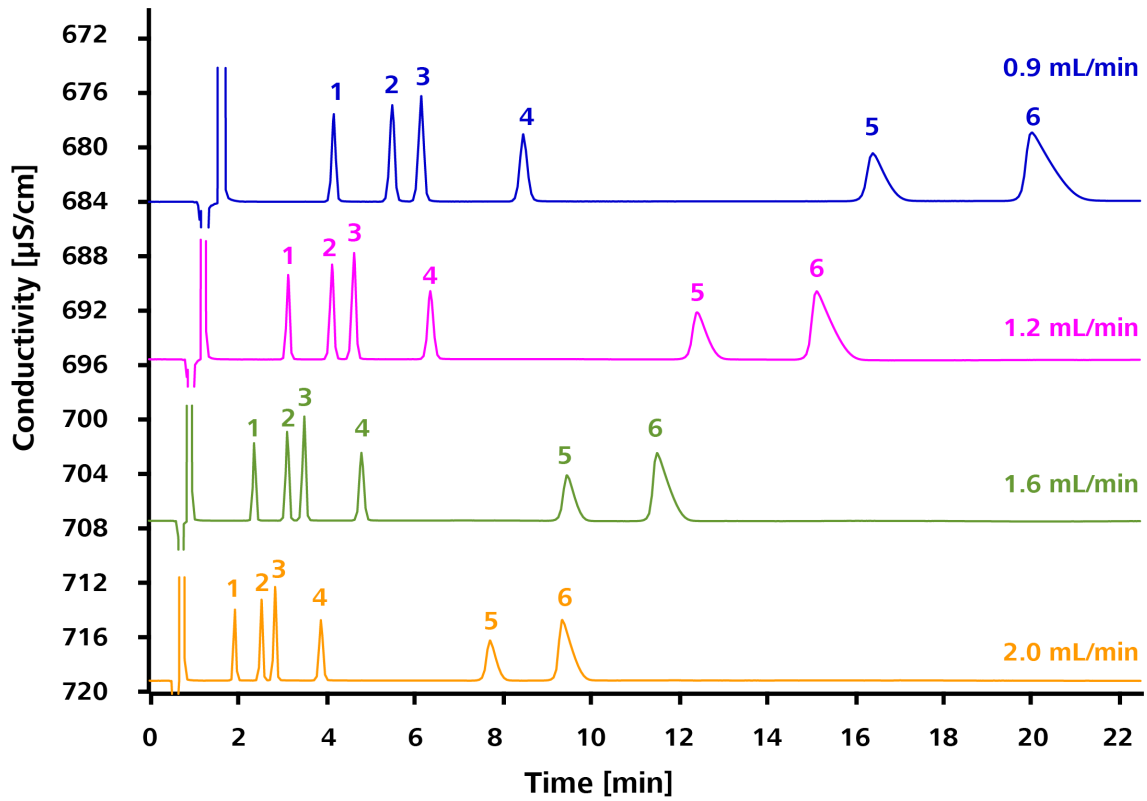
	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10

Eine Erhöhung der Temperatur hat zur Folge, dass sich die Retentionszeiten der mehrwertigen Ionen wie Calcium und Magnesium verlängern. Im Fall von Calcium schwächt sich mit höherer Temperatur die Komplexbildung mit Diphosphorsäure ab. Dadurch verlängert sich die Retentionszeit im Vergleich zu Magnesium stärker. Die anderen Kationen wie Lithium, Natrium, Ammonium und Kalium eluieren ein wenig früher.



5.3 Eluent-Flussratenvariation

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0
 Probenvorbereitung: –
 Detektion: Leitfähigkeit
 Suppression: –
 Temperatur: 25 °C
 Loop: 10 µL
 Flussrate: 0.9 bis 2.0 mL/min
 Eluent: 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure



	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5

	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10

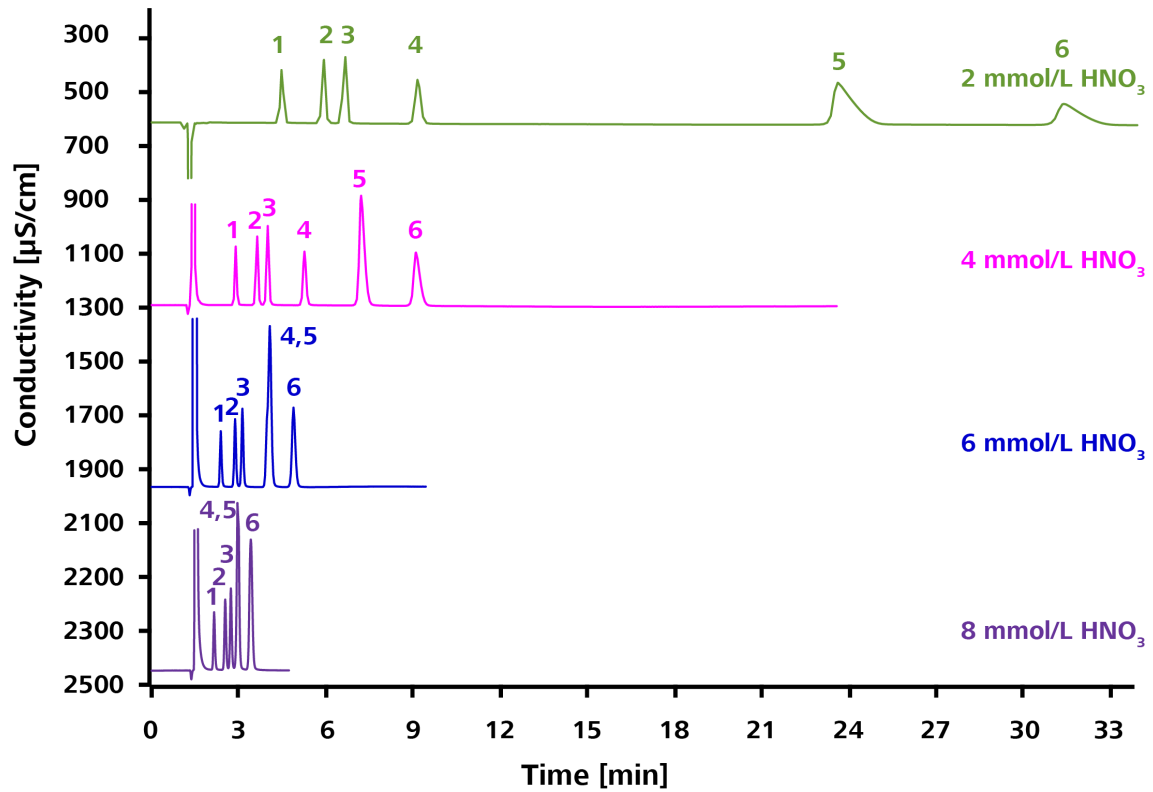
Alle Kationen eluieren schneller, wenn die Flussrate höher ist.

5.4 Variation des Eluenten

5.4.1 Variation der Salpetersäurekonzentration

Einfluss auf Standardkationen

<i>Säule:</i>	Metrosep C4 - 150/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	–
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	–
<i>Temperatur:</i>	25 °C
<i>Loop:</i>	10 µL
<i>Flussrate:</i>	0.9 mL/min
<i>Eluent:</i>	A) 2 mmol/L Salpetersäure B) 4 mmol/L Salpetersäure C) 6 mmol/L Salpetersäure D) 8 mmol/L Salpetersäure



	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10

Die Erhöhung der Salpetersäurekonzentration beschleunigt alle Standardkationen. Die zweiwertigen Kationen werden überproportional beschleunigt.

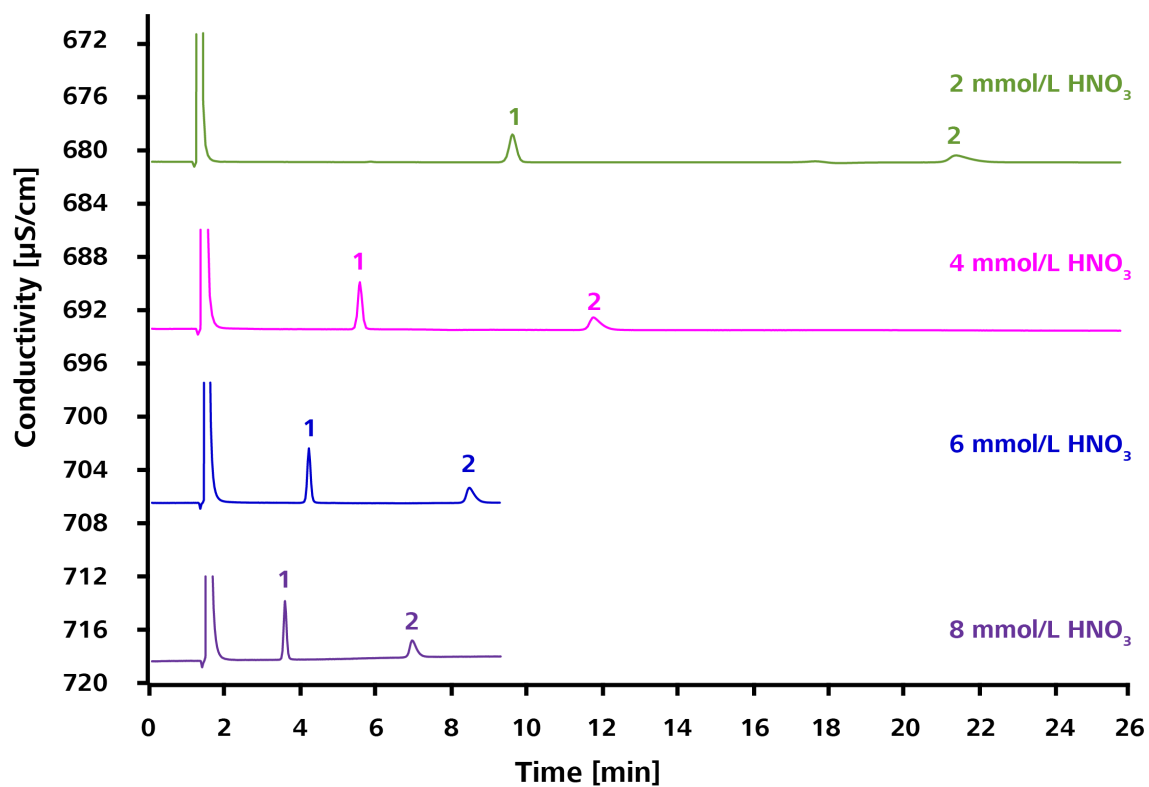
Einfluss auf Amine

Säule:	Metrosep C4 - 150/4.0
Probenvorbereitung:	–
Detektion:	Leitfähigkeit
Suppression:	–
Temperatur:	25 °C

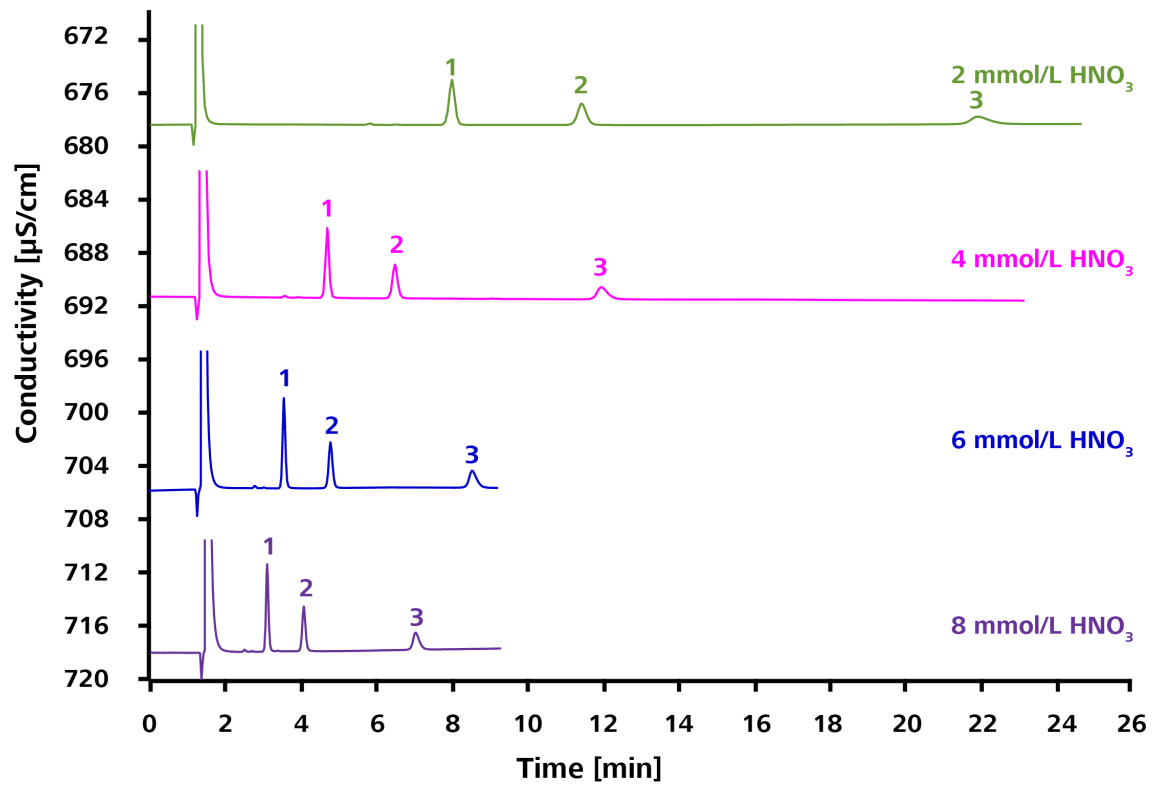
Loop: 10 μ L

Flussrate: 0.9 mL/min

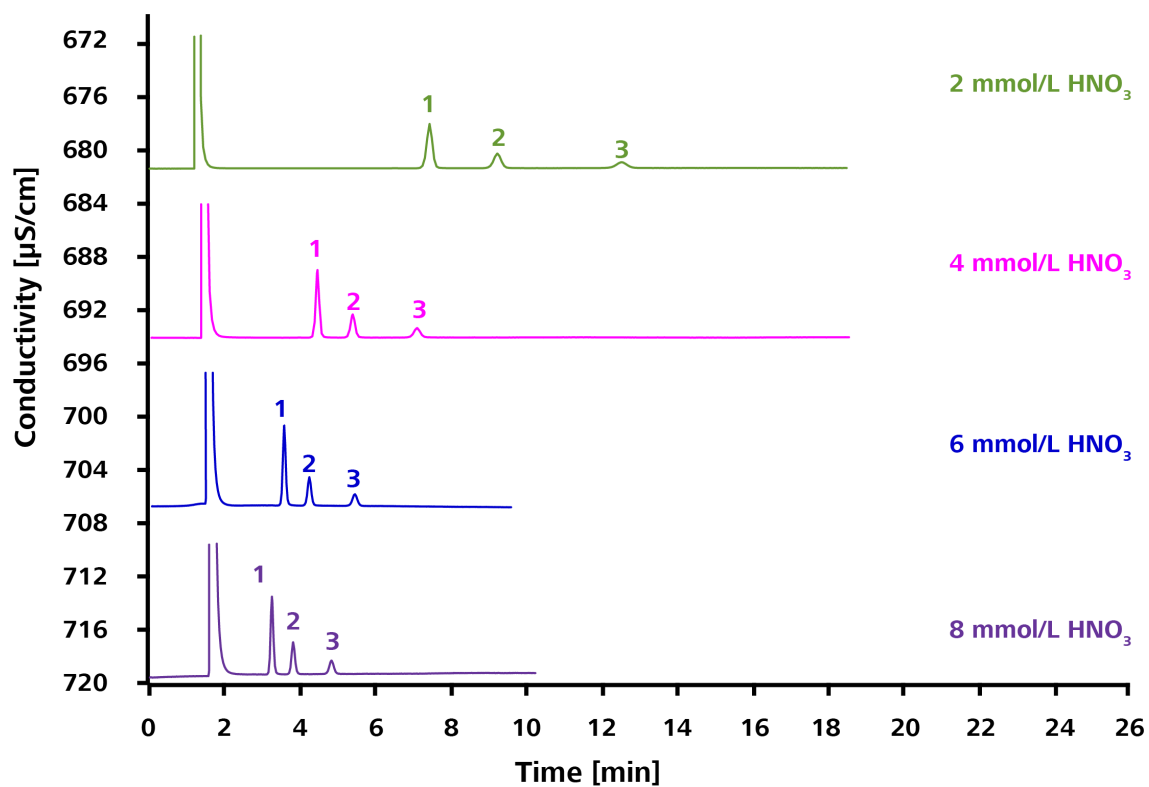
Eluent:
 A) 2 mmol/L Salpetersäure
 B) 4 mmol/L Salpetersäure
 C) 6 mmol/L Salpetersäure
 D) 8 mmol/L Salpetersäure



Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1 Monoethylamin	5
2 Diethylamin	5



	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Monomethylamin	5
2	Dimethylamin	5
3	Trimethylamin	5



Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1 Monoethanolamin	5
2 Diethanolamin	5
3 Triethanolamin	5

Die Erhöhung der Salpetersäurekonzentration verkürzt die Retentionszeiten der Amine.

5.4.2 Variation der Dipicolinsäure-Konzentration

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: –

Temperatur: 25 °C

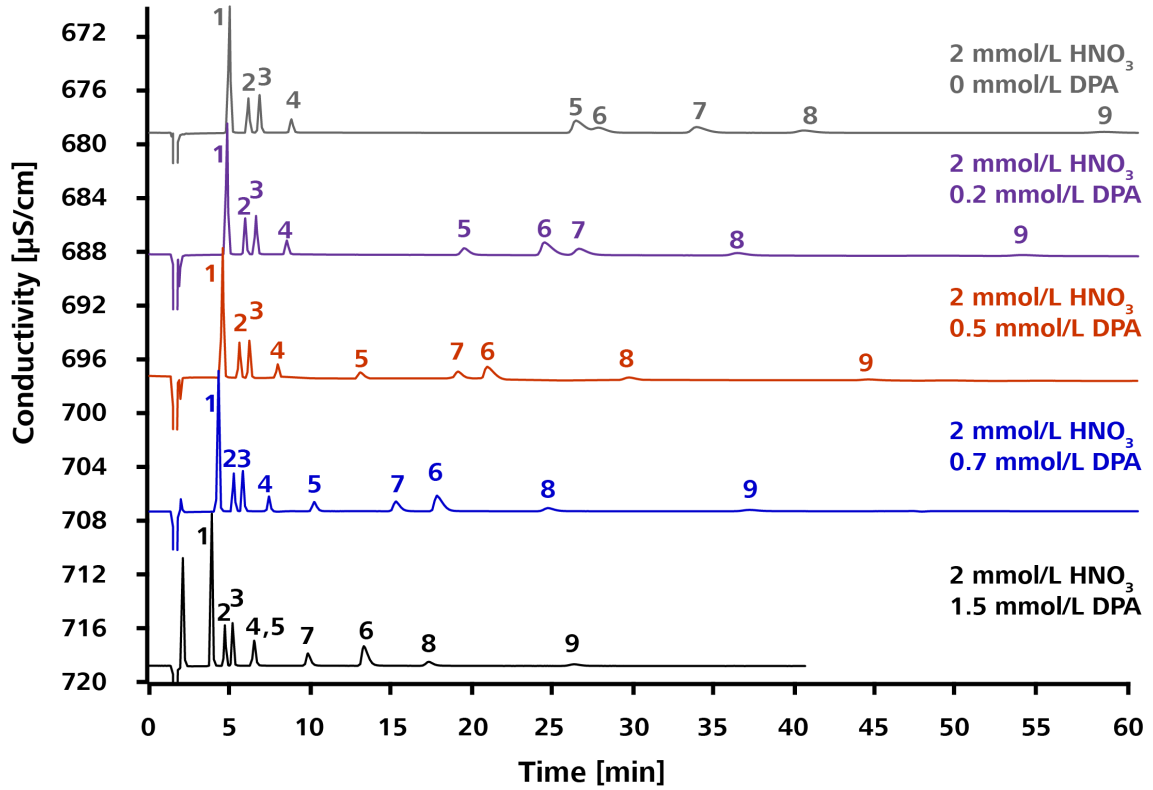
Loop: 10 µL

Flussrate: 0.9 mL/min

Eluent: A) 2 mmol/L Salpetersäure, 0 mmol/L Dipicolinsäure



- B) 2 mmol/L Salpetersäure, 0.2 mmol/L Dipicolinsäure
- C) 2 mmol/L Salpetersäure, 0.5 mmol/L Dipicolinsäure
- D) 2 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure
- E) 2 mmol/L Salpetersäure, 1.5 mmol/L Dipicolinsäure



	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	5
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	5
5	Mangan	5
6	Magnesium	5
7	Calcium	5
8	Strontium	5
9	Barium	5

Die Zugabe von Dipicolinsäure zur Salpetersäure beeinflusst die Retention von Mangan, Strontium, Barium und Calcium durch Komplexbildung. Die Erhöhung der Dipicolinsäure-Konzentration beschleunigt diese Kationen. Die beste Trennung wird mit 0.7-mmol/L Dipicolinsäure erreicht. Ab

0.5 mmol/L Dipicolinsäure eluiert Calcium vor Magnesium. Mangan und Kalium coeluieren bei einer Dipicolinsäure-Konzentration von 1.5 mmol/L.

5.4.3 Variation der Oxalsäurekonzentration

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: –

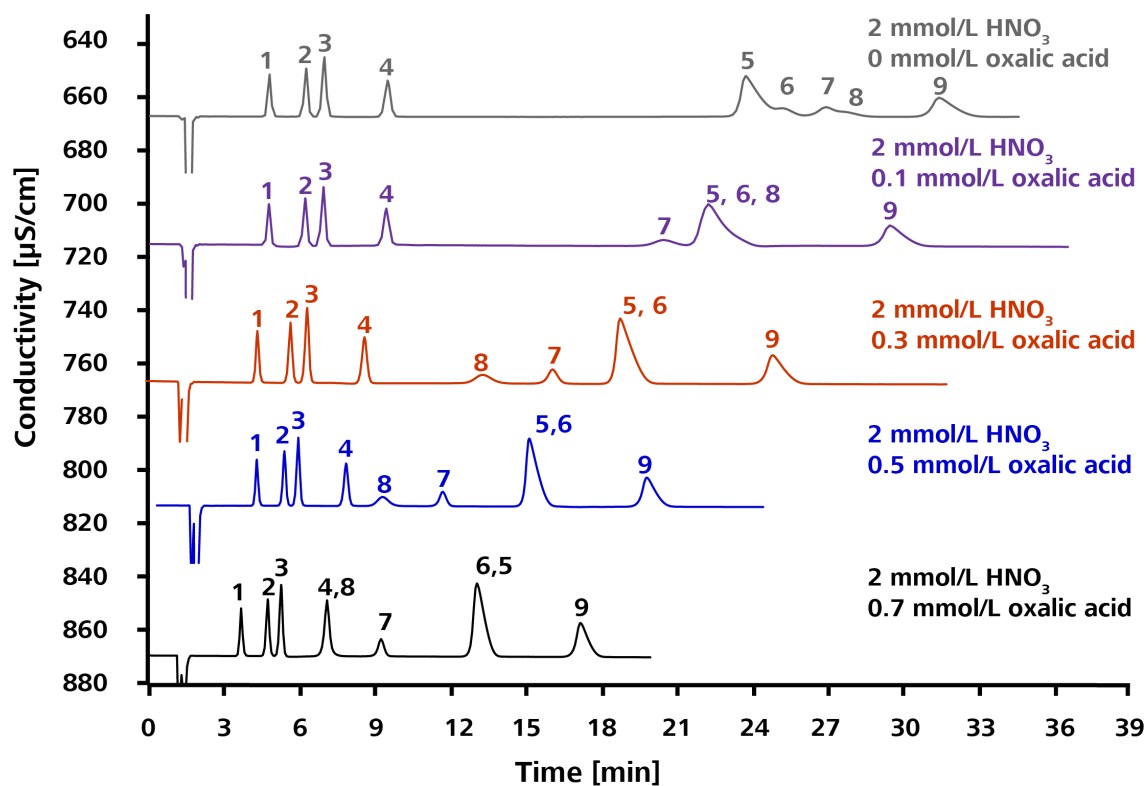
Temperatur: 25 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 0.9 mL/min

Eluent:

- A) 2 mmol/L Salpetersäure, 0 mmol/L Oxalsäure
- B) 2 mmol/L Salpetersäure, 0.1 mmol/L Oxalsäure
- C) 2 mmol/L Salpetersäure, 0.3 mmol/L Oxalsäure
- D) 2 mmol/L Salpetersäure, 0.5 mmol/L Oxalsäure
- E) 2 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Oxalsäure

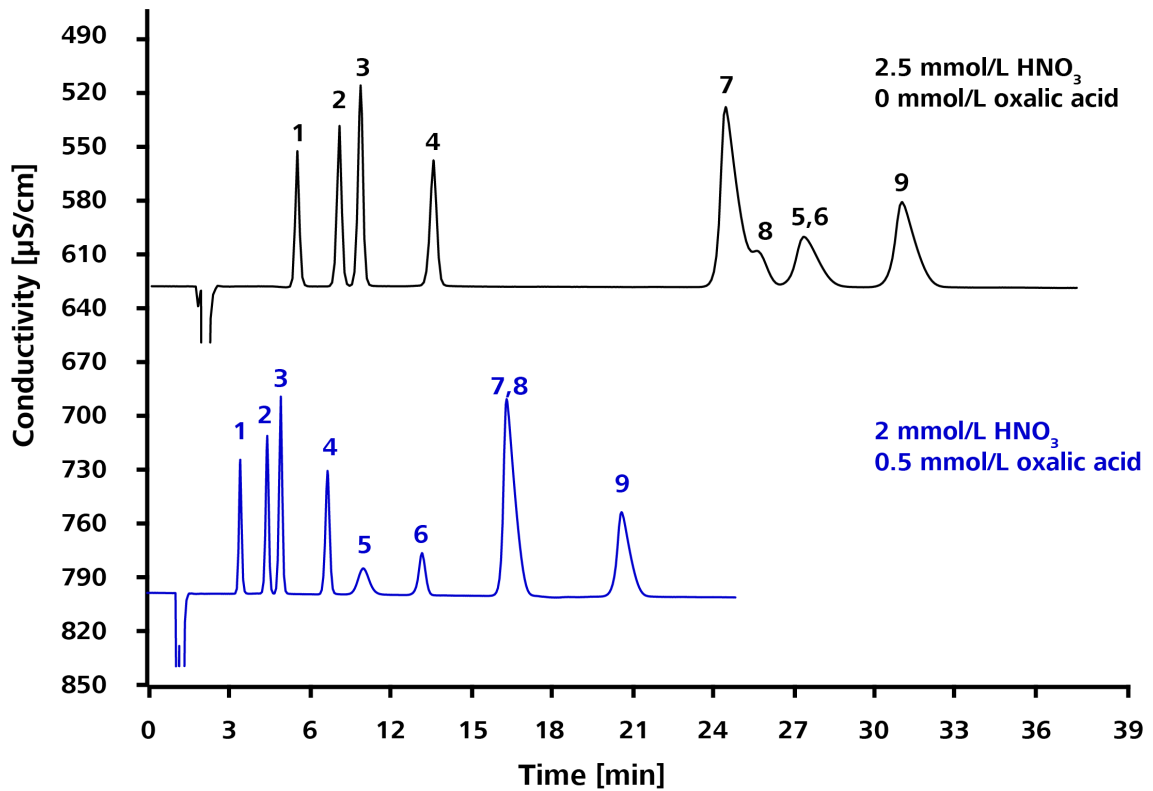




	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Magnesium	10
6	Mangan	5
7	Zink	5
8	Nickel	5
9	Calcium	10

Die Zugabe von Oxalsäure zur Salpetersäure beeinflusst die Retention von Nickel und Zink durch Komplexbildung. Die Erhöhung der Oxalsäurekonzentration beschleunigt diese Kationen. Mangan und Zink coeluiert bei 0.1 mmol/L Oxalsäure mit Magnesium. Bei 0.7 mmol/L Oxalsäure coeluiert Nickel mit Kalium.

Vergleich 2.5 mmol/L Salpetersäure gegen 2.0 mmol/L Salpetersäure mit 0.5 mmol/L Oxalsäure



	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1

	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Nickel	5
6	Zink	5
7	Magnesium	10
8	Mangan	5
9	Calcium	10

Durch die Zugabe von Oxalsäure wird Nickel und Zink komplexiert und eluiert dadurch schneller als ohne Oxalsäure. Mangan coeluiert mit Magnesium bei 2.5 mmol/L Salpetersäure. Nickel coeluiert mit Zink bei 2 mmol/L Salpetersäure, 0.5 mmol/L Oxalsäure.

5.5 Variation organischer Modifier

5.5.1 Variation der Acetonkonzentration

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

Suppression: –

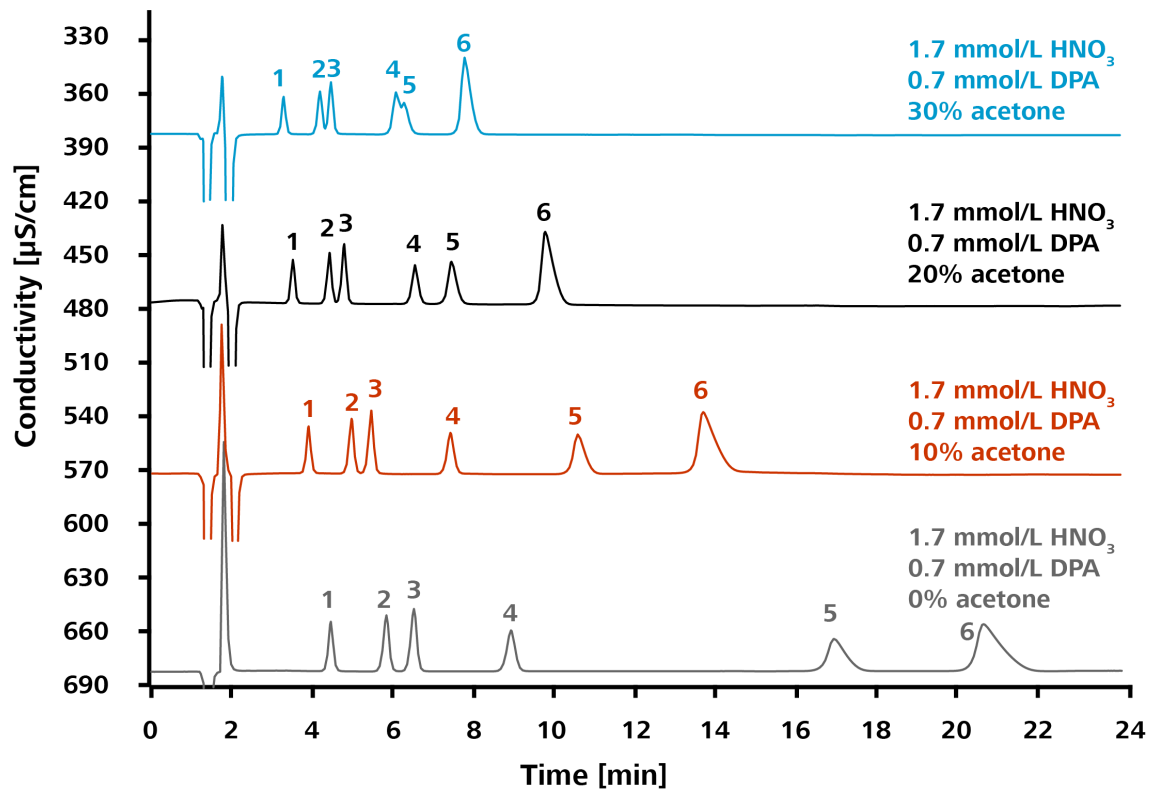
Temperatur: 25 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 0.9 mL/min

Eluent:

- A) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 0 % Aceton
- B) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 10 % Aceton
- C) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 20 % Aceton
- D) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 30 % Aceton



	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10

Durch die Zugabe von Aceton zum Eluenten verkürzen sich die Retentionszeiten aller Kationen, wobei der Effekt bei den zweiwertigen Kationen stärker sichtbar ist. Ab 30 % Aceton im Eluenten coeluiieren Kalium und Calcium. Zudem reduziert sich die Hintergrundleitfähigkeit mit Zunahme des Lösungsmittelgehaltes. Eine quantifizierbare Bestimmung ist bei 20 % Aceton noch möglich. Der Druck nimmt durch die Zugabe von Aceton stärker zu als durch die Zugabe von Acetonitril.

5.5.2 Variation der Acetonitrilkonzentration

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

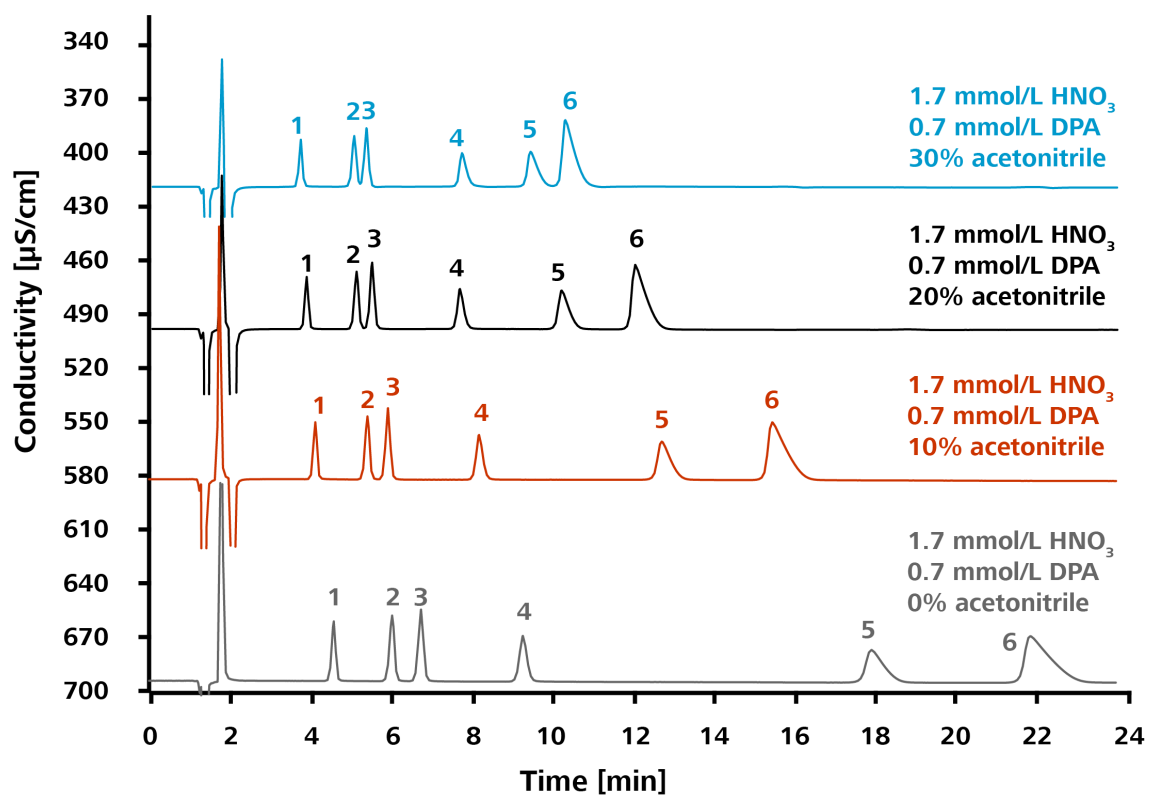
Suppression: –

Temperatur: 25 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 0.9 mL/min

Eluent:
 A) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 0 % Acetonitril
 B) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 10 % Acetonitril
 C) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 20 % Acetonitril
 D) 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 30 % Acetonitril



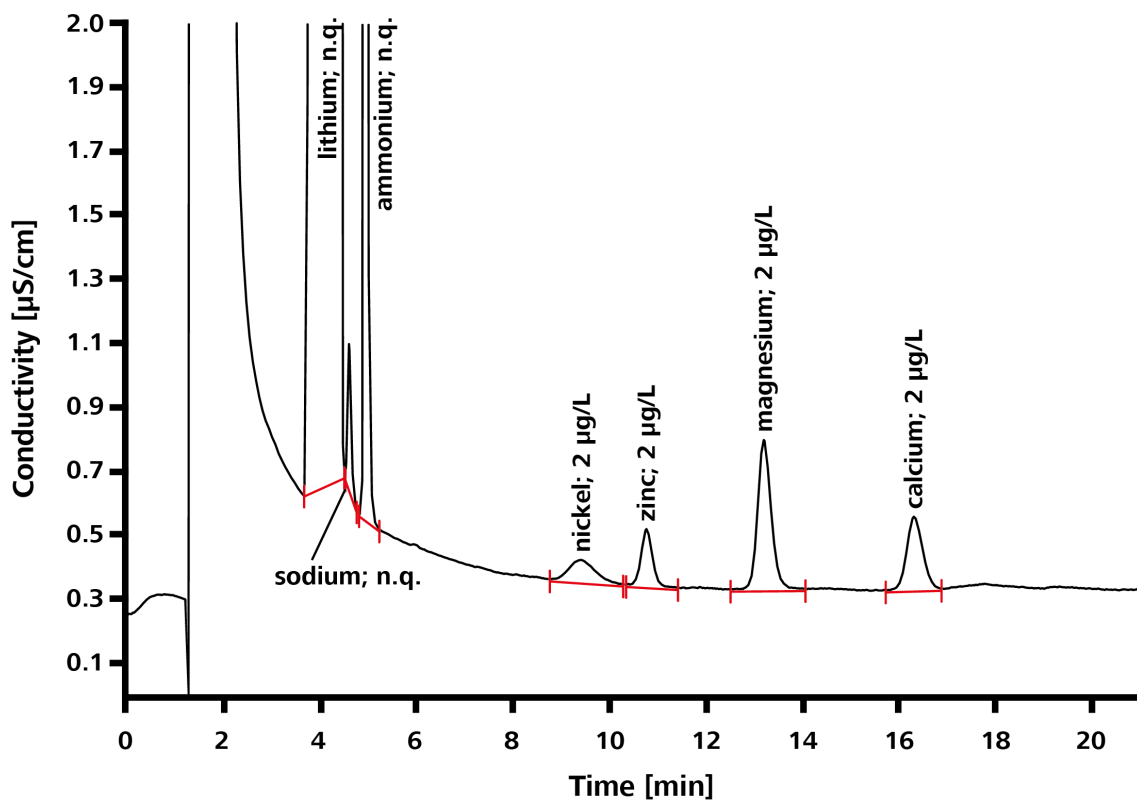
	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10



Durch die Zugabe von Acetonitril zum Eluenten verkürzen sich die Retentionszeiten aller Kationen, wobei der Effekt bei den zweiwertigen Kationen stärker sichtbar ist. Eine quantifizierbare Bestimmung ist bei 30 % Acetonitril noch möglich. Der Druck nimmt bei der Zugabe von Acetonitril stetig zu.

5.6 Spurenanalyse in Kernkraftwerken

<i>Säule:</i>	Metrosep C4 - 250/2.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	Inline-Anreicherung einer Probe mit 3.3. mg/L Lithiumhydroxid und 2 g/L Borsäure (MiPCT-ME)
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	MCS
<i>Temperatur:</i>	32 °C
<i>Loop:</i>	1000 µL mit Anreicherung auf Metrosep A PCC 2 HC/4.0
<i>Flussrate:</i>	0.4 mL/min
<i>Eluent:</i>	2.5 mmol/L Salpetersäure, 0.5 mmol/L Oxalsäure



5.7 Schnelle Bestimmung der Standardkationen in Trinkwasser

Säule: Metrosep C4 - 100/2.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

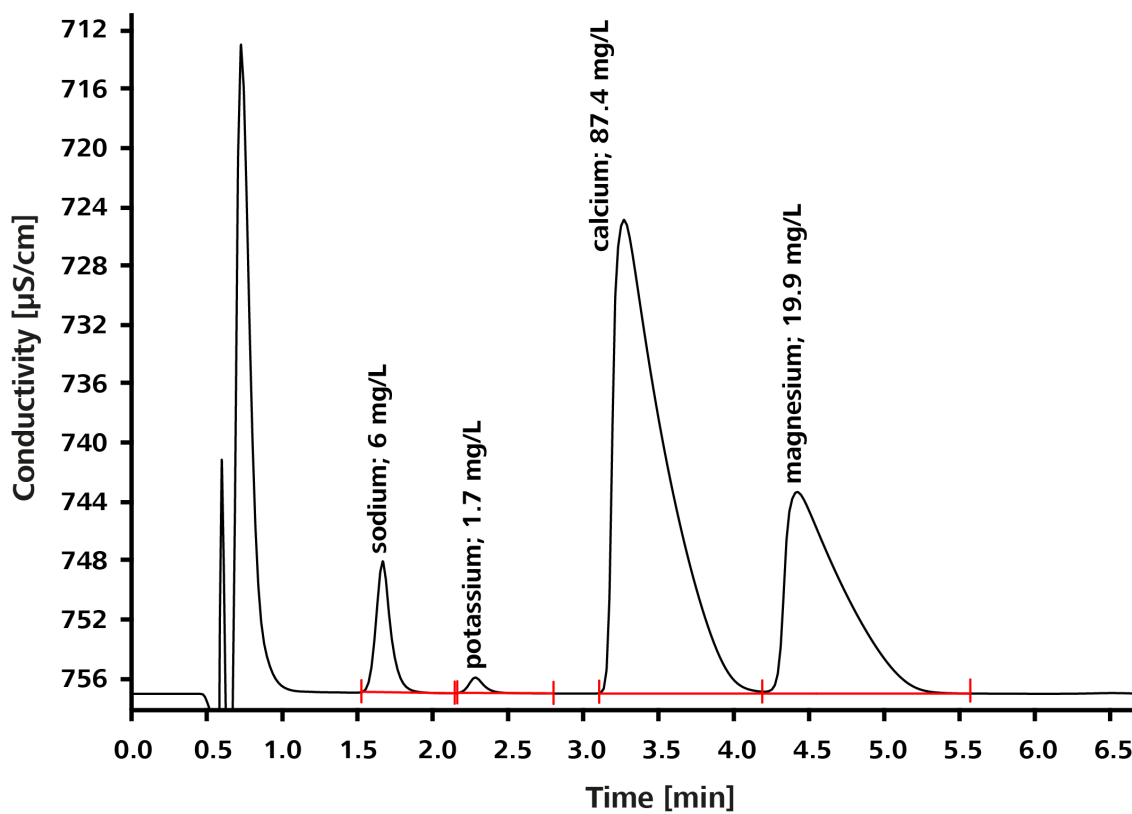
Suppression: –

Temperatur: 30 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 0.5 mL/min

Eluent: 2.0 mmol/L Salpetersäure, 1.2 mmol/L Dicolinsäure





5.8 Messstabilität bei der Alkoholbestimmung

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

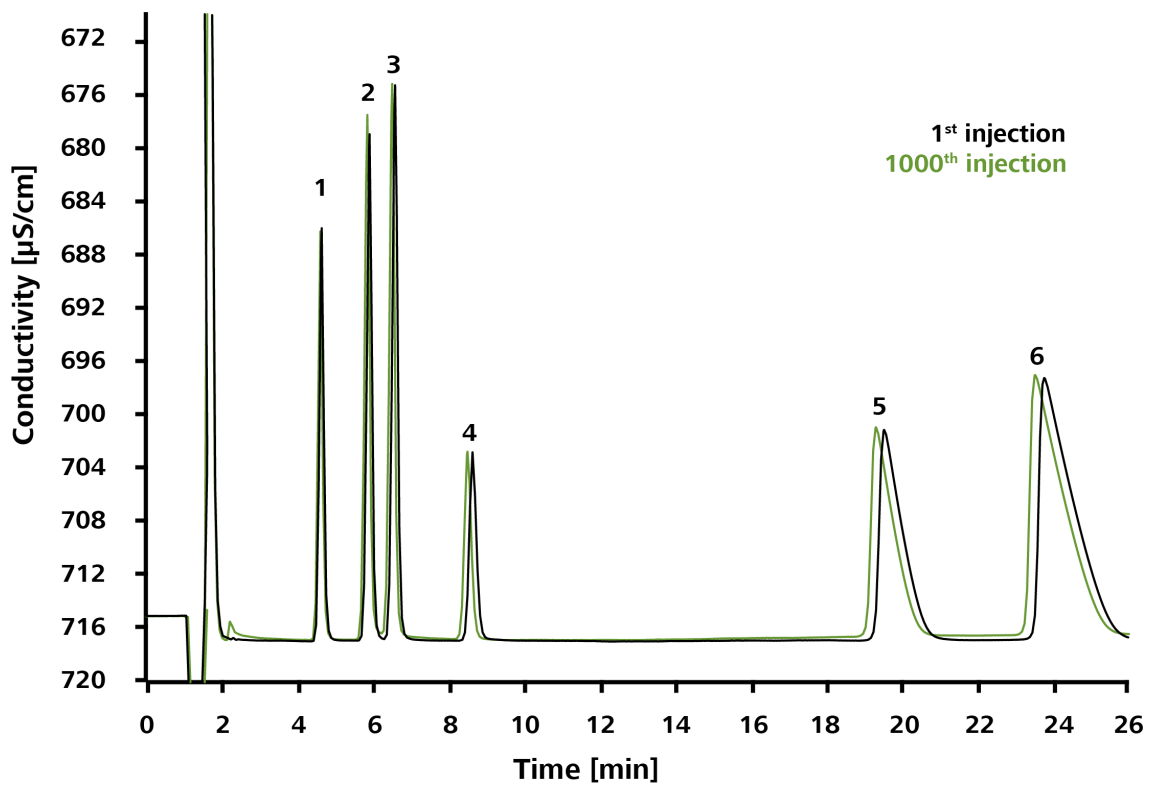
Suppression: –

Temperatur: 30 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 0.9 mL/min

Eluent: 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure



	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
1	Lithium	1
2	Natrium	5
3	Ammonium	5

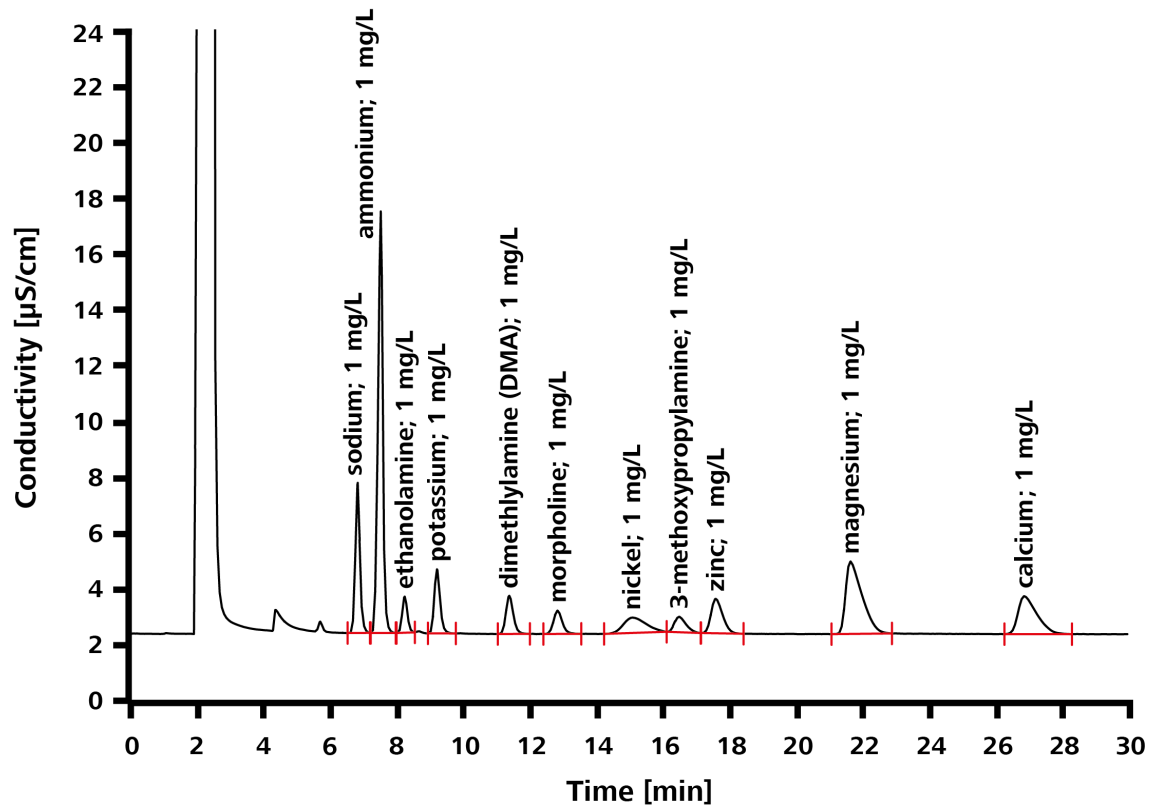


	Metrosep C 4 - 150/4.0	mg/L
4	Kalium	10
5	Calcium	10
6	Magnesium	10

Wodkoproben (37.5 %) wurden kontinuierlich injiziert. Nach jeder 10. Injektion wurde ein Kationenstandard gemessen, um mögliche Veränderungen festzuhalten. Die obige Überlagerung zeigt den Kationenstandard vor und nach 1000 Injektionen.

5.9 Aminbestimmung neben Standardkationen

<i>Säule:</i>	Metrosep C4 - 250/4.0
<i>Probenvorbereitung:</i>	–
<i>Detektion:</i>	Leitfähigkeit
<i>Suppression:</i>	–
<i>Temperatur:</i>	32 °C
<i>Loop:</i>	100 µL
<i>Flussrate:</i>	0.9 mL/min
<i>Eluent:</i>	2.5 mmol/L Salpetersäure, 0.5 mmol/L Oxalsäure



5.10 Bestimmung von Aminen in Colesevelam HCl

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit

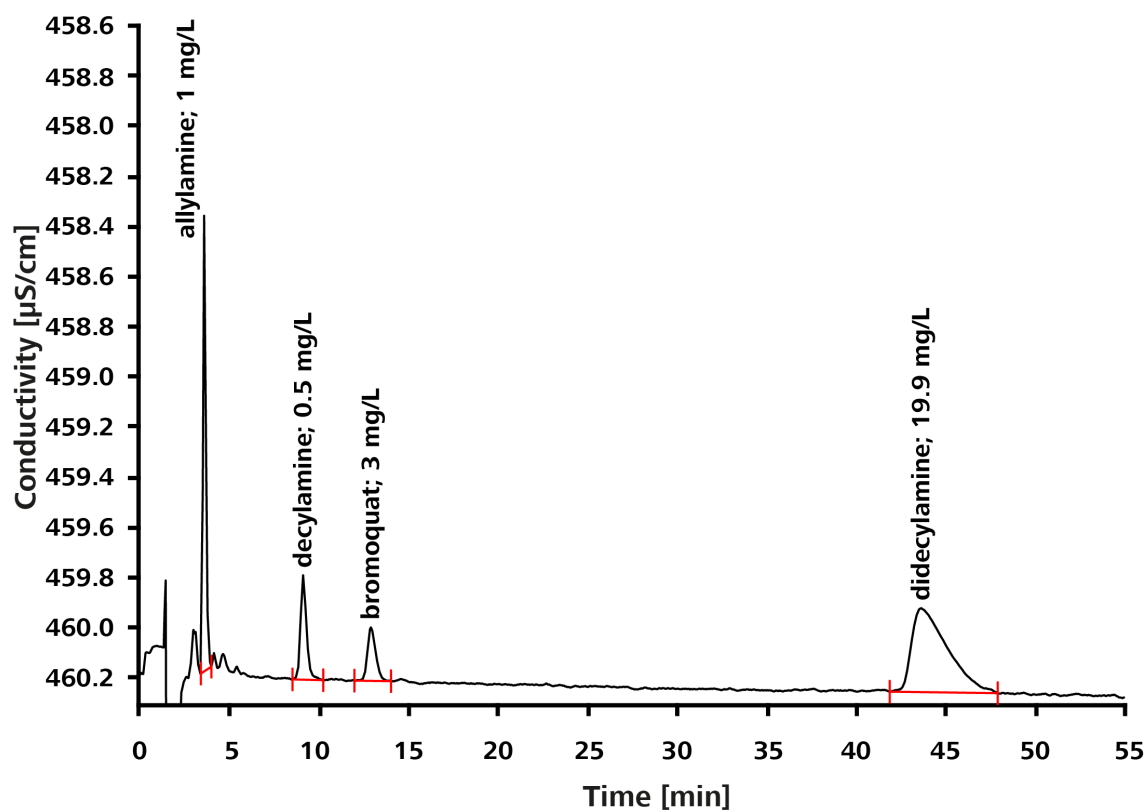
Suppression: –

Temperatur: 25 °C

Loop: 100 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent: 2.5 mmol/L Salpetersäure, 40 % Aceton



5.11 Bestimmung von Kationen in Bier

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: Filtration mit Membranfilter (Probengröße 0.45 µm), Ansäuerung mit 2 mmol/L Salpetersäure, Verdünnung 1:10

Detektion: Leitfähigkeit

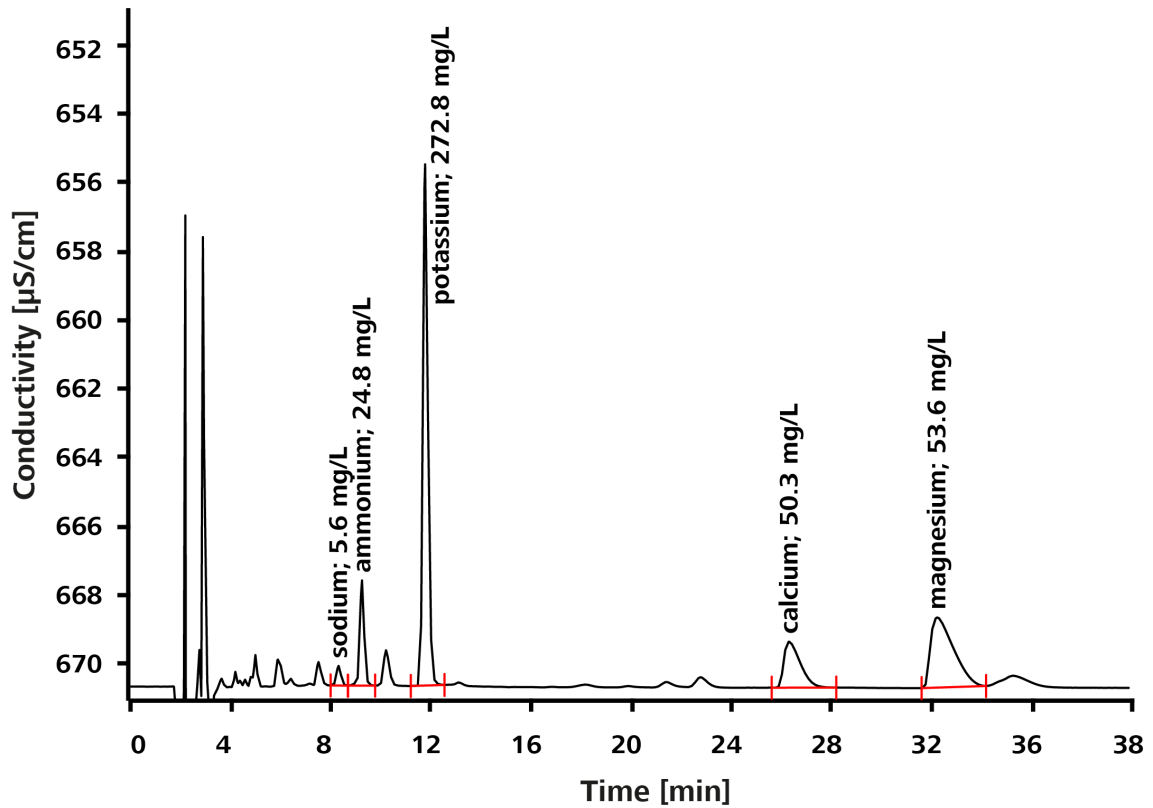
Suppression: –

Temperatur: 30 °C

Loop: 20 µL

Flussrate: 1.0 mL/min

Eluent: 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure



Bier beinhaltet sehr viele natürliche Inhaltsstoffe. Daher sind viele nicht quantifizierte Peaks im Chromatogramm zu sehen.

5.12 Bestimmung von Piperazin und N-Methyldiethanolamin in Waschlösungen

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: Verdünnung 1:20

Detektion: Leitfähigkeit

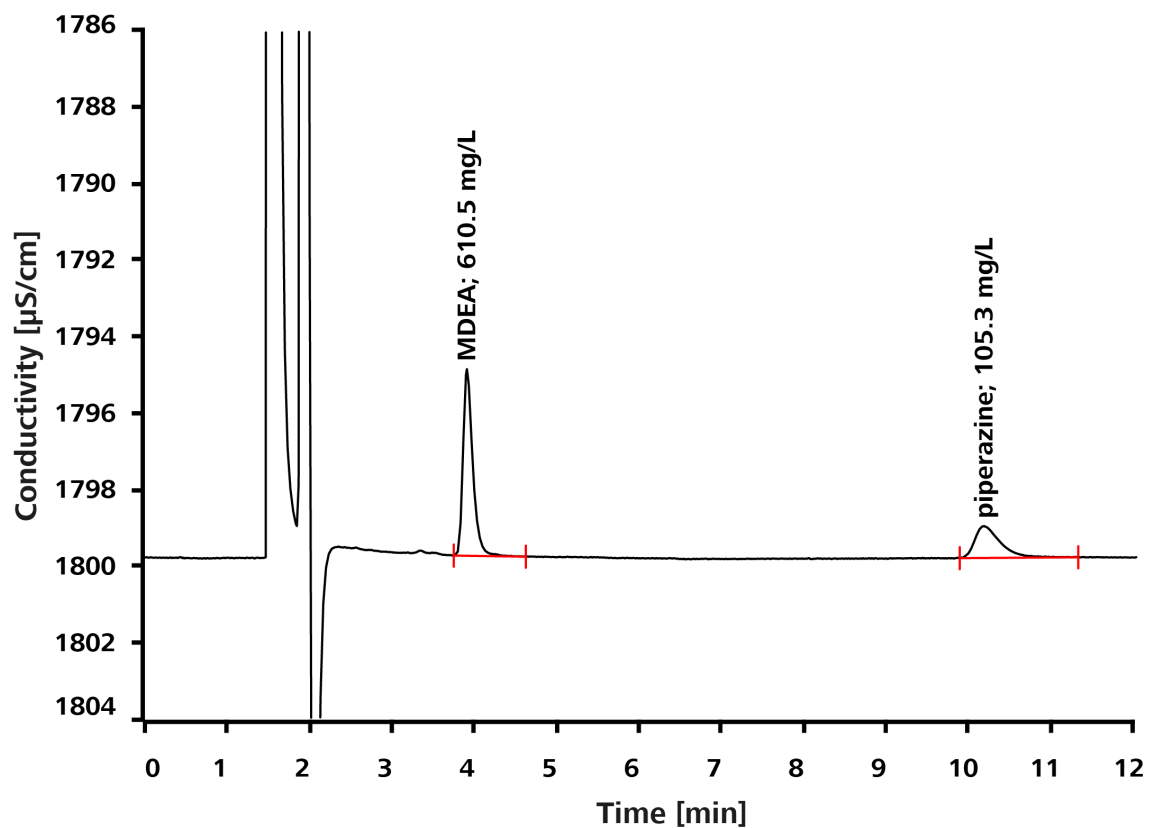
Suppression: –

Temperatur: 30 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 0.9 mL/min

Eluent: 6.0 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure, 5 % Aceton



5.13 Bestimmung von Kationen in Dünger

Säule: Metrosep C4 - 150/4.0

Probenvorbereitung: Inline-Ultrafiltration, Verdünnung 1:198.9

Detektion: Leitfähigkeit

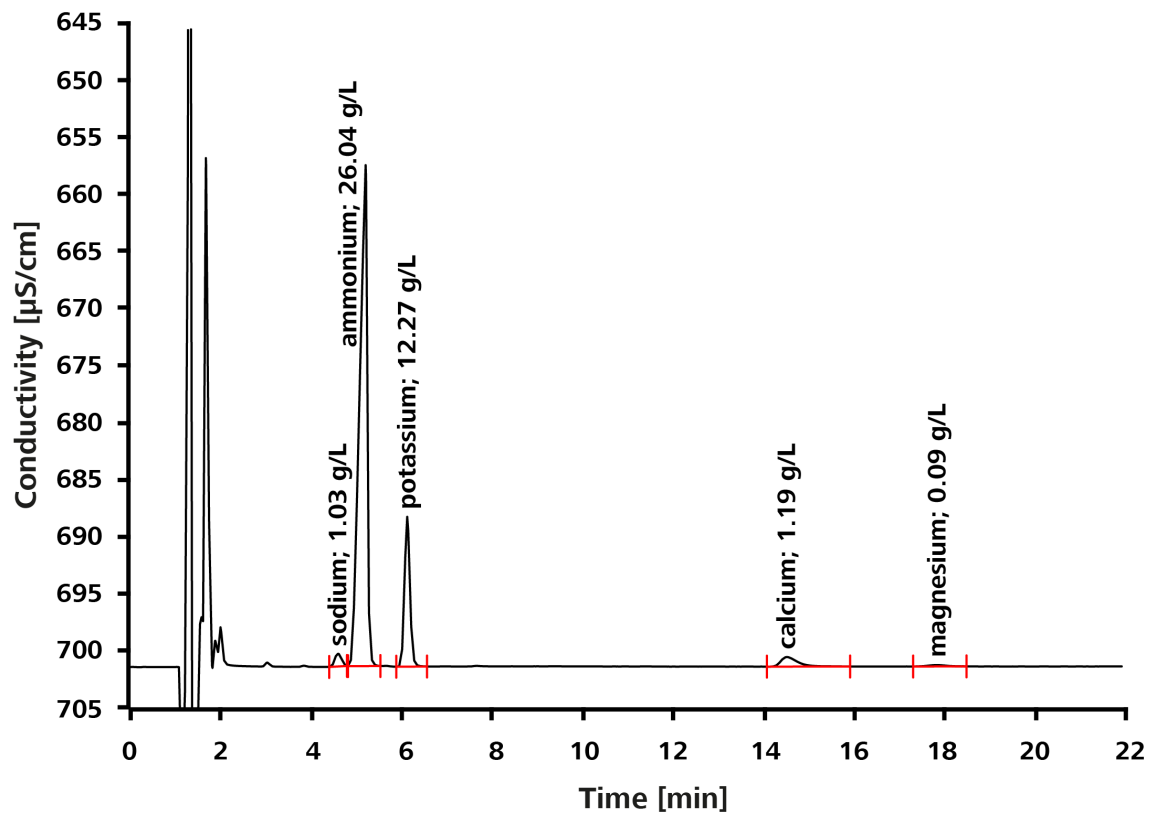
Suppression: –

Temperatur: 30 °C

Loop: 10 µL

Flussrate: 0.9 mL/min

Eluent: 1.7 mmol/L Salpetersäure, 1.0 mmol/L Dipicolinsäure



5.14 Nährstoffanalyse einer Zellkultur

Säule: Metrosep C4 - 150/2.0

Probenvorbereitung: Inline-Verdünnung (1:100), Inline-Ultrafiltration

Detektion: Leitfähigkeit

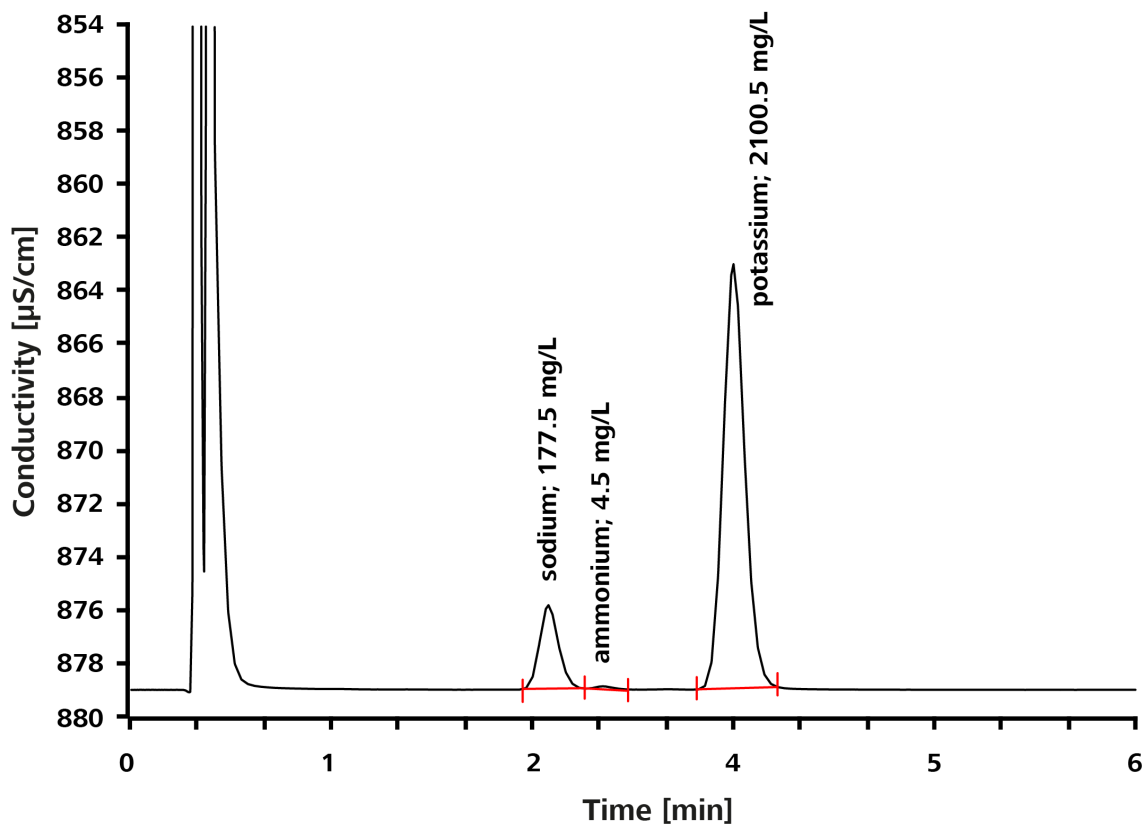
Suppression: –

Temperatur: 45 °C

Loop: 5 µL

Flussrate: 0.4 mL/min

Eluent: 1.7 mmol/L Salpetersäure, 0.7 mmol/L Dipicolinsäure



Direktmessung der Zellkultur „Pseudomonas putida“.

5.15 Bestimmung von Kationen mit IC-MS und Leitfähigkeitsdetektion

Säule: Metrosep C4 - 150/2.0

Probenvorbereitung: –

Detektion: Leitfähigkeit, MS

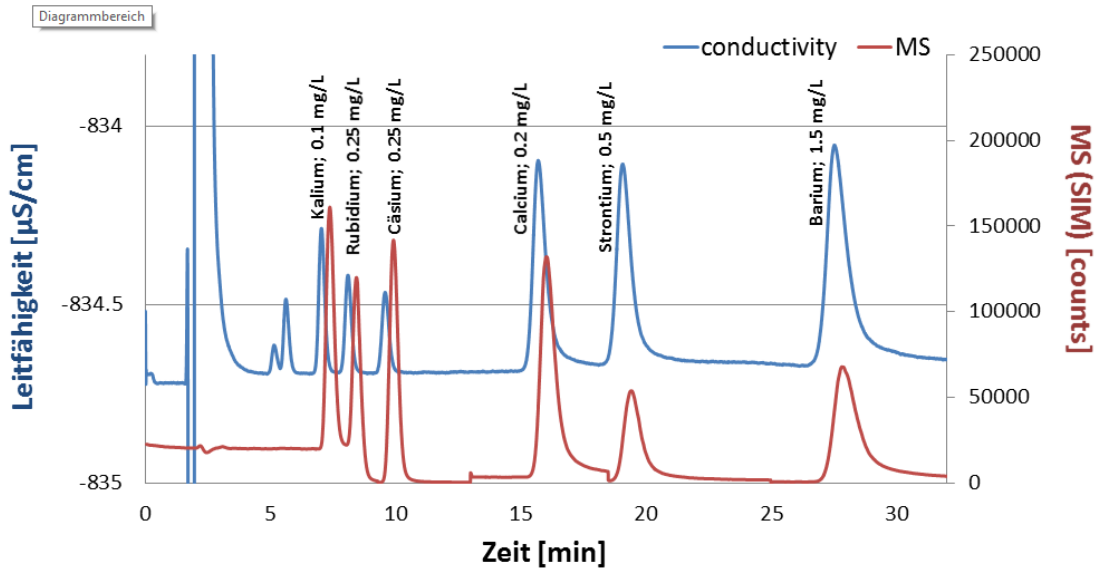
Suppression: –

Temperatur: 30 °C

Loop: IC: 30 µL mit MiPT
MS: 50 µL mit MiPT

Flussrate: 0.2 mL/min

Eluent: 3 mmol/L Oxalsäure



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 6.*

Problem

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

Behebung

Trennsäule regenerieren

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

1 Trennsäule vom IC-System trennen

Den Ausgang der Trennsäule vom Eingang des Detektors trennen.

2 Trennsäule regenerieren

Je nach Art der Verunreinigung die Trennsäule wie folgt regenerieren:

- Verunreinigung mit organischen Komponenten (*siehe Tabelle 4, Seite 46*).
- Verunreinigung mit anorganischen Komponenten (*siehe Tabelle 5, Seite 46*).



Tabelle 4 Verunreinigung mit organischen Komponenten

	Spülen mit	Dauer [min]	Flussrate [mL/min]	
			2-mm-Säulen	4-mm-Säulen
1	Reinstwasser, gegen die Flussrichtung	60	0.2	0.9
2	Acetonitril/Wasser (40/60), gegen Flussrichtung	60	0.2	0.9
3	Reinstwasser	60	0.2	0.9

Tabelle 5 Verunreinigung mit anorganischen Komponenten

	Spülen mit	Dauer [min]	Flussrate [mL/min]	
			2-mm-Säulen	4-mm-Säulen
1	Reinstwasser, gegen die Flussrichtung	30	0.2	0.9
2	10 mmol/L Salpetersäure und 4 mmol/L Dipicolinsäure, gegen Flussrichtung	60	0.2	0.9
3	Reinstwasser, gegen die Flussrichtung	30	0.2	0.9

6.2 Abnehmende Auflösung / Peakformen

Problem

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

Ursachen und Vermeidung

Ursachen

Die Trennsäule wurde überladen.

Vermeidung / Behebung

Die Trennsäule kann z. B. durch hohe Salzgehalte in der Probenmatrix überladen werden.

- Probe verdünnen.
- Weniger Probe injizieren.

Ursachen	Vermeidung / Behebung
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>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.</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.
Partikel in der Probe	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Probenvorbereitung, z. B. Partikel entfernen durch Inline-Ultrafiltration.

7 Literatur

Wir empfehlen folgende Literatur zur Vertiefung:

- Application Note C-119 Bethanechol chloride and calcium in tablets
- Application Note C-120 Bethanechol chloride and HPTA (2-hydroxypropyl-trimethyl ammonium chloride) besides sodium and calcium
- Application Note C-124 Ethanolamines besides standard cations
- Application Note C-125 Methylamines besides standard cations including cesium
- Application Note C-126 Methylamines and ethanolamines
- Application Note C-129 Nine cations on the Metrosep C 4 – 150 column
- Application Note C-132 Traces of lithium, sodium and ammonium besides ethanolamine
- Application Note U-52: Transition metal cations applying UV/VIS detection after post-column reaction with PAR (4-(2-pyridylazo)resorcinol)
- Application Note C-135 Cations in drinking water using Metrosep C 4 - 150/4.0 column according to ISO 14911
- Application Note C-147 Fast analysis of cations in tap water using Metrosep C 4 - 100/2.0
- Application Note C-148 Metrohm Inline Dilution Technique – get dilution factors up to 10'000 with two intelligent dilution steps
- Application Note C-150 Fast IC: separation of standard cations in eleven minutes
- Application Note C-151 Fast IC: separation of standard cations in five minutes
- Application Note C-152 Fast IC: separation of ethanolamines in 2.5 minutes
- Application Note C-153 Fast IC: separation of methylamines in four minutes
- Application Note C-157: Sodium and potassium in a polyol sample applying Inline Matrix Elimination
- Application Note C-159 Cation traces on the Metrosep C 4 - 250/2.0 column after Inline Preconcentration with matrix elimination
- Application Note C-160 Calcium in Bayer caustic soda
- Application Note C-167 Quality test of an automatic and direct 1:2000 dilution applying Inline Dilution Technique
- Application Note C-170 Separation of N-methyldiethanolamine and piperazine besides standard cations
- Application Note C-171 N-methyl diethanolamine and piperazine in scrubber solution - Hörler, M.; van der Kruijs, S. Improved cation separation thanks to a new column material, Poster



- Characterization and source apportionment of organic aerosol using offline aerosol mass spectrometry; Daellenbach, K.R.; Bozzetti, C.; Krepelova, A.; Canonaco, F.; Wolf, R.; Zotter, P.; Fermo, P.; Crippa, M.; Slowik, J.G.; Sosedova, Y.; Zhang, Y.; Huang, R.J.; Poulain, L.; Szidat, S.; Baltensperger, U.; Prevot, A.S.H.; El Haddad, I., Atmospheric Environment Techniques Discussions; p. 8599-8644, 08/2015
- Monographie: Analysis of water samples and water constituents with Metrohm instruments, p. 73 ff (8.038.5003)
- Säulenkatalog, 8.000.5194

Index

A

Aufbewahrung 3

B

Basislinie

 Konditionieren 17

Bestellnummer 1

E

Eluent 8

Equilibrierung 16

F

Flussrate 2

I

IC-Säule

 siehe "Trennsäule" 12

Installation

 Trennsäule 12

 Vorsäule 10

K

Konditionieren 17

S

Säule

 siehe "Trennsäule" 12

Spezifikation 2

Spülen

 Trennsäule 15

 Vorsäule 12

T

Trennsäule

 Installation 12

 Spülen 15

V

Vorsäule

 Installation 10

 Spülen 12