

Grundlagen der Ionenchromatographie

Modernste Trenntechnik

© 2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.

Grundlagen der Ionenchromatographie

Modernste Trenntechnik

Dr. Detlef Jensen

Thermo Fisher Scientific

ISBN 978-3-00-044477-7

Inhaltsverzeichnis

Kapitel 1	Grundlagen der Ionenchromatographie	7
	1.1. Nomenklatur und Verfahren	8
	1.2. Stationäre Phasen für die Anionenaustausch-Chromatographie	10
Kapitel 2	Moderne Anionenaustausch-Säulen	13
	2.1. Trennphasen mit moderater Austauschkapazität	13
	2.2. Hochkapazitive Trennsäulen für die Anionenaustausch-Chromatographie	19
	2.3. Anionenaustauscher zur Trennung von Kohlehydraten und Aminosäuren	26
Kapitel 3	Kationenaustausch-Chromatographie	33
	3.1. Alkali- und Erdalkalimetalle, Ammonium und Amine	33
	3.2. Trennung von Übergangsmetallen	40
Kapitel 4	Trennsäulen zur Proteinanalytik	43
Kapitel 5	Ionenausschluss-Chromatographie (HPICE)	47
Kapitel 6	Ionenpaar-Chromatographie (MPIC)	51
Kapitel 7	Mehrdimensionale Anwendungen in der IC	55
	7.1. Zweidimensionale IC – 2D-IC	55
	7.2. Multimodale Polymersäulen	57
Kapitel 8	Detektionsarten	63
	8.1. Leitfähigkeits-Detektion	63
	8.2. Ladungsdetektion (QD)	72
	8.3. Amperometrische Detektion	74
	8.4. UV/Vis-Detektion	79
	8.5. Fluoreszenz-Detektion	81
	8.6. Charged Aerosol Detection (CAD)	82
	8.7. Andere Detektionsarten	84
Kapitel 9	RFIC in der Ionenchromatographie	87
	9.1. Eluent Generator	88
	9.2. Funktionsweise der CR-TC	89
Kapitel 10	Anwendungsmöglichkeiten	93
	10.1. Ionenchromatographie in der Umweltanalytik	96
	10.2. Ionenchromatographie in der Kraftwerkschemie	102
	10.3. Ionenchromatographie in der galvanischen Industrie	106
	10.4. Ionenchromatographie in der Halbleiterindustrie	111
	10.5. Ionenchromatographie in der Wasch- und Haushaltsmittel-Industrie	117

Inhaltsverzeichnis

	10.6. Ionenchromatographie in der Nahrungs- und Genussmittel-Industrie	121
	10.7. Aminosäure-Analytik.....	127
	10.8. Applikationen zu Stärke, modifizierter Stärke und anderen Polysacchariden.....	128
	10.9. Anwendungen der Ionenchromatographie in der klinischen Analytik.....	132
	10.10. Untersuchung ionischer Flüssigkeiten.....	138
	10.11. Weitere Anwendungsgebiete.....	146
Kapitel 11	Probenvorbereitung.....	149
	11.1. Filtration der Probe	149
	11.2. Entfernung gelöster Probenbestandteile	150
	11.3. Pflege der Trennsäulen	153
Kapitel 12	Die Qualität des eingesetzten Wassers.....	157
Kapitel 13	Elutionsmittel – Herstellung	159
Kapitel 14	Verschiedene Standardsäulen in der modernen IC / LC	163
	14.1. Anionenaustauscher	163
	14.2. Kationenaustauscher	165
	14.3. Ionenausschluss.....	166
	14.4. Proteinsäulen.....	167
	14.5. Kohlehydrat-Säulen	169
Kapitel 15	Index	171
Kapitel 16	Literatur	175

Vorwort

Die Ionenchromatographie (IC) hat sich seit ihrer Einführung im Jahre 1975 zu einer vielseitigen Analysentechnik für ionische Spezies entwickelt, deren Trennung durch Ionenaustausch, Ionenausschluss oder Ionenpaarbildung erfolgt. Für die Elution der Ionen verwendet man Elektrolytlösungen, wobei die Retentionszeiten der einzelnen Ionen durch deren Affinitäten zur stationären Phase bestimmt werden. Die Detektion von Ionen erfolgt vor allem durch Messung der elektrischen Leitfähigkeit. Vor Eintritt in die Leitfähigkeits-Messzelle wird das Elutionsmittel durch einen kontinuierlich regenerierten Suppressor geleitet, mit dem die hohe Grundleitfähigkeit des Eluenten chemisch verringert und die zu analysierende Probe in eine stärker leitende Form überführt wird. Durch Kombination mit weiteren Detektionssystemen wie der UV-Absorption, der Ladungsdetektion (QD), der Amperometrie und durch Verwendung der Fluoreszenz-Detektion in Verbindung mit Nachsäulenderivatisierung sowie durch Kombination mit atomspektrometrischen Verfahren, der Massenspektrometrie und der Charged Aerosol Detection (CAD) erweiterten sich die Anwendungsmöglichkeiten der Ionenchromatographie erheblich.

Im Folgenden werden theoretische Grundlagen der einzelnen Trenn- und Detektionsverfahren sowie der Reagent-Free Ion Chromatography (RFIC, IC ohne manuelles Ansetzen von Eluenten und Regeneranten) diskutiert. Neben der theoretischen Einführung in die einzelnen Verfahren der Ionenchromatographie stehen praxisrelevante Anwendungsbeispiele aus dem Bereich der Normalbore, Mikrobore und Kapillar IC im Vordergrund dieses Bandes. Die vorgestellten Applikationen repräsentieren dabei einen einfachen Querschnitt durch die verschiedenen Anwendungsgebiete.

Zusätzlich finden sich eine ausführliche Beschreibung gängiger Probenvorbereitungsschritte, Angaben zur Eluenten-Herstellung und geeigneter Eluentenkonzentrate sowie Angaben zur erforderlichen Wasserqualität.

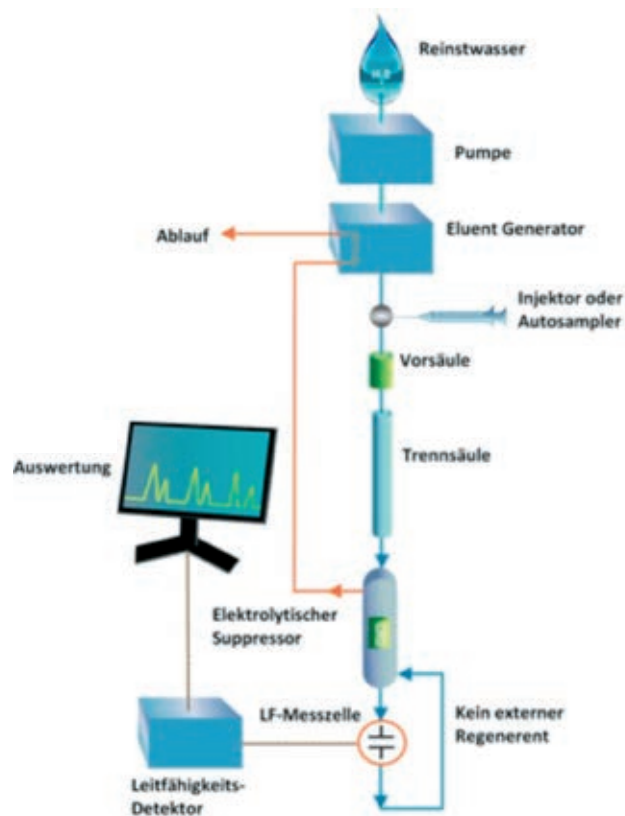
Dr. Detlef Jensen
Dezember 2013

1

Grundlagen der Ionenchromatographie

Die Ionenchromatographie (IC) wurde als neue analytische Methode 1975 von Small, Stevens und Baumann [1] eingeführt. Sie gehört zu den physikalisch-chemischen Trennverfahren, die auf der Verteilung eines Stoffes zwischen einer flüssigen mobilen und einer festen stationären Phase beruhen. Die IC hat sich in seitdem zu einer vielseitigen Analysetechnik für ionische und polare Spezies entwickelt, die eine Kombination mehrerer Trennsysteme mit entsprechenden Detektoren einschließt. Diese rasche Entwicklung verdankt die Ionenchromatographie dem zunehmend besseren Verständnis der verwendeten stationären Phasen und den an ihnen ablaufenden Trennvorgängen.

Abb. 1 Schematischer Aufbau eines modernen Ionenchromatographen



Der prinzipielle Aufbau eines Ionenchromatographen ist in Abbildung 1 schematisch dargestellt und ähnelt dem eines konventionellen HPLC-Gerätes. Die Pionierarbeit von Small et al. [1] bestand in der Entwicklung reproduzierbarer Ionenaustauscher mit niedriger Kapazität und hoher chromatographischer Effizienz. Für die Quantifizierung ionischer Spezies verwendeten sie den universellen und empfindlichen Leitfähigkeits-Detektor, dem eine diskontinuierlich regenerierte Suppressorsäule – heute verwendet man kontinuierlich regenerierte Membransuppressoren – vorgeschaltet war. Die Aufgabe des Suppressors ist, die hohe Grundleitfähigkeit des für die Elution verwendeten Elektrolyten auf chemischem Wege zu verringern und die zu analysierende Probe in eine stärker leitende Form zu überführen. Damit wird sowohl die Empfindlichkeit als auch die Spezifität des Verfahrens deutlich erhöht. Diese Art der Detektion bezeichnet man in der anglo-amerikanischen Sprache als Suppressed Conductivity Detection [2], im Deutschen hat sich der Begriff Leitfähigkeits-Detektion nach Suppression durchgesetzt. Die Entwicklung der IC ist durch die Verbesserung der Säulen- und Suppressortechnologie sowie durch deren Kombination mit weiteren Detektionsverfahren gekennzeichnet. So wurden Trennmateriale mit kombinierten Ionenaustausch- und Reversed-Phase-Eigenschaften entwickelt, mit denen weitere Anwendungsmöglichkeiten erschlossen werden können. Diese unter der Bezeichnung Thermo Scientific™ Dionex™ OmniPac™ vorgestellte Säulengeneration eignet sich für die multidimensionale Chromatographie von ionischen und nicht-ionischen Verbindungen [3].

Moderne Ionenaustauscher zeichnen sich zudem durch immer höhere chromatographische Trennleistungen aus, wobei immer kleinere Trennteilchen in den Säulen zur Anwendung kommen. Im Detail wird auf diese Entwicklung unter dem Stichwort Hochdruck-Ionenchromatographie (HPIC) im weiteren Verlauf eingegangen.

1.1. Nomenklatur und Verfahren

Die moderne IC basiert auf drei verschiedenen Trennmechanismen, die zugleich die Grundlage der Nomenklatur bilden:

Bei der **Ionenaustausch-Chromatographie** erfolgt die Trennung von Ionen an Austauschermaterialien verschiedener Kapazität.

Die High Performance Ion Chromatography Exclusion HPICE wird als Ionenausschluss-Chromatographie bezeichnet, da der Trennmechanismus u.a. durch den Donnan-Ausschluss bestimmt wird (s. Abschnitt HPICE).

Mobile Phase Ion Chromatography MPIC ist ein von Dionex, heute Thermo Fisher Scientific, geprägter Begriff für die Ionenpaar-Chromatographie in Kombination mit der Leitfähigkeits-Detektion. Dominierender Trennmechanismus ist hierbei die Adsorption der Analyten an der stationären Phase.

Eine neuere Entwicklung in der analytischen Chromatographie stellt die MDIC (Multi-Dimensional Ion Chromatography) dar. Diese Variante der IC vereinigt sowohl die Grundprinzipien der Ionenaustausch-Chromatographie mit denen der Reversed-Phase-Chromatographie in einer Säule, als auch die Verwendung von Schnitt- und Säulenschalttechniken in ihren verschiedenen Anwendungsformen.

In der HPIC (High Pressure Ion Chromatography) erfolgt die Trennung von Ionen an Austauschermaterialien hoher Kapazität und geringer Partikeldurchmesser. Der hierbei ansteigende Säulengendruck ist die Grundlage dieser Definition. In der Vergangenheit wurde diese Abkürzung allgemein verwendet, um die Ionenaustauschchromatographie zu beschreiben.

1.1.1 Ionenaustausch-Chromatographie

Wird eine Anionenaustauschersäule von einer Lösung durchströmt, die das Anion HCO_3^- enthält, so befindet sich die am Harz gebundene kationische Austauschfunktion $-\text{NR}_3^+$ ausschließlich in der Hydrogencarbonat-Form. Trägt man auf diese Säule eine Probe mit den Anionen A^- und B^- auf, so werden diese in einem Gleichgewichtsprozess nach Gl. (1) und (2) gegen Hydrogencarbonat ausgetauscht:



Die Trennung der Anionen wird dabei durch deren unterschiedliche Affinität zur stationären Phase bestimmt. Der den Gleichgewichtsprozess charakterisierende Selektivitätskoeffizient K ist wie folgt definiert:

$$K = \frac{[\text{X}^-]_s \cdot [\text{HCO}_3^-]_m}{[\text{HCO}_3^-]_s \cdot [\text{X}^-]_m} \quad (3)$$

$[\text{X}^-]_{s,m}$: Konzentration des Probeions in der stationären bzw. mobilen Phase

$[\text{HCO}_3^-]_{s,m}$: Hydrogencarbonat-Konzentration in der stationären bzw. mobilen Phase

Hieraus ergibt sich, dass die Trennung der Ionen umso besser ist, je unterschiedlicher deren Gleichgewichtskoeffizienten sind. Der Selektivitätskoeffizient ist experimentell zugänglich, indem einer Lösung bekannter Konzentration an X^- und HCO_3^- eine definierte Menge Harzmaterial zugegeben wird. Nach Einstellung des Gleichgewichts bestimmt man die Konzentration der ausgetauschten Ionen in der stationären und mobilen Phase.

Für das ausgetauschte Ion X^- ist der Gleichgewichtsverteilungskoeffizient D definiert als

$$D = \frac{[X^-]_s}{[X^-]_m} \quad (4)$$

Anstelle des Verteilungskoeffizienten D wird meist der Kapazitätsfaktor k' verwendet, der gemäß (5) berechnet werden kann:

$$k' = D \cdot \frac{\text{g Harz}}{\text{mL Lösung}} \quad (5)$$

Der Kapazitätsfaktor k' wird in der Praxis meist aus den chromatographischen Daten bestimmt:

$$k' = \frac{t_{ms} - t_D}{t_D} \quad (6)$$

t_{ms} : Bruttoretentionszeit des Ions

t_D : Totzeit des chromatographischen Systems

Die Totzeit t_D erhält man durch Messung der Verweildauer einer Verbindung im chromatographischen System, die im Idealfall keine Wechselwirkung mit der stationären Phase zeigt. Eine genauere Betrachtung zeigt jedoch, dass die von einer Molekelart wahrgenommene Säulentotzeit nicht wirklich konstant ist, sondern von der geometrischen Molekelgröße, und in manchen Fällen, von der Polarität der Molekel abhängt. Für den praktischen Einsatz in der HPLC/IC ist meist die Annahme einer „Näherungstotzeit“ ausreichend [4]. In der Ionenchromatographie wird diese z. B. durch Injektion von Wasser – man verwendet dabei den negativen „Wasserdip“ als „Totzeitmarker“ – ermittelt.

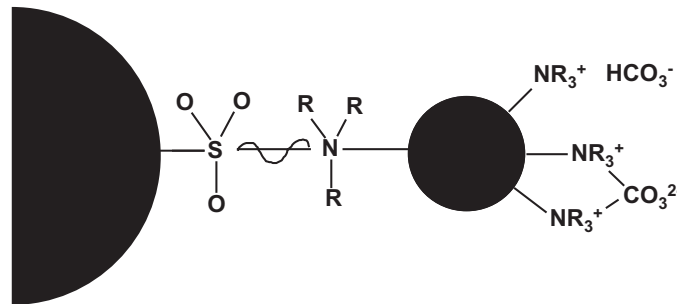
1.2. Stationäre Phasen für die Anionenaustausch-Chromatographie

1.2.1. Der Aufbau pellikularer Latex-Anionenaustauscher

Als stationäre Phase für die Anionenaustausch-Chromatographie wird unter anderem chemisch inertes, sulfoniertes Polystyrol/Divinylbenzol oder Ethylvinylbenzol / Divinylbenzol mit einem Teilchendurchmesser zwischen $4 \mu\text{m}$ und $15 \mu\text{m}$ (engl.: Core) verwendet. Die eigentlichen Austauscherguppen, $-\text{NR}_3^+$, tragen die sog. Latex-Teilchen (Durchmesser $\sim 0,06 - 0,2 \mu\text{m}$), die durch elektrostatische und van-der-Waals Wechselwirkungen am Träger gebunden sind (Abbildung 2). Diese Anordnung ist stabil gegenüber Änderungen der Ionenstärke und der Flussgeschwindigkeit des Eluenten. Gleichzeitig sind die Diffusionsprozesse und der Massentransfer zwischen mobiler und stationärer Phase an den kleinen Latex-Teilchen sehr schnell. Es resultiert eine für Ionenaustauscher bemerkenswert hohe chromatographische Effizienz. Dieser spezielle Säulenaufbau ist unter der Bezeichnung pellikularer Latex-Anionenaustauscher bekannt. Im Gegensatz zu den in der konventionellen HPLC verwendeten Trenn-

materialien auf Kieselgel-Basis sind die in der IC verwendeten Latex-Ionenaustauscher meist im pH-Bereich zwischen 0 und 14 stabil. Selbst eine wässrige NaOH-Lösung der Konzentration $c = 4 \text{ mol/L}$ ist nicht in der Lage, die Bindungen zwischen Träger- und Latex-Teilchen aufzubrechen. Selektivität und Effizienz einer Säule lassen sich durch Variation der funktionellen Gruppen der quaternären Ammoniumfunktion sowie des Vernetzungsgrades und der Partikelgröße verändern. Da das Latex-Material in einem separaten Arbeitsgang hergestellt wird, sind Änderungen der chromatographischen Selektivität eines Trennmaterials leicht möglich.

Abb. 2 Schematischer Aufbau eines Latex-Anionenaustauschers

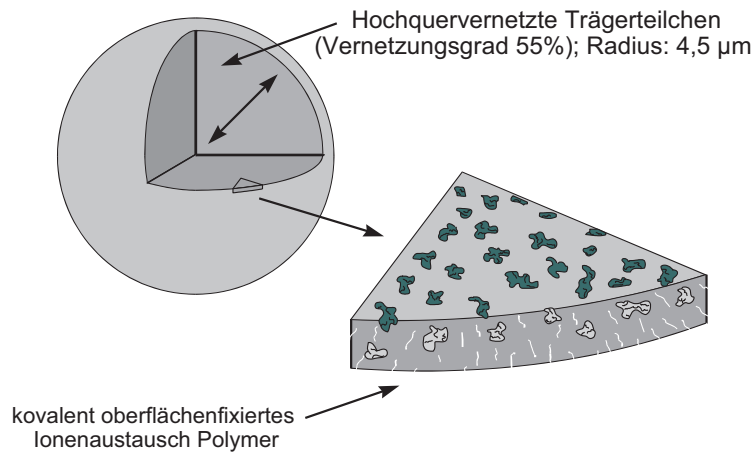


1.2.2. Oberflächenfunktionalisierte pelliculare Anionenaustauscher

Andere Herstellungsverfahren für analytische Anionenaustauscher beruhen auf der Adsorption sog. organischer Modifier, die Austauschgruppen als funktionelle Gruppe tragen [5], an nicht funktionalisiertem Trägermaterial. Dieses als dynamisches Coating bezeichnete Verfahren weist unter anderem Probleme mit der reproduzierbaren Herstellung der Trennmateriale auf [6]. Da die Austauschfunktionen nicht kovalent gebunden vorliegen, sind dynamisch modifizierte Ionenaustauscher nicht lösemittelstabil. Der Einsatz organischer Lösemittel führt zum Verlust der definierten Austauscheigenschaften. Eine reversible Veränderung der Säulenselektivität oder Säulenreinigungsschritte mit organischem Lösemittel ist daher nicht möglich. [7]

Ein geeignetes Verfahren zur Herstellung lösemittelstabiler oberflächenfunktionalisierter **pellikularer** Ionenaustauscher nutzten erstmalig Saini et al. [8]. Diese Ionenaustauscher basieren auf einem hoch vernetzten polymeren Substrat (Vernetzungsgrad 55%), und einem **kovalent** an der Oberfläche fixierten Anionenaustausch-Polymer (Abbildung 3). Im angelsächsischen Sprachraum wird das zur Herstellung dieser Ionenaustauscher eingesetzte Verfahren als Grafting (Propf-polymerisation) bezeichnet. Dabei werden auf Makromolekülketten kleinere Seitenketten mit unterschiedlicher chemischer Struktur „aufgepfropft“. Diese pellicularen Ionenaustauscher zeichnen sich durch Lösemittelbeständigkeit, hohe mechanische Belastbarkeit und pH-Stabilität aus. Durch die geringe Schichtdicke des chemisch fixierten Anionenaustausch-Polymers, den geringen Durchmesser des Trägers und spezielle Oberflächenmodifikationen, die eine Diffusion anionischer Spezies in das Innere des Substrats verhindern, resultiert ein hoher Massetransfer und konsequenterweise eine chromatographisch hoch effiziente Trennphase.

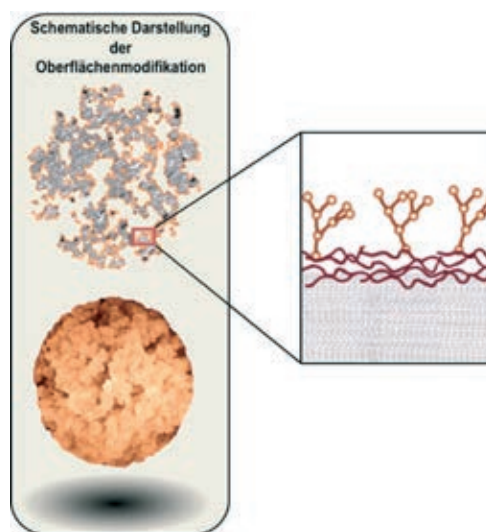
Abb. 3 Schematische Darstellung eines kovalent oberflächenfunktionalisierten, pellicularen Anionenaustauschers



1.2.3. Hyperbranched Anion Exchange Condensation Polymer

Ein vollkommen neues Verfahren ist unter dem Begriff Hyperbranched Anion Exchange Condensation Polymer bekannt geworden [9]. Das Substrat (Core) ist hierbei ein poröses, oberflächensulfoniertes Material, wie es bei der Herstellung Latex-agglomerierter Ionenaustauscher eingesetzt wird. Bei diesem Herstellungsprozess unterwirft man das Harz abwechselnd Reaktionen mit Epoxid-Monomeren und Aminen, in deren Verlauf an der Oberfläche des Core eine quervernetzte Polymerschicht entsteht. Die Anzahl der alternierenden Reaktionsschritte bestimmt die Ionenaustauschkapazität des resultierenden Harzmaterials und den Vernetzungsgrad der Ionenaustauschschicht. Eine graphische Darstellung ist in Abbildung 4 zu sehen. Polymere, die nach diesem Verfahren hergestellt werden sind außerordentlich hydrophil und zeichnen sich durch eine exzellente Hydroxid-Selektivität aus, durch den der Einsatz von Hydroxid-Eluenten niedrigerer Konzentration ermöglicht wird. Seit der erstmaligen Erwähnung sind verschiedene Säulen mit unterschiedlichen Selektivitäten und Kapazitäten veröffentlicht worden, wobei auch Eluenten auf Carbonat/Bicarbonat-Basis zur Anwendung kommen [10, 11].

Abb. 4 Schematische Darstellung eines Hyperbranched Anion Exchange Condensation Polymers



2

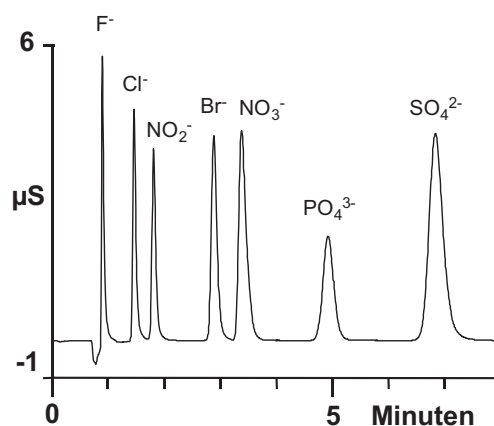
Moderne Anionenaustausch-Säulen

Zur konventionellen Anionenchromatographie sind zurzeit unter der Marke Thermo Scientific über dreißig verschiedene Anionenaustauscher (Thermo Scientific Dionex IonPac-Serie) mit unterschiedlichen Eigenschaften erhältlich, von denen einige vorgestellt werden. Auch wenn nicht explizit ausgewiesen, sind die meisten dieser Trennphasen in verschiedenen Formaten – meist mit unterschiedlichen Säulinnendurchmessern – verfügbar. Zur Übersicht werden nachfolgend die Trennphasen in zwei Gruppen nach ihrer Austauschkapazität geordnet. Darüber hinaus kommen in der modernen IC Säulen mit unterschiedlichen Dimensionen zum Einsatz. Es variiert neben der Länge (üblicherweise zwischen 10 und 25 cm) auch der Säulinnendurchmesser zwischen 5 mm im analytischen Format und 0,25 mm im kapillar-Format.

2.1. Trennphasen mit moderater Austauschkapazität

Als vielseitig einsetzbarer Anionenaustauscher war die Trennsäule vom Typ Thermo Scientific™ Dionex™ IonPac™ AS4A-SC lange der Stand der Technik in der chromatographischen Anionenanalyse. Aus dem in Abbildung 5 gezeigten Elutionsprofil dieser Säule ist ersichtlich, dass der Zeitbedarf für eine basislinienaufgelöste Trennung der sieben wichtigsten anorganischen Anionen lediglich 6 bis 7 Minuten beträgt.

Abb. 5 Elutionsprofil eines Latex-Anionenaustauschers vom Typ Dionex IonPac AS4A-SC

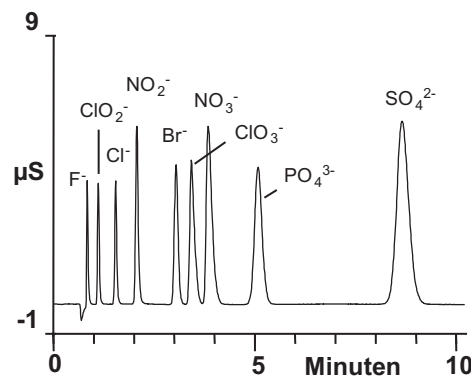


Eluent: 1,7 mmol/L NaHCO₃ + 1,8 mmol/L Na₂CO₃
Fluss: 2 mL/min
Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
Suppressor: Thermo Scientific™ Dionex™ AMMS-II Anion MicroMembrane Suppressor
Injektionsvol.: 20 µL
Konzentrationen: 1 F⁻ (2 mg/L), 2 Cl⁻ (2), 3 NO₂⁻ (5), 4 Br⁻ (10), 5 NO₃⁻ (10), 6 PO₄³⁻ (15), 7 SO₄²⁻ (15)

Die Dionex IonPac AS4A-SC-Säule zeichnet sich durch eine Lösemittelbeständigkeit, als Folge des Vernetzungsgrads von 55 % des Trägerteilchens, hohe chromatographische Effizienz und hohe Probenbelastbarkeit aus. Einen ähnlichen Aufbau besitzt der eigens für die Trennung von Nitrat und Chlorat entwickelte Anionenaustauscher vom Typ Dionex IonPac AS9-SC. Wie Abbildung 6 zeigt, ist die Auflösung zwischen Chlorid und Chlorit ausreichend hoch, um auch geringe Mengen an ClO_2^- neben großen Mengen Chlorid sicher bestimmen zu können. Im Vergleich zu anderen Anionenaustauschern wird mit der Dionex IonPac AS9-SC Säule darüber hinaus eine deutlich bessere Trennung zwischen Sulfid und Sulfat erzielt. Der Selektivitätsunterschied zwischen einer Dionex IonPac AS4A-SC und einer Dionex IonPac AS9-SC ergibt sich durch die Wahl eines anderen Polymers für die Latex-Partikel. Da die Latex-Teilchen der Dionex IonPac AS9-SC aus Polyglycidylmethacrylat bestehen, ergeben sich geringere Adsorptionswechselwirkungen polarisierbarer Anionen, als an einer Trennphase vom Typ Dionex IonPac AS4A-SC oder an einer Dionex IonPac AS10 (s.u.). Die Lösemittelstabilität ergibt sich aus dem Vernetzungsgrad des Substrates (55 %).

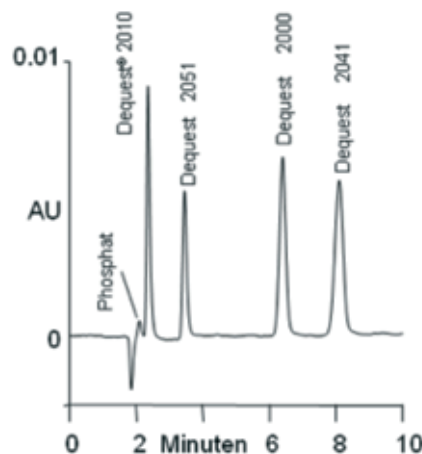
Speziell für die Analyse polyvalenter Anionen wie Polyphosphate und Polyphosphonate wurde die Trennsäule vom Typ Dionex IonPac AS7 bereits in den achtziger Jahren entwickelt.

Abb. 6 Elutionsprofil eines Latex-Anionenaustauschers vom Typ Dionex IonPac AS9-SC



Eluent: 0,75 mmol/L NaHCO_3 + 2 mmol/L Na_2CO_3
 Fluss: 2 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Injektionsvol.: 20 µL
 Peaks: 1 F^- (1 mg/L), 2 ClO_2^- (5), 3 Cl^- (1,5),
 4 NO_2^- (6), 5 Br^- (10), 6 ClO_3^- (15), 7 NO_3^- (15),
 8 PO_4^{3-} (20), 9 SO_4^{2-} (25).

Abb. 7 Elutionsprofil eines Latex-Anionenaustauschers vom Typ Dionex IonPac AS7

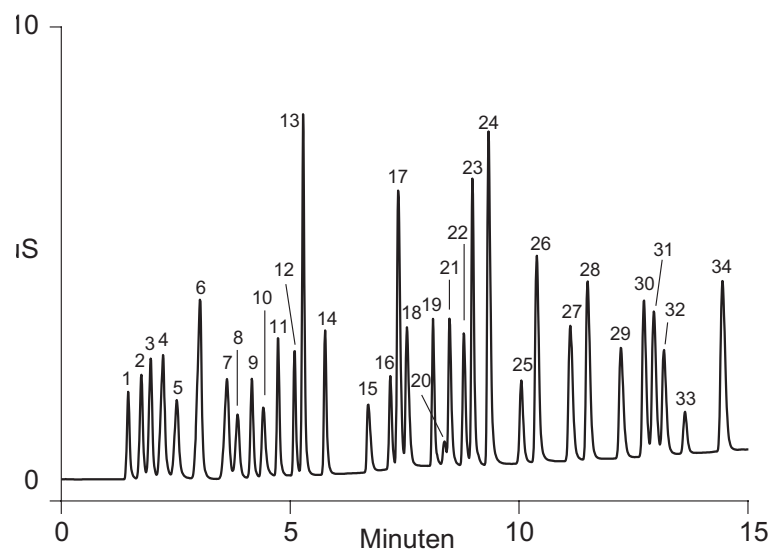


Eluent: 0,03 mol/L HNO_3
 Fluss: 0,8 mL/min
 Detektion: Photometrie bei 330 nm nach
 Reaktion mit Eisen(III)nitrat/ HClO_4
 Injektionsvol.: 25 µL
 Dequest-Konzentrationen: je 50 mg/L

Polyvalente Anionen waren in der Vergangenheit der ionenchromatographischen Analyse nicht zugänglich, da die Retentionszeiten mit steigender Ladungszahl erheblich zunehmen. Das in Abbildung 7 dargestellte Chromatogramm zeigt an einer Polyphosphonat-Trennung, dass mit stark sauren Laufmitteln Verbindungen dieser Art als völlig symmetrische Signale eruiert werden. An dieser Trennphase können zudem auch andere polyvalente Anionen wie α -Aminopolycarbonsäuren (Komplexone) und Polyphosphinate getrennt werden. Im Zusammenhang mit der Einführung der Gradientenelution von Anionen in Kombination mit ihrer Leitfähigkeits-Detektion wurde in der Mitte der achtziger Jahre ein Anionenaustauscher mit einem Partikeldurchmesser von 5 μm vorgestellt. Mit dieser als Dionex IonPac AS5A bezeichneten Trennsäule waren erstmals Anionen mit stark unterschiedlichem Retentionsverhalten wie mono-, di- und trivalente Spezies durch sukzessive Erhöhung der Ionenstärke des Eluenten in einem Lauf analysierbar. Zum erfolgreichen Einsatz der Gradientenelution, sei es mit hydroxid- oder borathaltigen Laufmitteln, ist der Einsatz kontinuierlich regenerierter Suppressoren Voraussetzung. Bei Anwendung der Gradiententechnik ist zu berücksichtigen, dass vor der nächsten Injektion die Rekonditionierung des Trennsystems abgewartet werden muss. Darunter versteht man meist eine Reihe von automatisierten Reinigungsschritten sowie Äquilibrierzeiten. Deren Ziel ist es, die Trennsäule entweder von eventuellen Verunreinigungen aus den Proben oder des Eluenten zu befreien und auf die Anfangsbedingungen des Gradienten einzustellen.

Abb. 8 Trennung anorganischer und organischer Anionen

Trennsäule: Dionex IonPac AS11 mit Vorsäule
 Eluent: NaOH-Gradient von 0,5 mmol/L auf 35 mmol/L in 15 min; Fluss: 2 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Thermo Scientific™ Dionex™ ASRS™ Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvol.: 10 μL
 Peaks: 1 Isopropylmethylphosphonat, 2 Quinat, 3 Fluorid, 4 Acetat, 5 Propionat, 6 Formiat, 7 Methansulfonat, 8 Pyruvat, 9 Chlorit, 10 Valeriat, 11 Monochloracetat, 12 Bromat, 13 Chlorid, 14 Nitrit, 15 Trifluoracetat, 16 Bromid, 17 Nitrat, 18 Chlorat, 19 Selenit, 20 Carbonat, 21 Malonat, 22 Maleat, 23 Sulfat, 24 Oxalat, 25 Ketomalonat, 26 Wolframat, 27 Phthalat, 28 Phosphat, 29 Chromat, 30 Citrat, 31 Tricarallylat, 32 Iso-Citrat, 33 cis-Aconitat, 34 trans-Aconitat

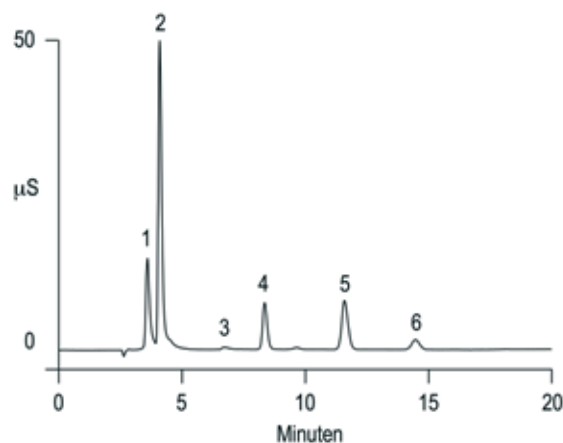


Bei der **klassischen** Gradiententechnik zur Anionen-Trennung ist die Carbonat-Kontamination der verwendeten NaOH-Eluenten, durch Aufnahme von CO_2 aus der umgebenden Atmosphäre, zu beachten. Man kann diesen Vorgang weitgehend durch Entgasen des vorgelegten Wassers mit Helium – vor der Zugabe der 50 %-igen NaOH – und durch Aufbewahrung des einsatzfertigen Eluenten unter einem Inertgas verhindern. Bildet sich Carbonat in der Natronlauge, verändern sich die Zusammensetzung und die Elutionseigenschaften des Eluenten. Beim Einsatz derart kontaminierter Hydroxid-Eluenten resultiert eine höhere Grundleitfähigkeit, die sich bei der Gradientenelution als störende Basisliniendrift bemerkbar macht. Aus diesen Gründen wurde ein Verfahren entwickelt, das hochreine Säure und Lauge im Sinne einer Online-Elektrolyse erzeugt, und sowohl

isokratische und Gradientenanwendungen deutlich vereinfacht. Dieses Verfahren ist unter der Bezeichnung Reagent-Free Ion Chromatography RFIC bekannt geworden und erlaubt dem Anwender den Betrieb des Ionenchromatographen ohne manuelles Handhaben von Chemikalien für die Bereitung von Eluenten oder Regeneranten. Der zeitliche Verlauf des Elektrolysestroms bestimmt, ob es sich um eine isokratische Anwendung oder eine Gradientenelution handelt. Die Technologie des Eluenten Generators und der RFIC basiert auf einem von Small et al. entwickelten Konzept [12, 13] und wird in Kapitel 9.1 separat vorgestellt (s. S. 88). Zur zeitlichen Verkürzung der Trennung anorganischer und organischer Anionen sowie der Rekonditionierung des Trennsystems wurde mit der Dionex IonPac AS11 (Abbildung 8) eine Trennsäule mit hoher Selektivität gegenüber Hydroxid-Ionen entwickelt. Die Analysenzeiten werden um etwa 50% gesenkt und die Äquilibrierzeiten verkürzt. Gleichzeitig wurde die Trennung organischer Säuren verbessert, so dass die Dionex IonPac AS11 eine der Standardsäulen für Gradientenanwendungen ist.

In der Vergangenheit stellte die sichere Fluorid-Bestimmung eine Herausforderung in der konventionellen Ionenaustausch-Chromatographie dar. Die Identifizierung und Quantifizierung wurde durch die mögliche Koelution kurzkettiger organischer Säuren mit dem stark hydratisierten Fluorid-Ion erschwert [7]. Die 1992 mit der Bezeichnung Dionex IonPac AS10 vorgestellte Trennsäule ermöglichte erstmals die Fluorid-Bestimmung unter isokratischen Bedingungen. Die Dionex IonPac AS10 basiert auf einem lösemittelstabilen Substrat, dessen Poren so groß sind, dass Latex-Partikel auch im Inneren agglomeriert werden. Durch die Vergrößerung der Oberfläche des Trägerteilchens und die damit verbundene Zunahme der fixierbaren Latex-Teilchen nimmt die Ionenaustauschkapazität zu. Um kurzkettige organische Säuren unter isokratischen Elutionsbedingungen von Fluorid trennen zu können, wurden hydrophobe Ionenaustauschfunktionen gewählt, was zu einer verstärkten Adsorption organischer Säuren an diesem Material führt. Folglich eluieren polarisierbare Ionen wie Bromid und Nitrat stark verzögert von dieser Säule. Aus diesem Grund hat sich die Dionex IonPac AS10 nur in speziellen Anwendungsbereichen, etwa der Untersuchung borsäurehaltiger Kühlwässer aus Kernkraftwerken oder der Chemikalienuntersuchung (Abbildung 9), etabliert.

Abb. 9 Trennung korrosiver Anionen in Methyldiethanolamin (MDEA)

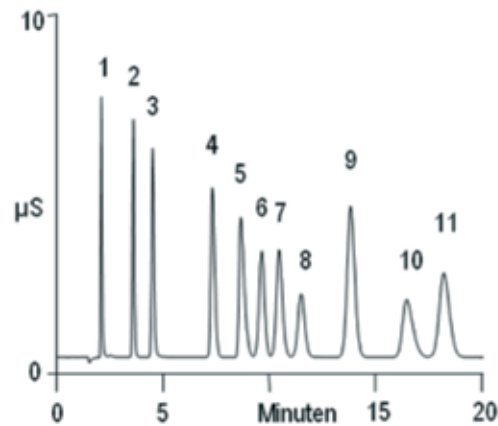


Trennsäule: Dionex IonPac AS10 mit Vorsäule, 4-mm
 Eluent: 100 mmol/L NaOH, Fluss: 1,0 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor

Probe: MDEA, 1:10 verdünnt
 Peaks: 1. Acetat (48 mg/L), 2. Formiat (54),
 3. Carbonat (-), 4. Chlorid (5,9), 5. Sulfat (1),
 6. Oxalat (3,5)

Mit der 1994 vorgestellten lösemittelstabilen Dionex IonPac AS12A wurde erstmalig eine verlässliche isokratische Fluorid-Bestimmung unter Verwendung eines Carbonat-basierten Eluenten in vielen Proben möglich (Abbildung 10). Die Trennung des stark hydratisierten Fluorid-Ions erfordert eine hohe Hydratisierung des verwendeten Ionenaustauschpolymers. Diese wird mit einem niedrigen Vernetzungsgrad von 0,15 % des Latex-Polymers ermöglicht. Die im Vergleich zu anderen Phasen höhere Kapazität (52 $\mu\text{equiv/Säule}$) erreicht man durch die Agglomeration der Latex-Partikel an einem superporösen Substrat aus EVB/DVB [7].

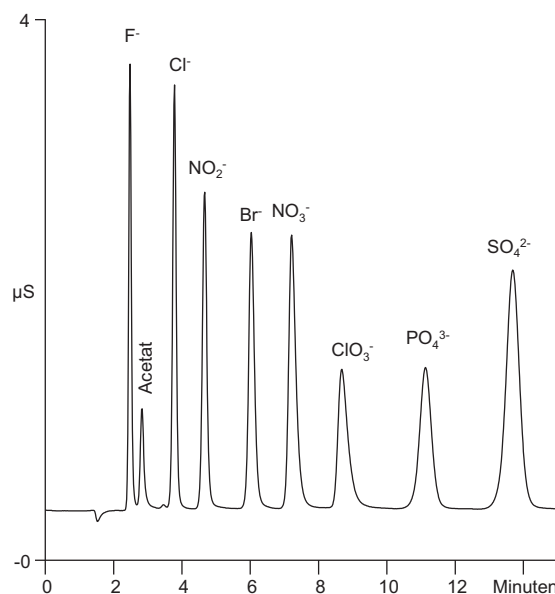
Abb. 10 Elutionsprofil der Dionex IonPac AS12A



Trennsäule: Dionex IonPac AS12A mit Vorsäule
 Eluent: 2,7 mmol/L Na_2CO_3 + 0,7 mmol/L NaHCO_3
 Fluss: 1,5 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Auto Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvol.: 10 μL
 Peaks: 1 Fluorid (3 mg/L), 2 Chlorid (5), 3 Nitrit (10), 4 Bromid (20), 5 Nitrat (20), 6 Selenit (20), 7 Phosphat (30), 8 Sulfit (20), 9 Sulfat (20), 10 Arsenat (40), 11 Selenat (20).

Als Alternative bietet sich die Trennsäule mit der Bezeichnung Dionex IonPac AS14 an (Abbildung 11). Hierbei handelt es sich um einen oberflächenfunktionalisierten pellicularen Ionenaustauscher [8] der sich durch Lösemittelbeständigkeit, eine hohe mechanische Belastbarkeit sowie weitgehende pH-Stabilität ($2 \leq \text{pH} < 11$) auszeichnet. Durch die erhöhte Ionenaustauschkapazität der Dionex IonPac AS14 (65 $\mu\text{equiv/Säule}$) können auch Proben analysiert werden, in denen große Konzentrationsunterschiede zwischen den zu bestimmenden Anionen vorliegen.

Abb. 11 Selektivität einer Dionex IonPac AS14



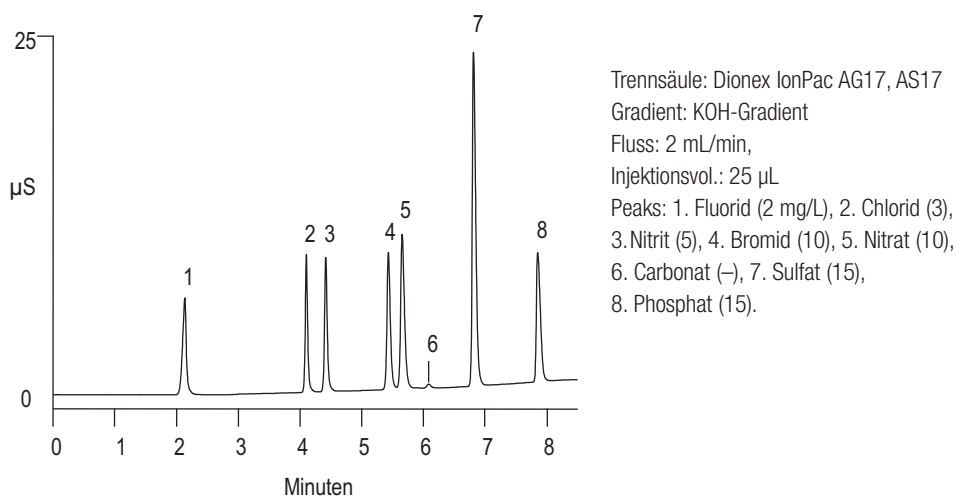
Eluent: 1,0 mmol/L NaHCO_3 , 2,7 mmol/L Na_2CO_3
 Fluss: 1,5 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach AutoSuppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor (kontinuierlich regeneriert)
 Injektionsvol.: 10 μL

In Abbildung 11 (Dionex IonPac AS14) ist die deutlich verbesserte chromatographische Auflösung zwischen Fluorid und dem Wasserdip sowie zwischen Fluorid und kurzkettigen organischen Säuren zu erkennen. Besonders interessant ist eine weitere Eigenschaft dieser Trennphase: Chlorat eluiert erst nach Bromid und Nitrat (Abbildung 11).

Eine einfache Erhöhung der Ionenstärke oder der Fließrate des Eluenten verkürzt zudem die Analysendauer an der Dionex IonPac AS14 im Bedarfsfall auf etwa 8 Minuten [14]. Neben der Selektivität des Ionenaustauschers spielt dessen Kapazität eine wesentliche Rolle bei der chromatographischen Trennung. So wurde im Jahr 2000 ein hochkapazitives Analogon der Dionex IonPac AS14, die Dionex IonPac AS14A vorgestellt. Dieses Material zeichnet sich durch eine höhere Proben-belastbarkeit und damit häufig eine höhere Säulenstandzeit sowie eine zusätzlich verbesserte Trennung von Fluorid vom Wasserdip aus.

Im Bereich der konventionellen Wasseranalytik gehörten die hydroxidselektiven Säulen heute zum Standardrepertoire. Die Gründe hierfür liegen zum einen in der Einführung der elektrolytischen Eluentenerzeugung, durch die der experimentelle Umgang mit Hydroxid-Eluenten stark vereinfacht wird. Zum anderen stehen moderne Trennphasen zur Verfügung, deren Selektivität und Kapazität an die speziellen Anforderungen dieses Bereiches angepasst wurden. Darüber hinaus sind seit der Novelle der ISO Normen zur Wasseranalytik Hydroxid-Laufmittel und die Gradientenanwendung zugelassen [15]. In Abbildung 12 ist ein repräsentatives Chromatogramm einer Dionex IonPac AS17 dargestellt, das die typischen kurzen Analysenzeiten dieses Materials zeigt. Die Anwendung der Gradientenelution erhöht die Peakkapazität, so dass die Fluorid-Trennung im Vergleich zu isokratischen Anwendungen (s.o.) weiter verbessert wurde. Durch den Einsatz moderner Eluenten Generatoren (Thermo Scientific Dionex EG und EG 50 Eluent Generator, Thermo Scientific Dionex RFC-30 controller) minimiert sich der Zeitaufwand für die Rekonditionierung der Trennsäule, so dass der Probendurchsatz im Bereich konventioneller isokratischer Anwendungen liegt. Die löse-mittel- und pH-stabile Dionex IonPac AS17 zählt mit einer Kapazität von 30 $\mu\text{equiv/Säule}$ (4 mm) zu den niedrigkapazitiven Vertretern moderner hydroxidselektiver Latex-Anionen-austauscher. Der Einsatz von hydroxidhaltigen Eluenten und die Auswirkungen auf die IC werden in Kapitel 9 über RFIC in der Ionenchromatographie (s. S. 87) ausführlicher diskutiert.

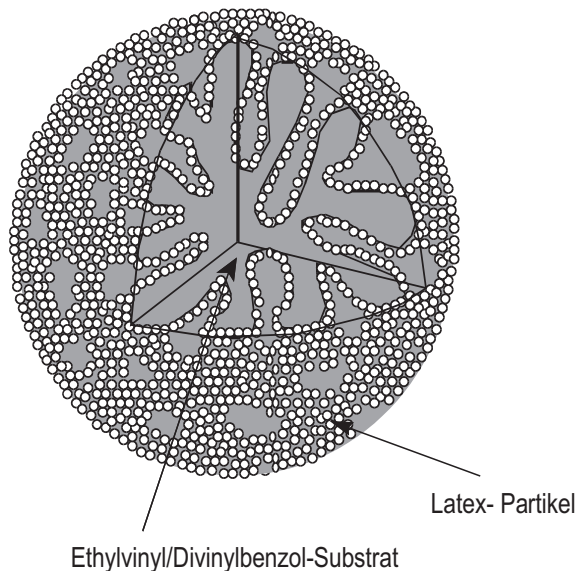
Abb. 12 Selektivität einer Dionex IonPac AS17



2.2. Hochkapazitive Trennsäulen für die Anionenaustausch-Chromatographie

Konventionelle Anionentrennungen erfolgen heute unter Einsatz von Ionenaustauschern meist moderater bis hoher Kapazität. Bevorzugt werden Latex-Anionenaustauscher [24] und solche, bei denen das Anionenaustausch-Polymer kovalent an der Oberfläche des Substratmaterials gebunden ist [8] und seit neuestem Ionenaustauscher mit sogenanntem Hyperbranched Anion Exchange Condensation Polymer (s. Kapitel 1.2.3). Bei Latex-Anionenaustauschern wird die Ionenaustausch-Kapazität durch die Partikelgröße des Substrats, die Größe der Latex-Teilchen sowie den Latex-Bedeckungsgrad der Substratoberfläche bestimmt. Bei den Trennsäulen mit kovalent gebundenen Anionenaustausch-Polymeren ist die Ionenaustausch-Kapazität von der Dicke des Polymerfilms abhängig (s. o.). In beiden Fällen resultieren Kapazitäten zwischen 20 und 90 μequiv pro Trennsäule (ID = 4 mm; l = 250 mm). Anionenaustauscher mit hohen Kapazitäten (>1 mequiv/g) waren bisher nur von untergeordneter Bedeutung, da Analyte bei hoher Ionenstärke eluiert werden müssen.

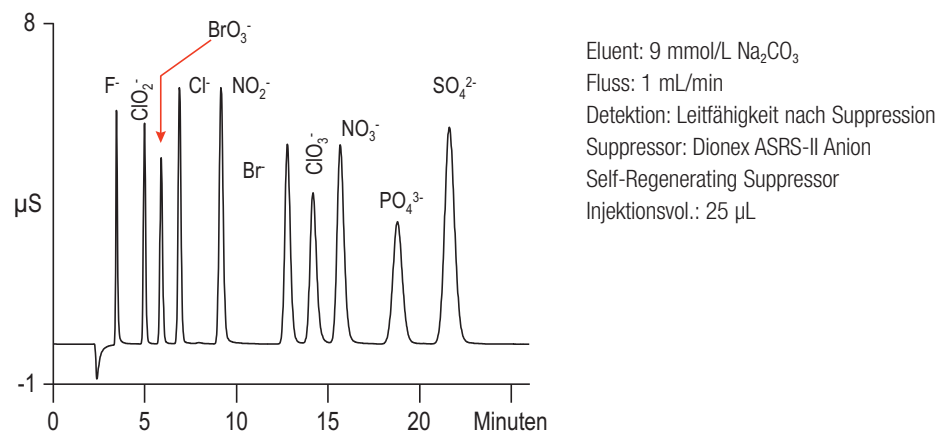
Abb. 13 Schematischer Aufbau hochkapazitiver Latex-Anionenaustauscher



Daher war in der Vergangenheit eine empfindliche Detektion über die elektrische Leitfähigkeit ausgeschlossen. Im Anwendungsfall der sog. Einsäulentchnik (Single Column IC SCIC) wäre die resultierende Grundleitfähigkeit des Eluenten zu hoch und im Falle der Suppressionstechnik ist der Einsatz kontinuierlich regenerierter Suppressoren mit ausreichender **dynamischer** Austauschkapazität Voraussetzung für den Einsatz solcher Säulen. Darüber hinaus waren diese Austauscher mechanisch nicht sehr stabil und konnten daher nur mit geringen Volumenströmen betrieben werden. Dies wiederum resultierte in langen Analysenzeiten und mangelnder Peaksymmetrie. Um große Konzentrationsunterschiede zwischen Analyt- und Matrix-Ionen jedoch chromatographisch darstellen zu können, sind hochkapazitive Trennsäulen essentiell. Beispiele hierfür sind u. a. die Bestimmung niedriger Bromat-Gehalte in Trinkwasser, die Spurenanalyse anorganischer Anionen in hochreinen Säuren sowie allgemein die Analyse anorganischer und organischer Säuren in komplexen Matrices aus der Lebensmittel- und Getränkeindustrie.

Der Durchbruch in der Entwicklung pellikulärer Latex-Anionenaustauscher hoher Kapazität gelang mit der Einführung der Trennsäule vom Typ Dionex IonPac AS10 (Abbildung 9). Die relativ hohe Austauschkapazität der Säule (170 μequiv ; ID = 4 mm; l = 250 mm) resultiert aus der enormen Porenweite des Trägermaterials, die ca. 2000 Å beträgt. So können die aminierten Latex-Teilchen nach Sulfonierung der Substratoberfläche auch im Innern der Poren elektrostatisch agglomeriert werden (Abbildung 13). Der hohe Vernetzungsgrad des Trägermaterials erlaubt die Verwendung organischer Lösemittel in der mobilen Phase, mit denen die chromatographische Selektivität beeinflusst werden kann.

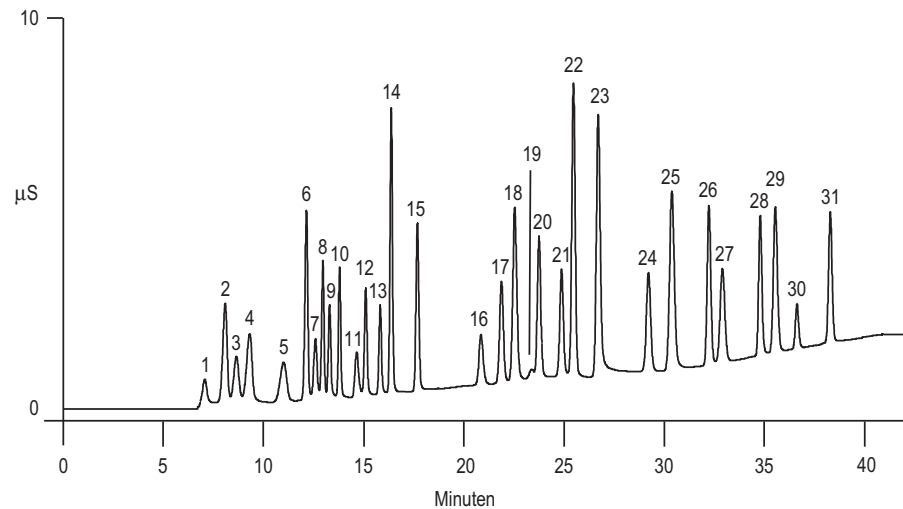
Abb. 14 Trennung an einer Dionex IonPac AS9-HC



Die 1997 vorgestellte Dionex IonPac AS9-HC (Abbildung 14) verbindet die Selektivität einer Dionex IonPac AS9-SC mit einer deutlich erhöhten Anionenaustausch-Kapazität (190 $\mu\text{equiv/Säule}$). Dieser pellikuläre Ionenaustauscher ist entsprechend zu Abbildung 13 aufgebaut. Mit dieser Trennphase sind Bestimmungen von Bromat und Nitrit auch bei ungünstigen Konzentrationsverhältnissen vereinfacht möglich. Die Dionex IonPac AS9-HC ist für den isokratischen Betrieb mit wässrigen Carbonat-Puffern oder mit reinem Natriumcarbonat-Eluenten konzipiert. Zwischenzeitlich wurden weitere hydroxidselektive Säulen höherer Austauschkapazität entwickelt. Zu diesen Säulen gehört die Dionex IonPac AS11-HC (Abbildung 15), deren Selektivität der einer Dionex IonPac AS11 sehr ähnelt. Der augenfälligste Unterschied zwischen diesen Trennsäulen ist die Austauschkapazität. Während die Dionex IonPac AS11 (Abbildung 8) eine mittlere Kapazität von 45 $\mu\text{equiv/Säule}$ aufweist, ergibt sich für die Dionex IonPac AS11-HC eine Austauschkapazität von 290 $\mu\text{equiv/Säule}$. Beide Trennphasen werden bevorzugt für Gradiententrennung anorganischer und organischer Anionen eingesetzt. Während die niedrigkapazitive Variante für schnelle Trennungen verwendet wird, zeichnet sich die Dionex IonPac AS11-HC durch ein robustes chromatographisches Verhalten auch bei komplexen Matrices aus: Die Trennsäule kann „nicht so schnell überladen werden“. Durch die höhere Kapazität der Dionex IonPac AS11-HC verlängert sich der Zeitbedarf einer einzelnen chromatographischen Analyse, wie aus dem Vergleich von Abb. 8 mit Abbildung 15 hervorgeht.

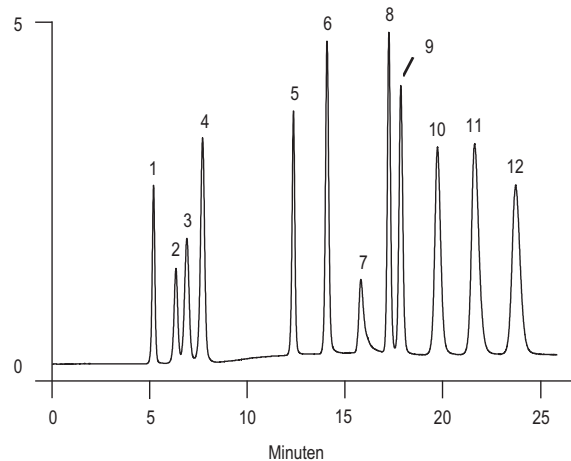
Abb. 15 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS 11-HC

Analyt-Konzentrationen: 3 - 20 mg/L
 Trennsäule: Dionex IonPac AS11-HC mit Vorsäule
 Eluent: NaOH-Gradient; Fluss: 1,5 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS-II Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvol.: 10 µL
 Säulentemperatur: 30 °C
 Peaks: 1. Quinat, 2. Fluorid, 3. Laktat, 4. Acetat, 5. Propionat, 6. Formiat, 7. Butyrat, 8. Methansulfonat, 9. Pyruvat, 10. Chlorit, 11. Valeriat, 12. Monochloracetat, 13. Bromat, 14. Chlorid, 15. Nitrit, 16. Trifluoracetat, 17. Bromid, 18. Nitrat, 19. Carbonat, 20. Malonat, 21. Maleat, 22. Sulfat, 23. Oxalat, 24. Ketomalonat, 25. Wolframat, 26. Phosphat, 27. Phthalat, 28. Citrat, 29. Chromat, 30. cis-Aconitat, 31. trans-Aconitat



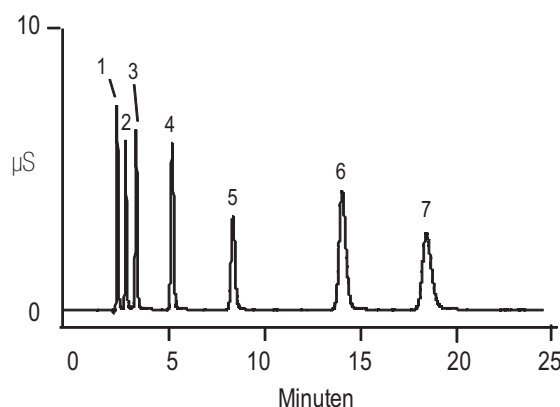
Für die Anwendung der Gradiententechnik stehen zusätzlich pellikuläre Ionenaustauscher zur Verfügung, bei denen das Ionenaustauschpolymer kovalent am Substrat gebunden ist. Die Selektivität derart hergestellter Trennphasen unterscheidet sich von der anderer Materialien. Betrachtet man das Chromatogramm einer Dionex IonPac AS15 (Abbildung 16), fällt die gute Trennung der organischen Anionen zu Beginn des Chromatogramms auf. Insbesondere Glykolat lässt sich sehr gut von anderen organischen Anionen trennen, so dass diese Säule bei entsprechenden Aufgabenstellungen eingesetzt wird. Durch den hydrophoben Charakter des Materials und die hohe Kapazität (225 µequiv/Säule) lassen sich an der Dionex IonPac AS15 hydrophile organische Ionen meist besser als an anderen Anionenaustauschern trennen, während Ionen deren Retention einen adsorptiven Charakter aufweisen – polarisierbare Ionen und Bromid, Nitrat – stark verzögert eluieren.

Abb. 16 Anionentrennung an einer Dionex IonPac AS15



Eluent: KOH-Gradient
 Säulentemp.: 30 °C
 Fluss: 1,6 mL/min
 Injektionsvol.: 10 µL
 Peaks: 1. Fluorid, 2. Glykolat, 3. Acetat, 4. Formiat, 5. Chlorid, 6. Nitrit, 7. Carbonat, 8. Sulfat, 9. Oxalat, 10. Bromid, 11. Nitrat, 12. Phosphat

Abb. 17 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS16

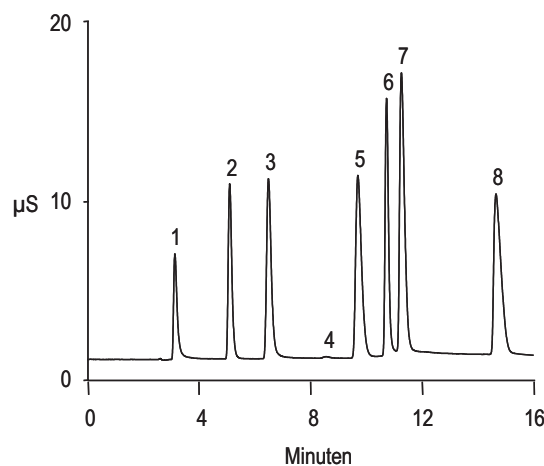


Eluent: 35 mmol/L NaOH
 Temperatur: 30 °C
 Fluss: 1 mL/min; Injektionsvol.: 10 µL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor
 Peaks: 1. Fluorid, 2. Chlorid, 3. Sulfat, 4. Thiosulfat, 5. Iodid, 6. Thiocyanat, 7. Perchlorat.

Während in der Vergangenheit polarisierbare Anionen häufig mit der Ionenpaar-Chromatographie getrennt wurden, ergeben sich durch die Entwicklung hydrophiler Anionenaustauscher alternative Möglichkeiten im Bereich der Austauschchromatographie (Abbildung 17). Obwohl die Kapazität der Dionex IonPac AS16 bei 170 $\mu\text{equiv/Säule}$ (ID = 4 mm) liegt, eluieren polarisierbare Anionen selbst unter isokratischen Bedingungen in sehr kurzer Zeit als symmetrische Signale. Beachtet man die niedrige Konzentration des Laufmittels, so ist überraschend, dass selbst Perchlorat in weniger als 20 Minuten eluiert. Die Dionex IonPac AS16 ist auf Grund dieser Eigenschaften als Trennsäule für die Bestimmung polarisierbarer Anionen prädestiniert. Daneben haben verschiedene Autoren zwischenzeitlich die besondere Eignung dieser Phase zur Chromatographie polyvalent geladener Anionen, z. B. Polyphosphonate, Polyphosphinate und Polycarboxylate, nachgewiesen [16].

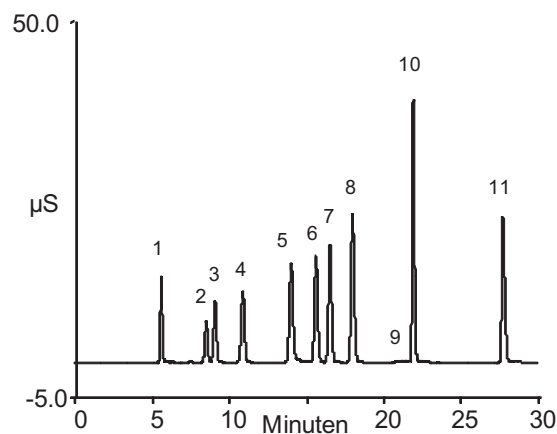
Unter dem Aspekt der Bestimmung trinkwassertypischer Minorbestandteile (wie Nitrit, Bromid, Chlorat und Phosphat) neben den Hauptbestandteilen aber auch der Bestimmung organischer Anionen wurde die Dionex IonPac AS18 entwickelt (Abbildung 18). Interessanterweise wird dieser Latex-Anionenaustauscher häufig mit KOH-Stepgradienten verwendet, zeigt aber auch unter isokratischen Bedingungen interessante chromatographische Eigenschaften. Trotz einer Austauschkapazität von 285 $\mu\text{equiv/Säule}$ (4 x 250 mm) eignet sich diese Säule auf Grund ihrer vergleichsweise niedrigen Hydrophobie der quartären Alkanolamin-Austauschgruppen auch zur Trennung polarisierbarer Anionen, beispielsweise Thiosulfat.

Abb. 18 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS18



Trennsäule: Dionex IonPac AG18, AS18 4 mm
 Eluent: 22 - 40 mmol/L KOH von 7 - 8 min
 Temperatur: 30 °C
 Fluss: 1,0 mL/min
 Injektionsvol.: 25 μL
 Detektion: Dionex ASRS ULTRA Anion Self-Regenerating Suppressor, 4 mm Recycle Modus
 Peaks: 1. Fluorid (2 mg/L), 2. Chlorid (5), 3. Nitrit (10), 4. Carbonat (-), 5. Bromid (20), 6. Sulfat (10), 7. Nitrat (20), 8. Phosphat (30)

Abb. 19 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS19

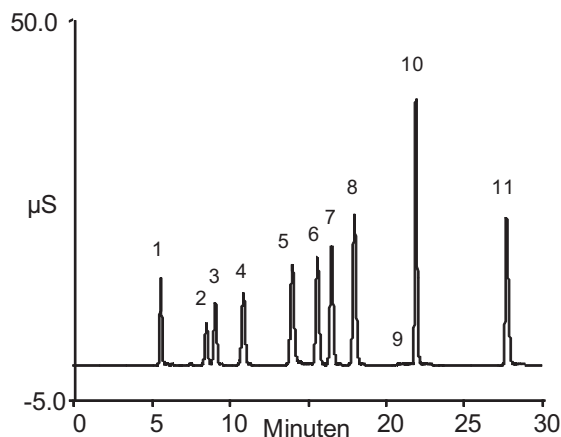


Trennsäule: Dionex IonPac AG19, AS19, 4 x 250 mm
 Eluent: KOH-Gradient; Fluss: 1.0 mL/min
 Temperatur: 30 °C
 Suppressor: Dionex ASRS ULTRA II Anion Self-Regenerating Suppressor, 4 mm, AutoSuppression Recycle Modus
 Injektionsvol.: 25 μL
 Peaks: 1. Fluorid (3 mg/L), 2. Chlorit (10), 3. Bromat (20), 4. Chlorid (6), 5. Nitrit (15), 6. Chlorat (25), 7. Bromid (25), 8. Nitrat (25), 9. Carbonat (-), 10. Sulfat (25), 11. Phosphat (40)

Mit der Dionex IonPac AS19 wurde erstmals ein Hyperbranched Anion Exchange Condensation Polymer – nachfolgend vereinfacht als Hyperbranched Polymer bezeichnet – eingeführt. Diese hydroxidselektive Säule zeichnet sich durch eine hohe Austauschkapazität von 240 $\mu\text{equiv/Säule}$ (4 x 250 mm) und eine besondere Selektivität hinsichtlich Bromat aus. Sie wird bevorzugt zur Trinkwasseranalytik unter Einsatz der Gradientenelution mit Reagent-Free IC und der Leitfähigkeits-Detektion nach Suppression eingesetzt. Ihre hohe Kapazität erlaubt die Analyse von stark unterschiedlichen Ionenkonzentrationen im gleichen Analysengang, und macht diese Säule ideal in der Wasseranalytik (s. Abbildung 19).

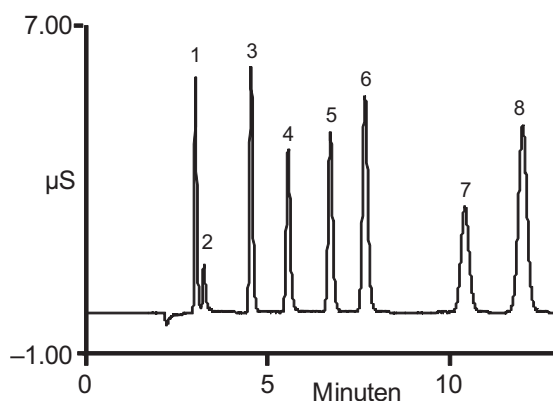
Die Säulen von Typ Dionex IonPac AS20 (310 $\mu\text{equiv/Säule}$; 4 x 250mm) und Dionex IonPac AS21 (45 $\mu\text{equiv/Säule}$; 2 x 250 mm) gehören ebenfalls zur Gruppe der Hyperbranched Polymere und werden bevorzugt zur Bestimmung von Perchlorat in Verbindung mit der Massenspektrometrie eingesetzt. Während die Dionex IonPac AS20 für den Einsatz mit KOH-Laufmitteln und der Suppression konzipiert ist, kommen mit der Dionex IonPac AS21 häufig aminhaltige Laufmittel zum Einsatz, so dass eine Kopplung an das MS auch ohne Suppression möglich ist. Beide Säulen zeichnen sich durch ein hydrophiles Verhalten aus, so dass polarisierbare Ionen mit Eluenten moderater Ionenstärke, sowie in vergleichsweise kurzer Zeit eluieren. Auf Grund der interessanten Eigenschaften zur Trennung von Standardanionen, organischen Säuren sowie polarisierbarer Anionen und ihrer Robustheit ist die Dionex IonPac AS20 in vielen Laboren als Standardphase zur Untersuchung unterschiedlichster Proben im Einsatz (Abbildung 20).

Abb. 20 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS20 (4 x 250 mm)



Eluent: KOH-Gradient, Temperatur: 30 °C
 Fluss: 1.0 mL/min, Injektionsvol.: 10 μL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression, Dionex ASRS ULTRA II Anion Self-Regenerating Suppressor, 4 mm, Autosuppression Recycle Modus
 Peaks: 1. Fluorid (2 mg/L), 2. Acetat (10), 3. Butyrat (10), 4. Formiat (10), 5. Chlorit (10), 6. Bromat (10), 7. Chlorid (5), 8. Nitrit (10), 9. Chlorat (10), 10. Bromid (10), 11. Nitrat (10), 12. Carbonat (20), 13. Sulfat (10), 14. Selenat (10), 15. Oxalat (10), 16. Phthalat (20), 17. Phosphat (20), 18. Chromat (20), 19. Iodid (20), 20. Arsenat (20), 21. Citrat (20), 22. Thiocyanat (20), 23. Perchlorat (30)

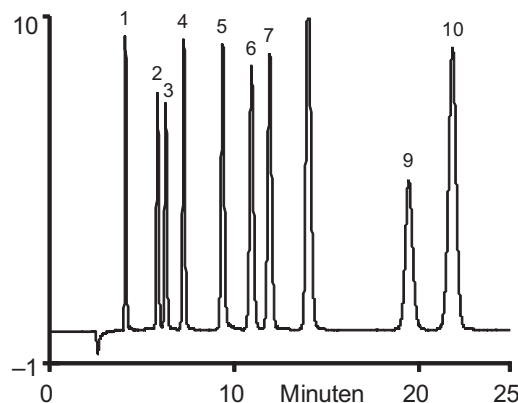
Abb. 21 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS22 (4 x 250 mm)



Eluent: 4.5 mmol/L Na_2CO_3 /1.4 mmol/L NaHCO_3
 Temperature: 30°C
 Fluss: 1.2 mL/min
 Injektionsvol.: 10 μL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression, Dionex ASRS ULTRA II Anion Self-Regenerating Suppressor, 4 mm, Autosuppression Recycle Modus
 Peaks: 1. Fluorid (5 mg/L), 2. Acetat (20), 3. Chlorid (10), 4. Nitrit (15), 5. Bromid (25), 6. Nitrat (25), 7. Phosphat (40), 8. Sulfat (30)

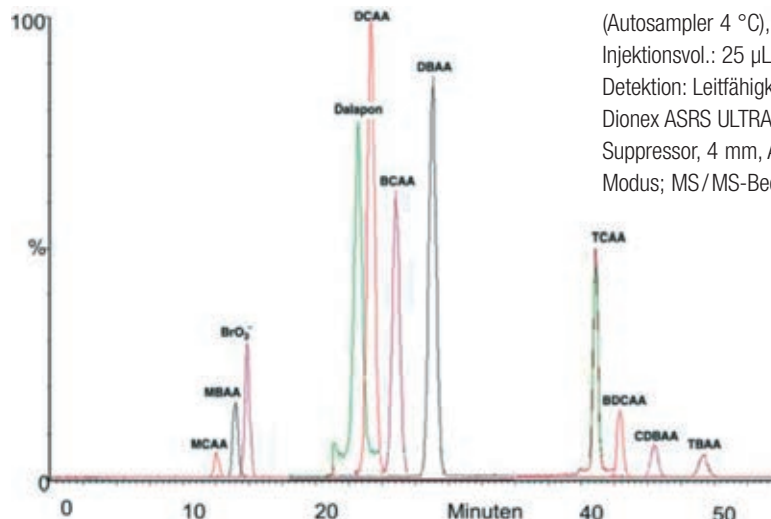
In den Bereich der hochkapazitiven Anionenaustauscher gehören die Dionex IonPac AS22 und Dionex IonPac AS23, beides Vertreter der hyperbranched Polymere mit Ionenaustauschkapazitäten von 210 $\mu\text{equiv/Säule}$ bzw. 320 $\mu\text{equiv/Säule}$ (Angaben für die 4 x 250 mm Säulen). Diese Materialien wurden für den Einsatz mit Carbonat/Bicarbonat-haltigen Eluenten optimiert und werden meist unter isokratischen Bedingungen eingesetzt. Die pH-Stabilität des Polymers erlaubt jedoch auch den Einsatz von Hydroxid-Eluenten. Beide Harze werden nach den gleichen Prinzipien hergestellt, einzig die Anzahl der sich wiederholenden Reaktionsschritte bei der Funktionalisierung des Zentralteilchens (s. Kapitel 1.2.3) unterscheiden sich. Ähnliche Eigenschaften zeigen die Harze, wobei die niedrigere Austauschkapazität der Dionex IonPac AS22 in deutlich kürzeren Retentionszeiten resultiert (Abbildung 21 und 22). Die Dionex IonPac AS22 kommt in der konventionelle Trinkwasseranalytik zur schnellen Bestimmung der Standard-Anionen (Fluorid, Chlorid, Bromid, Nitrat, Phosphat, Sulfat) zum Einsatz. In der Zwischenzeit wurde zudem noch eine kürzere Variante der Dionex IonPac AS22 unter dem Namen Dionex IonPac AS22-Fast eingeführt. Bei dieser Säule wird das identische Harz verwendet, wobei die Säulenlänge auf 150 mm verkürzt wurde. Daraus ergeben sich sehr kurze Laufzeiten von wenigen Minuten. Diese Säule kommt zur Untersuchung gering belasteter Wässer ohne große Konzentrationsunterschiede der Anionen zum Einsatz.

Abb. 22 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS23 (4 x 250 mm)



Eluent: 4.5 mmol/L Na_2CO_3 / 0.8 mmol/L NaHCO_3
 Temperature: 30 °C; Fluss: 1.0 mL/min
 Injektionsvol.: 25 μL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression,
 Dionex ASRS ULTRA II Anion Self-Regenerating
 Suppressor, 4 mm, Autosuppression Recycle Modus
 Peaks: 1. Fluorid (3 mg/L), 2. Chlorit (10),
 3. Bromat (20), 4. Chlorid (6), 5. Nitrit (10),
 6. Chlorat (25), 7. Bromid (25), 8. Nitrat (25),
 9. Phosphat (40), 10. Sulfat (30)

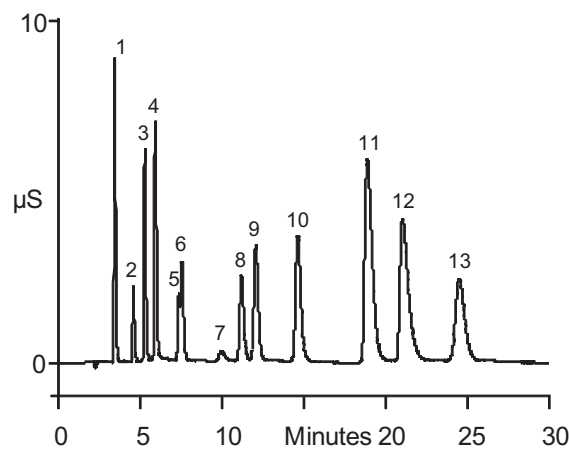
Abb. 23 Trennung von Halogenessigsäuren, Dalapon und Bromat an eine Dionex IonPac AS24 gemäß EPA 557.0 [17] – Detektion IC-ESI-MS/MS



Eluent: KOH-Gradient; Temperature: 15 °C
 (Autosampler 4 °C), Fluss: 0.3 mL/min
 Injektionsvol.: 25 μL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression,
 Dionex ASRS ULTRA II Anion Self-Regenerating
 Suppressor, 4 mm, Autosuppression Recycle
 Modus; MS/MS-Bedingungen s. [17]

Die höhere Austauschkapazität der Dionex IonPac AS23 hingegen ermöglicht auch die Bestimmung von Bromat im $\mu\text{g/L}$ -Bereich im Beisein eines hohen Überschusses der Hauptkomponenten (Chlorid, Nitrat, Sulfat), wie auch die vereinfachte Untersuchung komplexer zusammengesetzter Proben. Eine weitere Besonderheit zeichnet die Dionex IonPac AS22 und Dionex IonPac AS23 aus: An diesen Phasen eluiert Carbonat unter Standardbedingungen zwischen Nitrat und Phosphat. Die Säulen vom Typ Dionex IonPac AS24 und Dionex IonPac AS26 sind speziell zur Trennung von Nebenprodukten aus der Wasserdessinfektion, wie Bromat und Halogenessigsäuren, konzipiert. Die Kombination mit der Massenspektrometrie steht hier im Vordergrund und wird getragen durch die EPA-Normierung [17] (Abbildung 23). Daneben spielt die 2D-IC, d.h. die Kombination zweier Ionenchromatographen im Sinne des Heart-Cutting-Ansatzes und ausgerüstet meist mit Säulen unterschiedlicher Selektivität, eine zunehmend wichtigere Rolle.

Abb. 24 Chromatogramm einer Dionex IonPac AS25 (4 x 250 mm)



Eluent: 37 mmol/L KOH
 Temperature: 30 °C
 Fluss: 1.0 mL/min
 Injektionsvol.: 25 μL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression,
 Dionex ASRS ULTRA II Anion Self-Regenerating
 Suppressor, 4 mm, Autosuppression Recycle Modus
 Peaks: 1. Fluorid, 2. Bromat, 3. Chlorid,
 4. Nitrit, 5. Bromid, 6. Nitrat, 7. Carbonat,
 8. Sulfit, 9. Sulfat, 10. Iodid, 11. Thiocyanat,
 12. Perchlorat, 13. Thiosulfat

Speziell zur Trennung und Untersuchung von anorganischen Anionen sowie anionischer Schwefelspezies wurde die Dionex IonPac AS25 entwickelt. Hierbei handelt es sich um ein hydrophiles Harz, das für die Gradiententrennung von mehrwertigen und polarisierbaren Ionen optimiert wurde. Diese Säule wird im Bereich der Prozessanalytik zur Untersuchung von Effluaten, zur Abwasseranalytik und zur Untersuchung von Schwefelspezies in Gaswaschlaugen eingesetzt. Die hohe Kapazität (350 $\mu\text{equiv/Säule}$; 4 x 250 mm) und die Lösemittelkompatibilität erlauben den Einsatz der Säule auch bei komplexen Fragestellungen. Mit organischen Lösemitteln im Eluenten können die Löslichkeit verschiedener Analyte verbessert, die Selektivität beeinflusst und die Säule effektiv von organischen Verunreinigungen gereinigt werden. Besonders interessant wird diese Säule durch die sehr gute Trennung von Carbonat – schon unter isokratischen Bedingungen (Abbildung 24) – und Sulfit sowie Sulfat. Diese Säule wird damit interessant für Proben mit einem hohen Carbonat-Gehalt und immer dann, wenn keine weiteren Schritte zur Carbonat-Entfernung, sei es offline oder online, durchgeführt werden oder auf Grund der analytischen Fragestellung durchführbar sind.

2.3. Anionenaustauscher zur Trennung von Kohlehydraten und Aminosäuren

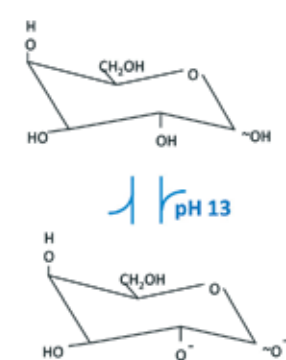
2.3.1. Kohlehydrate

Zur chromatographischen Trennung von Kohlehydraten wurden in der Vergangenheit verschiedene GC- und HPLC-Verfahren entwickelt. Zur gaschromatographischen Trennung ist eine arbeits- und zeitintensive Derivatisierung der nichtflüchtigen Zucker erforderlich. Häufiger findet man dagegen die Trennung an metallbeladenen Kationenaustauschern mit deionisiertem Wasser als Eluent. Dieses Verfahren wird durch Matrixbestandteile, wie z. B. metallkomplexierende organische Säuren, gestört. Zusätzlich limitiert die unzureichende Selektivität dieser stationären Phasen für höhere Oligosaccharide den Einsatzbereich zusätzlich [24]. Alternativ wird die Trennung der Kohlehydrate nach Komplexbildung mit Borsäure sowohl für die Kapillarelektrophorese als auch für die Chromatographie diskutiert. Obwohl sich die Trennungen durch hohe Selektivitäten auszeichnen, ist die Komplexbildung langsam, so dass sich eine zeit- und experimentell aufwendige Analytik ergibt. Häufig wird bei der Vielzahl dieser Techniken die Brechungsindex-Detektion (RI-Detektion), vermehrt auch die Charged Aerosol Detektion (CAD) eingesetzt (s. Kapitel 8.6). In Verbindung mit der RI-Detektion sind nur isokratische Anwendungen möglich, was die Flexibilität dieser Verfahren deutlich einschränkt, während CAD auch die Gradientenelution erlaubt. Zunehmend werden auch HILIC-Trennungen (HILIC: Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography) eingesetzt. Nach zeitaufwendiger Derivatisierung kommt meist die Fluoreszenz-Detektion in Verbindung mit der Massenspektrometrie oder CAD zum Einsatz. Unter den Derivatisierungsbedingungen bei denen die Zucker z. B. mit 2-Aminobenzamid (2-AB) umgesetzt werden kann es zu einem nicht unerheblichen Verlust von Sialinsäuren des ursprünglichen Glykans, und damit zu einer Verfremdung des Analyseergebnisses kommen, so dass der Einsatz von Verfahren zur direkten Bestimmung sialinsäurehaltiger Glykane zu bevorzugen ist [19]. Nicht derivatisierte Glykane können nach HILIC Trennung auch mit der CAD bestimmt werden. Eine gelungene Übersicht zum Einsatz der HILIC im Bereich der Kohlehydrat-Analytik gibt Uçaktürk in [20].

Abb. 25 pK_a -Werte verschiedener Zucker in Wasser [18]

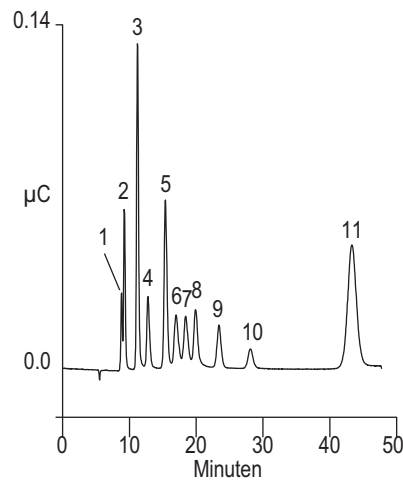
(in Wasser bei 25°C)

Zucker	pK_a
Fructose	12.03
Mannose	12.08
Xylose	12.15
Glucose	12.28
Galactose	12.39
Dulcitol	13.43
Sorbitol	13.60
α -Methyl glucosid	13.71



Betrachtet man Zucker jedoch als sehr schwache Säuren, mit einem pK_a -Wert zwischen 12 und 14 (Abbildung 25), so können diese im alkalischen Milieu in die anionische Form überführt und an einem stark basischen Anionenaustauscher getrennt werden [24]. Als Elutionsmittel eignen sich Lösungen deren NaOH-Konzentrationen – je nach Zielverbindung und eingesetzter Trennphase – zwischen 0,5 und 750 mmol/L NaOH liegen kann. Vorteilhaft sind dabei die experimentell leicht zu beeinflussende Elutionsreihenfolge und das ionenchromatographische Retentionsverhalten der Kohlehydrate. Hinzu kommt eine Vielzahl moderner ionenchromatographischer Trennphasen die nachfolgend vorgestellt werden.

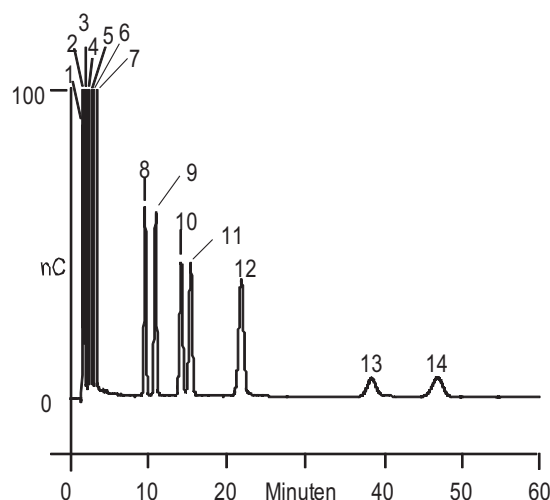
Abb. 26 Chromatogramm einer Dionex CarboPac MA1



Eluent: 500 mmol/L NaOH
 Fluss: 0.4 mL/min
 Injektionsvol.: 10 µL
 Detektion: PAD
 Arbeitselektrode: Au
 Peaks: 1. myo-Inosit, 2. Glycerin,
 3. i-Erythrit, 4. Xylit, 5. Arabit, 6. Sorbit,
 7. Dulcitol, 8. Mannit, 9. Glucose,
 10. Fructose, 11. Saccharose

Mit der Thermo Scientific™ Dionex™ CarboPac™ MA1 steht ein hochkapazitiver Anionenaustauscher zur Verfügung, mit dem bevorzugt reduzierte Mono- und Disaccharide sowie Zuckeralkohole getrennt werden (s. Abbildung 26). Durch den hydrophoben Charakter des Harzes werden die an sich geringen Adsorptionswechselwirkungen der Zucker und Zuckeralkohole ausgenutzt und tragen so zur Verbesserung der Trennung bei. Im Gegensatz zu den klassischen Anionenaustauschern auf Latex-Basis handelt es sich bei der Dionex CarboPac MA1 um ein Material, bei dem die Anionenaustauschergruppen direkt am makroporösen Substrat gebunden sind. Die Kapazität dieses Austauschers liegt bei 1,45 mequiv/ Säule. Auf Grund des makroporösen Aufbaus des Substrats sollte der Volumenstrom 0,5 mL/min nicht überschreiten. Aus dem niedrigen Vernetzungsgrad des Materials (15 %) ergibt sich, dass die Eluenten der Dionex CarboPac MA1 keine organischen Modifizier enthalten dürfen. Zur Trennung der verschiedenen Zucker und Zuckeralkohole kommen an dieser Phase NaOH-haltige Eluenten zum Einsatz, deren Konzentrationen in Einzelfällen bis zu 850 mmol/L NaOH betragen.

Abb. 27 Chromatogramm einer Dionex CarboPac PA1

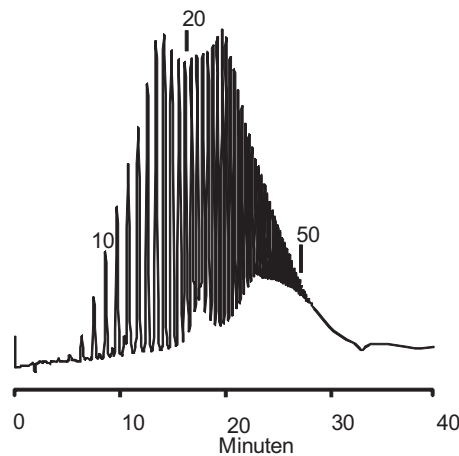


Eluent: 16 mmol/L NaOH
 Fluss: 1 mL/min
 Injektionsvol.: 10 µL
 Detektion: PAD
 Arbeitselektrode: Au

An der Dionex CarboPac MA1 ist beim Einsatz von Kompositionsgradienten mit NaOAc darauf zu achten, dass eine Rekonditionierung des Harzes ausgehend von der Acetat-Form in die Hydroxid-Form auf Grund der hohen Kapazität zeitaufwendig ist.

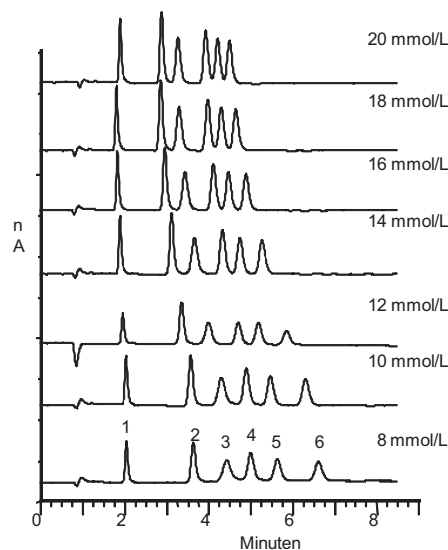
Obwohl bereits 1985 eingeführt, ist die Dionex CarboPac PA1 noch heute eine der am häufigsten eingesetzten Trennphasen im Bereich der ionenchromatographischen Kohlehydratanalytik. Als Anionenaustauscher auf Latex-Basis erlaubt diese Trennsäule den Einsatz von reinen Hydroxid-Laufmitteln (Mono- und Disaccharid-Trennung, und einiger Zuckeralkohole, s. Abbildung 27) sowie die Gradienten-Elution mit einem Eluenten bestehend aus NaOH und Natriumacetat. Das Acetat übernimmt die Rolle des eluierenden Anions für Oligo- und Polysaccharide und wird im angelsächsischen Sprachraum auch gerne als „pushing Ion“ bezeichnet (Abbildung 28). Die Flexibilität der Dionex CarboPac PA1 gepaart mit ihrer hohen Robustheit erklärt die nachhaltige Popularität dieser Trennphase.

Abb. 28 Chromatogramm einer Dionex CarboPac PA1 Inulin Oligosaccharid-Trennung



Eluent: A: 0.1 M NaOH & B: 0.1 M NaOH, 1.0 M NaOAc
 Gradient: 20 - 60 % B in 40 Minuten
 Fluss: 1.0 mL/min
 Detektion: PAD, Au-Arbeitslektrode
 Probe: 0.3 % Inulin (Polyfructose) in 0.1 M NaOH.
 Peaknummerierung zeigt den „Degree of Polymerization“ (DP), d.h. die Anzahl der Fructose-Einheiten der Sacchrid-Kette an

Abb. 29 Selektivität einer Dionex CarboPac PA20 – Variation der Laufmittelkonzentration

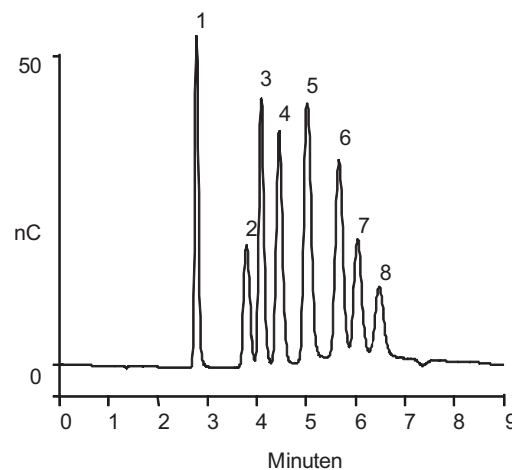


Eluent: s. Chromatogramm
 Fluss: 0,5 mL/min
 Injektionsvol.: 5 µL
 Detektion: IPAD,
 Arbeitslektrode: Au
 Peaks: 1. Fucose, 2. Galactosamin,
 3. Glucosamin, 4. Galactose,
 5. Glucose, 6. Mannose

Im Bereich der Mono- und Disaccharid-Trennung hat sich die Dionex CarboPac PA20 etabliert, die sich als Anionenaustauscher auf Latexbasis durch eine hohe Druck- und pH-Stabilität, sowie durch vollständige Lösemittelstabilität und eine hohe Hydrophobie auszeichnet. Die im Vergleich zur Dionex CarboPac PA1 niedrigere Säulen-Kapazität ergibt sich einzig aus dem Säulenformat (3 x 150 mm). Die höhere chromatographische Effizienz dieser Dionex CarboPac Säule ergibt sich aus dem im Vergleich zur Dionex CarboPac PA1 verringerten Durchmesser des Trägerteilchens, als auch durch den kleineren Durchmesser des Latex-Teilchens. Auch im Vergleich zur Vorgängersäule, der Dionex CarboPac PA10, zeichnet sich dieses Material durch höhere chromatographische Effizienzen und kürzere Laufzeiten aus (Abbildung 29). Auch diese Säule kann mit NaOH/NaOAc-Gradienten zur Elution von Oligo-/Polysacchariden betrieben werden. Allerdings zeigen sich die besonderen Trenneigenschaften dieses Materials bei der Trennung von Mono- und Disacchariden.

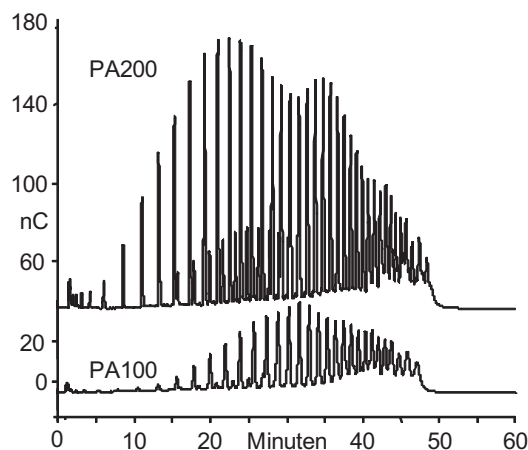
Die Dionex CarboPac PA200 (3 x 250 mm) zeichnet sich durch eine besonders niedrige Austauschkapazität (35 μ equiv/Säule) aus. Diese Eigenschaft erlaubt die schnelle Chromatographie von Oligosacchariden und die geringen Teilchendurchmesser von Trägerteilchen (5.5 μ m) und Latex-Teilchen (43 nm) erklären die hohe chromatographische Effizienz und das hohe Trennvermögen dieser Säule selbst im Vergleich zur bereits hierfür optimierten Dionex CarboPac PA100 (Abbildung 31).

Abb. 30 „Biokraftstoff“-Zucker an einer Dionex CarboPac SA10 (4x250 mm) Eluent: 1 mmol/L KOH (EG/CR-TC)



Fluss: 1.5 mL/min, Injektionsvol.: 10 μ L, Temperatur: 45 °C, Detektion: IPAD), Arbeitselektrode: Au, Probe: „Biokraftstoff-Zucker“, Peaks: 1. Fucose (20 mg/L), 2. Saccharose (20), 3. Arabinose (20), 4. Galactose (20), 5. Glucose (20), 6. Xylose (20), 7. Mannose (20), 8. Fructose (20)

Abb. 31 Inulin-Trennung an einer Dionex CarboPac PA200 und einer Dionex CarboPac PA100



Gradient: 120–320mmol/L NaOAc in 100mmol/L NaOH in 40 min; Fluss: Dionex CarboPac PA200: 0.5 mL/min und Dionex CarboPac PA100: 1.0 mL/min, Detektion: IPAD, Arbeitselektrode: Au

Sowohl an der Dionex CarboPac PA20 wie auch an der Dionex CarboPac PA200 können organische Lösemittel zur Veränderung der chromatographischen Selektivität eingesetzt werden, wobei zu beachten ist, dass eine Abnahme der Empfindlichkeit bei der amperometrischen Detektion resultiert. LaCourse et al. schreiben diesen Effekt der Adsorption von Acetonitril an der Goldoberfläche der Arbeitselektrode zu: Die für anodische Oxidationsreaktionen verfügbare Oberfläche nimmt ab und die Empfindlichkeit sinkt. Andererseits sollten Alkohole nicht eingesetzt werden, da diese unter den chromatographischen Bedingungen der Kohlehydrat-Trennung oxidiert werden und so zu einem hohen Grundstrom des Detektors führen [21].

In der Anwendung der vorgestellten Trennphasen spielt die Gradientenelution eine wichtige Rolle. Kompositionsgradienten, bestehend aus NaOH und NaOAc, erlauben die Trennung von Kohlehydraten und/oder Zuckeralkoholen unterschiedlicher Molekulargewichte im gleichen chromatographischen Lauf an der Dionex CarboPac PA20 und Dionex CarboPac PA200.

Auf Grund des gestiegenen Interesses an erneuerbaren Energien und der Herstellung von Biokraftstoffen ergab sich ein Interesse an einer noch schnelleren Analyse der bei der Herstellung interessierenden „Biofuel Sugars“. Aus diesem Grund wurde die Dionex CarboPac SA10 entwickelt. Hierbei handelt es sich wiederum um einen hydrophoben, makroporösen Latexagglomerierten Anionenaustauscher auf Polymerbasis mit einer pH-Stabilität im Bereich von 0-14. Trotz der vergleichsweise hohen Kapazität von 290 $\mu\text{equiv/Säule}$ sind Trennungen verschiedener Mono- und Disaccharide in wenigen Minuten mit sehr niedrigen Lauge-Konzentrationen möglich. Diese spezielle Eigenschaft der Säule erlaubt die Detektion sehr hoher Analyt-Konzentrationen ohne sehr starke Verdünnung der Probe. Bei sehr niedrigen Konzentrationen an NaOH oder KOH ($< 10 \text{ mmol/L}$) sind hohe Kohlehydrat-Konzentrationen meist über lineare Kalibrierfunktionen zugänglich. Experimentell ist dieser Effekt weiter ausbaubar, indem sehr geringe Injektionsvolumina (z. B. $0,4 \mu\text{L}$) und dickere Abstandshalter der Messzelle (sog. Gaskets; z. B. Dicke von: 62 mil (1 mil = 10^{-3} Inch = $0,0254 \text{ mm}$)) zum Einsatz kommen. Die sehr niedrige Elektrolyt-Konzentration des Laufmittels (z.B. 1 mmol/L KOH , s. Abbildung 30) legt zudem die Verwendung von RFIC™-Systemen nahe. Damit wird nicht nur die Herstellung des Laufmittels automatisiert, gleichzeitig – immer im Vergleich zu manuell hergestellten Laufmitteln in diesem Konzentrationsbereich – nimmt damit auch die Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten, der Flächen und Höhen und damit die der Ergebnisse deutlich zu.

2.3.2. Aminosäuren

Aminosäuren sind amphotere Verbindungen deren Molekulargewicht zwischen 75 und 200 g/Mol liegt. Zwei Hauptprobleme treten bei der HPLC-Bestimmung von Aminosäuren auf. Das Erste ergibt sich aus den großen Polaritätsunterschieden der Aminosäuren. Zweitens sind die molaren Extinktionskoeffizienten der meisten Aminosäuren auch bei kurzen Wellenlängen sehr klein. Zur empfindlichen Detektion der Aminosäuren verwendete man daher entweder eine Vor- oder Nachsäulenderivatisierung in Verbindung mit UV/Vis- oder Fluoreszenz-Detektion [22]. Durch die Vorsäulenderivatisierung werden die hydrophilen Aminosäuren in hydrophobe Derivate überführt; diese sind dann besser mit der Umkehrphasen-Chromatographie zu trennen. Die Nachsäulenderivatisierung ist apparativ aufwendig und wird meist in Verbindung mit der Trennung der Aminosäuren an Kationenaustauschern eingesetzt. Durch die erforderlichen Reaktionskapillaren resultiert bei diesen Verfahren eine Bandenverbreiterung, durch die eine chromatographische Trennung beeinträchtigt werden kann. Bei den verschiedenen Vorsäulenderivatisierungen ist bekannt, dass die Reaktionsprodukte chemisch instabil sind. Die Zersetzungsreaktionen sind temperaturabhängig und werden bei Lichteinstrahlung beschleunigt [22]. Aus diesem Grund erfordert die Vorsäulenderivatisierungen die Einhaltung eines strengen Zeitprotokolls für Reaktion und Messung sowie die lichtgeschützte Aufbewahrung der Reaktionslösungen vor der chromatographischen Analyse.

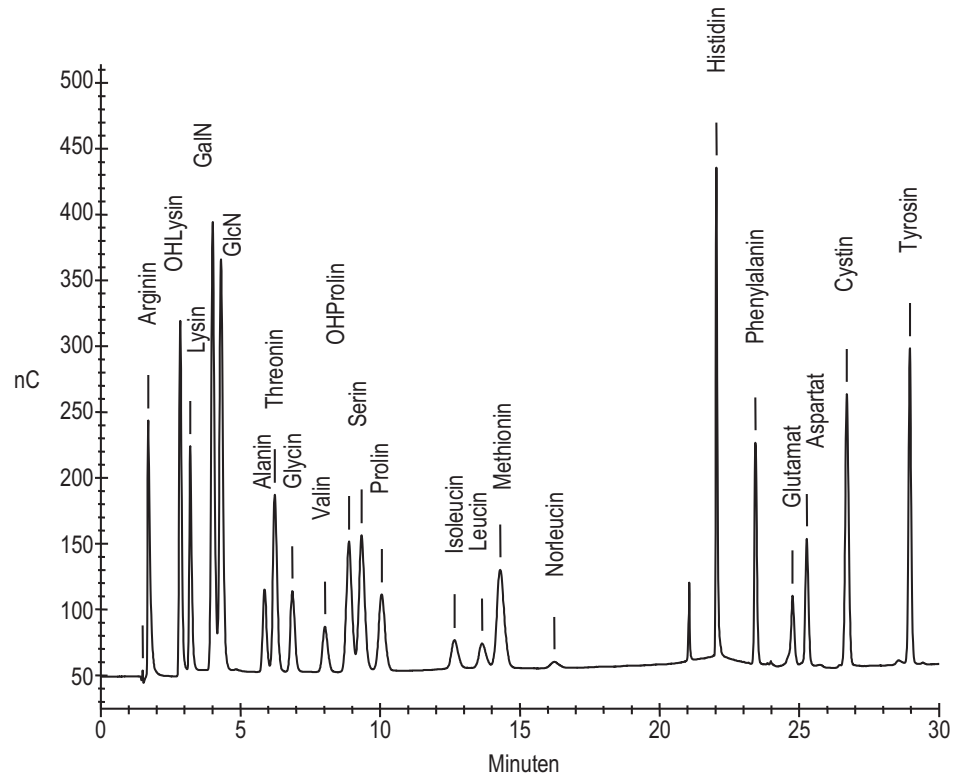
Einige der wichtigsten zur Anwendung kommenden Derivatisierungsreagenzien sind Ninhydrin, ortho-Phthal(di)aldehyd (OPA), Fluorenylmethyloxycarbonylchlorid (FMOC), Phenylthiohydantoin (PTH), Phenylisothiocyanat (PITC) oder Dansylchlorid (Dns), Dimethylaminoazophenylsulfonylchlorid (DABS-Cl). Neben den häufig unspezifischen Reaktionen spielen die Giftigkeit und die karzinogene Wirkung dieser Chemikalien sowie die hohen Folgekosten für Reagenzien und Puffer bei der Diskussion der klassischen Verfahren heute eine immer wichtigere Rolle.

Aus diesen Gründen wurde ein einfacheres Verfahren entwickelt, das die direkte Bestimmung der 20 wichtigsten Aminosäuren erlaubt. Zur Detektion dient die integrierende Amperometrie (IPAD), bei der Aminosäuren an einer Goldelektrode oxidiert werden. Sie werden bei diesem Verfahren bei hohen pH-Werten an einem stark basischen pellicularen Anionenaustauscher getrennt. Dabei wird ein einfacher Gradient aus wässrigen Lösungen von NaOH und Natriumacetat (NaOAc) eingesetzt. Zur Trennung kommt eine Thermo Scientific™ Dionex™ AminoPac™ PA10 Säule zum Einsatz. Dieser Anionenaustauscher auf Latex-Basis wurde zur chromatographischen Trennung von Aminosäuren, Phospho-Aminosäuren, Aminoszuckern und einfachen Zuckern bei hohen pH-Werten entwickelt. Neben einer vergleichsweise hohen Kapazität des Ionenaustauschers (60 $\mu\text{equiv/Säule}$; 2 x 250 mm) zeichnet sich die Dionex AminoPac PA10 durch stark hydrophobe Eigenschaften aus, die die Trennung hydrophiler Aminosäuren zusätzlich unterstützen. Dieser Polymerionen-austauscher ist lösemittel- und pH-stabil, so dass die Säule bei Bedarf sowohl mit organischen Lösemitteln als auch mit Säuren gespült werden kann.

Abbildung 32 zeigt ein repräsentatives Chromatogramm einer Aminosäurelösung, die durch Verdünnen des NIST-Standards SRM 2389 hergestellt wurde. Es zeigt die exemplarische Trennung von 20 Aminosäuren und 2 Aminozuckern in weniger als 30 Minuten, wobei für alle Komponenten eine hohe chromatographische Effizienz erreicht wird. Die aufgetragene Menge der gezeigten Aminosäuren lag bei jeweils 200 pmol (Norleucin 50 pmol).

Abb. 32 Trennung verschiedener Aminosäuren an einem stark basischen Anionenaustauscher

Trennsäule: Dionex AminoPac PA10
mit Vorsäule
Eluent: NaOH/NaOAc-Gradient
Fluss: 0,25 mL/min
Injektionsvol.: 25 µL
Detektion: IPAD
Arbeitselektrode: Au



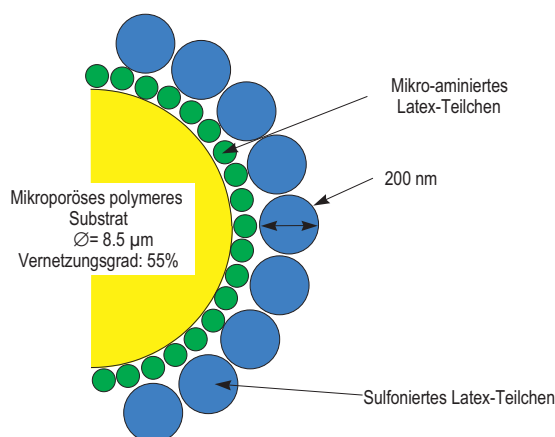
3

Kationenaustausch-Chromatographie

3.1. Alkali- und Erdalkalimetalle, Ammonium und Amine

In der Kationenaustausch-Chromatographie werden sowohl oberflächenfunktionalisierte Materialien als auch Kationenaustauscher auf Latex-Basis eingesetzt. In beiden Fällen verwendet Thermo Fisher Scientific ein Polystyrol/Divinylbenzol- bzw. Ethylvinylbenzol/Divinylbenzol-Copolymerisat als Träger, das eine hohe pH-Stabilität garantiert. Der Latex-Aufbau bei Kationenaustauschern basiert auf einem Anionenaustausch-Partikel, das mit einer zweiten Schicht von Latex-Teilchen umgeben wird, die total sulfoniert sind und durch elektrostatische und van-der-Waals-Wechselwirkungen gebunden sind (Abbildung 33).

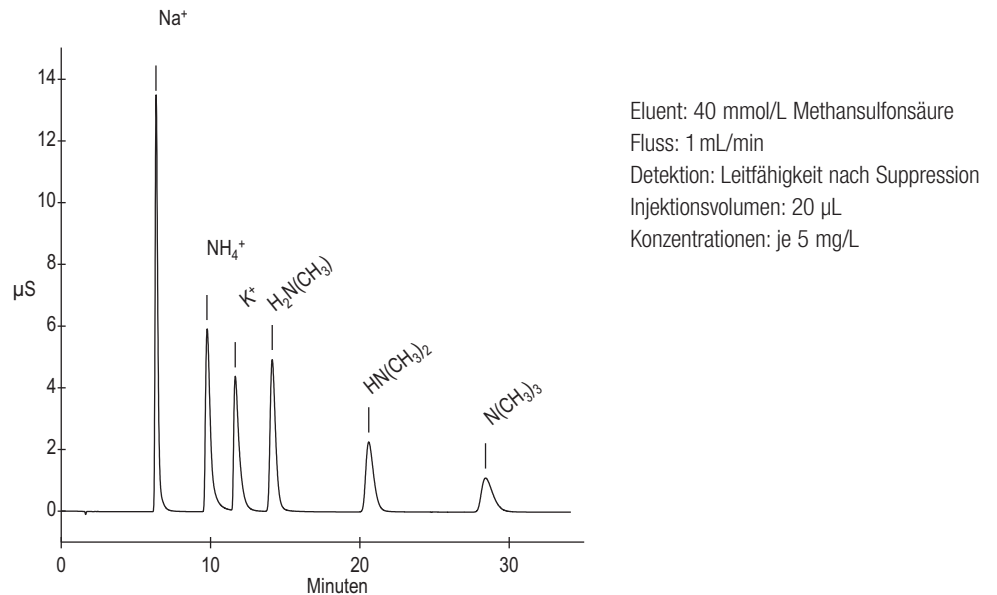
Abb. 33 Schematischer Aufbau eines Latex-Kationenaustauschers



Zur Elution von Alkali- und Erdalkalimetallen setzt man unabhängig von den beiden Anwendungsformen der Leitfähigkeits-Detektion (Suppressions-Technik oder indirekte Detektion) meist verdünnte Mineralsäuren ein. So erhält man an entsprechenden Kationenaustauschern optimale Trennungen zwischen Alkalimetallen und Aminen sowie Ammonium, wie Abbildung 34 verdeutlicht. Bei Anwendung der Suppressortechnik werden die Anionen in der Suppressorreaktion gegen Hydroxid-Ionen ausgetauscht, wobei das gebildete Wasser praktisch keine Grundleitfähigkeit erzeugt. Wird dagegen das Eluat der Trennsäule direkt in die Leitfähigkeits-Messzelle geleitet,

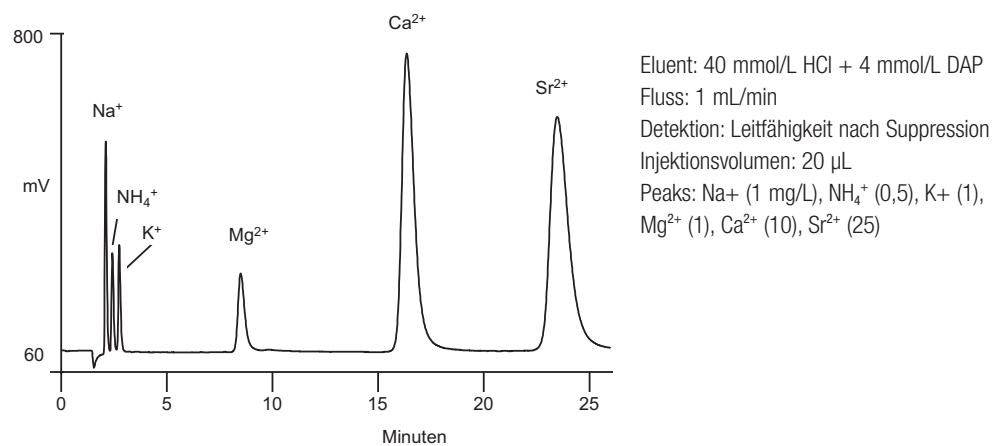
registriert man auf Grund der hohen Grundleitfähigkeit der als Eluent fungierenden Säure negative Signale. In der Kationenanalytik zeigen beide Anwendungsformen der Leitfähigkeits-Detektion in etwa die gleiche Empfindlichkeit, doch führt die Anwendung der Suppressortechnik auch in diesem Fall zu einer höheren Spezifität des Detektionsverfahrens und der Einsatz von Konzentrationsgradienten zur Elution von Verbindungen mit stark unterschiedlichem Retentionscharakter wird möglich.

Abb. 34 Elutionsprofil eines Latex-Kationenaustauschers vom Typ Dionex IonPac CS10



Oberflächensulfonierte Kationenaustauscher finden heute nur in wenigen Spezialfällen Anwendung, so dass auf eine spezifische Darstellung derartiger Materialien verzichtet wird. Auf eine wichtige Eigenschaft sulfonierter Kationenaustauscher – unabhängig davon, ob es sich um einen direkt sulfonierten oder um einen Latex-Kationenaustauscher handelt – sei dennoch hingewiesen: Zur Trennung zweiwertiger Kationen müssen dem Laufmittel zweiwertige Eluent-Ionen zugesetzt werden. Hierzu eignen sich je nach Anwendungsform der Leitfähigkeits-Detektion 2,3-Diaminopropionsäure (DAP) oder Ethylendiamin. Beide Verbindungen fungieren nach Protonierung in der mobilen Phase als zweiwertige Kationen zur Elution von Erdalkalimetallen und Mangan (II).

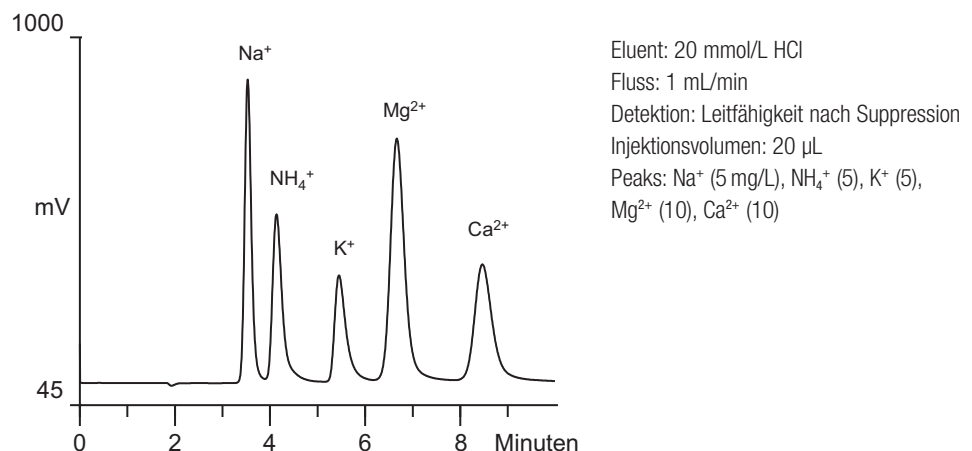
Abb. 35 Elutionsprofil eines Latex-Kationenaustauschers vom Typ Dionex IonPac CS10



Die simultane Bestimmung von Alkali- und Erdalkalimetallen sowie Ammonium und Mangan (II) wurde zunächst, wie in Abbildung 35 dargestellt, mit einem stark sauren Latex-Kationenaustauscher vom Typ Dionex IonPac CS10 (80 $\mu\text{equiv/Säule}$) durchgeführt. Mit einem Gemisch aus Salzsäure und DAP ist es möglich, die wichtigsten Alkali- und Erdalkalimetalle und Mangan (II) innerhalb von 15 bis 20 Minuten zu eluieren. Aus diesem Chromatogramm ist ersichtlich, dass bedingt durch den Aufbau dieses stark sauren Kationenaustauschers eine sehr hohe Auflösung zwischen Magnesium und Calcium resultiert, die die Analysendauer unnötig verlängert. Die Dionex IonPac CS10 wird heutzutage vorwiegend für die chromatographische Bestimmung einwertiger Amine und Ammonium eingesetzt – die 2-mm Variante dieser Säule trägt die Bezeichnung Dionex IonPac CS11. Die Lösemittelstabilität ist von besonderer Bedeutung, da durch Zugabe von Methanol oder Acetonitril zur mobilen Phase das Retentionsverhalten der Amine sowie deren Peakform beeinflusst werden kann [23, 24]. Obwohl Alkali- und Erdalkalimetalle, Ammonium sowie kurzketzige Alkylamine meist unter isokratischen Bedingungen getrennt werden, ist auch in der Kationenaustausch-Chromatographie eine Gradientenelution in Verbindung mit der Leitfähigkeits-Detektion unter Einsatz der Suppressortechnik wichtig. Dabei wird die Konzentration der eluierenden Elektrolyte und/oder des organischen Lösemittels im Eluenten über die Zeitdauer der Analyse erhöht, so dass cyclische Amine wie z. B. Cyclohexylamin und auch stark retardierte Amine wie Ethylendiamin, Polyamine, Hydrazine etc., von den Alkali- und Erdalkalimetallen getrennt eluieren.

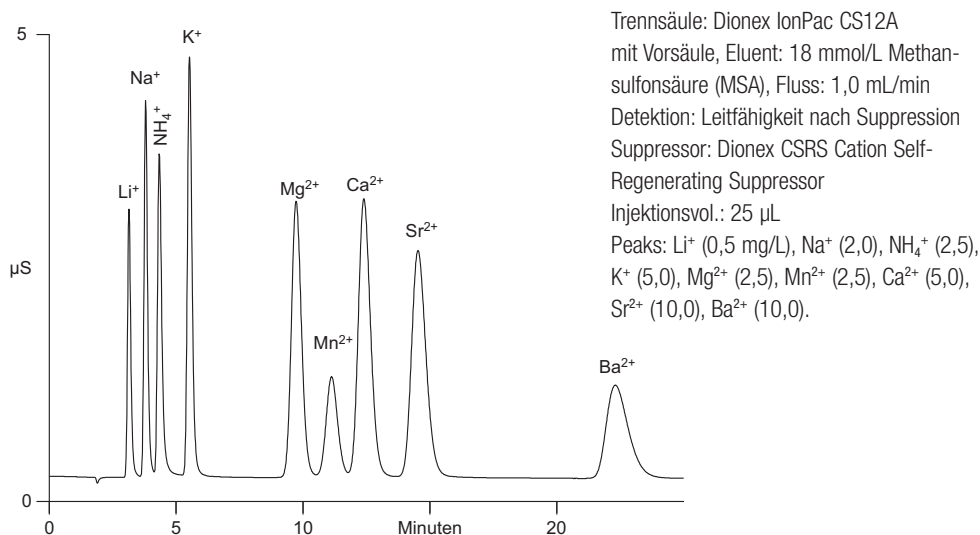
Zur Verringerung der Analysedauer, und um die Zusammensetzung der mobilen Phase zu vereinfachen, wurde die Trennsäule mit der Bezeichnung Dionex IonPac CS12 entwickelt (Abbildung 36). Dabei handelt es sich um einen schwach sauren, hochkapazitiven Kationenaustauscher auf Polymerbasis (2,8 $\mu\text{equiv/Säule}$, 4 x 250 mm). Als Austauschere fungieren kovalent an der Oberfläche des Substrates fixierte Carboxylatfunktionen. Auf Grund des hohen Vernetzungsgrades des Trägermaterials ist die Dionex IonPac CS12 gegenüber organischen Lösemitteln stabil, wobei die Carboxylatfunktionen den Einsatz aprotischer Lösemittel zulassen. Für die isokratische basislinienaufgelöste Trennung von Lithium, Natrium, Ammonium, Kalium, Magnesium und Calcium, die in weniger als zehn Minuten abgeschlossen ist (Abbildung 36), benötigt man lediglich eine mineralisaure Lösung mit einer Konzentration von $c(\text{H}_3\text{O}^+) = 20 \text{ mmol/L}$.

Abb. 36 Elutionsprofil eines Kationenaustauschers vom Typ Dionex IonPac CS12



Damit ist die Eluent-Zusammensetzung im Vergleich zu anderen Trennphasen deutlich vereinfacht und der Zeitbedarf für eine Analyse um fast 50 % gesenkt. Nach der Einführung der kontinuierlich selbstregenerierten Membransuppressoren (Thermo Scientific™ Dionex™ CSRS™ Cation Self-Regenerating Suppressor) kommt heute meist Methansulfonsäure zur Elution der Alkali- und Erdalkalimetalle zur Anwendung. Salzsäure, Schwefelsäure, Perchlorsäure oder Salpetersäure werden als Eluenten nur noch in Verbindung mit der klassischen chemischen Regenerierung der Membransuppressoren, oder zusammen mit der indirekten Leitfähigkeits-Detektion eingesetzt.

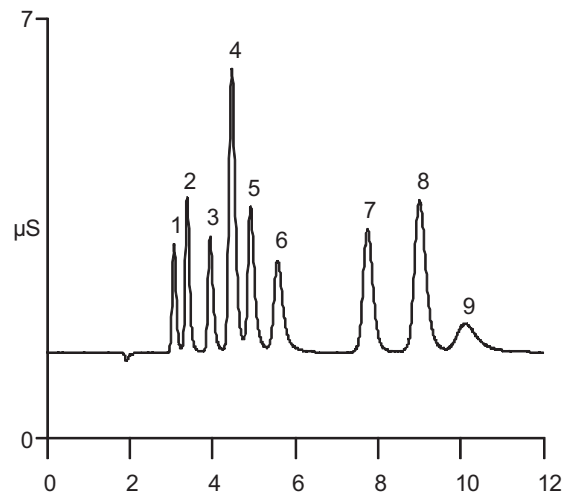
Abb. 37 Ionenchromatographische Kationen-Trennung



Im Vergleich zur Dionex IonPac CS10 zeigt die Dionex IonPac CS12 im Bereich von Magnesium und Mangan (II) eine nur unvollständige Trennung. Zur Verbesserung der Auflösung zwischen diesen Kationen kann dem Elutionsmittel der Dionex IonPac CS12 Pyrophosphorsäure zugegeben werden [25], deren komplexierende Eigenschaften die vollständige Trennung von Magnesium und Mangan (II) ermöglichen. Da Pyrophosphorsäure auch in konzentrierter Form hydrolysiert, müsste die erforderliche Menge beim Neuansatz des Eluenten jeweils titrimetrisch ermittelt werden, was in der Routine zu arbeitsaufwendig ist. Aus diesem Grund wurde der Aufbau der Dionex IonPac CS12-Trennsäule erweitert, indem zu den Carboxylat-Gruppen auch Phosphonat-Gruppen an dem polymeren und lösemittelstabilen Träger fixiert wurden. Die Kombination beider Austauscherguppen verbessert die Auflösung zwischen Magnesium und Mangan, ohne dass die Zusammensetzung des Eluenten zu verändern ist. Die in der Selektivität verbesserte Trennphase trägt die Kennzeichnung Dionex IonPac CS12A (s. Abbildung 37), und weist eine Kapazität von 2,8 mequiv/Säule auf.

Die Trennsäule vom Typ Dionex IonPac CS14, ein weiterer oberflächenfunktionalisierter Kationenaustauscher auf Polymerbasis, ist ebenfalls zur chromatographischen Bestimmung der einfachen Alkali- und Erdalkalimetalle geeignet. Das eigentliche Einsatzgebiet dieses Materials ist hingegen die Chromatographie nicht chromophorer, aliphatischer und cyclischer Amine (Abbildung 38), die häufig im pharmazeutischen Bereich untersucht werden müssen.

Abb. 38 Trennung anorganischer Kationen und Ethylaminen an einer Dionex IonPac CS14



Die Säule vom Typ Dionex IonPac CS15 (Abbildung 39) trägt zusätzlich zu den Carboxylat- und Phosphonat-Gruppen immobilisierte Kronenether. Die Verwendung von Kronenethern in der mobilen Phase zur Veränderung der Selektivität eines Kationenaustauschers ist in der Literatur beschrieben [25]. Die Änderung der Selektivität wird durch Komplexierung der Kationen im Inneren der Kronenether hervorgerufen. Die Stärke der Wechselwirkung zwischen Kation und dem Kronenether hängt vom Ionendurchmesser des jeweiligen Kations und der Kavität des eingesetzten Heterocyclus ab. Je besser die Übereinstimmung ist, umso stärker werden die Wechselwirkung und die chromatographische Verzögerung des betrachteten Kations. Diese Veränderung der Selektivität ist vor allem für die Trennung von Natrium und Ammonium vorteilhaft. Während bei der Verwendung von Standardbedingungen (Abbildung 37) an schwach sauren Trennsäulen Natrium und Ammonium im Verhältnis von 100:1 bis 200:1 noch nebeneinander bestimmt werden können [26], sind deutlich ungünstigere Konzentrationsverhältnisse von Na⁺ : NH₄⁺ > 1000:1 durch den Einsatz von Kronenethern in der mobilen Phase analysierbar [25]. Wird der Kronenether am lösemittelstabilen Träger kovalent fixiert, kann ein ähnlich einfaches und preiswertes Elutionsmittel wie bei den Trennsäulen vom Typ Dionex IonPac CS12, Dionex IonPac CS12A und Dionex IonPac CS14 verwendet werden. Mit Dionex IonPac CS15 sind unter isokratischen Bedingungen Natrium/Ammonium-Verhältnisse von 4000:1 darstellbar, wobei die Peakflächenintegration für Ammonium unter diesen Bedingungen störungsfrei gelingt. Ist die isokratische Elution für diese großen Konzentrationsverhältnisse nicht zwingend erforderlich, können vergleichbare Ergebnisse auch mit einfachen Stufen-Gradienten an einer Dionex IonPac CS12A und Dionex IonPac CS14 erzielt werden.

Abb. 39 Elutionsprofil eines schwach sauren Kationenaustauschers mit immobilisierten Kronenether-Funktionen

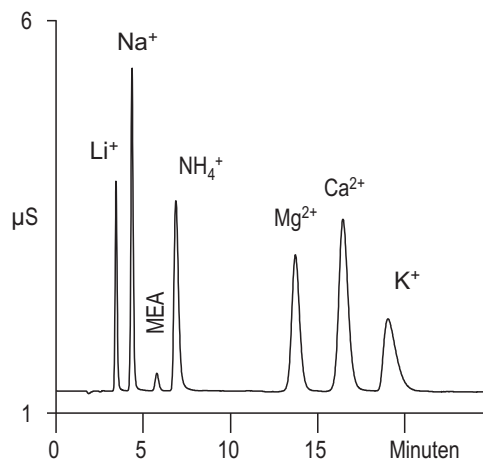
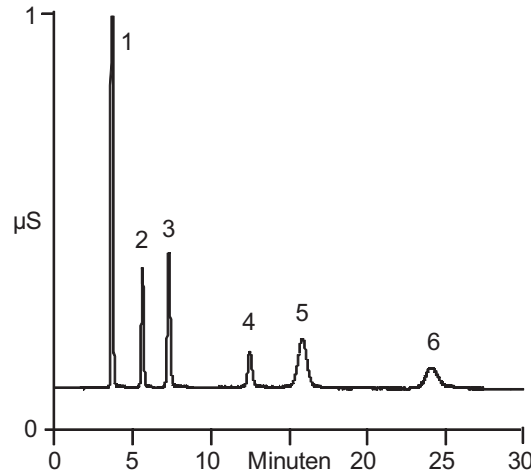


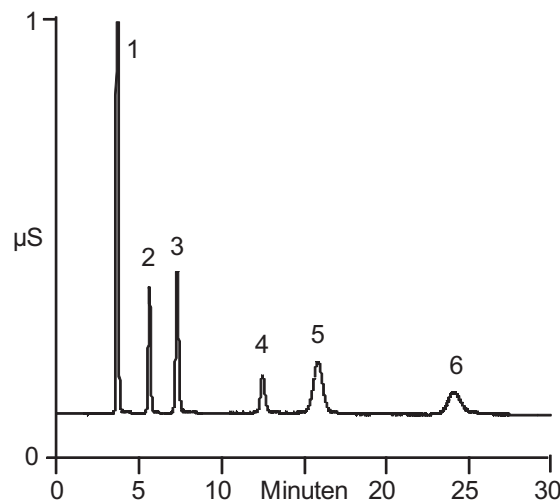
Abb. 40 Elutionsprofil einer Dionex IonPac CS16 (5 x 250 mm)



Eluent: 26 mmol/L Methansulfonsäure
 Temperatur: 30 °C
 Fluss: 1.5 mL/min
 Injektionsvol.: 10 µL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression,
 Dionex CSRS ULTRA Cation Self-Regenerating
 Suppressor, 4 mm, Recycle Modus
 Peaks: 1. Lithium (1 mg/L), 2. Natrium (1),
 3. Ammonium (1), 4. Kalium (1),
 5. Magnesium (1), 6. Calcium (1).

Wie beschrieben ist die Quantifizierung von Natrium und Ammonium in realen Matrices häufig durch den hohen Überschuss an Natrium und der damit einhergehenden Peakverbreiterung erschwert. Da Ammonium unmittelbar nach Natrium eluiert ergibt sich hieraus das Problem der Trennung und folglich auch das der interferenzfreien Integration. Aus diesem Grund wurde die Dionex IonPac CS16 entwickelt (Abbildung 40), die sich durch eine im Vergleich zu den bisher beschriebenen Säulen hohe Austauschkapazität auszeichnet. Im Vergleich zur Dionex IonPac CS12A mit 2.8 mequiv/Säule stellt die Dionex IonPac CS16 8.4 µequiv/Säule zur Verfügung. Einher gehen eine deutlich verbesserte chromatographische Auflösung zwischen Natrium und Ammonium, durch die Konzentrationsverhältnisse von $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+ \geq 10000$ dargestellt werden können. Gleichzeitig nimmt die Gesamtdauer der chromatographischen Trennung zu.

Abb. 41 Gradienten-Elution von Alkali-, Erdalkalimetallen sowie Ammonium und 8 Aminen an einer Dionex IonPac CS17

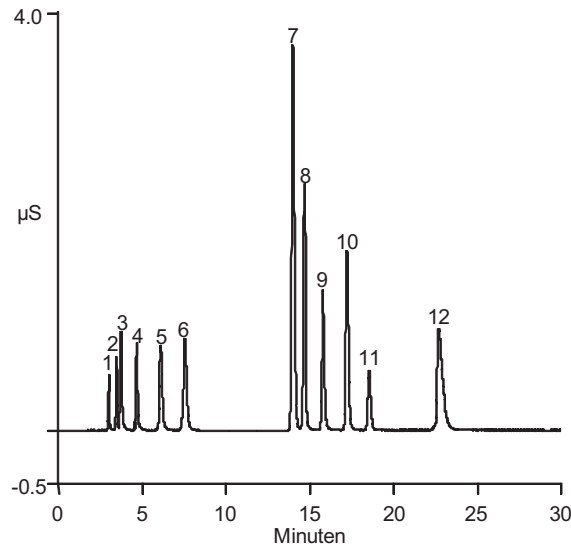


Eluent: MSA-Gradient, Injektionsvol.: 25 µL
 Fluss: 0,40 mL/min, Temperatur: 40 °C
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression,
 Dionex CSRS ULTRA Cation Self-Regenerating
 Suppressor, 2 mm, Recycle Modus, Recycle
 Modus
 Peaks: 1. Lithium (0,03 mg/L), 2. Natrium
 (0,10), 3. Ammonium (0,34), 4. Kalium (0,25),
 5. Ethylamin (0,50), 7. tert-Butylamin (1,25),
 8. sec-Butylamin (1,25), 9. iso-Butylamin (1,25),
 10. n-Butylamin (3,75),
 11. 1,2-Dimethylpropylamin (1,00),
 12. Di-n-Propylamin (1,00),
 13. Magnesium (0,14), 14. Calcium (0,34).

Im Gegensatz hierzu haben die Säulen vom Typ Dionex IonPac CS17 (0.363 µequiv/Säule) und Dionex IonPac CS18 (0.29 µequiv/Säule) – zum besseren Vergleich sind beide Säulen im 2 x 250 mm Format angegeben – deutlich niedrigere Austauschkapazitäten. Da beide Säulen zur Trennung von Aminen, insbesondere von hydrophoben und Polyaminen, konzipiert sind, zeichnen sie sich durch mittel bis niedrige hydrophobe Eigenschaften aus. Beispielhaft ist in Abbildung 41 eine Trennung an einer Dionex IonPac CS17 dargestellt.

Die Dionex IonPac CS19 Kationaustausch-Trennsäule verfügt über eine moderate Kapazität (600 $\mu\text{equiv/Säule}$; 2 x 250 mm) und moderate hydrophobe Eigenschaften. Sie kommt bei der Analytik polarer Amine wie Alkanolaminen, Methylaminen und biogenen Aminen zum Einsatz (Abbildung 42). Je nach Erfordernis kommen entweder isokratische und Gradientenbedingungen zur Anwendung.

Abb. 42 Gradienten-Elution von Alkali-, Erdalkalimetallen sowie Ammonium und 6 biogenen Aminen an einer Dionex IonPac CS19



Eluent: Methansulfonsäure Gradient
 Fluss: 0.30 mL/min
 Injektionsvol.: 5 μL
 Temperatur: 30 $^{\circ}\text{C}$
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression,
 Dionex CSRS 300 Cation Self-Regenerating
 Suppressor, Recycle Modus
 Peaks: 1. Lithium (0,1 mg/L), 2. Natrium (0,1),
 3. Ammonium (0,1), 4. Kalium (0,1),
 5. Magnesium (0,1), 6. Calcium (0,1),
 7. Putrescin (15), 8. Cadaverin (9),
 9. Histamin (13), 10. Agmatin (10),
 11. Spermidin (3), 12. Spermin (1,5)

Die vorstehend genannten schwachsauren Ionenaustauscher sind auf Grund der Suppressionstechnik, und der damit verbundenen Umwandlung des MSA-Eluenten in Wasser, bestens geeignet, um an Massenspektrometer gekoppelt zu werden.

Die Dionex IonPac CS19 Säule ist mit 100 % organischem Lösemittel, wie Acetonitril und Aceton, kompatibel. Alkohole sollten nur bei niedrigen Flussraten verwendet werden, um einen zu hohen Säulengegendruck zu vermeiden. Alkohole in Proben hingegen stellen kein Problem dar. Auch zur Säulenreinigung können sie verwendet werden, allerdings nur bei 20 % der Standardflussrate. Acetonitril-Zusätze beeinflussen die Säulenselektivität und ermöglichen die Elution unpolarer, hydrophober Verbindungen oder Verunreinigungen. Gleichzeitig verbessert sich die Löslichkeit solcher Verbindungen im Eluenten, die Retentionszeiten verkürzen sich und die Symmetrie der Peaks nimmt zu.

3.2. Trennung von Übergangsmetallen

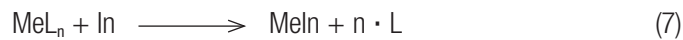
Für die Elution von Metall-Ionen mit höherer Wertigkeit sind Elutionsmittel, die nur monovalente Kationen wie Na^+ oder H^+ enthalten, wenig geeignet. Die Trennung von Übergangsmetallen an Kationen- oder Anionenaustauschern erfordert eine Komplexierung der Metall-Ionen, um deren effektive Ladungsdichte zu vermindern. Da sich die Selektivitätskoeffizienten für Übergangsmetall-Ionen der gleichen Ladungszahl kaum voneinander unterscheiden, ist eine Änderung zur Optimierung von Kationenaustauschtrennungen nur durch die Bildung neutraler oder anionischer Komplexverbindungen möglich. Die Optimierung der Trennung der Übergangsmetall-Komplexe erfolgt unter anderem durch Variation des pH-Wertes. Verwendet man organische Säuren wie Zitronensäure, Oxalsäure oder Pyridin-2,6-dicarbonsäure (PDCA) als komplexbildende Liganden, führt eine pH-Senkung zu einer Verminderung der effektiven Ligandenkonzentration und damit zu längeren Retentionszeiten. Erhöht man die Konzentration der komplexbildenden Liganden durch höhere Stoffmengen der organischen Säuren im Eluent, erhöht sich auch die Konzentration der entsprechenden Gegenionen (Na^+ oder H^+), womit die Verdrängung der Metall-Kationen von den Kationenaustauscherplätzen beschleunigt wird – die Trennleistung nimmt ab. Bei Verwendung von Kationenaustauschern niedriger Kapazität hängt die Austauschkapazität von der Art des Gegenions ab. Zur Einstellung des pH-Wertes verwendet man daher LiOH , da Li^+ eine geringere Affinität zur stationären Phase besitzt als z. B. Na^+ . Bei der Wahl von Liganden zur Trennung und Elution von Übergangsmetall-Ionen an Kationenaustauschern sollte Folgendes beachtet werden:

- Metall-Ion und Ligand müssen neutrale oder anionische Komplexe bilden.
- Unterschiedliche Komplexbildungskonstanten für die einzelnen Metalle erhöhen die Selektivität.
- Die gebildeten Übergangsmetall-Komplexe sollen thermodynamisch stabil und kinetisch labil sein. Der Komplex weist dann eine hohe energetische und entropische Bildungstendenz auf und die thermodynamische Gleichgewichtseinstellung erfolgt schnell und ungehemmt.

Zur Erläuterung dieser Forderungen folgen drei Beispiele:

- a) Besitzt ein Übergangsmetall-Komplex eine große Bildungskonstante, und ist kinetisch stabil, ist ein Kationenaustausch-Prozess nicht möglich. Dies bedeutet, dass der anionische Komplex auf Grund des Donnan-Ausschlusses überhaupt nicht zurückgehalten wird.
- b) Ist die Bildungskonstante klein, der Komplex aber kinetisch instabil, wird der Retentionsmechanismus vorwiegend durch Kationenaustausch bestimmt, und es können entsprechend lange Retentionszeiten resultieren.
- c) Ist die Bildungskonstante klein und der Komplex kinetisch stabil, sind die chromatographischen Signale sehr oft mit einem starken Tailing behaftet.

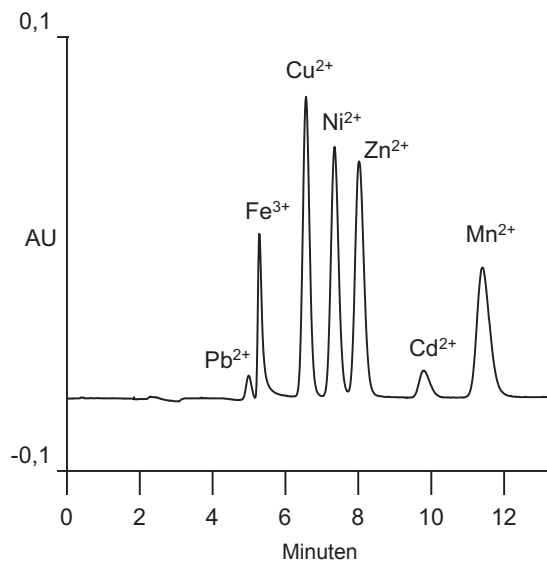
Erfolgt die Detektion der Übergangsmetall-Komplexe durch Nachsäulenderivatisierung mit einem entsprechenden Indikator, sollte die Bildungskonstante der Reaktion



Me: Metall
L: Ligand
In: Indikator

groß und der Indikator-Komplex, MeIn, kinetisch stabil sein.

Abb. 43 Trennung von Übergangs- und Schwermetallen an einem Ionenaustauscher vom Typ Dionex IonPac CS5

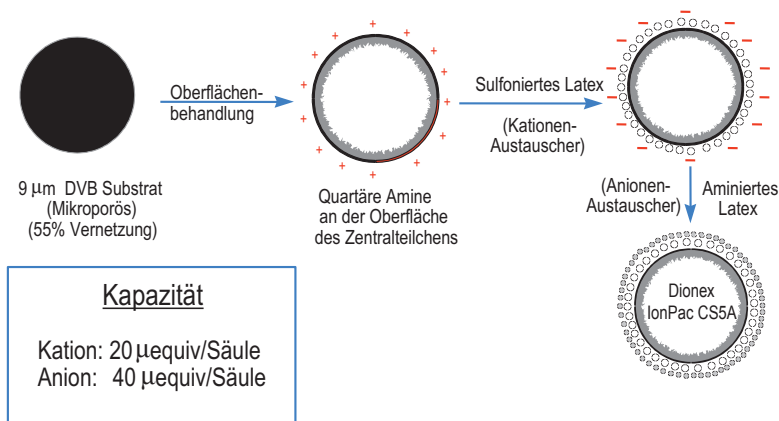


Eluent: 4 mmol/L PDCA, 2 mmol/L Na₂SO₄,
15 mmol/L NaCl, pH 4,8 mit LiOH
Fluss: 1 mL/min
Detektion: Photometrie bei 520 nm nach
Reaktion mit PAR
Injektionsvolumen: 50 µL
Konzentrationen: Pb²⁺ (10 mg/L)
Fe³⁺ (0,5), Cu²⁺ (2), Ni²⁺ (5), Zn²⁺ (5),
Mn²⁺ (2)

Entsprechendes gilt auch für die Trennung anionischer Übergangsmetall-Komplexe an Anionenaustauschern. In diesem Fall sollten die Liganden relativ klein sein, so dass der resultierende Komplex in etwa die gleiche Größe besitzt wie das Metall-Ion im hydratisierten Zustand. Bei Metall-Ionen gleicher Ladungszahl, die mit einem gegebenen Liganden die gleiche Koordinationszahl und Geometrie besitzen, bewirken große Liganden eine Abnahme der Selektivität, es sei denn, die Bildungskonstanten dieser Komplexe unterscheiden sich signifikant. Für die Trennung von Übergangsmetallen an Ionenaustauschern haben sich Pyridin-2,6-dicarbonsäure und Oxalsäure als geeignete Komplexbildner erwiesen. Die Einstellung des pH-Wertes erfolgt in Abhängigkeit von der verwendeten stationären Phase mit LiOH oder NaOH. Da bei der Trennung von Übergangs- und Schwermetallen mit Komplexbildnern in der mobilen Phase Anionen- und Kationenaustausch-Prozesse beteiligt sein können, wurde eine Trennsäule mit gemischter Anionen- und Kationenaustausch-Kapazität [27] entwickelt. Das Elutionsprofil dieser als Dionex IonPac CS5 bezeichneten Trennsäule ist in Abbildung 43 dargestellt. Die in diesem Chromatogramm gezeigte Selektivität erzielt man mit Pyridin-2,6-dicarbonsäure als Komplexbildner in der mobilen Phase.

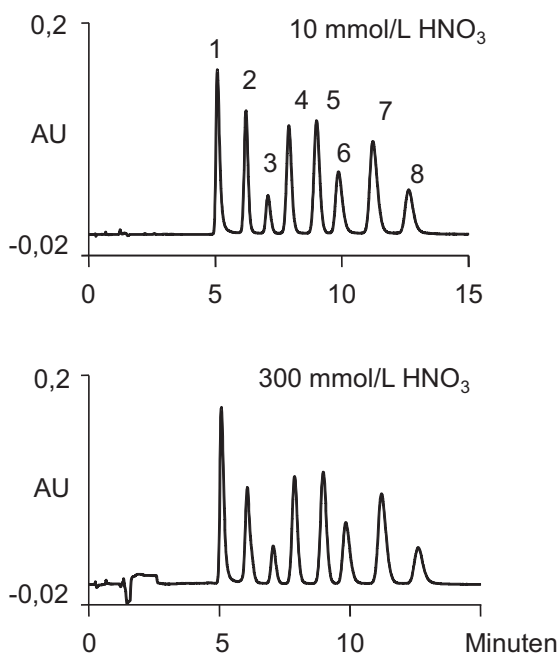
Aufbau der Dionex IonPac CS5A Trennsäule

Abb. 44 Schematischer Aufbau der Dionex IonPac CS5A Trennsäule



Wie bereits bei den klassischen Anionen- und Kationenaustauschern geschildert, kann der Aufbau der Trennsäule verbessert werden: Durch einen Vernetzungsgrad des Substratmaterials von 55 % wird eine vollständige Kompatibilität zu konventionellen HPLC-Lösemitteln erreicht. Aufbau und Herstellung dieser als Dionex IonPac CS5A bezeichneten Säule sind in Abbildung 44 schematisch dargestellt. Zur Trennung der Übergangs- und Schwermetalle werden, wie bei der Vorgängersäule, Elutionsmittel auf der Basis von Pyridin-2,6-dicarbonsäure und Oxalsäure eingesetzt. Mit dieser Trennsäule ist insbesondere eine optimierte Trennung zwischen Kobalt und Cadmium möglich (Abbildung 45). Neben den optimierten Trennungen sind zusätzlich Proben mit höheren Säurekonzentrationen analysierbar. Bemerkenswert ist hierbei, dass die Trenneigenschaften selbst bei Einsatz einer salpetersauren Lösung $c(\text{HNO}_3) \leq 0,5 \text{ mol/L}$ nicht beeinflusst werden. Wie aus Abbildung 45 zu erkennen ist, lassen sich die gezeigten Metalle auch dann quantifizieren, wenn in den injizierten Lösungen unterschiedliche Säurekonzentrationen vorliegen.

Abb. 45 Trennung verschiedener Übergangs- und Schwermetalle - Einfluss des pH-Wertes der Probe



Trennsäule: Dionex IonPac CS5A, CG5A
 Eluent: Thermo Scientific™ Dionex™ MetPac™ Eluent Concentrate
 Fluss: 1,2 mL/min; Injektionsvol.: 50 µL
 Detektion: VIS, 520 nm nach Reaktion mit PAR

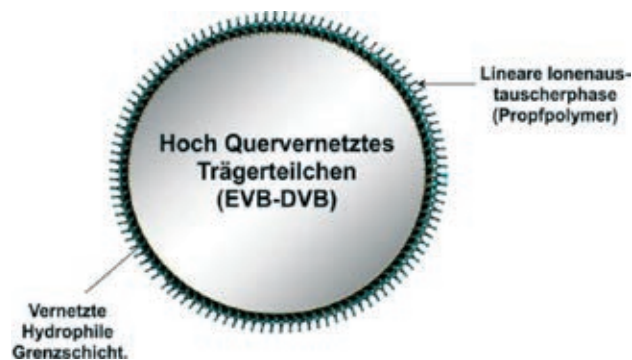
Peaks: 1. Fe³⁺ (1,3 mg/L), 2. Cu²⁺ (1,3), 3. Ni²⁺ (2,6), 4. Zn²⁺ (1,3), 5. Co²⁺ (1,3), 6. Cd²⁺ (6,0), 7. Mn²⁺ (2,6), 8. Fe²⁺ (1,3)

4

Trennsäulen zur Proteinanalytik

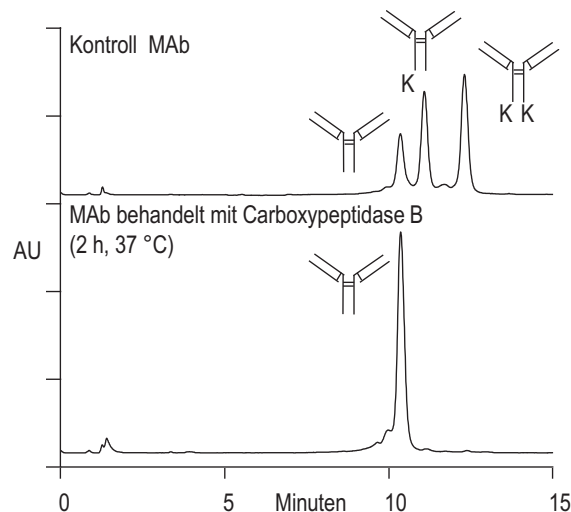
Die nachstehend besprochenen Trennsäulen gleichen sich im prinzipiellen Aufbau (Abbildung 46) und unterscheiden sich in den eigentlichen Ionenaustauschfunktionalitäten.

Abb. 46 Schematische Darstellung des Dionex ProPac Säulenmaterials



Mit den Thermo Scientific™ ProPac™ WCX-10 und ProPac SCX-10 Säulen sind zwei interessante Kationenaustauscher zur Proteintrennung verfügbar. Der stabile, nichtporöse pellikulare Aufbau des Harzes ermöglicht die Trennung auch sehr ähnlicher Proteine. Ein neutrales, hydrophiles Coating des polymeren Trägermaterials (EVB/DVB; Vernetzungsgrad = 55 %) verhindert hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Protein und Polymer, so dass chromatographisch hoch effiziente Signale resultieren und eine gute Wiederfindung der aufgetragenen Proteine gewährleistet ist.

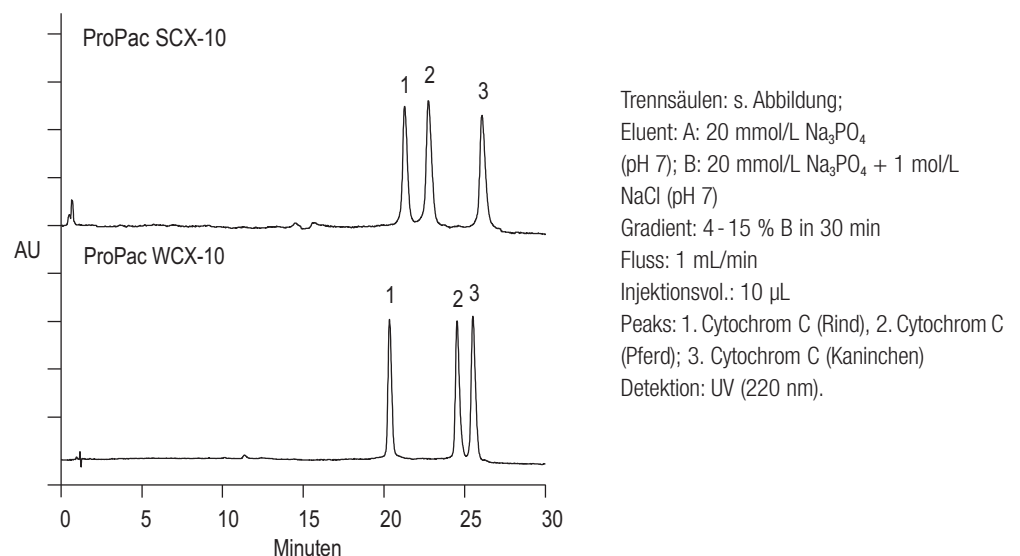
Abb. 47 Identifizierung von Varianten eines monoklonalen Antikörpers



Trennsäule: ProPac WCX-10 mit Vorsäule
Eluent: A: 10 mmol/L Na_3PO_4 (pH 7)
B: 1 mol/L NaCl + 10 mmol/L Na_3PO_4 (pH 7)
Gradient: 4 - 15 % B in 30 min
Fluss: 1 mL/min
Injektionsvol.: 10 μL
Detektion: UV (220 nm)

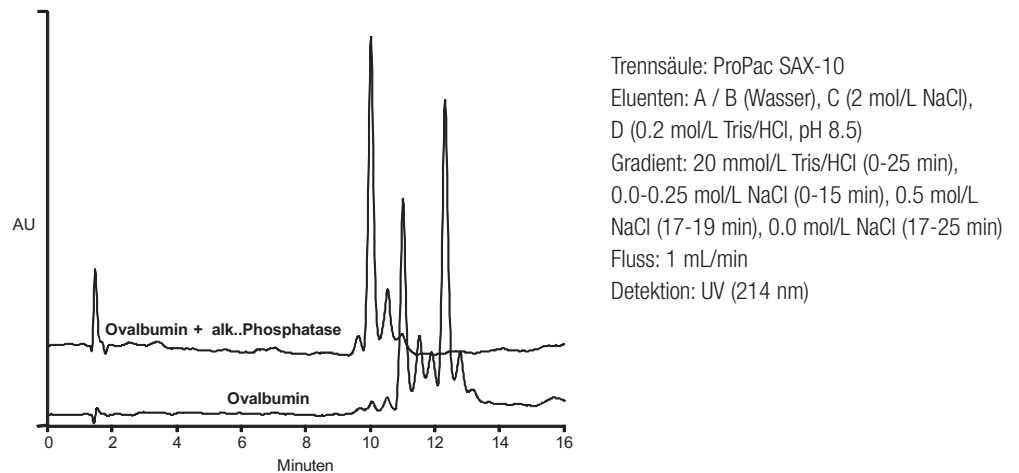
In der chromatographischen Anwendung zeichnen sich diese Materialien durch eine hohe pH-Stabilität (pH: 2 - 12) und eine weitgehende Lösemittelkompatibilität aus. Auf Grund der Carboxylat-Funktionen des Dionex ProPac WCX-10-Materials sind keine protischen organischen Lösemittel mit dieser Säule zu verwenden, während Acetonitril und Aceton bis zu einem Volumenanteil von 80 % in der mobilen Phase enthalten sein können. Mit dem stark sauren Dionex ProPac SCX-Harz ist zusätzlich bis zu 80 % Methanol im Eluenten einsetzbar. Meist werden diese Lösemittel zur Reinigung kontaminierter Phasen verwendet. Nichtionische und zwitterionische Detergentien können in den Eluenten beider Säulen enthalten sein. Üblicherweise werden Phosphat-, Chlorid- und Acetat-Puffer zur Elution der Proteine mit beiden Trennmaterialien eingesetzt. Die UV-Detektion erfolgt bei Wellenlängen um 220 nm. In Abhängigkeit von den jeweiligen Proteinen und der geforderten chromatographischen Auflösung benachbarter Signale können zwischen 10 mg und 100 mg des Proteins auf eine Säule (4 x 250 mm) aufgetragen werden. Die hohe chromatographische Auflösung dieser pellicularen Kationenaustauscher zeigt sich insbesondere an der Trennung von Proteinen, deren Makrostruktur sich nur in einzelnen Aminosäuren unterscheidet (Abbildung 47). Im oberen Chromatogramm ist natives IgG (erster Peak) von 2 Varianten getrennt: Peak 2 repräsentiert IgG mit einem zusätzlichen Lysin-Substituenten am C-Terminus der H-Kette; Peak 3 entspricht der Variante, die zwei zusätzliche Lysin-Reste trägt. Trotz der kleinen Unterschiede in der Unterstruktur können die verschiedenen Varianten chromatographisch getrennt werden. Wie dieses Beispiel zeigt, nimmt die Verweildauer des Proteins mit zunehmender Lysin-Substitution zu, was auf eine zusätzliche Wechselwirkung der Stickstoffatome aus den Aminosäuren mit dem Kationenaustauscher zurückgeführt werden kann. Zur Überprüfung der Identität von Peak 2 und 3 wurde die Originalprobe mit Carboxypeptidase behandelt. Dieses Enzym spaltet spezifisch endständige Liganden vom C-Terminus eines Proteins. Nach der Behandlung der Probe mit Carboxypeptidase darf folglich nur ein Peak, nämlich der für IgG, auftreten (Abbildung 47, unteres Chromatogramm). In Abbildung 48 sind Chromatogramme gegenübergestellt, mit denen die unterschiedliche Selektivität der Proteinsäulen gezeigt wird. Die dargestellten Chromatogramme wurden unter identischen Elutionsbedingungen an einem schwach sauren Kationenaustauscher

Abb. 48 Trennung von Cytochrom C Varianten über Kationenaustausch-Chromatographie



ProPac WCX-10) und dem stark sauren Analogon (ProPac SCX-10) erhalten. Zusätzlich sind Anionenaustauscher zur Trennung von Proteinen und verwandten Molekülen verfügbar. Die ProPac WAX als schwach basischer und die ProPac SAX als stark basischer Anionenaustauscher basieren wiederum auf dem Einsatz eines polymeren, hydrophilen Coatings, an das die linear aufgebaute Anionenaustauscherphase kondensiert ist. Mit einem Vernetzungsgrad des polymeren Trägers von 55 % ist der Einsatz von organischen Lösungsmitteln bis zu einem Volumenanteil von 80 % möglich. Zum Einsatz können Acetonitril, Aceton oder Methanol kommen. Die Anionenaustauscher dieser Produktfamilie kommen beispielsweise zur Untersuchung von Phosphorylierungsvarianten als wichtige Charakterisierungsmöglichkeit von Biomakromolekülen zum Einsatz. Die hohe chromatographische Effizienz des ProPac SAX 10 Materials erlaubt die Trennung verschiedener Phosphorylierungs-Isoformen unter Einsatz linearer Gradienten (Abbildung 49; untere Spur). Nach Behandlung mit alkalischer Phosphatase vereinfacht sich die Zusammensetzung der Probe von anfänglich acht chromatographisch getrennten Isoformen zu letztlich nur noch einem Haupt- und drei Nebenpeaks. (Abbildung 49, obere Spur).

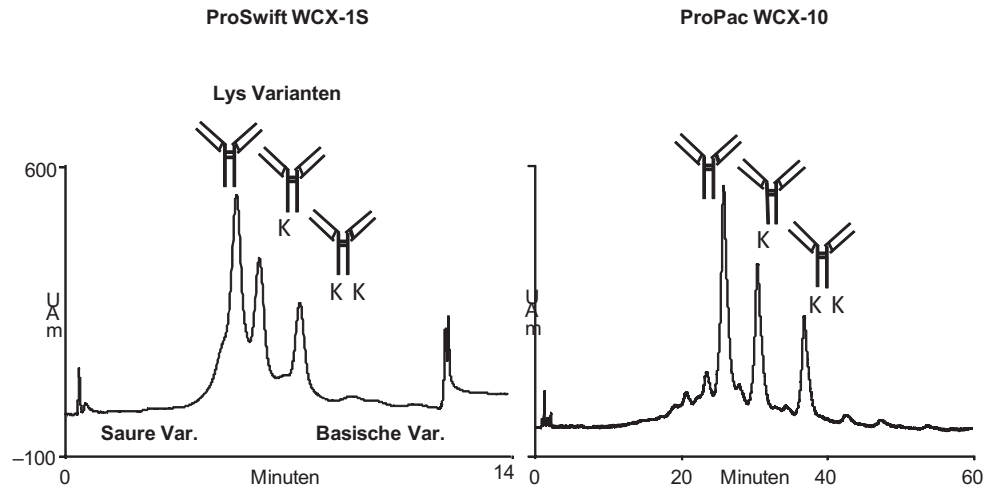
Abb. 49 Trennung von Ovalbumin Varianten



Zusätzlich hat Thermo Fisher Scientific monolithische Trennphasen auf Polymetacrylat-Basis entwickelt, die mit verschiedenen funktionellen Gruppen modifiziert wurden. Verwendet werden Sulfonsäuregruppen (Thermo Scientific™ ProSwift™ SCX-1S), Carboxylate (ProSwift WCX-1S), ein tertiäres Amin wie Diethylaminoethyl (DEAE; ProSwift WAX-1S). Diese Monolith-Phasen zeichnen sich, auf Grund ihrer hohen Porosität, durch einen geringen Gegendruck, selbst bei hohen Flussraten aus. Damit können Laufzeiten entscheidend gesenkt werden. Die Materialien zeichnen sich darüber hinaus über eine hohe chromatographische Auflösung und einen hohen Massentransfer aus, durch den die kürzeren Laufzeiten erst möglich werden. Die deutlich kürzere Laufzeit ist beispielhaft in Abbildung 50 an einer Heterogenitäts-Charakterisierung eines monoklonalen Antikörpers verdeutlicht. Diese gelingt an der monolithischen Phase in weniger als 14 Minuten, während die Trennung an der gepackten Säule 60 Minuten in Anspruch nimmt. Die gepackte ProPac WCX-10 zeigt eine höhere chromatographische Auflösung, während sich mit der ProSwift WCX-1S eine deutliche Steigerung des Probendurchsatzes ergibt. Neben den monolithischen Ionenaustauschern ergänzen ProSwift-Phasen mit Reversed Phase Eigenschaften (ProSwift RP-1S, ProSwift RP-2H) sowie Säulen vom Typ ProPac IMAC-10 und ProPac HIC-10 die verfügbaren Selektivitäten zur Protein- und Peptid-Trennung. Während an der ProPac IMAC-10 die speziellen

Wechselwirkungen zwischen Metallen und Proteinen, bzw. Peptiden ausgenutzt werden, erfolgt die Trennung an der ProPac HIC-10 über hydrophobe Wechselwirkungen unter Einsatz von inversen Salzgradienten zur Elution.

Abb. 50 Vergleich einer monolithischen ProSwift WCX mit einer gepackten Säule vom Typ ProPac WCX-10 am Beispiel der Heterogenitäts-Charakterisierung eines monoklonalen Antikörpers

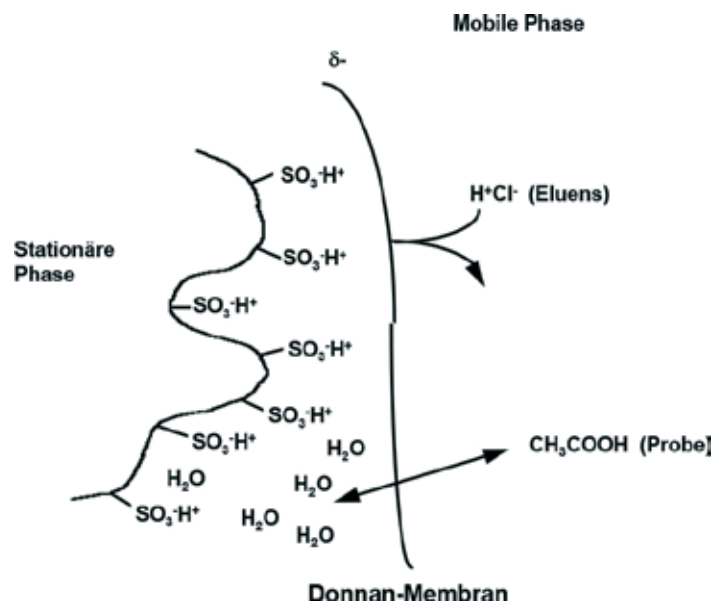


5

Ionenausschluss-Chromatographie (HPICE)

Die Ionenausschluss-Chromatographie, deren Einführung Wheaton und Bauman zugesprochen wird [28], dient vor allem zur Trennung anorganischer und organischer Säuren geringer Säurestärke. Vollständig dissoziierte Säuren werden infolge des Donnan-Ausschlusses von der stationären Phase nicht zurückgehalten und eluieren am Anfang des Chromatogramms als Summenpeak. Undissoziierte Verbindungen können dagegen in die Poren des Harzmaterials eindringen, da sie dem Donnan-Ausschluss nicht unterliegen. In diesem Fall basieren die Trennungen ausschließlich auf nicht-ionischen Wechselwirkungen zwischen den Soluten und der stationären Phase.

Abb. 51 Schematische Darstellung des Trennprozesses an einer HPICE-Säule

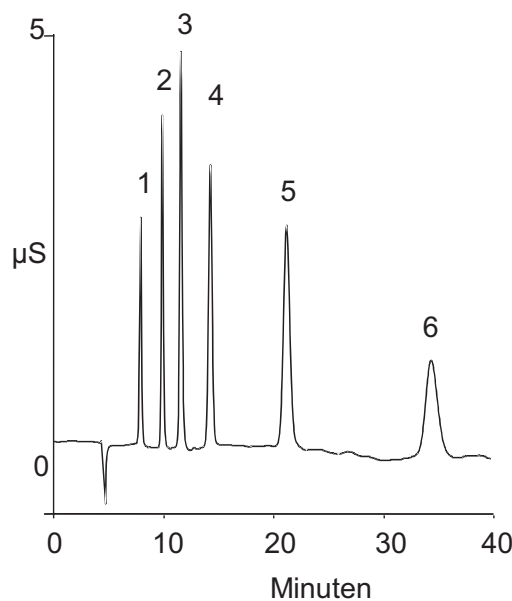


HPICE-Trennsäulen enthalten üblicherweise ein total sulfoniertes Kationenaustauscherharz hoher Kapazität. Der an dieser Phase ablaufende Trennmechanismus basiert auf drei verschiedenen Phänomenen:

- Donnan-Ausschluss
- Sterischer Ausschluss
- Adsorption

Abbildung 51 zeigt eine schematische Darstellung des Trennprozesses an einer HPICE-Säule. Dargestellt ist die Oberfläche des Harzes mit den gebundenen Sulfonsäuregruppen. Ein Teil der im Eluent befindlichen Wassermoleküle hydratisiert diese Sulfonsäuregruppen und befindet sich daher in einem höheren Ordnungszustand als die frei in der mobilen Phase beweglichen Wassermoleküle. In diesem Retentionsmodell wird die Hydrathülle durch eine negativ geladene Schicht analog der Donnan-Membran begrenzt, die nur für undissoziierte Verbindungen durchlässig ist. Total dissoziierte Säuren – beispielsweise die als Eluent fungierende Salzsäure – können auf Grund der negativen Ladung des Chlorid-Ions diese Membran nicht durchdringen und werden somit von der stationären Phase ausgeschlossen. Ihr Retentionsvolumen wird daher als Ausschlussvolumen V_e bezeichnet. Neutrale Wassermoleküle hingegen können ungehindert in die Poren des Harzes eindringen und zurück in die mobile Phase diffundieren. Das der "Retentionszeit" des Wassers entsprechende Volumen bezeichnet man als total permeiertes Volumen V_p . Injiziert man eine schwache organische Säure wie beispielsweise Essigsäure, beobachtet man für diese Verbindung ein Retentionsvolumen, das größer ist als V_p . Dieses Phänomen ist nur durch Adsorptionserscheinungen an der Oberfläche der stationären Phase zu erklären. Der Trennmechanismus bei aliphatischen Monocarbonsäuren wird also durch Donnan-Ausschluss und Adsorption bestimmt, wobei die Retentionszeit mit wachsender Alkylkettenlänge der Säure zunimmt. Durch Zugabe organischer Lösemittel wie Acetonitril oder 2-Propanol kann ihre Retention verringert werden.

Abb. 52 Elutionsprofil der Trennsäule Dionex IonPac ICE-AS1 zur Trennung organischer Säuren

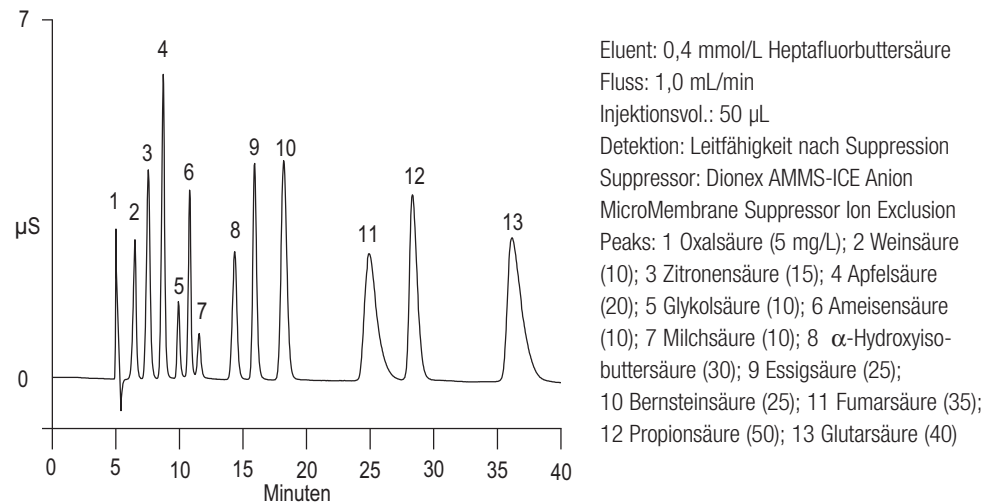


Eluent: 0,4 mmol/L Heptafluorbuttersäure
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression;
 Injektionsvolumen: 25 µL
 1. Ameisensäure, 2. Essigsäure,
 3. Propionsäure, 4. Buttersäure,
 5. Valeriansäure, 6. Kapronsäure

Di- und Tricarbonsäuren wie Oxalsäure, Zitronensäure usw. eluieren zwischen dem Ausschluss- und dem total permeierten Volumen. Der dominierende Trennmechanismus ist in diesem Fall neben dem Donnan-Ausschluss vor allem der sterische Ausschluss. Hierbei wird die Retention durch die Größe der Probenmoleküle bestimmt. Da aber das Porenvolumen des Harzes durch dessen Vernetzungsgrad festgelegt ist, kann die chromatographische Auflösung nur durch Verwendung einer anderen oder durch die Kopplung mit einer anderen Trennsäule verbessert werden. Generell ist eine Optimierung der Trennung organischer Säuren durch Änderung des pH-Wertes möglich, da dieser den Dissoziationsgrad und somit die Retentionszeit der Soluten beeinflusst.

Die Auswahl an Elutionsmitteln ist in der Ionenausschluss-Chromatographie äußerst begrenzt. Im einfachsten Fall ist es reines entionisiertes Wasser, doch ist die resultierende Peakform der Soluten auf Grund ihrer teilweisen Dissoziation durch eine große Halbwertsbreite und starkes Tailing charakterisiert. Durch Ansäuern der mobilen Phase wird die Dissoziation dagegen zurückgedrängt und die Peakform erheblich verbessert.

Abb. 53 Elutionsprofil der Trennsäule Dionex IonPac ICE AS6 zur Trennung organischer Säuren

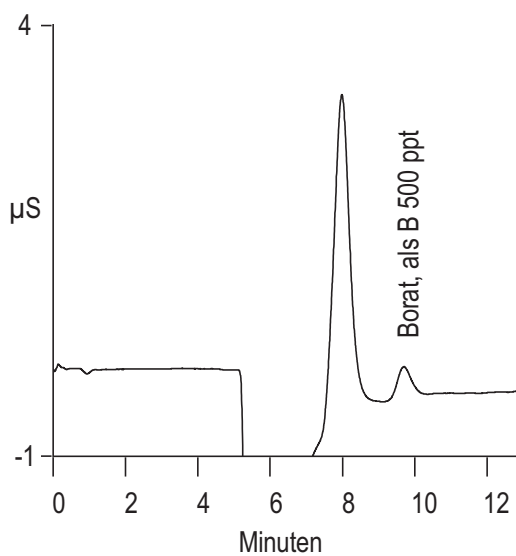


Für die Trennung organischer Säuren verwendet man in der Regel mineralisierende Eluenten. Bei Anwendung der UV-Detektion wird üblicherweise Schwefelsäure verwendet [29, 30]. Da die Detektion organischer Säuren auch über ihre elektrische Leitfähigkeit erfolgen kann, werden seit Einführung des für die HPICE geeigneten Dionex AMMS-ICE Mikromembransuppressors auch langkettige aliphatische Carbonsäuren als Eluent empfohlen. Hierzu gehört die Heptafluorbuttersäure und Octansulfonsäure, die sich auch zur Analyse schwacher anorganischer Säuren wie Borsäure und Kohlensäure eignen. Die Regenerierung des Mikromembransuppressors, der in seinem Aufbau dem der klassischen Anionen- und Kationen Mikromembransuppressoren entspricht, erfolgt konventionell mit einer wässrigen Tetrabutylammoniumhydroxid-Lösung der Konzentration $c = 0,005\text{--}0,01$ mol/L. Neuere Entwicklungen zeigen, dass die Regenerierung alternativ mit wässrigen Alkalichlorid-Lösungen (LiCl, NaCl und KCl) der Konzentration $c = 0,015\text{--}0,020$ mol/L möglich sind. Zwar steigt die Grundleitfähigkeit leicht an, doch wird dieser Effekt durch die zunehmenden Peakflächen kompensiert. Es zeigt sich, dass die Peakflächen in der Reihe $\text{Li} < \text{Na} < \text{K}$ zunehmen [31]. Hierdurch können die Betriebskosten der Ionenausschlusschromatographie deutlich gesenkt werden.

Thermo Fisher Scientific bietet aktuell zwei verschiedene Ionenausschluss-Säulen an: Dionex IonPac ICE-AS1 (Abbildung 52) und Dionex IonPac ICE-AS6 (Abbildung 53). Bei der Dionex IonPac ICE-AS1 handelt es sich um eine Trennsäule, die bevorzugt zur Analyse aliphatischer Monocarbonsäuren eingesetzt wird. Schwierigkeiten bereitet dagegen die Trennung aliphatischer Di- und Tricarbonsäuren, die an dieser Phase innerhalb des total permeierten Volumens eluieren. Mit Einführung der Dionex IonPac ICE-AS6-Säule (Abbildung 53) konnte dieses Problem gelöst werden, da bei dieser stationären Phase die Selektivität der Trennung durch Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem funktionalisierten Harz und der zu analysierenden Säure deutlich erhöht werden konnte. So eignet sich diese Phase auch sehr gut zur Analyse von Hydroxycarbonsäuren, die an einer konventionellen Ionenausschluss-Phase nur unzureichend getrennt werden können.

Ein spezielles Material wurde für die Borat-Bestimmung in Reinstwässern entwickelt. Die Dionex IonPac TBC-1 Trace Borate Concentrator Säule (Abbildung 54) ermöglicht nach einem Anreicherungs-schritt an einer Polyol-Phase die Erfassung von Borat im unteren ng/L-Bereich (ppt). In dieser besonderen Anwendung wird sowohl dem Eluenten als auch dem Regenerenten des Suppressors ein Zuckeralkohol (Mannit) zugesetzt, um die Nachweisempfindlichkeit der Leitfähigkeits-Detektion für Borat zu verbessern.

Abb. 54 Borat-Bestimmung an einer Dionex IonPac TBC-1 Trace Borate Concentrator Säule



Konzentriersäule: Dionex IonPac TBC-1,
 Eluent: 2,5 mmol/L MSA + 60 mmol/L Mannit
 Eluent: 1 mL/min, Regenerent: 25 mmol/L
 TMAOH + 15 mmol/L Mannit,
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression;
 Suppressor: Dionex AMMS-ICE II Anion
 MicroMembrane Suppressor
 Konzentriervolumen: 160 mL bei 8 mL/min

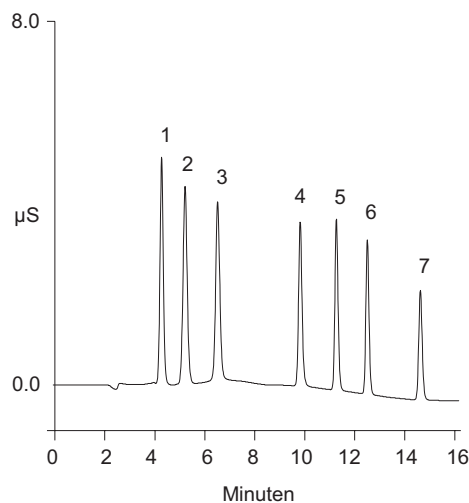
Durch Kopplung von HPICE- und HPIC-Trennsäulen, wie sie von Rich et al. [32, 33] beschrieben wird, ist eine Analyse von schwach und total dissoziierten Säuren in einem Lauf möglich. Nach Injektion der zu analysierenden Probe durchläuft diese zuerst die ICE-Trennsäule, in der die total dissoziierten Säuren von den schwach dissoziierten getrennt werden. Durch eine geeignete Ventil-schaltung wird das ICE-Eluat, das die total dissoziierten Säuren enthält, durch eine Konzentrier-säule geleitet, die ein Anionenaustauscherharz enthält. Nach Umschaltung des Ventils werden die total dissoziierten Säuren dann an einem entsprechenden Anionenaustauscher getrennt. Für diese Säulenschaltung werden somit zwei analytische Pumpen und zwei Leitfähigkeits-Detektoren benötigt.

6

Ionenpaar-Chromatographie (Mobile Phase Ion Chromatography MPIC)

Die Ionenpaar-Chromatographie ist eine willkommene Alternative zur Ionenaustausch-Chromatographie. Da bei der Ionenpaar-Chromatographie die Selektivität der Trennung im Wesentlichen durch die Art der mobilen Phase bestimmt wird, können mit dieser Methode sowohl anionische als auch kationische Verbindungen getrennt werden.

Abb. 55 Trennung aliphatischer Sulfonsäuren mit der MPIC



Trennsäule: Dionex IonPac NS1 (10 µm)
Eluent: 2 mmol/L Tetrabutylammoniumhydroxid, Acetonitril-Gradient
Fluss: 1.0 mL/min, Injektionsvol.: 50 µL
Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression (Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor, AutoSuppression)
Regenerent: 5 mmol/L Schwefelsäure
Peaks:
1. 1-Methansulfonsäure (5,0 mg/L)
2. 1-Propansulfonsäure (8,6)
3. 1-Butansulfonsäure (8,7)
4. 1-Hexansulfonsäure (8,8)
5. 1-Heptansulfonsäure (8,9)
6. 1-Octansulfonsäure (8,9)
7. 1-Decansulfonsäure (9,1)

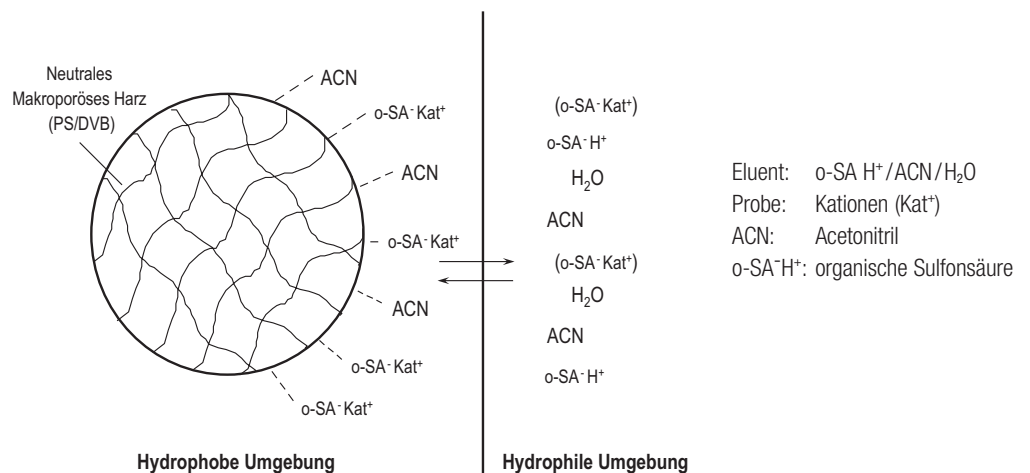
Unter dem Begriff Mobile Phase Ion Chromatography (MPIC) versteht man ein Verfahren, das die wesentlichen Elemente der Reversed-Phase Ion Pair Chromatography RPIPC mit der Leitfähigkeits-Detektion unter Anwendung der chemischen Suppression verbindet. Als stationäre Phase verwendet man neben chemisch gebundenen Umkehrphasen auch neutrale Divinylbenzol-Harze, die eine hohe Oberfläche und einen schwach polaren Charakter besitzen. Dem Elutionsmittel wird neben organischen Lösungsvermittlern und anorganischen Zusätzen das sog. Ionenpaar-Reagenz zugegeben. Für die Ionenpaarchromatographische Anionentrennung werden bevorzugt quaternäre Ammoniumbasen der mobilen Phase zugesetzt, für die Ionenpaarchromatographische Trennung von Kationen sind es meist langkettige Alkylsulfonsäuren. Ein großer Vorteil in der Verwendung neutraler Polymerharze als stationäre Phase liegt in deren hohen pH-Stabilität. Die Dionex IonPac NS1 Säule ist ein Ethylvinylbenzol/Divinylbenzol Material (EVB/DVB) mit Umkehrphasen Eigenschaften. Diese Säule ist ideal geeignet für Ionenpaar- oder Ion Suppression-Trennungen hydrophober ionisierbarer Verbindungen wie organischen Säuren, langkettig substituierter Amine und Tenside

(s. Abbildung 55). Diese Säule kann auch für Umkehrphasentrennungen eingesetzt werden, wobei die chromatographische Effizienz im Vergleich geringer ist. Die polymere Natur der Säule erlaubt den Einsatz von Säuren, Basen und organischen Lösungsmitteln im Laufmittel. Die Dionex IonPac NS1-10µm und NS1-5µm Säulen sind mit einem belastbaren EVB/DVB Harz mit einem Vernetzungsgrad von 55 % DVB gepackt. Der große pH Bereich dieser Säulen erlaubt Eluenten im pH Bereich von 0 bis 14. Im Routinebereich wird meist die Dionex IonPac NS1-10µm eingesetzt.

Die physikalisch-chemischen Phänomene, die dem Retentionsmechanismus zugrunde liegen, sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch nicht völlig aufgeklärt. Zurzeit werden zwei verschiedene Hypothesen diskutiert, wobei beide einer zweifelsfreien experimentellen Bestätigung entbehren. Horvath et al. [34, 35] vertreten die Ansicht, dass die Analyt-Ionen mit den lipophilen Ionen in der wässrigen mobilen Phase neutrale Ionenpaare bilden, die von der unpolaren stationären Phase zurückgehalten werden. Huber, Hoffmann und Kissinger [36 - 38] unterstützen hingegen ein Ionenaustausch-Modell, wonach das lipophile Reagenz zuerst an der Oberfläche der stationären Phase adsorbiert wird, die somit den Charakter eines dynamischen Ionenaustauschers erhält. Mit diesem Ansatz kann erklärt werden, dass der Zusatz von anorganischen Modifiern in der MPIC von Anionen – etwa die Verwendung von Na_2CO_3 – zu einer Verkürzung der Retentionszeiten von mehrfach geladenen Ionen führt. An dem dynamischen Ionenaustauscher eluiert nach diesem Modell das Carbonat speziell zweiwertige Analytverbindungen und trägt zur Retentionszeitverkürzung bei. Beide Hypothesen charakterisieren Grenzfälle und beschreiben den Retentionsprozess bei unterschiedlichen chromatographischen Bedingungen nicht eindeutig. Abbildung 56 fasst die wesentlichen Wechselwirkungen dieser Hypothesen zusammen.

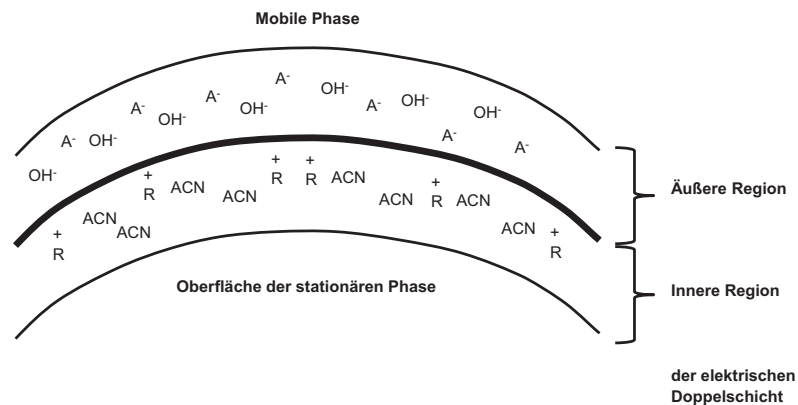
In diesem Beispiel werden kationische Verbindungen (Kat^+) mit einem Laufmittel aus Acetonitril/Wasser, das Oktansulfonat als Ionenpaarbildner enthält, an einer neutralen PS/DVB-Säule getrennt. Die Kationen werden durch eine Kombination ihrer Wechselwirkung mit dem Oktansulfonat, das an der stationären Phase adsorbiert ist (hydrophobe Umgebung), und durch ihre Wechselwirkung mit der Oktansulfonsäure in der mobilen Phase (hydrophile Umgebung) retardiert. Als „Ionenpaare“ mit dem Oktansulfonat in der Lösung können die Kationen zwischen stationärer und mobiler Phase wechseln. Acetonitril wird nach diesen Überlegungen ebenfalls an der stationären Phase adsorbiert und senkt mit steigendem Volumenanteil im Eluenten die effektive Kapazität der Säule [39].

Abb. 56 Ionenpaar-Trennung von Kationen



Bidlingmeyer et al. [40, 41] führten ein drittes Modell in die Diskussion ein, das sie als Modell der Ionenwechselwirkung bezeichneten. Dieses Modell basiert auf Leitfähigkeitsmessungen, deren Ergebnisse die Bildung von Ionenpaaren in der mobilen Phase ausschließen. Es setzt weder die Bildung von Ionenpaaren voraus noch stützt es sich auf die klassische Ionenaustausch-Chromatographie. Nach dem Modell der Ionenwechselwirkung wird zwischen der unpolaren stationären und der polaren mobilen Phase eine hohe Grenzflächenspannung erzeugt. Dadurch erhält die stationäre Phase eine hohe Affinität zu Komponenten der mobilen Phase, die diese hohe Grenzflächenspannung herabsetzen können. Hierzu gehören beispielsweise polare organische Lösemittel, Tenside mit ihren entsprechenden Gegen-Ionen und quaternäre Ammoniumbasen. Die Modellvorstellung der Ionenwechselwirkung sieht ferner die Ausbildung einer elektrisch geladenen Doppelschicht an der Oberfläche der stationären Phase vor. Abbildung 57 zeigt eine schematische Darstellung dieses Phänomens am Beispiel der Analyse oberflächeninaktiver Anionen. Gezeigt wird, wie in der inneren Region die der mobilen Phase zugegebenen lipophilen Ionen (z. B. Tetrabutylammonium-Ionen) und Acetonitril als organischer Lösungsvermittler an der Oberfläche der unpolaren stationären Phase adsorbiert werden.

Abb. 57 Schematische Darstellung der elektrisch geladenen Doppelschicht am Beispiel der Trennung oberflächenaktiver Anionen



Da die lipophilen Kationen gleiche Ladungen tragen, kann auf Grund wirkender Abstoßungskräfte nur ein Teil der Oberfläche mit diesen Ionen beladen sein. In der diffusen äußeren Region befinden sich die entsprechenden Gegen-Ionen sowie die zu analysierenden Analyt-Ionen. Erhöht man die Konzentration lipophiler Ionen in der mobilen Phase, erhöht sich auf Grund eines dynamischen Gleichgewichts zwischen mobiler und stationärer Phase auch die Konzentration der an der Oberfläche adsorbierten Ionen. Der Transfer eines Solut-Ions durch die elektrische Doppelschicht ist also eine Funktion elektrostatischer und van-der-Waals Kräfte. Wird ein Analyt-Ion mit entgegengesetzter Ladung von der geladenen Oberfläche der stationären Phase angezogen, ist die Retention auf Coulombsche Anziehungskräfte und darüber hinaus auf adsorptive Wechselwirkungen zwischen dem lipophilen Teil des Solut-Ions und der unpolaren Oberfläche der stationären Phase zurückzuführen. Das Hinzufügen einer negativen Ladung zur positiv geladenen inneren Region der Doppelschicht ist der Entfernung einer Ladung aus dieser Region gleichbedeutend. Zur Wiederherstellung des elektrostatischen Gleichgewichts kann ein weiteres lipophiles Ion an der Oberfläche adsorbiert werden. Letztendlich sind damit zwei entgegengesetzt geladene Ionen (nicht notwendigerweise ein Ionenpaar) an der stationären Phase adsorbiert worden. In analoger Weise kann die Trennung oberflächeninaktiver Kationen mechanistisch interpretiert werden. Hierbei werden lipophile Anionen

an der Oberfläche des Harzes adsorbiert, während die zu analysierenden Kationen in der äußeren Region der Doppelschicht zurückgehalten werden. Oberflächenaktive Ionen können im Gegensatz zu gewöhnlichen Solut-Ionen in die innere Region der Doppelschicht eindringen und an der Oberfläche der stationären Phase adsorbiert werden. Für diese Substanzklasse beobachtet man daher eine Abhängigkeit der Retention von der Kohlenstoff-Kettenlänge und somit vom Grad der Hydrophobie: Die Retention nimmt mit wachsender Kettenlänge zu. Acetonitril als organischer Lösungsvermittler wird ebenfalls an der Oberfläche des Harzes adsorbiert und steht daher im konkurrierenden Gleichgewicht mit den lipophilen Ionen. Durch die Blockierung von Adsorptionsstellen an der Harzoberfläche dient der organische Lösungsvermittler bei der Analyse von oberflächenaktiven und -inaktiven Ionen zur Verkürzung der Retention, bei ersteren durch direkte Competition, bei letzteren durch Competition mit den solvophoben Gegen-Ionen $R-SO_3^-$ bzw. R_4N^+ .

Neben Art und Konzentration der Ionenpaar-Reagenzien und organischen Lösungsvermittler bestimmen zwei weitere Parameter die Retention: der pH-Wert der mobilen Phase und die Säulentemperatur. Eine Steigerung der Säulentemperatur hat generell eine Verringerung der Retention zur Folge. Während die Säulentemperatur in der Vergangenheit nur selten als experimenteller retentionsbestimmender Parameter variiert wurde, ist bei der Analyse multivalenter Anionen der pH-Wert des Elutionsmittels mitunter eine entscheidende Größe.

Die Optimierung der Retentionsbedingungen für multivalente Ionen ist äußerst schwierig, da die Affinität zur stationären Phase mit steigender Ladungszahl zunimmt. Dieser Effekt sei am Beispiel der Analyse von Thioglykolsäure erläutert, für deren Trennung Tetrabutylammoniumhydroxid als Ionenpaar-Reagenz und ein entsprechender Anteil an Acetonitril der mobilen Phase zugegeben wurden. Soll Thioglykolsäure über die Messung der elektrischen Leitfähigkeit nach chemischer Suppression detektiert werden, erhält man unter den oben genannten chromatographischen Bedingungen (pH 10,8) kein Signal. Setzt man dagegen den pH-Wert des Elutionsmittels durch Zugabe kristalliner Borsäure auf pH 7,25 herab, ist die Verbindung über die Leitfähigkeit detektierbar. Borsäure eignet sich für die Senkung des pH-Wertes in besonderem Maße, da sie auf Grund ihres geringen Dissoziationsgrades nur unwesentlich zur Erhöhung der Grundleitfähigkeit beiträgt. Neben der Kontrolle des Dissoziationsgrades der zu untersuchenden Spezies sind Änderungen des pH-Wertes im Elutionsmittel erforderlich, um unerwünschte Nebenreaktionen im sauren oder alkalischen pH-Bereich zu vermeiden. Dies gilt z. B. für Merkaptane, die im alkalischen Milieu zu Disulfiden reagieren. Die chemische Suppression der Grundleitfähigkeit erfolgt heutzutage auch bei MPIC-Verfahren mit Mikromembransuppressoren. Die Regenerierung wird mit verdünnter Schwefelsäure der Konzentration $c=0,01$ mol/L durchgeführt. Für die Ionenpaar-Chromatographie oberflächenaktiver Kationen verwendet man den Dionex CMMS Cation MicroMembrane Suppressor, der klassisch z. B. mit Tetrabutylammoniumhydroxid regeneriert werden kann.

7

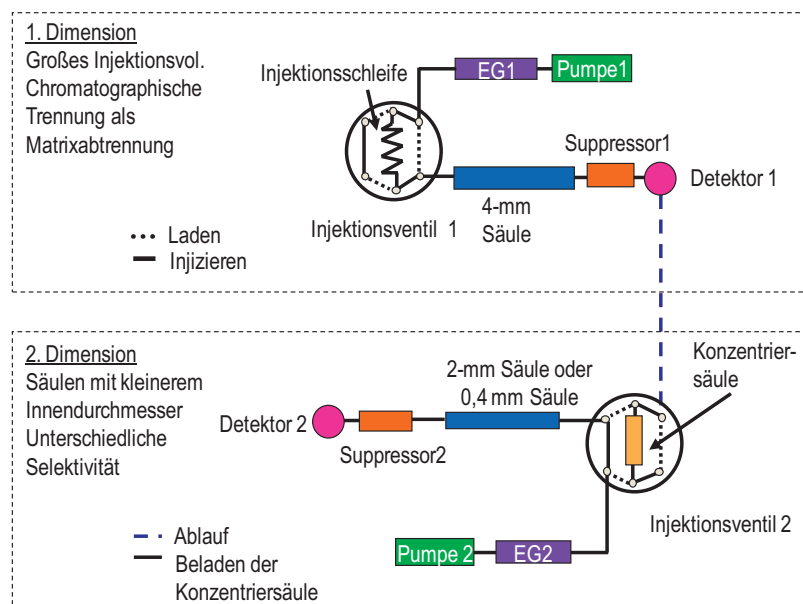
Mehrdimensionale Anwendungen in der IC

Der Begriff Mehrdimensionale Chromatographie ist erstmalig in der Gaschromatographie erwähnt worden und beschreibt die Kombination von Säulen unterschiedlicher Selektivität oder Kapazität, die in Verbindung mit Säulenschalttechniken und unter Verwendung mehrerer Gaschromatographen [42] eingesetzt werden. Die Mehrdimensionale Flüssigkeitschromatographie (**MDLC**) [43] beschreibt Trenntechniken, bei denen die Probe durch Schalt- oder Schnitttechniken, Elutionsmittelwechsel und sogar durch Flussrichtungswechsel auf **zwei oder mehr Säulen** mit unterschiedlichen Eigenschaften getrennt wird. Unter Umständen ist hierbei die Kombination mehrerer HPLC-Geräte notwendig. Ziel des Verfahrens ist die Anreicherung bzw. Matrixanreicherung bei komplex zusammengesetzten Proben.

7.1. Zweidimensionale Ionenchromatographie – 2D-IC

Auch in der Ionenchromatographie hat sich die Kombination von Trennsystemen bewährt, und ist unter dem Begriff 2D-IC von Dionex, jetzt Thermo Fisher Scientific, eingeführt worden. Prominente Beispiele sind die Bestimmung von Anionen in Flusssäure [44], Chlorid in Salpetersäure [45] oder Anionen in Wasserstoffperoxid (s. Kapitel 10.4.1), sowie die Spurenbestimmung von Bromat und Perchlorat in diversen Wässern.

Abb. 58 Schematische Darstellung eines zweidimensionalen IC (2D-IC)

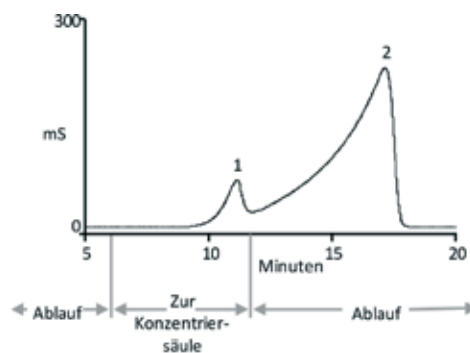


Bei diesen Fragestellungen kombiniert man zwei unterschiedliche chromatographische Systeme derart, dass das Effluent des ersten Systems (1. Dimension) über einen bestimmten Zeitraum über eine Anreicherungssäule, die am Injektor des zweiten Systems (2. Dimension) installiert ist, geleitet wird (Abbildung 58). Voraussetzung für dieses Vorgehen ist entweder die Verwendung von Eluenten geringer Ionenstärke, respektive Wasser oder der Einsatz der Suppressionstechnik zur Entsalzung des Eluenten der ersten Dimension. Dieses Vorgehen ist erforderlich, um die Elution der Analyte von der Anreicherungssäule zu vermeiden. Nach Abschluss dieses Vorgangs – im Englischen findet sich auch der Begriff Heart Cutting – wird die Anreicherungssäule in den Eluenten der 2. Dimension geschaltet und eluiert (Abbildung 58). Mit diesem Ansatz lassen sich Säulen verschiedenster Selektivitäten sowie Säulen mit unterschiedlichen Säulendurchmessern kombinieren.

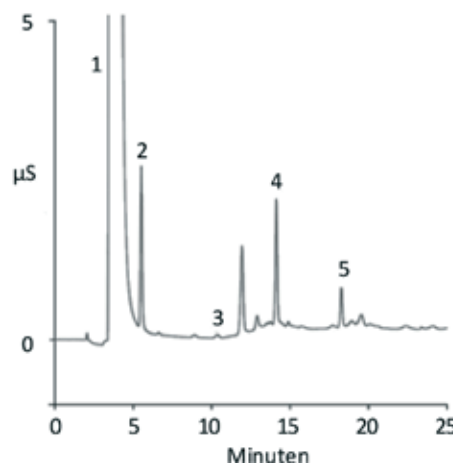
Erste Dimension

Ein Beispiel für den Einsatz unterschiedlicher Selektivitäten ist die Bestimmung von Anionen in HF. Hierbei erfolgt die Matrixeliminierung in der ersten Dimension an einer Ionenausschlussphase vom Typ Dionex IonPac ICE AS6 oder AS 1 (jeweils 9 x 250 mm) mit Wasser als Eluent, und die sich daran anschließende Spurenbestimmung der Anionen an einem Ionenaustauscher im 2-mm-Format (z.B. Dionex IonPac AS11-HC, 2 x 250 mm) (Abbildung 59). Die gewählten Hydroxid-Eluenten in Verbindung mit der Suppressionstechnik erlauben äußerst niedrige Nachweisgrenzen [44]. Bei moderateren Anforderungen an die Empfindlichkeit können auch Carbonat/Bicarbonat-Laufmittel und isokratische Elutionsbedingungen eingesetzt werden. Der apparative Aufbau zur 2D-IC bleibt gleich [46].

Abb. 59 Bestimmung anorganischer Anionen in HF [44]



Erste Dimension:
Trennsäule: Dionex IonPac ICE AS1
Eluent: Wasser
Fluss: 0,5 mL/min
Injektionsvol.: 500 µL
Detektion: Leitfähigkeit



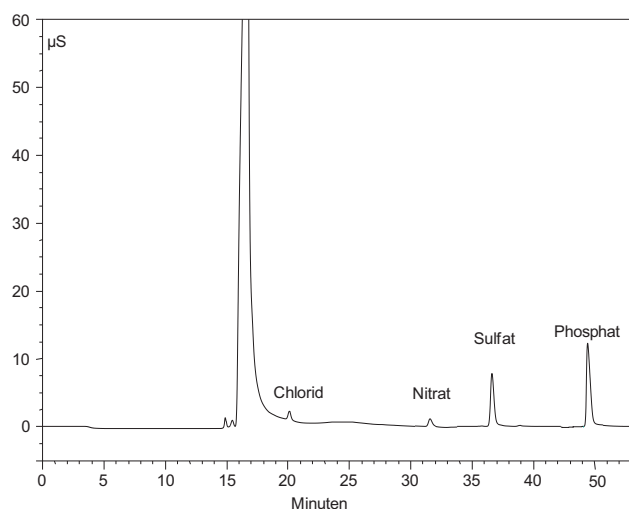
Zweite Dimension:
Trennsäule: Dionex IonPac AS11-HC
Konzentriersäule: Dionex IonPac AG 11-HC (4 x 50 mm)
Eluent: KOH-Gradient
Fluss: 0,38 mL/min
Temperatur: 30 °C;
Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression, Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor, AutoSuppression, externe Wasserversorgung, AutoSuppression, externe Wasserversorgung
Probe: 12 % HF
Peaks: 1. Fluorid (-), 2. Chlorid (17,2 µg/L), 3. Nitrat (1,52), 4. Sulfat (26,1), 5. Phosphat (29,3).

Seit der Einführung der Kapillar-IC sind Säulen mit einem Innendurchmesser von 0,4 mm oder darunter in Verwendung und kommen in entsprechenden Gerätekonfigurationen auch in der 2D-IC zum Einsatz.

Durch die im Vergleich zu konventionellen 4-mm-Säulensystemen hundertfach gestiegene Massensensitivität erlaubt diese Variante der 2D-IC noch niedrigere Nachweisgrenzen bezogen auf die originale Probe. Nicht nur die Trennsäulen werden hierbei im Kapillarformat eingesetzt. Die Anreicherungssäule muss sowohl den Fluss-Anforderungen der ersten Dimension im mL/min-Bereich genügen, als auch die chromatographischen Rahmenbedingungen einer Kapillar-Anwendung genügen. Damit ist einerseits ein geringer Fließwiderstand, als auch gleichzeitig ein geringes Totvolumen gemeint. Beides kann durch die Verwendung von polymeren Monolith-Phasen als Anreicherungssäulen erreicht werden.

Die Thermo Scientific™ Dionex™ IonSwift™ MAC-200 Säule wurde speziell unter diesem Gesichtspunkt entwickelt und wird bevorzugt im Bereich der 2D-IC und der Kombination von konventionellen Säulenformaten in der ersten Dimension mit Kapillaranwendungen in der zweiten Dimension eingesetzt. Abbildung 60 zeigt das Chromatogramm einer Ameisensäure, in der Anionen im sub-ppb Bereich zu erfassen waren. Die beschriebenen Bedingungen können darüber hinaus auf die Bestimmung anorganischer Anionen in Essigsäure, Milchsäure, Buttersäure, Hexansäure und Bernsteinsäure angewandt werden [47].

Abb. 60 Bestimmung anorganischer Anionen in Ameisensäure – Konzentrationen der Anionen im ng/L-Bereich (ppt) [47]



Erste Dimension:
Trennsäule: Dionex IonPac ICE AS1
Eluent: Wasser; Fluss: 0,5 mL/min
Injektionsvol.: 50 µL
Detektion: Leitfähigkeit

Zweite Dimension:
Trennsäule: Dionex IonPac AS18 Fast (0,4 x 150 mm)
Konzentriersäule: Dionex IonSwift MAC-200 (0,75 x 80 mm)
Eluent: KOH-Gradient; Fluss: 10 µL/min
Temperatur: 30 °C
Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression, Dionex ACES Anion Capillary Electrolytic Suppressor, AutoSuppression, AutoSuppression

7.2. Multimodale Polymersäulen

Man kann den Begriff Multidimensionale Chromatographie auch verwenden, wenn man mit Trennphasen arbeitet, die mehrere Trennmodi verbinden.

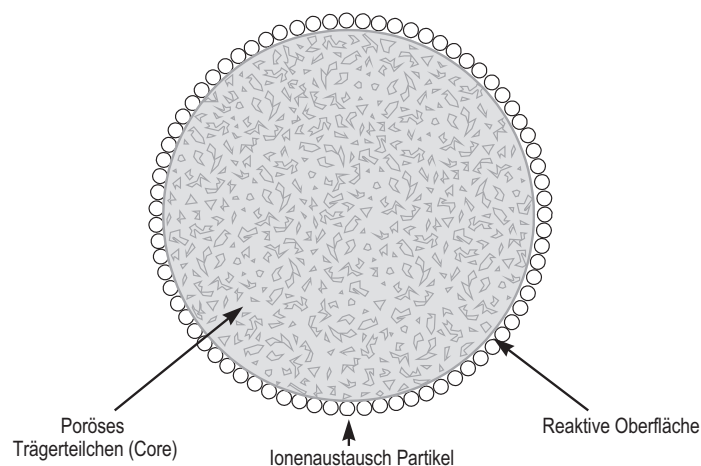
In der Vergangenheit war die Unterscheidung zwischen Ionenchromatographie und Reversed-Phase-Chromatographie zwingend vorgegeben, da die verschiedenen Säulenmaterialien nicht über Trenneigenschaften der jeweilig anderen Methode verfügten. Einzige Ausnahme bildet die

Ionenpaar-Chromatographie, bei der nach Ionenpaarbildung die Trennung nach RP-Mechanismen erfolgt (s. Kapitel 6 Ionenpaar-Chromatographie, MPIC). Diese "Ausschließlichkeit" ergab sich aus den Eigenschaften der Säulenmaterialien, die entweder nicht lösemittel- oder nicht pH-stabil waren. Dank neuer Herstellungsverfahren verfügt man heute im Bereich der klassischen Kieselgelphasen über Trennsäulen, die unter anderem Anionen- oder Kationenaustauscheigenschaften mit denen eines klassischen Umkehrphasenmaterials verbinden. In einem Fall sind gezielt sogar Anionenaustausch, Kationenaustausch und RP-Eigenschaften vereint worden. Dieses Material ist als Thermo Scientific™ Dionex™ Acclaim™ Trinity™ P1 Säule kommerzialisiert worden [48].

Der limitierende Faktor pellicularer Ionenaustauscher auf Polymerbasis war die geringe Beständigkeit gegenüber konventionellen HPLC-Lösemitteln wie Methanol, Acetonitril usw. Diese Einschränkung war auf den geringen Vernetzungsgrad des Harzmaterials zurückzuführen. In der Vergangenheit kamen sie vor allem im anorganischen Bereich zum Einsatz, so dass niedrig vernetzte Polymermaterialien bestens geeignet waren. Da in letzter Zeit ionenchromatographische Verfahren auch verstärkt in der organischen Ionenanalyse verwendet werden, ist der Bedarf an lösemittelkompatiblen Ionenaustauschern deutlich gestiegen und resultiert in einer wachsenden Zahl lösemittelstabiler Ionenaustauscher der Dionex IonPac-Serie.

Die einfachste Art, lösemittelstabile Ionenaustauscher auf Polymer-Basis herzustellen, besteht in der Verwendung eines hochvernetzten Trägermaterials. Hierzu hat sich ein mikroporöses (gelartiges) Polymer aus Ethylvinylbenzol/Divinylbenzol (EVB/DVB) als besonders geeignet erwiesen. Bei einem Vernetzungsgrad von 55 % sind Materialien dieser Art gegenüber den üblichen HPLC-Lösemitteln stabil. Werden die Latex-Teilchen elektrostatisch agglomeriert, so erhält man lösemittelstabile Ionenaustauscher.

Abb. 61 Schematischer Aufbau der Säulen der Dionex OmniPac PAX 100/500 Serie



Bei Säulen der Dionex OmniPac-Serie werden die Latex-Partikel über einen anderen Weg als bei den Säulen der Dionex IonPac-Serie am Träger agglomeriert. Zur Herstellung dieser Phasen geht man wiederum von dem lösemittelstabilen EVB/DVB-Polymer aus. Dieses wird mit einem zweiten Polymer beschichtet, welches wiederum verschiedene funktionelle Gruppen tragen kann. Zum

Aufbau eines Anionenaustauschers (Dionex OmniPac PAX-100/500; Abbildung 61) dienen üblicherweise Carboxylate, die als Ankergruppen für Latex-Teilchen mit entgegengesetzt geladenen Austauschfunktionen fungieren. Elektrostatische Anziehungskräfte leiten den Agglomerierungsvorgang ein, wobei die eigentliche Bindung des Latex-Teilchens auf rein adsorptiven Kräften beruht. Im Gegensatz zur klassischen elektrostatischen Agglomeration fehlt diesen Phasen jegliche Kationenaustausch-Kapazität, die bei traditionellen Latex-Anionenaustauschern immerhin noch etwa 11 $\mu\text{equiv/Säule}$ beträgt. Die entsprechenden Kationenaustauscher (Dionex OmniPac PCX-100/500) erhält man durch elektrostatische Agglomeration der Anionenaustauscher-Partikel mit einem total sulfonierten Latex-Kolloid [49, 50].

Innerhalb der Dionex OmniPac-Serie unterscheidet man die verschiedenen Säulen anhand der Porosität des Trägermaterials. Die Säulenbezeichnungen lauten Dionex OmniPac PAX-100 bzw. PCX-100 für mikroporöse und Dionex OmniPac PAX-500 bzw. PCX-500 für mesoporöse Trägermaterialien mit Anionen- bzw. Kationenaustauscheigenschaften. Vereinfacht lässt sich sagen, dass die Säulen vom Typ Dionex OmniPac PAX-500/PCX-500 auf Grund der hohen spezifischen Oberfläche von ca. 300 m^2/g und einer Porengröße von 6 nm Adsorptionsvorgänge im Innern des Trägermaterials und damit Reversed-Phase-Trennungen erlauben, denen Ionenaustausch-Wechselwirkungen überlagert werden können. Im Gegensatz hierzu sind die Säulen der Serie Dionex OmniPac PAX-100/PCX-100 reine lösemittelstabile Ionenaustauscher, deren Selektivität sich jedoch von denen der Dionex IonPac-Serie unterscheidet [49,50]. Die Latex-Teilchen (Durchmesser: 60 nm; Vernetzungsgrad: 4 %) des lösemittelbeständigen Anionenaustauschers Dionex OmniPac PAX-100 sind mit einem für die Verwendung von Natronlauge optimierten Amin funktionalisiert. Die Selektivität des Anionenaustauschers lässt sich durch Zugabe von organischen Lösemitteln zur mobilen Phase beeinflussen. Diese verändern den Hydratisierungsgrad sowohl der Solut-Ionen als auch der Ionenaustauschgruppen. So beobachtet man eine reversible Abnahme der Retentionszeiten anorganischer Anionen bei Zugabe größerer Volumina organischer Lösemittel (Abbildung 62). Da ein ähnlicher Effekt auch durch Verringerung des Vernetzungsgrades des Trägermaterials erzielt werden kann, bedeutet dies, dass man durch Zugabe eines organischen Lösemittels den "effektiven" Vernetzungsgrad des Trägermaterials kontrolliert [49,50].

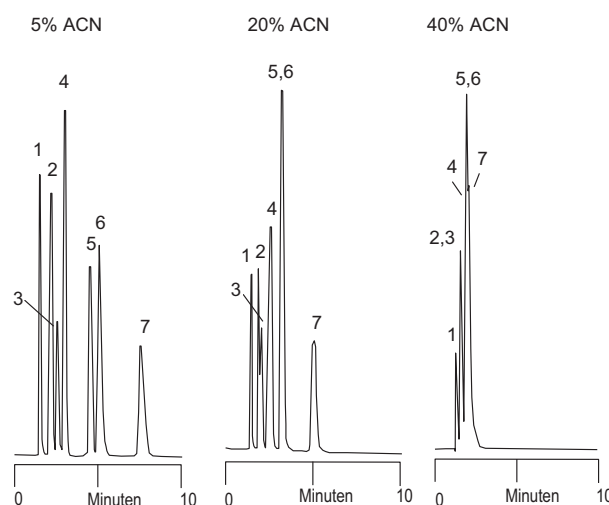
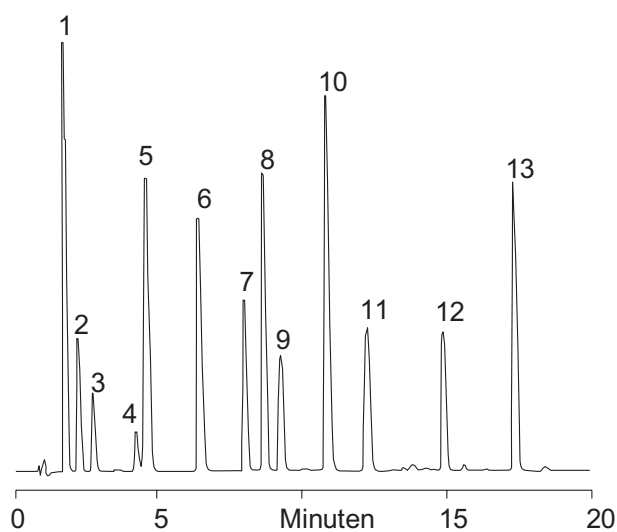


Abb. 62 Einfluss von Acetonitril auf die Retention anorganischer Anionen

Trennsäule: Dionex OmniPac PAX-500,
 Eluent: 40 mmol/L NaOH + Acetonitril
 (Konz. s. Abbildung)
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Injektionsvolumen: 50 μL
 Konzentrationen: 1. F^- (1 mg/L), 2. Cl^- (2),
 3. NO_2^- (3), 4. SO_4^{2-} (5), 5. Br^- (5),
 6. NO_3^- (8), 7. PO_4^{3-} (8)

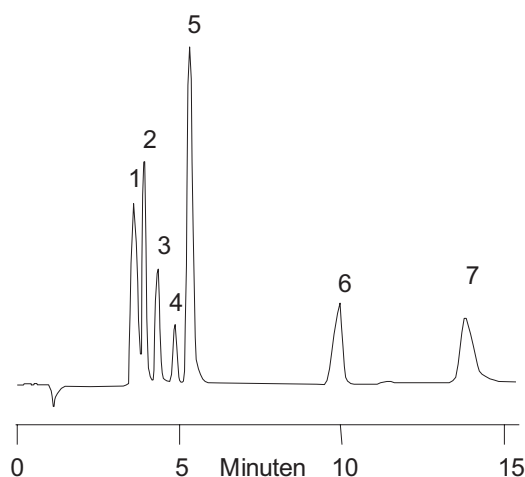
Ein solches Verhalten ist speziell bei der Analyse aromatischer Carbonsäuren und Sulfonsäuren hilfreich. Organische Lösemittel sind in der mobilen Phase für effiziente Trennungen entscheidend, da sie adsorptive Wechselwirkungen zwischen den Soluten und der stationären Phase verringern. Die in Abbildung 63 gezeigte Trennung verschiedener aromatischer Säuren an der Dionex OmniPac PAX-100 beruht im Wesentlichen auf Ionenaustausch-Wechselwirkungen. So ist mit diesem Verfahren die Trennung höherer Carbonsäuren wie Trimesin- und Pyromellitsäure möglich. Diese Trennung ist mit den verschiedenen Methoden der Reversed-Phase-Chromatographie an ODS-Phasen nicht zugänglich.

Abb. 63 Trennung aromatischer Säuren an Dionex OmniPac PCX-100



Trennung aromatischer Säuren an Dionex OmniPac PAX-100
 Eluent: NaOH/NaCl/Acetonitril-Gradient
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: UV (254 nm)
 Injektionsvol.: 50 µL
 Peaks: 1 Benzoat, 2 Benzolsulfonat, 3 Toluolsulfonat, 4 p-Chlorbenzolsulfonat, 5 p-Brombenzoat, 6 3,4-Dinitrobenzoat, 7 Phthalat, 8 Terephthalat, 9 p-Hydroxybenzoat, 10 p-Hydroxybenzolsulfonat, 11 Gentisat, 12 Trimesat, 13 Pyromellitat

Abb. 64 Bestimmung trizyklischer Antidepressiva

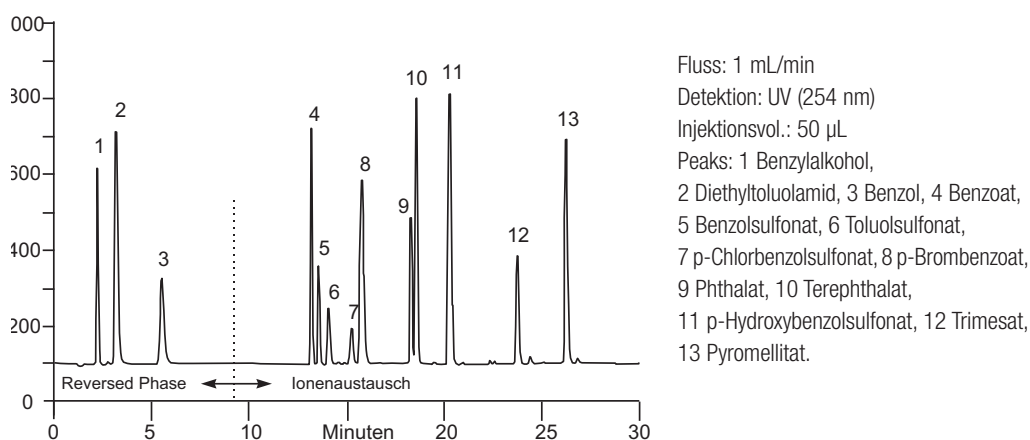


Eluent: HCl/KCl/Acetonitril-Gradient
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: UV (254 nm)
 Injektionsvolumen: 50 µL
 Analyt-Verbindungen: 1. Imipramin, 2. Doxepin, 3. Desopramin, 4. Protriptylin, 5. Thioridazin, 6. Thiothixen und 7. Phenphenazin.

Der entsprechende Kationenaustauscher vom Typ Dionex OmniPac PCX-100 eignet sich unter anderem für die Analyse oberflächenaktiver Kationen. Hierzu zählen u.a. Arylamine, bicyklische Heterosysteme wie z. B. Purine, Pterine und Flavine, trizyklische Antidepressiva sowie verschiedene Arten von Alkaloiden. Die Trennung trizyklischer Antidepressiva ist stellvertretend hierzu in Abbildung 64 dargestellt. Verwendet man anstelle gelartiger Polymere ein mesoporöses Material

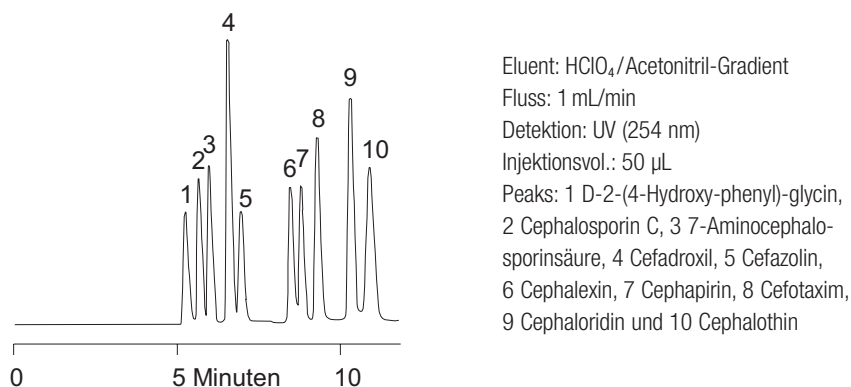
als Träger, erhält man nach analoger Oberflächenmodifizierung Trennphasen, an denen gleichzeitig Ionenaustausch- und Ionenpaar- oder Reversed-Phase-Wechselwirkungen zum Trennprozess beitragen können. Letztere ergeben sich durch die hohe spezifische Oberfläche von ca. $300\text{ m}^2/\text{g}$ und durch die Porosität des Trägermaterials, deren Porenweite etwa bei 6 nm liegt. Der größte Teil der spezifischen Oberfläche (ca. 99 %) steht damit für Adsorptionsprozesse zur Verfügung. Die Ionenaustausch- und Reversed-Phase-Eigenschaften können sowohl unabhängig als auch in Kombination miteinander eingesetzt werden. Das in Abbildung 65 dargestellte Chromatogramm zeigt als Beispiel die gleichzeitige Trennung von molekularen Organika und von organischen Säuren. Hierbei wurden die ungeladenen Verbindungen mit einem Acetonitril/Wasser-Gemisch eluiert. Danach werden die zurückgehaltenen organischen Säuren mit einem Salzgradienten bei gleichzeitiger Erniedrigung des Lösemittelanteils in der mobilen Phase eluiert.

Abb. 65 Simultane Analyse neutraler organischer Verbindungen und organischer Säuren an einer Dionex OmniPac PAX-500 Phase



Typische Substanzklassen für die Trennung an Dionex OmniPac PAX-500 Phasen sind Barbiturate, Sulfonamide und entzündungshemmende Substanzen. Umgibt man das Material vom Typ Dionex OmniPac PAX-500 durch elektrostatische Agglomeration mit einem weiteren, total sulfonierten Latex-Kolloid, erhält man in analoger Weise den entsprechenden Kationenaustauscher vom Typ Dionex OmniPac PCX-500. Typische Anwendungsbeispiele für diese stationäre Phase sind Trennungen von Cephalosporinen, Sulfonamiden, Diuretika, Xanthinen und basischen Farbstoffen. In Abbildung 66 ist beispielhaft die Trennung von Cephalosporinen und einiger ihrer Vorstufen gezeigt. Auch diese Trennung wird durch eine Kombination von Kationenaustausch- und Reversed-Phase-Wechselwirkungen erzielt. Das im Eluent vorhandene Perchlorat-Ion bildet darüber hinaus mit Cephalosporinen stabile Ionenpaare, so dass auch diese Wechselwirkung im vorliegenden Fall zum Trennmechanismus beiträgt.

Abb. 66 Trennung von Cephalosporinen an einer Dionex OmniPac PCX-500 Phase



8

Detektionsarten

Bei den in der Ionenchromatographie zur Anwendung kommenden Detektionsarten unterscheidet man zwischen elektrochemischen und spektroskopischen Verfahren. Zu den elektrochemischen Verfahren gehört die Leitfähigkeits-Detektion, die Ladungsdetektion und die amperometrische Detektion, während die spektroskopischen Verfahren die UV/Vis-Detektion, die Fluoreszenz- und die Brechungsindex-Detektion umfassen. Eine Besonderheit stellt die Charged Aerosol-Detektion dar (CAD), bei der zwar eine Ladungsdetektion erfolgt – ein Charakteristikum elektrochemischer Detektionsarten – die jedoch in der Gasphase erfolgt. Die wichtigsten Detektionsarten werden nachfolgend vorgestellt.

8.1. Leitfähigkeits-Detektion

Wird das Eluat der Trennsäule ohne Anwendung eines Suppressorsystems direkt in die Leitfähigkeits-Messzelle geleitet, ist das Detektorsignal nicht nur von der Konzentration der Analyt-Ionen, sondern auch von den Äquivalentleitfähigkeiten der Eluent-Kationen und Eluent- und Solut-Anionen sowie vom jeweiligen Dissoziationsgrad der Eluent- und Solut-Ionen abhängig. Die beiden letzten Parameter wiederum sind durch den pH-Wert der mobilen Phase bestimmt. Wichtig ist, dass der Dissoziationsgrad des Elutionsmittels einen signifikanten Einfluss auf das Detektorsignal besitzt. So kann eine Zunahme der Empfindlichkeit mit abnehmendem Dissoziationsgrad des Elutionsmittels abgeleitet werden. Arbeiten von Fritz und Gjerde [51] bestätigten eine deutlich höhere Empfindlichkeit bei reiner Borsäure als Eluent als mit Natriumbenzoat vergleichbarer Elutionskraft. Verwendet man sorgfältig ausgewählte Elutionsmittel wie Phthalat [52] oder Benzoat [53], die über entsprechend niedrige Äquivalentleitfähigkeiten verfügen, ist eine direkte Detektion der Analyt-Ionen möglich. Dies bedeutet eine Zunahme der Leitfähigkeit, wenn ein Solut-Ion die Messzelle passiert. Alternativ hierzu kann ein stark leitendes Elutionsmittel verwendet werden, wobei in diesem Fall die Elution eines Analyt-Ions mit einer negativen Leitfähigkeitsänderung („negative Peaks“) verbunden ist. Anwendung findet diese indirekte Detektionsmethode bei der Trennung von Anionen mit Kaliumhydroxid als Elutionsmittel [54]. Auch die Analyse mono- und divalenter Kationen, für deren Elution verdünnte Salpetersäure, Methansulfonsäure bzw. Salpetersäure/Ethylendiamin-Gemische o.ä. verwendet werden, bedient sich dieser indirekten Detektionsmethode, die bei der Bestimmung von Aminen, deren korrespondierende Basen schwach dissoziiert sind, Vorteile haben kann. Bei Verwendung eines Suppressorsystems wird die beobachtete Empfindlichkeits-

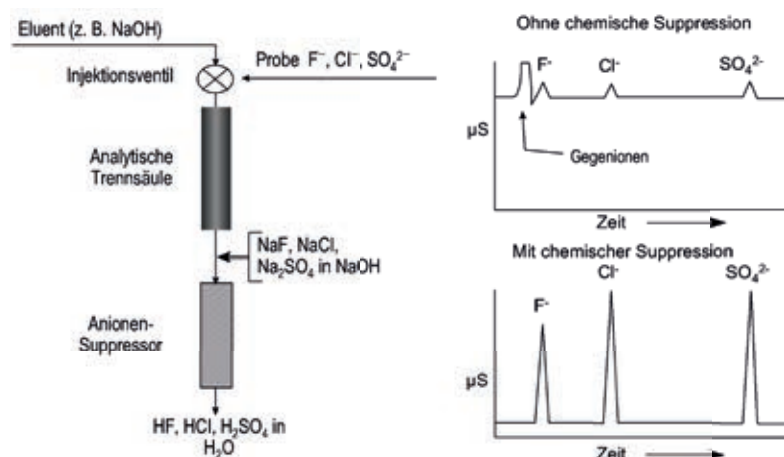
steigerung durch zwei verschiedene Prozesse hervorgerufen. Zum einen wird das Elutionsmittel im Suppressorsystem in eine nur schwach leitende Form überführt, was allein schon eine Steigerung der Empfindlichkeit verursacht. Eine weitere Steigerung der Empfindlichkeit erzielt man durch Umwandlung der Analyte in ihre korrespondierenden Säuren oder Basen. Im Fall einer Anionenanalyse ist die damit verbundene Leitfähigkeitsänderung vor allem auf die Gegenwart der stark leitenden Hydronium-Ionen zurückzuführen. Schließlich sei erwähnt, dass die chemische Suppression in Form von Protonierungsreaktionen auch auf zwitterionische Elutionsmittel anwendbar ist [55, 56].

Bei der direkten Leitfähigkeits-Detektion in der IC ohne Verwendung eines Suppressors (auch SCIC: Single Column Ion Chromatography) muss das verwendete Elutionsmittel eine ausreichend niedrige Eigenleitfähigkeit besitzen, um die Detektion der zu analysierenden Ionen zu ermöglichen. Fritz et al. [57] beschrieben 1979 Anionentrennungen mit Phthalsäure-Eluenten ($c = 0,5 \text{ mmol/L}$), wobei der pH-Wert des Laufmittels zwischen 4 und 6 eingestellt wurde. Die annähernde Neutralisation der Eluenten ist erforderlich, um die Konzentration der H_3O^+ - und OH^- - Ionen mit ihren hohen Äquivalentleitfähigkeiten zu minimieren. Die dennoch erhebliche Grundleitfähigkeit mit Werten zwischen 75 und 200 $\mu\text{S/cm}$ limitiert die Nachweisgrenze und den linearen Arbeitsbereich des Leitfähigkeits-Detektors. Injiziert man beispielsweise eine NaCl-Probe auf eine Anionentrennsäule, so wandert NaCl als diskrete Bande durch das chromatographische System. In einem System ohne Suppressor wird die Leitfähigkeits-Messzelle zum Zeitpunkt der Messung von dem zu bestimmenden Chlorid und vom Elutionsmittel (z. B. Phthalat) durchströmt. Da sich die Äquivalentleitfähigkeiten von Chlorid und Phthalat kaum voneinander unterscheiden, ist die resultierende Leitfähigkeitsänderung sehr klein und somit ist die Empfindlichkeit der sog. Einsäulentechnik gegenüber der Suppressortechnik deutlich geringer. Auch aus diesen Gründen hat die Bedeutung der direkten Leitfähigkeitsmessung sowohl in der Anionen- wie auch Kationenbestimmung deutlich an Bedeutung verloren.

8.1.1. Suppressorsysteme in der Ionenchromatographie

Die Leitfähigkeits-Detektion ist die am häufigsten in der Ionenchromatographie eingesetzte Detektionsmethode [58]. Zur empfindlichen und spezifischen Detektion von Ionen über ihre elektrische Leitfähigkeit ist der Einsatz eines Suppressorsystems unumgänglich. Aufgabe des Suppressorsystems besteht zum einen darin, die hohe Grundleitfähigkeit des als Eluent fungierenden Elektro-

Abb. 67 Die chemische Suppression in der Ionenchromatographie



lyten vor Eintritt in die Detektionszelle auf chemischem Wege zu verringern und zum anderen die zu analysierenden Ionen in eine stärker leitende Form zu überführen, wodurch eine deutliche Steigerung der Empfindlichkeit resultiert (Abbildung 67). Da moderne Suppressoren die Nachweisempfindlichkeit der Leitfähigkeits-Detektion verbessern ohne die Peakform zu beeinträchtigen, werden sie als Teil der Detektionseinheit betrachtet.

Setzt man zur Trennung von Chlorid und Sulfat an einem Anionenaustauscher beispielsweise eine NaOH-Lösung als Eluent ein, erfolgt der Kationenaustausch sowohl für den Eluenten als auch für die nachzuweisenden Anionen unmittelbar vor Eintritt in die Leitfähigkeits-Messzelle. Als Ergebnis der Suppressorreaktion gelangen die korrespondierenden Säuren sowohl der Eluent-Ionen, wie auch der Analyt-Ionen in die Leitfähigkeits-Messzelle. Durch den Kationenaustausch wird die stark dissoziierte NaOH in Wasser überführt, so dass die Grundleitfähigkeit sinkt, und sich der absolute Temperatureinfluss auf die Leitfähigkeits-Detektion minimiert. NaCl und Na₂SO₄ werden in die stark leitenden anorganischen Mineralsäuren (HCl bzw. H₂SO₄) überführt. Die höhere Leitfähigkeit der korrespondierenden Säuren ergibt sich aus der höheren Äquivalentleitfähigkeit der H₃O⁺-Ionen, bzw. im Falle der Suppressionstechnik für Kationen (Überführung der Analyte in ihre korrespondierenden Basen) durch die höhere Äquivalentleitfähigkeit der Hydroxid-Ionen.

$\lambda_0 = 349,8$ für H₃O⁺ gegenüber $\lambda_0 = 50,1$ für Na⁺

$\lambda_0 = 198$ für OH⁻ gegenüber $\lambda_0 = 76$ für Cl⁻

Die niedrige Grundleitfähigkeit und die größeren Analytsignale führen dabei zusätzlich zu einer Verbesserung des Signal/Rausch-Verhältnisses, wodurch niedrige Nachweisgrenzen im untersten µg/L-Bereich erreicht werden. Die Anwendung der Suppressortechnik erhöht zudem die Spezifität des Detektionsverfahrens, da die chemische Modifizierung von Eluent und Probe im Suppressor den unspezifischen Leitfähigkeits-Detektors in einen analytspezifischen überführt [1, 24].

Wie aus Abbildung 67 hervorgeht, werden sämtliche Kationen aus der Probe und dem Elutionsmittel gegen Protonen ausgetauscht. Interferenzen durch Kationen im Bereich des Totvolumens und mögliche Koelutionen von Schwermetallen mit anorganischen Anionen sind daher ausgeschlossen. Auf Grund der Verringerung der Grundleitfähigkeit könnte bei der chemischen Suppression auf eine Thermostatisierung der Leitfähigkeits-Messzelle verzichtet werden, wobei moderne Ionenchromatographen dennoch über eine individuelle Zelltemperatursteuerung verfügen – etwa wenn Trennungen andere Temperaturen als Raumtemperatur erfordern.

Seit 1975 wurden unterschiedliche Suppressor-Typen entwickelt: Beginnend mit den von Small et al. [1] eingeführten diskontinuierlich zu regenerierenden gepackten Suppressorsäulen, über die ersten kontinuierlich regenerierten Hohlfasermembran-Suppressoren, gefolgt von den Mikromembransuppressoren bis hin zu den selbstregenerierenden Suppressoren (Dionex SRS Self-Regenerating Suppressors). Seit der Entwicklung der Kapillar-Ionenchromatographie kommen Dionex CES Capillary Electrolytic Suppressoren zum Einsatz.

8.1.2. Die Entwicklung der Leitfähigkeits-Detektion mit chemischer Suppression

8.1.2.1. Die gepackte Suppressorsäule

Die Mitte der siebziger Jahre von Small et al. [1] entwickelte Suppressorsäule enthielt ein saures Kationenaustauscherharz und wurde zwischen Trennsäule und Leitfähigkeits-Messzelle installiert. Die Dimension dieser Säulen und der jeweiligen Ionenaustauschkapazität waren so gewählt, dass eine möglichst große Anzahl von Analysen möglich war.

Konstruktionsbedingt weisen gepackte Suppressoren jedoch eine Reihe schwerwiegender Nachteile auf, etwa die begrenzte Ionenaustauschkapazität der Suppressorsäule, die die diskontinuierliche Regenerierung erforderlich machte. Das Totvolumen dieser Suppressorsäulen (bis zu 1500 µL) verringert außerdem die chromatographische Effizienz – es resultieren „breitere Peaks“.

Als stark saurer Kationenaustauscher entspricht der Aufbau eines gepackten Suppressors prinzipiell dem von Trennsäulen aus der Ionenausschluss-Chromatographie (ICE). Entsprechend unterliegen die Analyte in einem gepackten Suppressor dem Donnan-Effekt. In den Bereichen der Suppressorsäule, in denen sich der Kationenaustauscher in der Protonenform befindet, können schwache Säuren (HF, HNO₂, und organische Säuren) die sog. Donnan-Membran durchdringen (s. Kapitel Ionenausschluss-Chromatographie) und an der Oberfläche des Harzes zurückgehalten werden [24]; es folgt eine Zunahme der Retentionszeiten. Mit steigendem Erschöpfungsgrad des Kationenaustauschers verringert sich dieser Einfluss, und die Retentionszeiten dieser Verbindungen verkürzen sich [24, 59]. In Abhängigkeit von der sich ändernden Kapazität der eingesetzten Suppressorsäule ändert sich auch die Lage des negativen Wasserpeaks („Wasserdip“), was sowohl die Quantifizierung der Anionen monovalenter organischer Säuren (z. B. Acetat, Formiat) als auch die Bestimmung von Fluorid erschwert [59]. Nitrit unterliegt in gepackten Suppressoren Abbaureaktionen, die eine eindeutige Quantifizierung dieses wichtigen Parameters erschweren [60].

Der 1978 eingeführte Ionenchromatograph Dionex Autolon™ 12 wurde entwickelt, um die geschilderten Probleme durch eine automatisierte Umschaltung zwischen zwei diskontinuierlich regenerierten Suppressorsäulen zu vermindern. Dazu wurden erstmalig kleinere Suppressorsäulen (3 x 150 mm) eingesetzt. Auf Grund der niedrigeren Austauschkapazität und des kleineren Totvolumens wurde eine schnellere Regenerierung nach den jeweiligen Analysenläufen möglich. Es stellte sich heraus, dass nur durch die Regenerierung vor jedem Analysenlauf und durch striktes Einhalten eines festen Zeitplans für Injektion und Regenerierung Retentionszeit-Verschiebungen als Folge von Donnan-Ausschluss-Phänomenen verringert wurden.

In der Routineanwendung stellten sich in der Folge dennoch verschiedene Schwierigkeiten heraus. Bei der Regenerierung gepackter Suppressoren wird der Kationenaustauscher zunächst mit Schwefelsäure gespült, um die Sulfonat-Gruppen vollständig in die Protonenform zu überführen. Anschließend spült man mit deionisiertem Wasser, bevor das System wieder vom Eluenten beschickt wird.

Dabei beobachtet man einen Anstieg der Grundleitfähigkeit, der auf die Verdrängung des Wassers durch den Eluenten zurückzuführen ist. Je nach Volumen des gepackten Suppressors kann diese Drift bis zu 15 Minuten dauern [61]. Obwohl die Leitfähigkeit des Eluenten nach dem Suppressor niedrig ist (bei üblichen $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ -Eluenten zur Anionenaustausch-Chromatographie liegt sie zwischen 14 und 20 $\mu\text{S}/\text{cm}$) macht sich diese Basisliniendrift vor allem bei der Bestimmung niedriger Ionengehalte störend bemerkbar. Bei manueller Umschaltung zwischen den Suppressoren ist zum Erhalt reproduzierbarer Ergebnisse ein strenger Zeitplan für Injektion und Regenerierung erforderlich, da die Austauschkapazität des gepackten Suppressors bereits während der erforderlichen Äquilibrierung im Eluenten sinkt. Die begrenzte Kapazität gepackter Suppressoren erschwert zudem den Einsatz von Eluenten mit höherer Ionenstärke, wie sie unter anderem zur Trennung polyvalenter Anionen, und auch beim Einsatz hochkapazitiver analytischer Ionenaustauscher notwendig sind.

Heute ist es nach der Good Laboratory Practice (GLP) und anderen offiziellen Richtlinien [62-67] erforderlich, bei Veränderungen in einem analytischen System eine Rekalibrierung vorzunehmen. Das Umschalten zwischen gepackten Suppressoren stellt eine solche Systemveränderung dar. Im Grunde entspricht dieser Vorgang sogar dem Ersatz einer Systemkomponente, die nach [24] der Detektionseinheit zugeordnet wird. Strenggenommen ergibt sich daraus die Notwendigkeit, für jeden gepackten Suppressor eine individuelle Kalibrierfunktion zu erstellen. Gepackte Suppressoren unterliegen, ebenso wie Trennsäulen, Alterungserscheinungen, die sich auf Signalform, Grundrauschen und Empfindlichkeit auswirken. Schon 1978 wurde deutlich, dass das zwingend erforderliche Umschaltventil zur periodischen Regenerierung der Suppressorsäulen den Systemaufbau unnötig komplizierte. Insgesamt musste der Anwender in der Anfangszeit der chemischen Suppression den Eluenten, Regeneriermittel und Wasser zum Spülen in separaten Vorratsbehältern und in ausreichender Menge vorhalten. Das ist auch heute noch der Fall, wenn gepackte Suppressoren eingesetzt werden. Anders als bei modernen elektrolytisch regenerierten Suppressoren ergibt sich ein erhöhter Arbeitsaufwand für den Anwender, und zum Teil erhebliche Kosten aus der Summe von Arbeitszeit, Chemikalien- und Entsorgungskosten. Die höheren Entsorgungskosten ergeben sich aus der Verwendung von (1) Eluent, (2) Regenerent (meist H_2SO_4 , mitunter auch komplexe Mischungen von Säuren und organischen Laufmitteln) und (3) demineralisiertem Wasser. Anders bei elektrolytischen Suppressoren (s. Kapitel 8.1.2.4).

Es darf dennoch nicht vergessen werden, dass Suppressorsäulen die Einführung der Ionenchromatographie (IC) vor mehr als 30 Jahren überhaupt möglich machten. Die Einschränkungen gepackter und diskontinuierlich betriebener Suppressoren führten daher bereits Anfang der achtziger Jahre zur Entwicklung neuer Suppressor-Typen, die auf der Verwendung kontinuierlich regenerierter Ionenaustauschmembranen basieren.

8.1.2.2. Hohlfaser-Suppressor

Der erste kontinuierlich regenerierte Membransuppressor wurde bereits 1981 eingeführt. Er bestand aus einer schlauchförmigen, halbdurchlässigen mit Kationenaustausch-Gruppen funktio-

nalisierten Hohlfaser-Membran [68], die im Inneren vom Eluent (z. B. $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$) durchströmt wird. Das Regeneriermittel (H_2SO_4) fließt an der Membran-Außenseite im Gegenstrom. Im Gegensatz zu gepackten Suppressorsäulen wird dieser Suppressor kontinuierlich regeneriert und sichert damit eine langzeitstabile Kalibrierung sowie eine vereinfachte Automatisierung des Ionenchromatographen. Erste Untersuchungen durch Weiß et al. zeigten, dass allein durch den Austausch eines gepackten Suppressors gegen einen Hohlfaser-Membransuppressor deutliche Empfindlichkeitssteigerungen bei der Leitfähigkeits-Detektion (im Durchschnitt mehr als 20 %) erreicht werden konnten [24]. Auf Grund der gleichbleibenden Austauschkapazität treten bei kontinuierlich regenerierten Membransuppressoren keine Donnan-Ausschluss-Phänomene und damit keine Schwankungen der Retentionszeiten auf; die Peakflächen schwacher Säuren, insbesondere Nitrit, bleiben konstant. Da die begrenzte Austauschkapazität dieses Suppressortyps jedoch nur isokratische bzw. einfache Gradientenanwendungen zuließ, wurde durch die steigenden Anforderungen an die Ionenchromatographie die Entwicklung des Mikromembransuppressors erforderlich.

8.1.2.3. Mikromembransuppressor

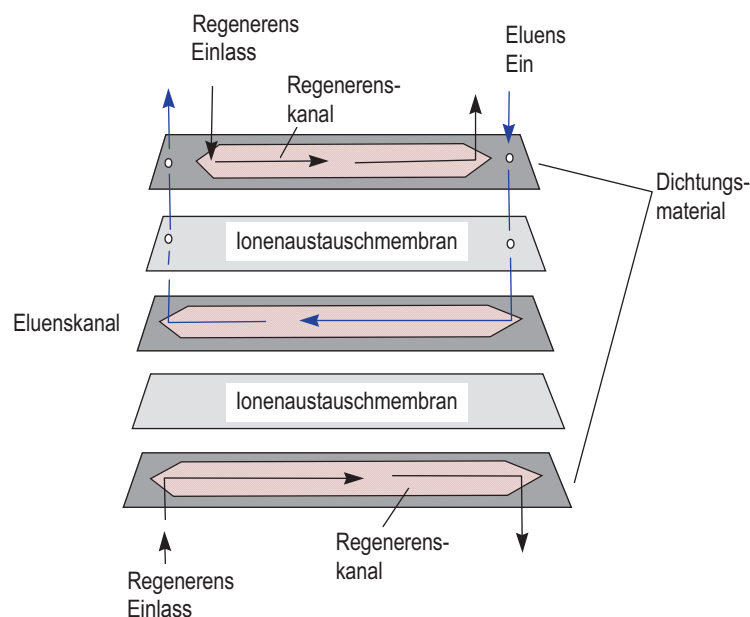


Abb. 68 Schematischer Aufbau eines Mikromembransuppressors

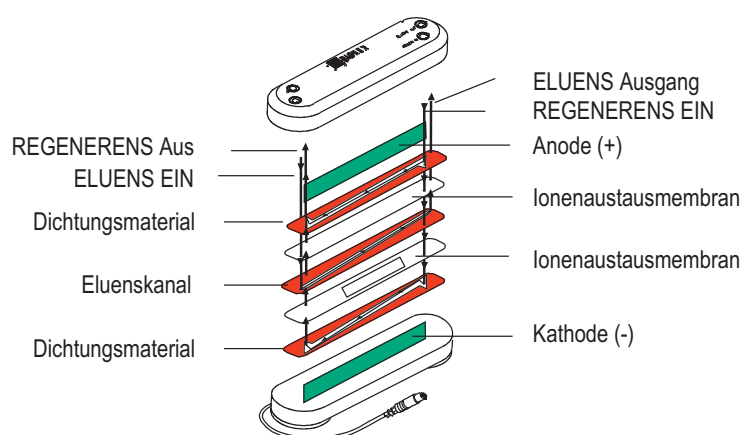
Abbildung 68 zeigt den schematischen Aufbau des ersten Mikromembransuppressors, der 1985 vorgestellt wurde [69]. In einem flachen Gehäuse sind stark sulfonierte Ionenaustausch-Gaze und Ionenaustausch-Membranen im Wechsel angeordnet. Es entstehen zwei äußere Regenerens-Kanäle und ein innerer Kanal, durch den das Elutionsmittel mit den darin gelösten Analyt-Ionen fließt. Das Regeneriermittel wird kontinuierlich, z. B. pneumatisch, im Gegenstrom durch die Regenerens-Kanäle geführt. Durch die Struktur der Gaze werden die Kationen des Elutionsmittels in effizienter Weise zur angrenzenden Membranwand geleitet. Das geringe Innenvolumen von $\leq 50 \mu\text{L}$ minimiert die Peakverbreiterung, so dass erstmalig Trennphasen mit höherer chromatographischer Effizienz eingesetzt werden konnten. Mit der um eine Größenordnung höheren Austauschkapazität

und der kontinuierlichen Regenerierung, d.h. gleichbleibenden Eigenschaften, wurde die Anwendung der Gradientenelution in der Ionenchromatographie auch in der Routine möglich [24, 69]. Besonders hervorzuheben ist die Möglichkeit der Anwendung von Konzentrationsgradienten, bei denen die Ionenstärke in der mobilen Phase während des Gradientenlaufes kontinuierlich erhöht wird. Verwendet man als Elutionsmittel das für die Suppression geeignete NaOH oder $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, bleibt der Basislinienanstieg bei Verwendung manuell angesetzter Eluenten nach Durchgang durch den Mikromembransuppressor auf wenige $\mu\text{S}/\text{cm}$ begrenzt. Bei Einsatz der modernen Reagent-Free™ IC (RFIC™) Systeme, d.h. Ionenchromatographie ohne manuell hergestellte Eluenten, verringert sich der Basislinienanstieg auf Grund der höheren Reinheit der Eluenten nochmals. Elektrolytgehalte bis zu 150 mmol/L NaOH sowie in das Gradientenprogramm integrierte Spülvorgänge mit Elektrolytkonzentrationen größer 150 mmol/L sind ohne spezielle Vorkehrungen einsetzbar. In der Weiterentwicklung dieses Suppressortyps wurden zusätzlich lösemittelstabile Mikromembransuppressoren eingeführt, die den Einsatz organischer Lösemittel in der IC mit der chemischen Suppression erlauben. Organische Lösemittel werden in der IC im Wesentlichen zur Veränderung der chromatographischen Selektivität oder zum Reinigen der Trennsäulen verwendet.

8.1.2.4. Selbstregenerierender Suppressor

Der 1972 eingeführte Dionex SRS Self-Regenerating Suppressor entspricht im Aufbau dem lösemittelkompatiblen Mikromembransuppressor (Abbildung 69). Er enthält zusätzlich zwei Elektroden und weist in der 4-mm-Ausführung ein noch geringeres Innenvolumen von $< 50 \mu\text{L}$ auf [70-72]. Für die 2-mm-Ausführung wird sogar ein Volumen von $< 15 \mu\text{L}$ angegeben [72]. Der Unterschied zwischen einem konventionellen Membransuppressor und einem Dionex SRS Self-Regenerating Suppressor besteht darin, dass die für die kontinuierliche Regenerierung der Membranen benötigten Hydronium- (Dionex ASRS) bzw. Hydroxid-Ionen (Dionex CSRS) in den Regenerenskanälen des Suppressors durch Elektrolyse von Wasser erzeugt werden (Abbildung 70).

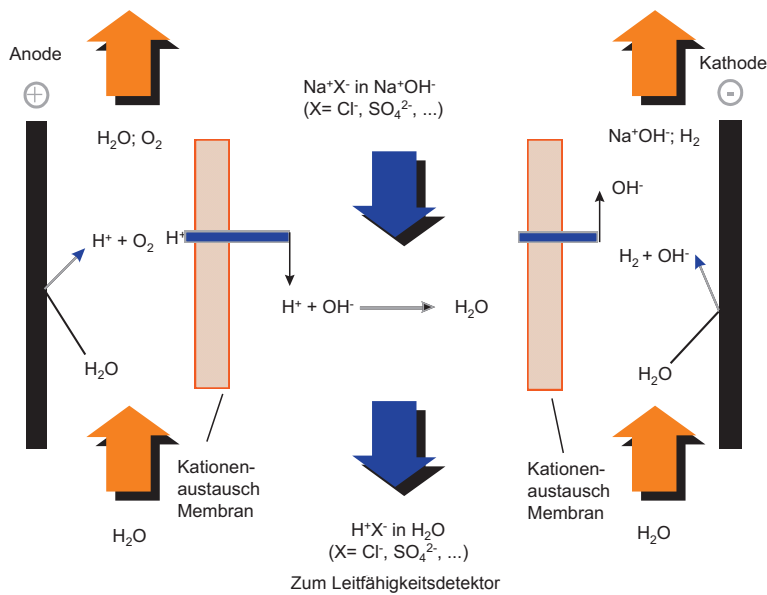
Abb. 69 Schematischer Aufbau eines selbstregenerierenden Suppressors



Dazu wird das neutralisierte, schwach leitende Suppressor-Eluat nach Verlassen des Detektors in den Regenerenskanal des Suppressors zurückgeleitet. Oberhalb und unterhalb der Membranen

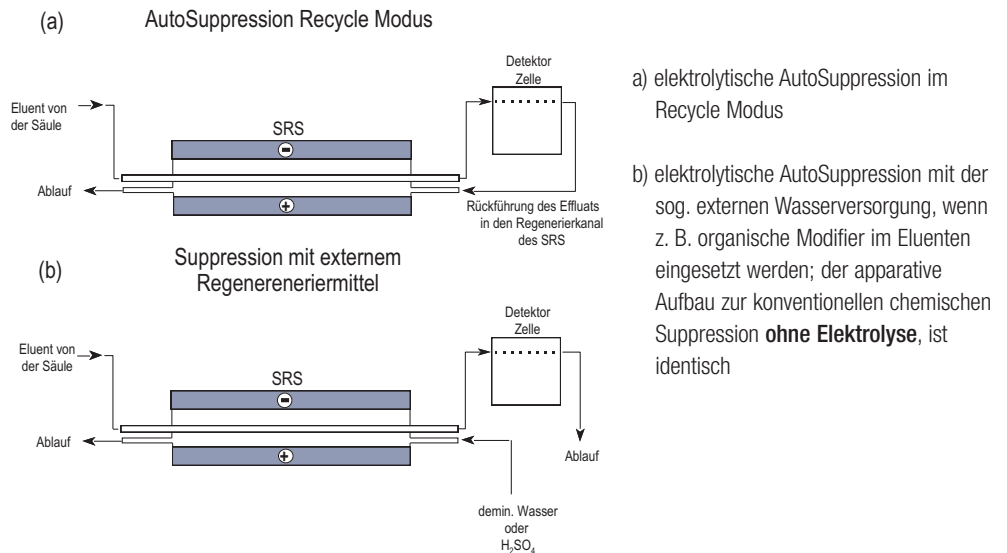
befinden sich Elektroden (Abbildung 69). Bei Stromfluss findet eine Elektrolyse statt, in deren Verlauf die entsprechenden Hydronium- und Hydroxid-Ionen erzeugt werden [70, 71]. Diese Betriebsweise wird als „AutoSuppression Recycle Mode“ – verkürzt auch „AutoSuppressions Modus“ - bezeichnet (Abbildung 71a). In völliger Analogie arbeitet der Dionex CSRS in der Kationenaustausch-Chromatographie. Die in der Kationen-Kammer erzeugten Hydroxid-Ionen migrieren in den Eluent-Kanal des Suppressors, um dort die gewünschten korrespondierenden Basen zu bilden. Im gleichen Zuge wandern die Anionen des Eluenten und die der Analyten in die Anionen-Kammer, bilden die freien Säuren und verlassen das System. Der apparative Aufbau ist in beiden Anwendungsfällen stark vereinfacht, was insbesondere in der Routine die Bedienung des gesamten Ionenchromatographen erleichtert. Externe Regeneriermittel werden nicht mehr benötigt, nur noch das Elutionsmittel muss bereitgestellt werden.

Abb. 70 Schematischer Aufbau eines Mikromembransuppressors (MMS)



Aus der elektrochemischen Betriebsweise der Dionex SRS selbstregenerierenden Suppressoren folgt, dass das Elutionsmittel keine höheren Gehalte an Chlorid und Nitrat enthalten sollte, da die entstehenden Reaktionsprodukte (Chlor, nitrose Gase) die Membranen und das Elektrodenmaterial schädigten. Daher werden die Kationensäulen der Dionex IonPac-Serie bei Einsatz eines Dionex CSRS Cation Self-Regenerating Suppressor im AutoSuppressions Modus mit Methansulfonsäure (MSA) oder Schwefelsäure als Eluent betrieben.

Abb. 71 Verschiedene Regeneriermöglichkeiten der Dionex SRS Self-Regenerating Suppressoren



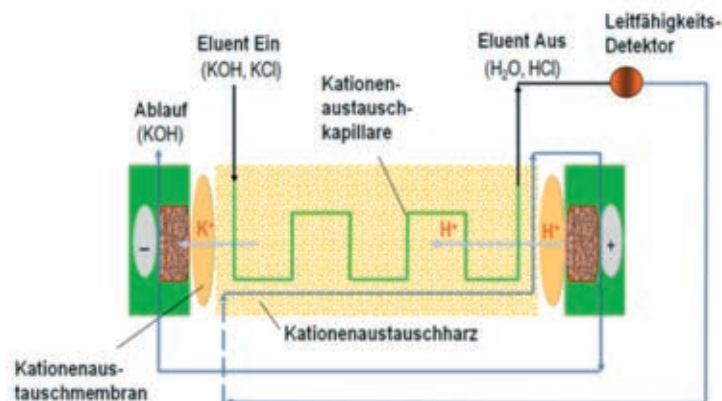
Neben diesem Modus kann ein SRS auch konventionell chemisch mit einem externen Regenerenten (z. B. Schwefelsäure für den Dionex ASRS oder TBAOH für den Dionex CSRS) oder mit elektrolytisch erzeugten Regenerenten – z. B. Protonen oder Hydroxid-Ionen – aus der Elektrolyse von extern bereitgestelltem Wasser (Abbildung 71b) betrieben werden. Die elektrochemischen Vorgänge, im Falle der externen Wasserversorgung, entsprechen den in Abbildung 70 dargestellten Reaktionen. Enthält das Elutionsmittel organische Lösemittel, muss die Regenerierung des Suppressors elektrolytisch (externe Wasserversorgung) oder chemisch ohne Elektrolyse (s.o.) erfolgen.

Zusätzlich kann die kontinuierliche elektrochemische Regenerierung des Dionex CSRS unter Verwendung einer wässrigen Borsäure erfolgen. Insbesondere bei der Bestimmung von Alkyl- und Alkanolaminen kann mit dieser speziellen Regenerierung die Dissoziation der Basen angehoben werden, so dass eine deutliche Empfindlichkeitssteigerung resultiert. Daneben ersetzt Borat auch Hydroxid-Anionen der vollständig dissoziierten Alkali-/Erdalkalimetalle, so dass deren Empfindlichkeit abnimmt. Dieses Verfahren eignet sich daher zur Amin-Bestimmung in Gegenwart hoher Alkali- und Erdalkalimetall-Konzentrationen.

8.1.2.5. Suppressoren für die Kapillar-Ionenchromatographie

Die Dionex CES Capillary Electrolytic Suppressoren sind für typische Flussraten in der Kapillar-IC optimiert (5 - 30 $\mu\text{L}/\text{min}$). Eingesetzt für die Anionen-Analytik erfolgt im Dionex ACES Anion Capillary Electrolytic Suppressor der Austausch der Kationen gegen Hydroniumionen, so dass das Laufmittel – meist KOH – in die korrespondierende, schwach dissoziierte Säure (H_2O) übergeht. Gleichzeitig überführt der Dionex ACES 300 die Analyten in ihre stärker dissoziierte und damit stärker leitende Säureform. In völliger Analogie überführt der Dionex CCES Cation Capillary Electrolytic Suppressor stark dissoziierte Methansulfonsäure-Eluenten (MSA) in Wasser, während für die Analyte die stärker dissoziierten Hydroxide resultieren. Wie üblich in der Suppression zur Leitfähigkeit sinkt in beiden Fällen die Grundleitfähigkeit und die Nachweisempfindlichkeit für die Analyte nimmt zu. Der Dionex CES Suppressor basiert auf einem Dreikammer-Design, um das Totvolumen zu minimieren, die Suppressionskapazität zu maximieren und gleichzeitig das resultierende Basislinienrauschen so niedrig wie möglich zu halten. Die Eluenten-Kammer besteht aus einer Ionenaustauschkapillare, die in ein Ionenaustauschharz eingebettet ist (Abbildung 72).

Abb. 72 Schematischer Aufbau eines Dionex ACES Anion Capillary Electrolytic Suppressors



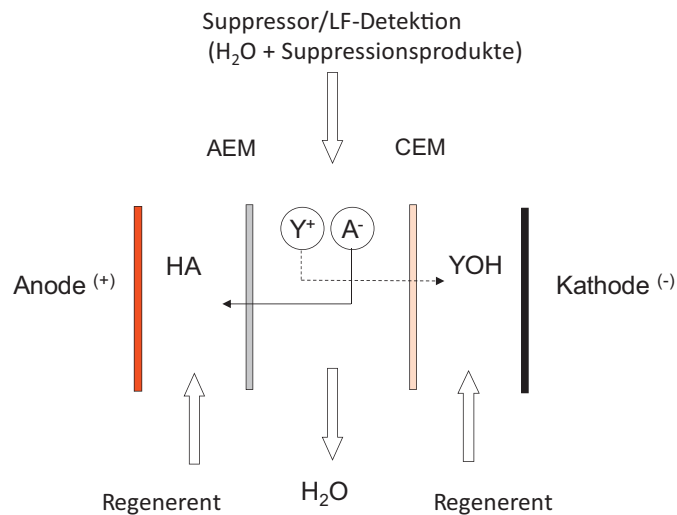
Hieraus resultiert ein effizienter Austausch der Gegenionen mit den Regenerent-Ionen. Die beiden Elektroden-Kammern sind von der Eluenten-Kammer mit Ionenaustauschmembranen getrennt. Das aus dem Eluenten resultierende entsalzte Wasser passiert nach der Eluenten-Kammer die Kathoden- und Anodenkammer nacheinander. Fließt ein Strom zwischen den Elektroden, werden die Regenerent-Ionen in der ersten Elektrodenkammer erzeugt. Diese Ionen migrieren im elektrischen Feld in die Eluenten-Kammer, wodurch das Ionenaustauschharz in der Eluentenkammer in der regenerierten Form erhalten bleibt. So werden die Gegenionen aus dem Eluenten – und die der Analyte – mit den Regenerent-Ionen ausgetauscht. Diese Gegenionen migrieren im elektrischen Feld aus der Eluentenkammer in die zweite Elektroden Kammer, aus der sie nach Neutralisation mit dort gebildeten Ionen eluiert werden.

8.2. Ladungsdetektion (QD)

Im Zusammenhang mit der Leitfähigkeits-Detektion nach Suppression ist die noch neue Ladungsdetektion (QD) zu nennen. Üblicherweise wird dieser Thermo Scientific™ Dionex™ QD Charge Detector in der Kombination mit einem kontinuierlich betriebenen Suppressor und carbonatfreien Eluenten empfohlen und nach der Leitfähigkeitsmesszelle eingebaut.

Das Grundprinzip beruht auf der Erfassung der Gesamtladung dissoziierter Verbindungen. Die Dissoziation wird in einem elektrischen Spannungsfeld unterstützt. In Abbildung 73 ist der vereinfachte Aufbau der Zelle eines Ladungsdetektors dargestellt.

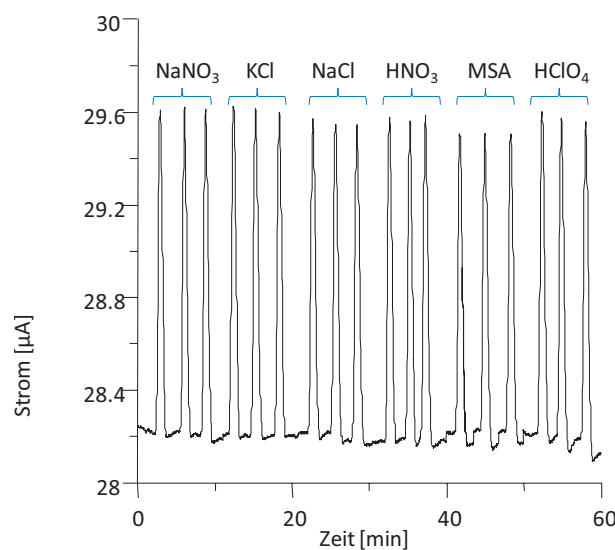
Abb. 73 Vereinfachte Darstellung einer Zelle des Ladungsdetektors (QD)



Es handelt sich um einen Ladungsdetektor im Durchfluss-Design, bestehend aus drei Segmenten: Ein zentraler Kanal, der von zwei äußeren Kanälen durch eine Anionenaustausch- (AEM) und eine Kationenaustauschmembran (CEM) getrennt ist. Diese Kanäle verfügen über unabhängige Ein- und Ausgänge.

Der zentrale Kanal wird vom Effluat nach Suppression und Leitfähigkeits-Detektion durchströmt. In jedem Außenkanal ist eine Elektrode untergebracht. Durchströmt werden diese beiden Kanäle von dem Regenerenten, letztlich das Effluat des QD – hochreines Wasser. Bei einer positiven Spannung zwischen der Elektrode auf der AEM-Seite und der Elektrode auf der CEM-Seite resultiert ein Grundstrom aus dem Transport von H^+ durch die AEM bzw. OH^- durch die CEM. Beide Ionen werden, unterstützt durch das elektrische Feld, aus der Dissoziation von Wasser erzeugt. Gelangt ein Elektrolyt ($Y^+ + A^-$) in den zentralen Kanal, migrieren Anionen und Kationen durch die AEM und CEM zur positiv bzw. negativ geladenen Elektrode und erzeugen einen Ladungsimpuls. Die integrierte Fläche des Stromsignals (in Coulomb, daher auch die Bezeichnung Ladungsdetektion) ist dabei abhängig von verschiedenen experimentellen Variablen. Die wichtigste ist dabei die Verweildauer im zentralen Kanal, und die angelegte Spannung (V). Diese bestimmen den Transport des Elektrolyten zur und durch die Membran. Andere Parameter sind die Anordnung der Elektroden, die Zusammensetzung des durchströmenden Fluides, und die Flussrate durch die äußeren Kanäle. Prinzipiell fungiert dieses Bauteil als „Entsalzer“ und der Entsalzungsprozess beinhaltet den Transport der Anionen bzw. der Kationen aus dem zentralen Kanal durch die entsprechenden Ionenaustauschermembranen zur Anode bzw. der Kathode. Wichtig ist, dass sich bei der Injektion gleicher molarer Mengen verschiedener starker Elektrolyte mit deutlich unterschiedlichen Leitfähigkeiten fast identische Ladungsmengen ergeben (Abbildung 74). In der IC resultieren daraus nahezu identische Kalibrierfunktionen für alle Anionen starker Säuren (Abbildung 75) – eine deutliche Vereinfachung des Kalibriervorganges [73, 74].

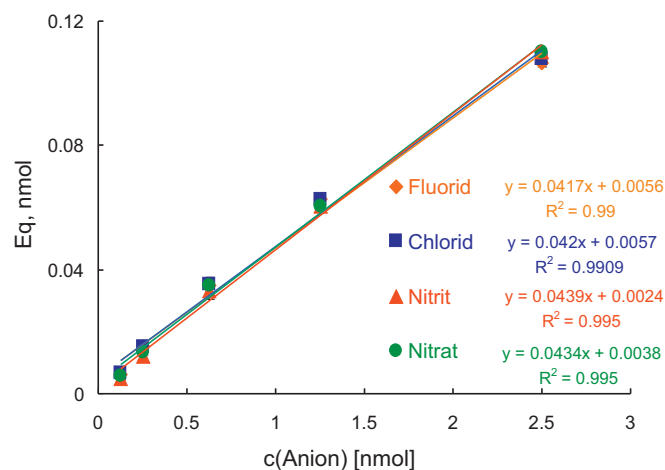
Abb. 74 Fließinjektion unterschiedlicher Elektrolyte. Fließmittel: Wasser; Detektion: Dionex QD Charge Detector [73]



Spezifische Leitfähigkeit

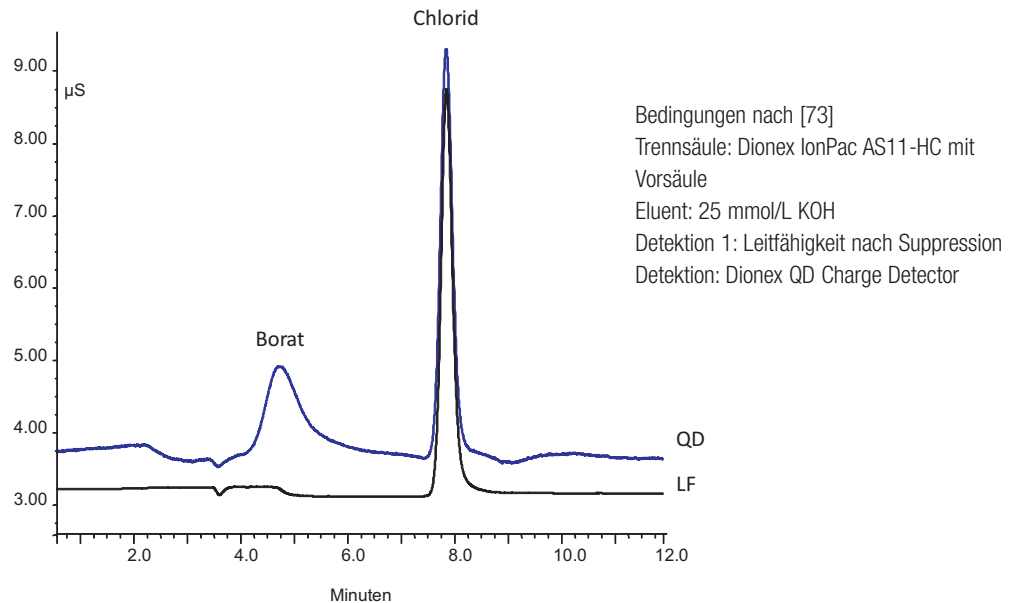
$HNO_3 = 421 \mu S/cm/(mmol/L)$
 $MSA (CH_3SO_3H) = 380 \mu S/cm/(mmol/L)$
 $HClO_4 = 418 \mu S/cm/(mmol/L)$
 $NaNO_3 = 121 \mu S/cm/(mmol/L)$

Abb. 75 Kalibrierfunktionen für starksaure Anionen mit dem Dionex QD Charge Detector [74]



Zudem ergibt sich eine höhere Empfindlichkeit für schwach dissoziierte Verbindungen. Im Gegensatz zum Leitfähigkeits-Detektor, der ausschließlich den dissoziierten Anteil schwach dissoziierter Elektrolyte erfassen kann, wird im Ladungsdetektor das Dissoziationsgleichgewicht kontinuierlich verschoben, so dass sich eine größere Ladungsmenge ergibt und die Empfindlichkeit steigt. Abbildung 76 verdeutlicht diesen Effekt am Beispiel einer Borat-Bestimmung. Während im Leitfähigkeits-Detektor (untere Spur) kein Signal für Borat zu erkennen ist, zeigt der Ladungsdetektor (blaue Spur) einen deutlichen Peak. Ähnliche Effekte sind für organische Säuren und Amine bekannt.

Abb. 76 Ladungsdetektion für schwach dissoziierte Verbindungen nach Anionenaustausch-Trennung



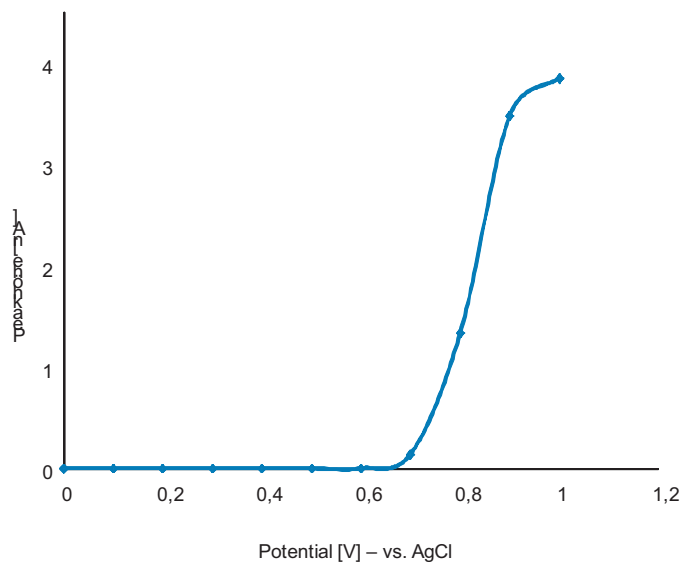
8.3. Amperometrische Detektion

Die amperometrische Detektion wird im Allgemeinen für die Analyse von Ionen mit pK -Werten größer sieben eingesetzt, die auf Grund ihrer geringen Dissoziation über die Leitfähigkeit nicht oder nur sehr unempfindlich detektiert werden können. Bei herkömmlichen amperometrischen Detektoren verwendet man eine Drei-Elektroden-Messzelle, bestehend aus einer Arbeitselektrode, einer Referenzelektrode und einer Gegenelektrode. Passiert eine elektroaktive Substanz die Durchflusszelle, wird sie teilweise (2-5 %) oxidiert oder reduziert. Dabei wird ein anodischer oder kathodischer Strom erzeugt, der über einen bestimmten Bereich der Konzentration dieser Spezies proportional ist und daher als chromatographisches Signal dargestellt werden kann.

Detektoren dieser Art werden für eine Vielzahl anorganischer und organischer Ionen im $\mu\text{g/L}$ -Bereich eingesetzt. Hierzu zählen umweltrelevante Anionen wie beispielsweise Sulfid und Cyanid [75, 76], aber auch Arsen(III) [77], Halogenid-Ionen, Hydrazin und Phenole. Eine Übersicht über elektrochemisch aktive Verbindungen sowie die zu verwendenden Arbeitselektroden und -potentiale ist in Tab. 1 dargestellt. In Abhängigkeit vom pH-Wert des eingesetzten Laufmittels verändern sich die jeweiligen Arbeitspotentiale. Im Falle elektroaktiver Anionen erniedrigt sich das Arbeitspotential sobald der pH-Wert des Eluenten gesenkt wird. In der Regel sind niedrigere Arbeitspotentiale auf Grund der resultierenden höheren Selektivität des Detektionsverfahrens vorteilhaft.

Die Ermittlung des optimalen Potentials in der Gleichstrom-Amperometrie erfolgt durch die Aufnahme eines sogenannten Hydrovoltammogramms. Bei diesem Verfahren bleiben die chromatographischen Bedingungen (Elutionsmittel, Volumenstrom, Injektionsvolumen, Elektrodenmaterial und Trennsäule) konstant, nur das am Detektor eingestellte Arbeitspotential wird vor jeder Injektion (z. B. in 0,1 V Intervallen) verändert. Nach Äquilibrierung des Detektionssystems erfolgt die Injektion einer Lösung, in der die zu bestimmende Verbindung enthalten ist. Die resultierende Peak-Fläche oder Peak-Höhe wird in eine Graphik gegen das bei diesem Experiment verwendete Potential eingetragen. Das für die gewählten chromatographischen Bedingungen optimale Arbeitspotential ergibt sich aus dem sigmoidalen Kurvenverlauf, der für die untersuchte Substanz und die gewählten chromatographischen Bedingungen charakteristisch ist (Abbildung 77). Es ist dann erreicht, wenn bei einer weiteren Erhöhung des Arbeitspotentials keine Zunahme der Peakfläche mehr resultiert – unter Umständen nimmt sie bei höheren Arbeitspotentialen sogar wieder ab.

Abb. 77 Hydrovoltammogramm zur Bestimmung des optimalen Arbeitspotentials von Nitrit in eine NaCl-Lösung



In einigen Fällen ist eine Serienschaltung des amperometrischen und des Leitfähigkeits-Detektors denkbar, um eine simultane Detektion elektroaktiver und elektroinaktiver Spezies zu erzielen. Zu diesem Zweck muss die Messzelle des amperometrischen Detektors entweder zwischen Trennsäule und Suppressorsystem eingebaut werden, oder der Fluss wird nach der Trennsäule geteilt (gesplittet), so dass beide Detektoren versorgt werden. Für die amperometrische Detektion ist ein Grundelektrolyt erforderlich, um durch das Herabsetzen des Widerstandes der Lösung dafür zu sorgen, dass der Spannungsabfall klein gehalten wird. Des Weiteren verhindert das Vorhandensein des Grundelektrolyten, dass die Depolarisatoren, d.h. die Anionen oder Kationen, die bei ihrer Reduktion oder Oxidation Elektronen aufnehmen oder abgeben, durch Wanderung im Gefälle des elektrischen Potentials (Überführung) zur Elektrode gelangen. Aus diesem Grund sollte die Konzentration des Grundelektrolyten etwa 50 bis 100 mal größer sein als die der Depolarisatoren [79].

Tab. 1 Übersicht über elektroaktive Verbindungen und die zu verwendenden Arbeitselektroden und -potentiale

Verbindung	Arbeitselektrode	Arbeitspotential [V]
HS ⁻ , CN ⁻	Ag	0
Br ⁻ , SCN ⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻	Ag	0,2
NO ₂ ⁻	GC	1
Cl ⁻	Ag	0,26 (pH des Eluens < 2) [78]
I ⁻	Pt	0,8 - 1
	Ag	0,05
SO ₃ ²⁻	Pt	0,7
OCl ⁻	Pt	-0,2
ClO ₂ ⁻	Pt	0,95
	GC	0,4 - 1 (in Abhängigkeit vom pH des Eluens)
N ₂ H ₄	Pt	0,5
Alkohole, Glykole, Aldehyde	Pt	0,2*
Catecholamine	GC	0,6 - 1,2
Phenole	GC	1,2
Amine	Au	0,5*, 0 - 1,0**
Aminosäuren	Au	-1,7 - 1,0**
Zucker und Zuckeralkohole	Au	0 - 0,05*
org. Schwefelverbindungen	Au	0 - 1,1**

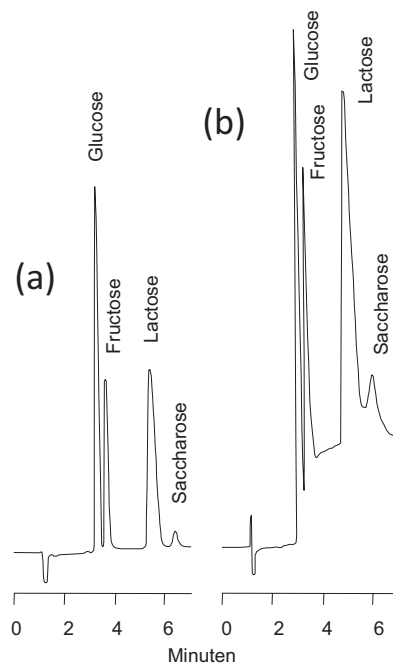
ohne Markierung: Gleichstrom-Amperometrie

* gepulste Amperometrie, ** integrierende Amperometrie

8.3.1. Gepulste Amperometrie (Pulsed Amperometric Detection PAD)

Die amperometrische Detektion elektroaktiver Spezies setzt voraus, dass sich die Reaktionsprodukte aus der Oxidation oder Reduktion der Soluten nicht an der Elektrodenoberfläche niederschlagen. Kontaminierte Elektroden ändern ihre Oberflächencharakteristik, wodurch in der chromatographischen Anwendung eine verstärkte Basisliniendrift, höheres Grundrauschen und sich ändernde Ansprechempfindlichkeiten resultieren. Dieses Verhalten ist besonders ausgeprägt bei der amperometrischen Detektion von Kohlehydraten. Die gepulste amperometrische Detektion dagegen verwendet in rascher, sich wiederholender Reihenfolge drei verschiedene Arbeitspotentiale, E1, E2 und E3, die für die Zeiten t_1 , t_2 und t_3 in Inkrementen von 60 ms angelegt werden können. Im Gegensatz zur herkömmlichen Amperometrie wird der resultierende Strom nur in kurzen Zeitintervallen gemessen. Durch Anlegen eines weiteren positiveren und negativeren Potentials können oxidierbare und reduzierbare Reaktionsprodukte von der Elektrodenoberfläche entfernt werden. Der Vorteil dieser Technik ist aus Abbildung 78 ersichtlich, in der beide Anwendungsformen der amperometrischen Detektion am Beispiel der chromatographischen Zuckertrennung in einer Schokoladenmilch gegenübergestellt sind. Die für die Analyse von Kohlehydraten erforderlichen Arbeitspotentiale werden mit der cyclischen Voltammetrie ermittelt. Die entsprechende Pulssequenz ist in Abbildung 79 dargestellt.

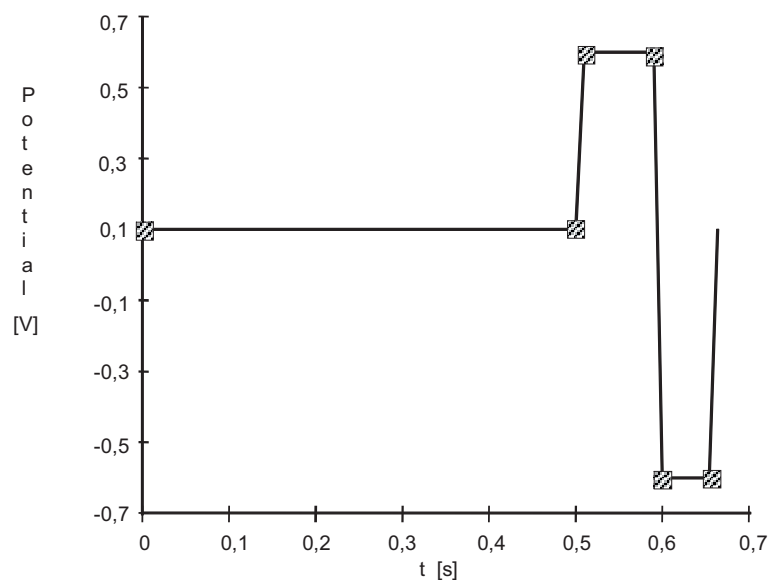
Abb. 78 Trennung von Monosacchariden in einer Schokoladenmilch unter Verwendung eines Latex-Anionenaustauschers



- a) mit gepulster amperometrischer Detektion an einer Au-Arbeitsselektrode
 b) mit Gleichstrom-Amperometrie (Anlegen eines festen Arbeitspotentials)

Mit dieser Potentialsequenz können nicht nur Kohlehydrate und einige Aminosäuren, sondern auch organische Schwefelverbindungen detektiert werden, sofern diese über ein freies Elektronenpaar am Schwefel verfügen. Empfehlenswerte Informationen zur Wahl geeigneter Potentialsequenzen (Langzeitstabilität, Empfindlichkeit) und Eluenten finden sich in [80, 81]. Mit dem gepulsten amperometrischen Detektor (PAD) [82] lassen sich darüber hinaus kurzkettige Aldehyde sowie ein- und mehrwertige Alkohole detektieren. Für den PAD stehen vier verschiedene Arbeitselektroden zur Verfügung: Eine Gold-, Platin-, Silber- und Glassy Carbon-Elektrode. Das Auswechseln der Elektrode wird durch die Bauart der Messzelle wesentlich erleichtert. Diese besteht aus zwei Hälften, die durch eine Dichtungsscheibe miteinander verbunden sind. Während die eine Hälfte die Referenzelektrode mit den Kapillaranschlüssen enthält, ist in der zweiten die Arbeitselektrode integriert. Dieser zweite Zellblock lässt sich als Ganzes austauschen. Als Gegenelektrode fungiert der gesamte Edelstahlkörper der Messzelle. Neuere Entwicklungen bedienen sich sogenannter Folienelektroden (engl.: Disposable Electrodes) als Arbeitselektrode. Hierbei wird das Elektrodenmaterial auf einen dünnen polymeren Träger aufgebracht und kann bei Verschleiß einfach ausgetauscht werden. Im Gegensatz zu den konventionellen Stabelektroden entfällt das Polieren und Rekonditionieren einer gealterten Elektrode – der Anwender tauscht lediglich die Folienelektrode aus. [83 - 85].

Abb. 79 Potentialsequenz an einer Au-Arbeitsselektrode für die Detektion von Kohlehydraten



8.3.1.1. Integrierende Amperometrie (IPAD)

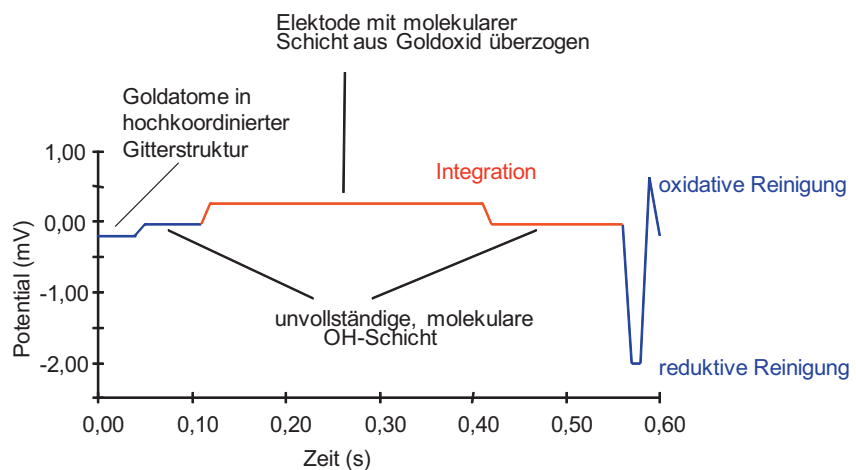
Die integrierende Amperometrie (Integrated Pulsed Amperometric Detection IPAD) ist eine erweiterte Anwendungsform der PAD. Sie beinhaltet nicht nur drei, sondern mehr Potentialniveaus, die bei der Detektion unterschiedliche Funktionen besitzen können.

Die IPAD wird unter anderem zur Detektion von Aminen eingesetzt, da die Bildung einer Oxidschicht auf der Elektrode deren Oxidation katalysiert. Das durch die Bildung der Oxidschicht entstehende Grundrauschen kann durch eine geeignete Potentialkurve minimiert werden. Dies geschieht, indem der Strom während der Potentialänderung zur Metalloxidbildung und bei der umgekehrten Reaktion, der Reduktion des Oxids zum Metall, integriert wird. Ohne den Einfluss der Analyten ist die Ladungssumme im Idealfall dann gleich Null. Diese elektrochemischen Vorgänge sind pH-abhängig. Erstreckte sich die Integration des resultierenden Stromes nicht über die Reduktion des Goldoxids, beobachtete man bei der Gradientenelution mit NaOH zusätzlich eine Drift der Basislinie. Die Potentialssequenz der IPAD minimiert demzufolge den Einfluss des pH-Werts auf das Grundsignal. Abbildung 80 zeigt die Potentialssequenz zur Aminosäure-Bestimmung als ein repräsentatives Beispiel für die integrierende Amperometrie. Auch hier dienen positive und negative Potentiale nach der eigentlichen Messung zur Reinigung der Elektrodenoberfläche [86 - 88].

8.3.2. Detektion von Aminosäuren

Zur Bestimmung der Aminosäuren dient ebenfalls Gold als Arbeitselektrode. Es zeigt in alkalischem Medium eine bemerkenswerte Vielfalt der Oberflächenbeschaffenheit bei verschiedenen Potentialen.

Abb. 80 Graphische Darstellung der Potentialssequenz zur Aminosäure-Detektion



Wie Abbildung 80 zeigt, nutzt man bei der elektrochemischen Detektion der Aminosäuren diese Eigenschaft. Die Goldatome der Arbeitselektrode bilden bei definierten negativen Potentialen ein hoch koordiniertes Atomgitter schon zu Beginn der Pulssequenz. Vorhandene Aminosäuren werden an der Goldoberfläche adsorbiert, ohne eine weitere Reaktion einzugehen. Im zweiten Schritt der Potentialssequenz entwickelt sich an der Oberfläche eine durchbrochene, molekulare Schicht

aus OH-Radikalen. Hydroxyaminosäuren und Kohlehydrate werden oxidiert, verbleiben jedoch an der Elektrodenoberfläche. Beim dritten Potentialniveau entsteht eine Schicht aus Goldoxid, die im vierten Schritt komplett reduziert wird. Diese Oxidschicht katalysiert die Oxidation der Aminogruppe. Aminosäuren ohne Hydroxygruppe können also nur im dritten Schritt umgesetzt werden. Durch die Oxidation der Verbindungen ergibt sich ein messbarer Oxidationsstrom, der zur Aufzeichnung des Chromatogramms genutzt wird. Am Ende des vierten Schritts verbleiben die meisten Reaktionsprodukte an der Elektrodenoberfläche. Ohne weitere Potentialstufen nähme die Empfindlichkeit der Elektrode im Laufe der Zeit kontinuierlich ab. Daher schließen sich zur Reinigung der Oberfläche reduktive und oxidierende Potentiale an. Der letzte Schritt der Pulssequenz ist die Rückkehr zum Ausgangspotential. An der gereinigten Elektrode bilden die Goldatome wieder ein hoch koordiniertes Gitter und die Potentialsequenz kann erneut gestartet werden. Die beschriebenen Vorgänge laufen in weniger als einer Sekunde ab, so dass eine Datenaufnahmefrequenz von etwa 1 Hz an der verwendeten Auswerteeinheit eingestellt werden kann [88].

8.4. UV/Vis-Detektion

Die UV-Detektion besitzt in der IC im Gegensatz zur RPLC eine geringere Bedeutung, wird aber als willkommene Ergänzung vor allem zur Leitfähigkeits-Detektion eingesetzt. Bei der UV-Detektion erweist es sich als Nachteil, dass ein großer Teil anorganischer Ionen nicht über entsprechende Chromophore verfügt und daher erst bei Wellenlängen kleiner 220 nm absorbiert [89].

Große Bedeutung erlangte die direkte UV-Detektion bei der Bestimmung von Nitrit und Nitrat [90 - 93] sowie Bromid und Iodid in Gegenwart hoher Chlorid-Mengen. Bestimmungen dieser Art können in allen salinaren Proben wie Körperflüssigkeiten, Meerwasser, Fleisch-, Wurst- und Tabakwaren usw. durchgeführt werden.

Eine der wichtigsten Anwendungen der UV/Vis-Detektion ist die photometrische Bestimmung nach Derivatisierung des Säuleneffluats. Hierzu zählt in erster Linie die Bestimmung von Übergangs- und Schwermetallen nach Reaktion mit 4-(2-Pyridylazo)resorcin (PAR). Die an einem Ionenaustauscher als Oxalat- oder PDCA-Komplexe (PDCA: Pyridin-2,6-dicarbonsäure) getrennten Metallionen werden zu diesem Zweck mit dem PAR-Reagenz vermischt und bilden Chelat-Komplexe, die im Wellenlängenbereich zwischen 490 nm und 530 nm absorbieren. Das Reagenz kann dabei auf verschiedene Weise gefördert werden. Eine pulsationsfreie Förderung erzielt man auf pneumatischem Wege, indem das unter Druck stehende Reagenz durch eine Kapillare dem Säuleneffluat zugeführt wird. Alternativ kann auch eine Pumpe mit entsprechender Pulsdämpfung eingesetzt werden. Die Umsetzung mit dem Reagenz erfolgt üblicherweise in einer entsprechend dimensionierten Reaktionsschleife.

Ein außerordentlich selektives Reagenz für Chrom(VI) ist 1,5-Diphenylcarbazid (DPC), das in stark saurer Lösung mit Dichromat eine analytisch verwertbare Innerkomplexverbindung bildet. Ähnlich den Schwermetall-PAR-Komplexen ist diese rotviolett gefärbt und kann demzufolge bei einer Wellenlänge von 520 nm vermessen werden.

Auch für die Bestimmung von Aluminium ist eine Nachsäulenderivatisierung mit anschließender photometrischer Detektion entwickelt worden. Aluminium wird dabei an einem Kationenaustauscher getrennt und anschließend mit dem Dinatriumsalz der 4,5-Dihydroxy-1,3-benzoldisulfonsäure (Tiron) umgesetzt. Der resultierende Komplex kann bei 313 nm detektiert werden. Für die Analyse von polyvalenten Anionen wie Polyphosphaten, Polyphosphonaten und Komplexonen (α -Aminocarbonsäuren) wird nach deren Trennung mit der Anionenaustausch-Chromatographie Eisen(III)nitrat in saurer Lösung als Reagenz verwendet [24]. Die Reaktion dieser Verbindungen mit Eisen(III) ruft eine bathochrome Verschiebung der Grundabsorption bis in den Wellenlängenbereich zwischen 310 nm und 330 nm hervor. Die Derivatisierung für NTA, EDTA und DTPA kann zudem im Sinne einer Nachsäulenreaktion [24, 94], mit Vorsäulenderivatisierung [95] und selbst „on-column“ [96] durchgeführt werden.

Phosphorhaltige Komplexbildner können mit einem von Vaeth et al. [97] vorgestellten Verfahren selbst in komplexen Matrices selektiv und sicher bestimmt werden. Bei diesem Verfahren werden Polyphosphate und Polyphosphonate in einem ersten Schritt zu Orthophosphat hydrolysiert und dann mit Molybdat/Vanadat-Reagenz zu der bekannten Phosphorvanadatomolybdänsäure umgesetzt, deren Absorption bei 410 nm gemessen wird.

Schließlich sei auf das sehr selektive Verfahren der Nachsäulenderivatisierung von Erdalkalimetallen mit Arsenazo I (Neothorin; 2-Arson-benzolazo-2'-chromotropsäure-dinatriumsalz) hingewiesen, das sich vor allem für die Bestimmung dieser Elemente bei hohem Überschuss an Alkalimetallen eignet [98]. Arsenazo I bildet mit Erdalkalimetallen rotviolette Komplexe, die bei einer Wellenlänge von 570 nm absorbieren. Es kann auch als Derivatisierungsreagenz für die Analyse von Lanthaniden herangezogen werden. Zwischenzeitlich ist ein einfacheres Verfahren zur Bestimmung der Erdalkalimetalle in Gegenwart hoher Mengen an Alkalimetallen anwendbar. Dieses beruht auf der selektiven Abtrennung der einwertigen Metalle an einer Thermo Scientific™ Dionex™ MetPac-CC1 Chelating Column Anreicherungsphase. An diesem Polymermaterial, einem immobilisierten Iminodiacetat, zeigen im Wesentlichen mehrfach geladene Kationen stärkere Wechselwirkungen, so dass der Überschuss der monovalenten Kationen abgetrennt wird. Die so vereinfachte Probe wird an einer geeigneten Kationentrennsäule (Dionex IonPac CS12A) chromatographiert, wobei die Leitfähigkeits-Detektion in Verbindung mit der Suppressionstechnik eingesetzt wird. Bei diesem Verfahren ist die Kontrolle des pH-Wertes der auf die Dionex MetPac-CC1 Chelating Column injizierten Probe erforderlich [99, 100].

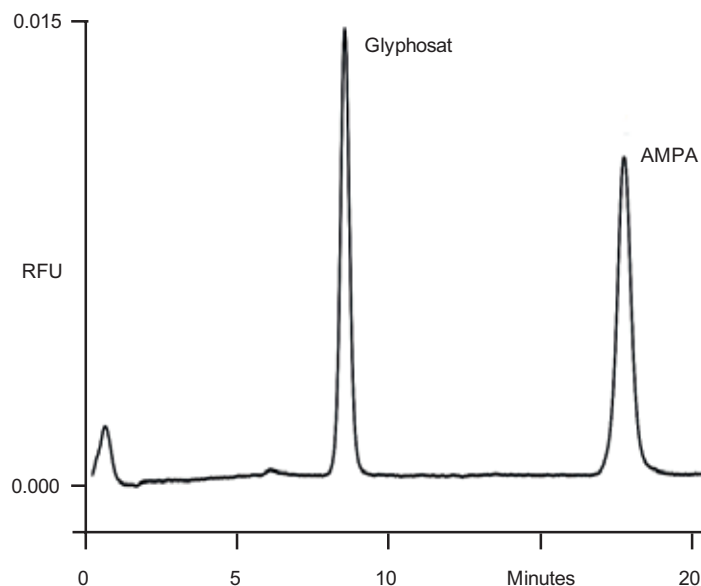
Die UV-Detektion ist auch auf indirektem Wege möglich. Bei der von Small et al. [101] eingeführten indirekten UV-Detektion verwendet man ein UV-absorbierendes Elutionsmittel, um UV-transparente Ionen zu bestimmen. Im resultierenden Chromatogramm beobachtet man demzufolge negative Signale, die jedoch konventionsgemäß in der Regel mathematisch invertiert werden. Zur Analyse anorganischer Anionen über die indirekte UV-Detektion verwendet man auf Grund der hohen Lichtabsorption häufig aromatische Carbonsäuren als Elutionsmittel. Bei der Auswahl geeigneter Elutionsmittel müssen sowohl chemische als auch photometrische Eigenschaften der in Frage kommenden Eluent-Ionen berücksichtigt werden. Die Kenntnis der Absorptionseigenschaften der organischen Säure sowie der Abhängigkeit ihres Dissoziationsgrades vom pH-Wert der mobilen Phase ist für den erfolgreichen Einsatz der Methode von Bedeutung. Die Messwellenlänge hat

naturgemäß einen direkten Einfluss auf die Empfindlichkeit der Detektion. Nimmt der molare Extinktionskoeffizient des Eluent-Ions durch Änderung der Messwellenlänge zu, erhöht sich die Empfindlichkeit der Detektion, da die Extinktionsdifferenz bei gleicher Eluent-Ionen-Konzentration zunimmt. Die höchste Empfindlichkeit erhält man somit im Wellenlängenbereich des Absorptionsmaximums des verwendeten Eluent-Ions. Zwar ist die indirekte photometrische Detektion gegenüber der direkten Leitfähigkeits-Detektion (ohne Suppressor) empfindlicher, im Vergleich zur Leitfähigkeits-Detektion mit Suppressortechnik hingegen ist sie jedoch deutlich unempfindlicher. Die indirekte photometrische Detektion wird daher bevorzugt für die Bestimmung von Hauptkomponenten eingesetzt, um eine starke Verdünnung der Proben zu vermeiden.

8.5. Fluoreszenz-Detektion

Die Fluoreszenz-Detektion wird in der IC überwiegend in Verbindung mit einer Nachsäulenderivatisierung angewendet, da zumindest anorganische Anionen und Kationen mit Ausnahme des Uranyl-Kations und Ce(III) nicht fluoreszieren. Das wohl bekannteste und am häufigsten eingesetzte Fluoreszenzverfahren ist 1973 von Roth und Hampai [103] zur Detektion primärer Aminosäuren entwickelt worden. Es basiert auf der Reaktion von α Aminosäuren mit *o*-Phthaldialdehyd (OPA) und 2-Mercaptoethanol zu einem intensiv blau fluoreszierenden Komplex. Bei einer Anregungswellenlänge von 340 nm und einer Emissionswellenlänge von 455 nm können mit diesem Verfahren Aminosäuren im unteren pmol-Bereich nachgewiesen werden.

Abb. 81 Kationaustauschtrennung von Glyphosat und AMPA mit anschließender Nachsäulenderivatisierung und Fluoreszenz-Detektion [102]



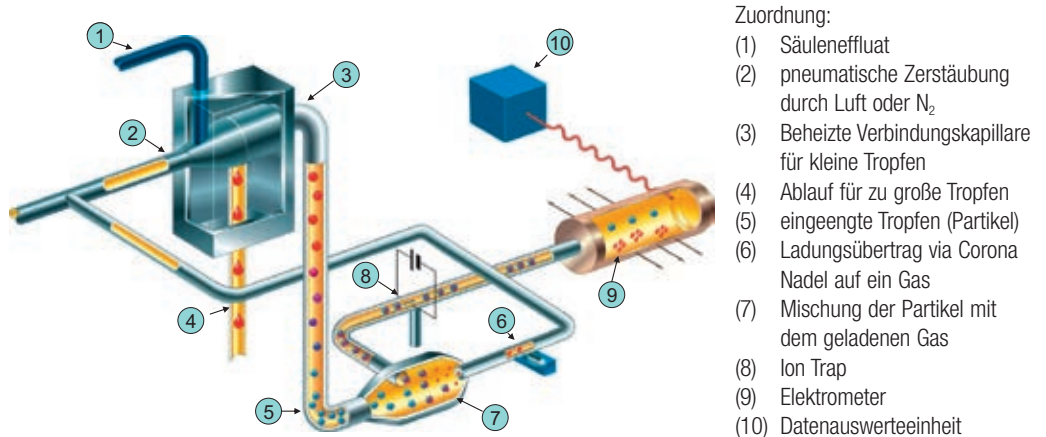
Die Derivatisierung mit OPA lässt sich darüber hinaus auf alle Verbindungen mit einer primären Aminogruppe anwenden. Hierzu gehören u.a. das Ammonium-Ion, primäre Amine, Polyamine und Peptide. Sekundäre Amine können durch eine zweistufige Derivatisierung und anschließende Fluoreszenz-Detektion erfasst werden. Dies sei am Beispiel eines Herbizids – dem Glyphosat [N-(Methylphosphono)-glycin] – veranschaulicht, das nach Trennung an einem Kationenaustauscher mit Hypochlorit oxidiert und anschließend mit OPA/Thiofluor umgesetzt wird. Wie aus dem

zugehörigen Chromatogramm in Abbildung 81 ersichtlich, wird der Hauptmetabolit des Glyphosats – die Aminomethanphosphonsäure (AMPA) – im gleichen Lauf miterfasst. Erwähnenswert ist schließlich die indirekte Fluoreszenz-Detektion (IFC) von Alkali- und Erdalkalimetallen. In Analogie zur indirekten photometrischen Detektion bedient man sich dabei eines Elutionsmittels mit hoher Grundfluoreszenz, die bei Elution eines Solut-Ions herabgesetzt wird. Als Elutionsmittel eignet sich beispielsweise eine wässrige Cer(III)-Lösung, die nach Danielson et al. [104, 105] zur Elution von Alkalimetallen und Ammonium herangezogen werden kann. Auch wenn die mit diesem Detektionsverfahren für monovalente Kationen erzielten Nachweisgrenzen im untersten $\mu\text{g/L}$ -Bereich mit denen anderer Detektionsverfahren wie beispielsweise der indirekten Leitfähigkeits-Detektion durchaus vergleichbar sind, ist die höhere Spezifität der IFC bei Proben mit komplexer Matrix von Vorteil. Dies gilt auch für die indirekte Fluoreszenz-Detektion von Erdalkalimetallen, die von Bächmann et al. [106] beschrieben wurde.

8.6. Charged Aerosol Detection (CAD)

Mit der Charged Aerosol Detection (CAD) (Abbildung 82) steht eine zusätzliche Detektionsart in der analytischen Chromatographie zur Verfügung.

Abb. 82 Prinzipieller Aufbau eines Diones Corona Charged Aerosol Detektors



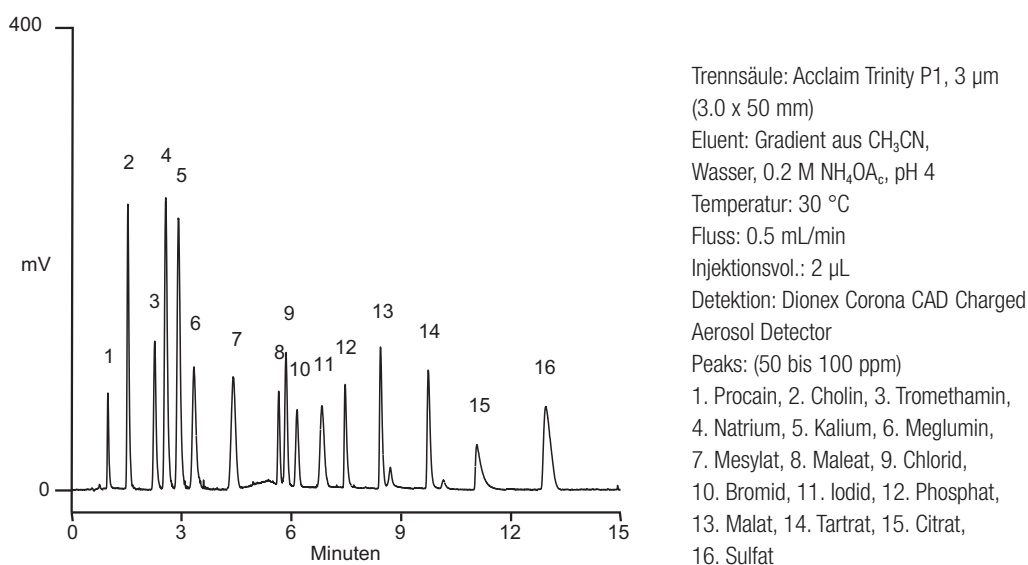
Nach der Trennung wird der HPLC oder Eluent in den CAD geleitet, wo er mit einem Trägergas, üblicherweise Stickstoff, zerstäubt wird. Dieses Gas fließt coaxial zur mobilen Phase und es entstehen kleine Tropfen. Nach der Zerstäubung gelangen die Tropfen in eine beheizte Verbindungskapillare, in der der Eluent verdampft und nicht flüchtiges Material aus dem Eluenten und der Analyten in der Gasphase verbleibt. Die Detektion des sich ergebenden Aerosols erfolgt nach dem Übertrag elektrischer Ladung auf das Aerosol mit anschließender Ladungsdetektion in einem Elektrometer [107]. Unter normalen Betriebsbedingungen ist der Ladungsübertrag auf die Partikel im Wesentlichen durch die Partikelgröße, nicht durch dessen Zusammensetzung, bestimmt [108, 109]. Nach Dixon und Peterson [110] ergibt sich eine maximale Empfindlichkeit pro Partikelmasse bei einem Partikeldurchmesser von 10 nm. Der Betrieb eines Thermo Scientific™ Dionex™ Corona™ CAD Charge Aerosol Detector ist vergleichsweise einfach und erfordert meist nur die Kontrolle des Gaseinlassdrucks und der Einstellung der Signalausgabeeinheit. Im Vergleich zum

Evaporative Light Scattering Detector ELSD zeichnet sich der Dionex Corona CAD durch eine 10-fach höhere Empfindlichkeit aus [109]. Einen detaillierten Überblick über die Funktionsweisen der Charged Aerosol Detection geben Vehovec und Obreza in [111].

Mit dem Dionex Corona CAD Charged Aerosol Detector können demnach Komponenten mit einem geringen Dampfdruck nachgewiesen werden. Unter isokratischen Elutionsbedingungen ergeben sich sehr ähnliche Ansprechfaktoren für die meisten Komponenten, die sich häufig nur im Bereich von $\pm 10\%$ unterscheiden. Unter einfachen Gradientenbedingungen verändert sich die Zusammensetzung der mobilen Phase und damit ihre Verdampfbarkeit – es ergeben sich unterschiedliche Responsefaktoren.

Dieser Effekt wird durch das Prinzip des sogenannten inversen Gradienten kompensiert. Hierbei wird dem Effluat der Trennsäule vor der Detektion mit einer zweiten Pumpe ein Laufmittelgemisch zugegeben, so dass die Zusammensetzung der mobilen Phase während des Analysenlaufes konstant gehalten wird. Es resultiert zwar eine Verdünnung des Säuleneffluates und damit eine Abnahme der Empfindlichkeit des Gesamtverfahrens, doch wird dieser Ansatz immer dann verfolgt, wenn sich die Notwendigkeit der Quantifizierung unbekannter Verbindungen – etwa im Bereich der pharmazeutischen Entwicklungsanalytik – ergibt. Untersuchungen zeigten, dass dieses Verfahren quasi uniforme Empfindlichkeit mit einer Abweichung im einstelligen Prozentbereich ergeben [112].

Abb. 83 Trennung pharmazeutischer Gegenionen (Anionen & Kationen) mit Charged Aerosol Detektion



Im Bereich der Gegenionenanalyse kommt der Dionex Corona CAD Charged Aerosol Detektor zum Einsatz. Kombiniert mit der Dionex Acclaim Trinity Säule (s. Kapitel 7.2) ist so die Bestimmung von Anionen, Kationen und nicht geladenen Verbindungen in einem Lauf möglich. Im Vergleich zur Leitfähigkeits-Detektion mit Suppressionstechnik ist die CAD deutlich unempfindlicher, allerdings erlaubt sie die Detektion einer Vielzahl unterschiedlicher Komponenten in einem Lauf und erweitert die Möglichkeiten im chromatographischen Analytelabor erheblich.

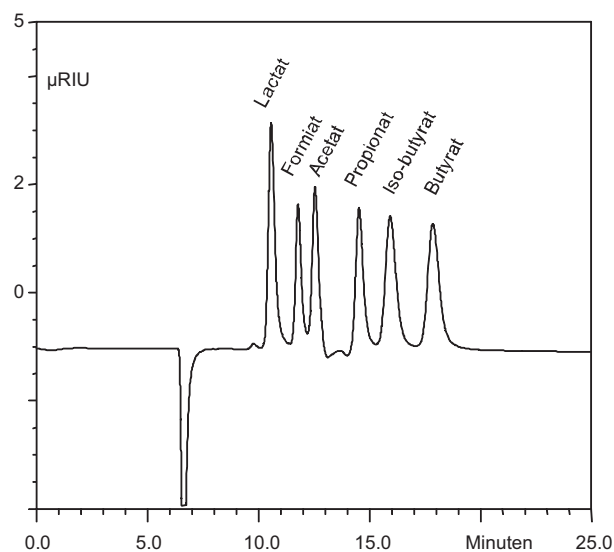
Der Eluent sollte bei all diesen Verfahren möglichst leicht verdampfbar sein. Verwendet man in der IC konventionelle Eluenten – etwa Alkali-Basen oder deren Carbonat/Bicarbonat-Salze – so sind diese mit dem Detektionsprinzip nicht direkt verwendbar, da sich ein hoher Untergrund oder

im Falle der Gradientenelution driftende Basislinien ergeben. Abhilfe schafft die Verwendung von leicht verdampfbaren Ammonium-Verbindungen, oder aber der Einsatz der Suppressionstechnik. Die resultierenden Suppressionsprodukte (s. Kapitel 8.1.1) sind dann zumeist direkt kompatibel. Neuere Beispiele zeigen zudem, dass Suppressoren (meist Dionex MMS MicroMembrane Suppressoren) auch zur Entsalzung von HPLC Eluenten eingesetzt werden können, etwa beim Einsatz von Natriumhaltigen Puffern, oder auch bei sehr hohen Konzentrationen an sich leichter verdampfbarer Ammonium-Zusätze. Häufig gelingt durch den Einsatz kontinuierlich regenerierter Membransuppressoren die Übernahme von etablierten Verfahren, ohne zusätzlichen Methodenentwicklungs- oder Valdieraufwand.

8.7. Andere Detektionsarten

Neben den bisher beschriebenen Detektionsmethoden findet auch die Brechungsindex-Detektion Erwähnung in der Literatur, obgleich diese Detektionsart sehr unempfindlich und vor allem unspezifisch ist. Die Empfindlichkeit dieser Detektionsart hängt allein von der Leistungsfähigkeit der zur Verfügung stehenden Detektoren ab, wobei kommerziell erhältliche Produkte einheitlich für die Detektion höherer Konzentrationen konzipiert sind (Abbildung 84).

Abb. 84 Detektion organischer Säuren mit der Brechungsindex (Refractive Index RI)-Detektion

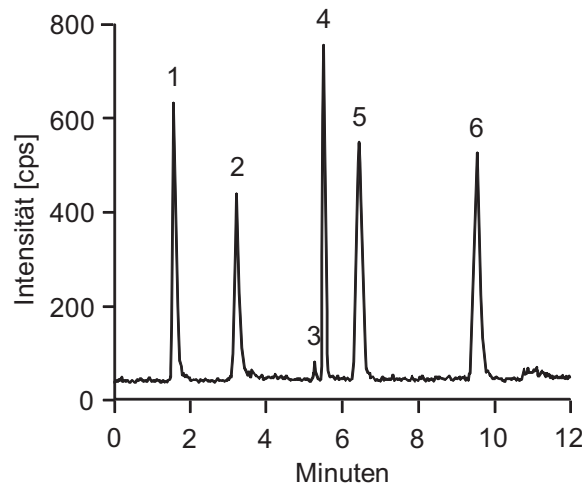


Trennsäule: Dionex IonPac ICE-AS1
(4 x 250 mm)
Eluent: 5 mmol/L Heptafluorbuttersäure
Fluss: 0,16 mL/min
Temperatur: 19 °C
Injektionsvol.: 10 µL
Konzentrationen der organischen Säuren: jeweils 200 mg/L

Die Kopplung eines ionenchromatographischen Trennsystems mit einem Radioaktivitätsmonitor für die Radiostrontiumanalytik ist von Stadlbauer et al. [113] beschrieben worden. Mit diesem Verfahren können Spaltprodukt nuklide wie Sr-90 und Sr-89 auf einfache Weise von anderen Radionukliden getrennt werden. Auch wenn die Online-Detektion von Radiostrontium nur bei mittleren bis hohen Aktivitätskonzentrationen möglich ist, bietet dieses Verfahren dennoch Vorteile für die Prozesskontrolle und Eigenüberwachung nuklearmedizinischer und kerntechnischer Anlagen. Schließlich sei auf die elementspezifische Detektion mit atomspektrometrischen Techniken hingewiesen, zu denen die Atomabsorptions- und die Atomemissionsspektroskopie gehören. Die Kopplung eines Atomabsorptionsspektrometers an einen Ionenchromatographen ist relativ einfach. Benötigt wird lediglich

eine Kapillare, die den Ausgang der Trennsäule mit dem Einlass des AAS-Gerätes oder dem Zerstäuber des ICP-Spektrometers verbindet. Der Vorteil dieser Kopplung liegt in der Möglichkeit, Metallspezies zu trennen und zu detektieren. Woolson und Aharonson [114] beispielsweise wendeten dieses Verfahren zur Bestimmung von Arsen(III) und Arsen(V) an. Die Bestimmung von anorganischen und organisch modifizierten Arsenspezies in den verschiedensten Matrices ist über die Kopplung von Ionenaustauschchromatographie und ICP-MS erfolgreich möglich [115].

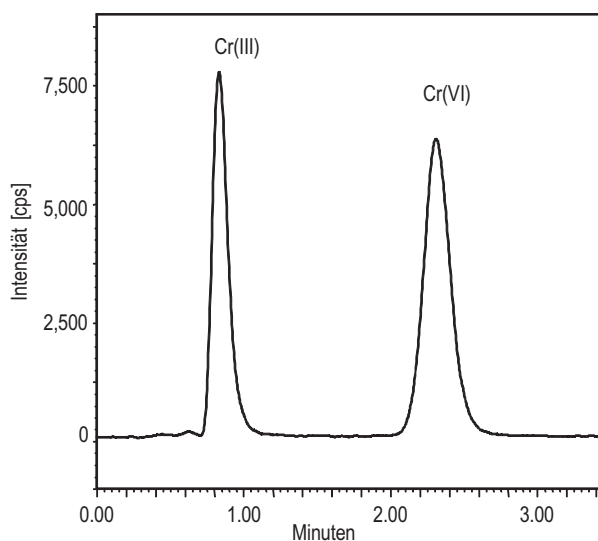
Abb. 85 Arsen-Spezies mit IC-ICP-MS



Trennsäule: Dionex IonPac AS7
 Eluent: Ammoniumphosphat Gradient
 Probe: 100 ppb in 1 % NaCl
 Fluss: 1.5 mL/min
 Injektionsvol.: 25 µL
 Detektion: ICP-MS (m/z 75)
 Peaks: 1. Dimethylarsin Säure, 2. Arsen (III),
 3. Unbekannt, 4. Methylarsin Säure,
 5. Benzolarsin Säure, 6. Arsen (V)

In anderen Arbeiten wird die Kopplung der IC mit der ICP-MS-Technik zur simultanen Cr(III)/Cr(VI)-Bestimmung eingesetzt [116]. Der Vorteil dieser Verfahren liegt in der elementspezifischen Detektion, durch die eine sichtbare Koelution mit anderen Verbindungen weitgehend vermieden wird. Damit kann die Analysenzeit soweit verringert werden, so dass Trennungen der beiden wichtigsten Chromspezies z. B. innerhalb von wenigen Minuten möglich sind (Abbildung 86, [117]). Wichtige experimentelle Voraussetzungen sind dabei der Einsatz metallfreier Pumpen, Injektionsventile und letztlich sogar metallfreier Säulenmäntel, sowie eines metallfreien Flussweges, um das Signal/Rausch-Verhältnis durch die Vermeidung von Chromeinträgen aus Edelstahlkomponenten zu optimieren. Als Werkstoff der chromatographischen Systems hat sich bei diesen Kopplungstechniken Polyetheretherketon (PEEK) bewährt.

Abb. 86 Simultane Cr(III)/ Cr(VI)-Bestimmung durch die Kopplung von IC und ICP-MS



Trennsäule: Dionex IonPac AG7 (2x50 mm)
 Eluent: 0,06 mol/L HNO₃; pH 2 mit NH₄OH eingestellt
 Fluss: 2 mL/min
 Detektion: ICP(MS)
 Injektionsvolumen: 100 µL,
 Konzentrationen: je 1 µg/L
 Isotop: ⁵²Cr

Abschließend sei noch auf die Massenspektrometrie verwiesen, deren Kombination mit der IC durch den Einsatz kontinuierlich betriebener Suppressoren stark vereinfacht wird. Die Suppressoren dienen in diesem Zusammenhang als Entsalzer, die die stark sauren oder stark alkalischen Laufmittel der IC neutralisieren und somit den Dauereinsatz mit der MS ermöglichen, ohne dass es zu Korrosion oder Verkrustung des MS-Interface kommt. Zum Einsatz kommen entweder die Dionex SRS Self-Regenerating Suppressoren im externen Wassermodus, oder im Falle höherer Konzentrationen organischer Laufmittel im Eluenten die Dionex MMS MicroMembrane Suppressoren im externen chemischen Modus. Die Suppressoren werden auch im Bereich der HPLC-MS eingesetzt, wenn das Laufmittel beispielsweise nichtflüchtige ionische Inhaltsstoffe wie Phosphat oder größere Amine als Ionenpaarbildner enthält und diese entfernt werden sollen. Einsatzbereiche umfassen Bio- und Pharma-Industrie, den Umweltbereich, Produktentwicklung und vieles mehr. Da die Kombination flüssigchromatographischer Verfahren mit der Massenspektrometrie vielfach in der Literatur beschrieben wurde, sei an dieser Stelle der Verweis auf einschlägige Fachliteratur gestattet.

9

RFIC-Technologie in der Ionenchromatographie

Die in der modernen Ionenaustausch-Chromatographie (IC) am häufigsten eingesetzten Laufmittel sind verdünnte Säuren und Laugen [15, 118, 119]. Konventionell erfolgt deren Herstellung meist durch das Verdünnen handelsüblicher Chemikalien genügender Reinheit. Je nach Art der zu verdünnenden Ausgangschemikalie müssen dabei Vorkehrungen getroffen werden, die eine Verunreinigung des herzustellenden Eluenten vermeiden. So kann z. B. verdünnte Natronlauge leicht mit Carbonat, durch Aufnahme von CO_2 aus der Umgebungsluft, kontaminiert werden. Man kann diesen Vorgang weitgehend durch Entgasen des eingesetzten Wassers mit Helium und durch Aufbewahrung des einsatzfertigen Eluenten unter einem Inertgas verhindern. Bildet sich Carbonat in der Natronlauge, so verändern sich die Zusammensetzung und die chromatographischen Eigenschaften des Eluenten.

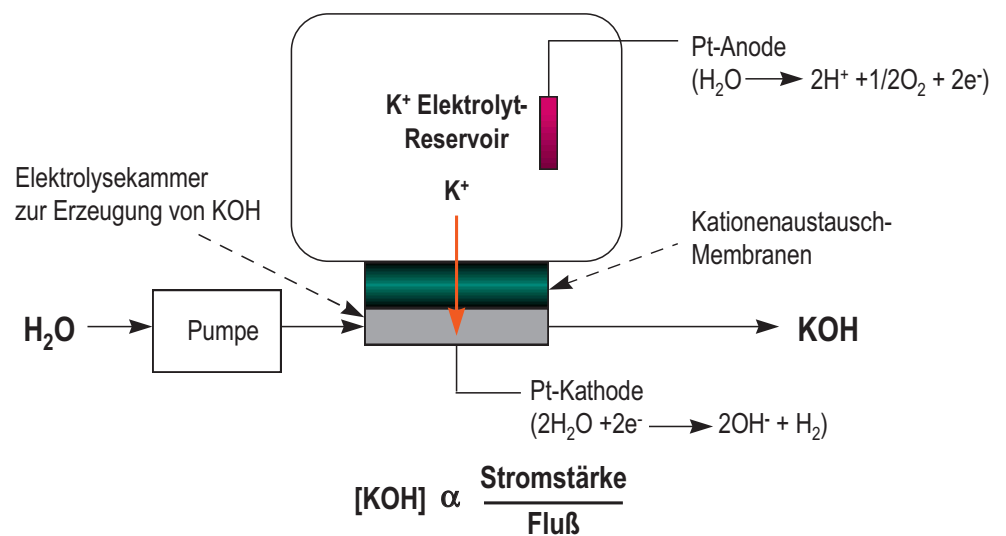
Beim Einsatz derart kontaminierter Hydroxid-Eluenten resultiert zudem eine höhere Grundleitfähigkeit, die sich insbesondere bei der Gradientenelution – gemeint sind in diesem Zusammenhang meist Konzentrationsgradienten – als störende Basisliniendrift auch nach Suppression bemerkbar macht. Aus diesen Gründen wurde ein neues Verfahren entwickelt, das hochreine Säure und Lauge im Sinne einer Online-Elektrolyse einzig mit demineralisiertem Wasser erzeugt, und sowohl isokratische und Gradientenanwendungen deutlich vereinfacht. Der zeitliche Verlauf des Elektrolysestroms bestimmt, ob es sich um eine isokratische Anwendung oder eine Gradientenelution handelt. Die Technologie des Eluenten Generators basiert auf einem von Small et al. entwickelten Konzept [120, 121]. Neben der inline Erzeugung der Eluenten im Hochdruckbereich des Systems kommen zusätzlich die Thermo Scientific Dionex CR-TC kontinuierlich regenerierten Reinigungskartuschen und Dionex SRS kontinuierlich regenerierte Suppressoren zum Einsatz. In der Konsequenz ergibt sich ein System, bei dem der Anwender keine Reagenzien zur Herstellung von Eluenten oder Regenerenten manuell handhaben muss. Solche Systeme und die beschriebene Technologie sind in der Zwischenzeit unter dem Begriff Reagent-Free Ion Chromatography (RFIC) bekannt geworden.

9.1. Eluent Generator

Die Erzeugung der Eluenten erfolgt im sogenannten Eluenten Generator, der im chromatographischen System hochdruckseitig zwischen der analytischen Pumpe und dem Injektionssystem integriert ist. Die in diesem Modul verwendete Thermo Scientific Dionex EluGen Eluent Generator Cartridge ist die Schlüsselkomponente dieser Technologie. Man unterscheidet zwischen der Dionex EluGen-OH-Kartusche zur Herstellung von KOH und der Dionex EluGen-MSA-Kartusche zur Erzeugung von Methansulfonsäure.

Exemplarisch ist an dieser Stelle die elektrolytische Erzeugung von KOH-Laufmitteln beschrieben:

Abb. 87 Schematische Darstellung der Funktionsweise einer Dionex EluGen Eluent Generator Cartridge



Die Kartusche besteht aus einer Elektrolysekammer und einem K⁺-Vorratsreservoir, die durch eine Lage von Kationenaustauscher-Membranen getrennt sind (Abbildung 87) sowie den notwendigen Elektroden. Die Kationenaustauscher-Membranen ermöglichen die spezifische Elektromigration der Kalium-Ionen aus dem niederdruckseitigen Vorratsreservoir in die hochdruckseitige Elektrolysekammer. Zur Erzeugung eines KOH-Eluenten wird demineralisiertes Wasser kontinuierlich durch die Elektrolysekammer gepumpt. Zur Elektrolyse wird eine Gleichspannung an die Elektroden (Kathode in der Elektrolysekammer, Anode in der Vorratslösung) angelegt. Sowie Protonen an der Anode gebildet werden, migrieren äquimolare Mengen an K⁺-Ionen durch die Membranen in die Elektrolysekammer, um dort mit elektrolytisch erzeugten Hydroxid-Ionen den KOH-Eluenten zu bilden. Auf Grund des dynamischen Charakters der Elektrolyse ist neben der exakten Kontrolle des Elektrolysestroms die kontinuierliche Überwachung des Volumenstroms sowie die Rückmeldung dieses Wertes an die Steuersoftware erforderlich.

Dieses Prinzip ist auch auf die Erzeugung hochreiner Methansulfonsäure (MSA) anwendbar. Die Methansulfonat-Lösung im Vorratsbehälter wird von der Elektrolysekammer durch Anionenaustauscher-Membranen getrennt. In der Dionex EluGen MSA-Kartusche befindet sich die Anode in der Elektrolysekammer während die Kathode im Vorratsreservoir untergebracht ist. Die Bildung der Methansulfonsäure beruht auf der Elektromigration von Methansulfonat durch die Anionenaustauscher-Membranen sowie der Protonen-Bildung an der Anode.

9.2. Funktionsweise der kontinuierlich regenerierten Trap-Säulen

Die im demineralisierten Wasser enthaltenen ionischen Spurenverunreinigungen, etwa aus der CO_2 -Adsorption entstandenes Carbonat, werden durch eine nach der Dionex EGC Eluent Generator Cartridge eingebaute kontinuierlich regenerierte Kartusche, gefüllt mit geeignetem hochkapazitiven Ionenaustauscher (Dionex CR-**ATC** bei KOH-Eluenten und Dionex CR-**CTC** bei MSA; CR: Continuously Regenerated), entfernt. Die kontinuierliche Regenerierung ist über einen elektrolytischen Prozess sichergestellt, bei dem Eluentkontaminationen stetig in den Regeneriermittelkanal abgeführt werden. Regenerierkanal und Harz sind über Ionenaustauschmembranen getrennt. Zur kontinuierlichen Entgasung wird anschließend der Eluent durch eine integrierte gaspermeable Membranfaser geleitet, um anschließend durch den Injektor, den Trennsatz, Suppressor und Detektor zu fließen. Das Suppressor-Effluat, oder bei anderen Detektions-Techniken direkt das Detektor-Effluat, dient zur Regeneration der kontinuierlich regenerierten Trap-Säulen und wird an der Außenseite der gaspermeablen Membran vorbeigeleitet, um so das Elektrolysegas aus dem System zu entfernen (Abbildung 88).

Abb. 88 Aufbau eines RFIC-Systems

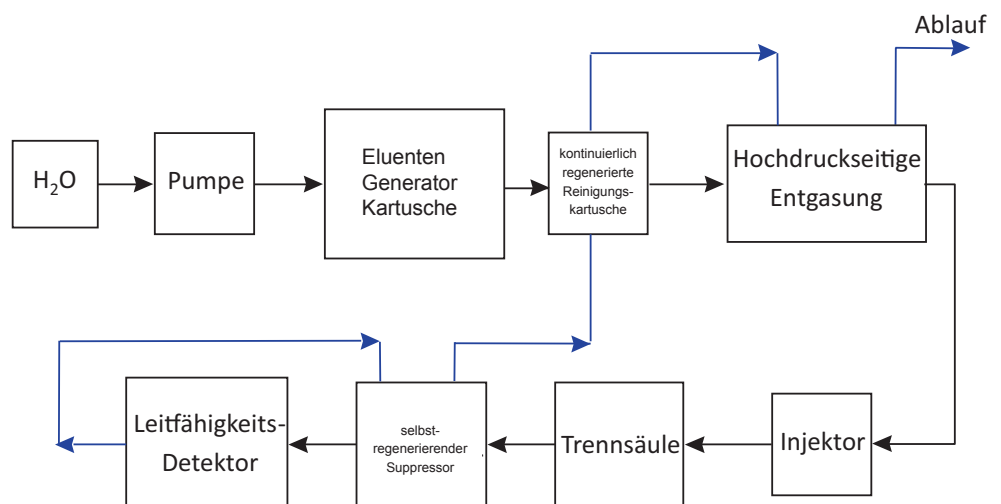
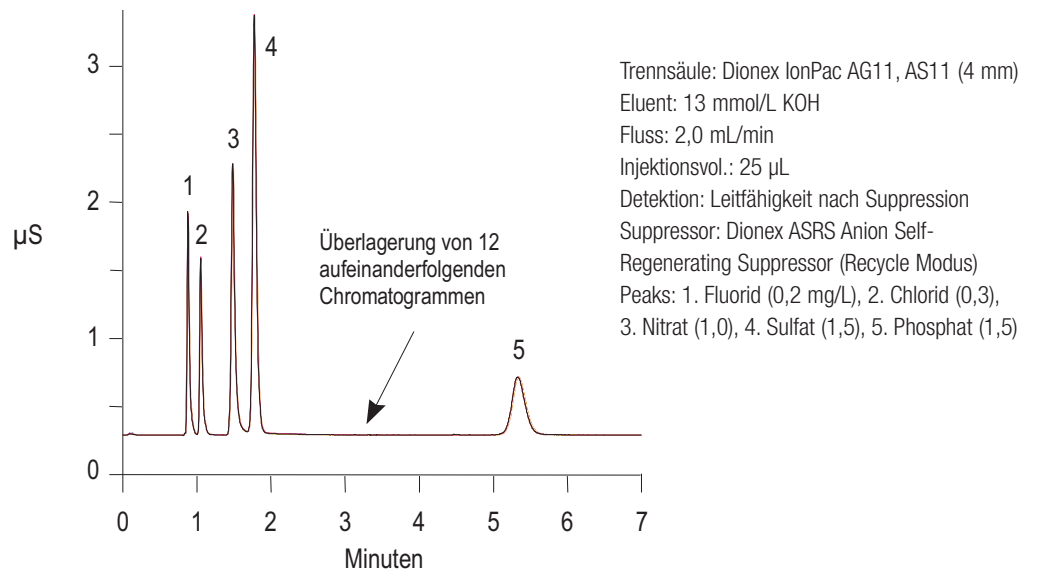


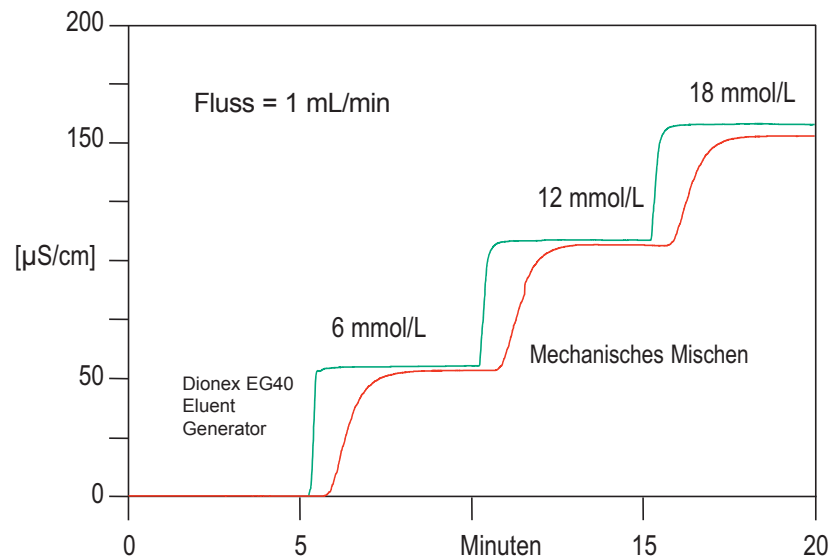
Abbildung 89 zeigt die Überlagerung von 12 unter isokratischen Bedingungen aufgenommenen Chromatogrammen. Auf Grund der erreichten hohen Reproduzierbarkeit erscheinen die zwölf Chromatogramme in dieser Darstellung als ein einziges Bild. Eine Gradientenelution mit dem Eluenten Generator erfolgt einzig über die zeitliche Variation des Elektrolysestroms; Mischventile oder Gradientenformer sind nicht notwendig. Aus dem deutlich geringeren Verzögerungsvolumen und der hochdruckseitigen Eluentenerzeugung ergeben sich mit der RFIC – im Vergleich mit konventionellen mechanischen Gradientenpumpen – signifikant bessere Gradientenprofile (Abb. 90).

Abb. 89 Isokratische RFIC-Trennung anorganischer Anionen



Bei diesen Versuchen wurden mit beiden Systemen (RFIC sowie konventionelle Gradientenmischung von KOH und Wasser) Stufengradienten ($\Delta c(\text{KOH}) = 6 \text{ mmol/L}$) erzeugt. Die abgebildeten Spuren ergeben sich aus der direkten Leitfähigkeitsmessung des Eluenten. Während die RFIC-Gradientenprofile nahezu ideal aussehen, wirkt sich das größere Verzögerungsvolumen von Mischventilen und Pumpenköpfen des konventionellen Chromatographen in einer zeitlichen Verzögerung des Gradienten sowie Abweichung von der theoretisch erwarteten rechteckigen Form aus.

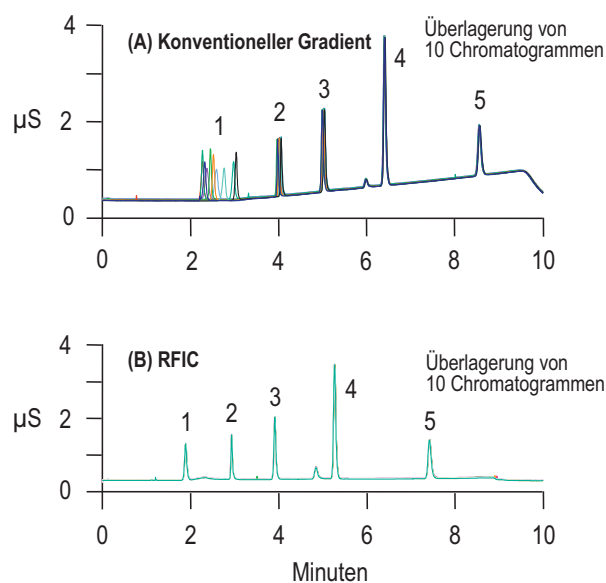
Abb. 90 Vergleich elektrochemischer und mechanischer Gradientenprofile



RFIC vereinfacht nicht nur die Anwendung der Gradientenelution – der Anwender braucht lediglich Wasser bereitzustellen – sondern erhöht zusätzlich die Reproduzierbarkeit der chromatographischen Ergebnisse. Hierzu wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

Fünf gängige Anionen wurden mit einem speziellen KOH-Gradienten (0,5 bis 25 mmol/L KOH in 8 Minuten, dann Äquilibration des Systems für 2 Minuten) an einer Dionex IonPac AS11-Trennsäule getrennt und über ihre elektrochemische Leitfähigkeit detektiert. Zur Gradientenformung wurde einerseits ein konventioneller Ionenchromatograph mit einer Gradientenpumpe eingesetzt (Abbildung 91(A)), andererseits erfolgte die Formung des KOH-Gradienten mit einem Eluenten Generator (Abbildung 91(B)). Während die Reproduzierbarkeit der später eluierenden Anionen Sulfat und Phosphat auch mit dem konventionellen Aufbau ausreichend war, zeigen sich deutliche Abweichungen für die früher eluierenden Anionen.

Abb. 91 Gradientenanwendung zur Trennung verschiedener Anionen mit Hydroxid-Eluenten

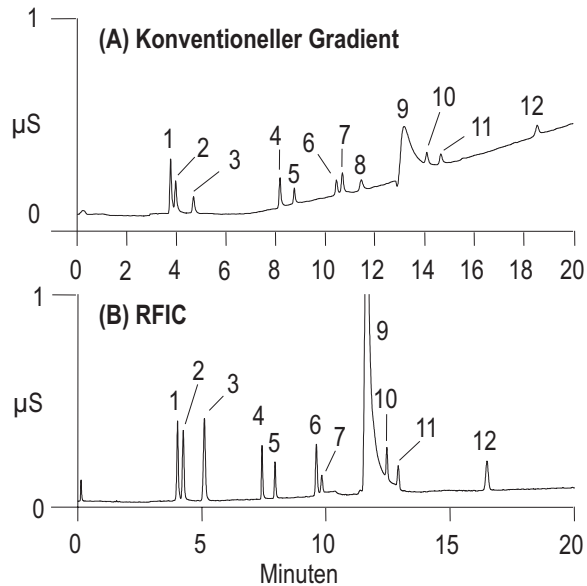


Trennsäule: Dionex IonPac AG11, AS11 (4 mm)
 Eluent: 0,5 auf 25 mmol/L KOH mit dem Dionex EG40 Eluent Generator oder durch Mischen von Wasser und 0,1 mol/L KOH
 Fluss: 2,0 mL/min
 Injektionsvol.: 25 µL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor (Recycle Modus)
 Peaks [mg/L]: 1. Fluorid (0,2), 2. Chlorid (0,3), 3. Nitrat (1,0), 4. Sulfat (1,5), 5. Phosphat (1,5)

Dieser Umstand ergibt sich aus den speziellen Gradientenbedingungen, insbesondere der sehr kurzen Äquilibrationphase von nur 2 Minuten. Diese war nicht ausreichend lang, um das größere Verzögerungsvolumen aus Mischventilen und Pumpenköpfen zu kompensieren. Aus dem Vergleich der Reproduzierbarkeit der Retentionszeiten zeigt sich hingegen, dass dieser schnelle Gradient und die kurze Konditionierphase mit dem Eluenten Generator auf Grund des minimalen Verzögerungsvolumens kompatibel ist (Abbildung 91).

Hydroxid-Eluenten sind bei der ionenchromatographischen Spurenbestimmung von Anionen meist die erste Wahl, da sich das resultierende Suppressionsprodukt (H_2O) durch eine niedrige Grundleitfähigkeit und ein geringes Basislinienrauschen auszeichnet. Die bereits angesprochene Carbonat-Kontamination (Basisliniendrift; höhere Grundleitfähigkeit, veränderliche Retentionszeiten) bei Einsatz manuell hergestellter Hydroxid-Eluenten erforderte daher bislang eine Helium-Entgasung, so dass mitunter aus Kostengründen auf den Einsatz dieses Eluenten verzichtet wurde. Da der Eluenten Generator Hydroxid-Eluenten in einem nach außen geschlossenem System bildet, ist die Kontamination nach Adsorption von atmosphärischem CO_2 ausgeschlossen. Gleichzeitig kommen

Abb. 92 Ionenchromatographische Anionen-Spurenbestimmung



Trennsäule: Dionex IonPac AG11, AS11, (2 mm)
 Eluent: Chromatogramm (A) NaOH, 0,5 mmol/L für 2,5 Minuten, dann auf 5 mmol/L in 3,5 Minuten, dann auf 26 mmol/L in 14 Minuten
 Chromatogramm (B) 0,5 auf 26 mmol/L KOH mit Dionex EG Eluent Generator
 Fluss: 0,5 mL/min
 Injektionsvol.: 750 μL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor (externe Wasserversorgung)

In Abbildung 92 sind Chromatogramme dargestellt, die bei der chromatographischen Untersuchung von Reinstwässern aufgezeichnet wurden. In dieser Gegenüberstellung wird deutlich, dass konventionelle Hydroxid-Eluenten eine stärkere Carbonat-Kontamination aufweisen, als die mit einem RFIC-System erzeugten. Während die Basisliniendrift beim Einsatz der RFIC kleiner als 0,08 μS war, wurde mit dem klassischen Aufbau ein Wert von 0,5 μS erreicht. Obwohl eine Drift von 0,5 μS bei einer Gradientenanwendung an sich sehr gering ist, ergibt sich beim Einsatz der RFIC eine deutlich höhere Empfindlichkeit und – als Folge der geringen Basisliniendrift und höheren Reinheit des Eluenten – eine einfachere Auswertung Chromatogramme. Bei der RFIC in der Kationenchromatographie zeigt sich ein generell geringerer Untergrund und flachere Basisliniendrifs (bei Gradientenanwendungen). Gleichzeitig steigt das Nachweisvermögen des Verfahrens auch in diesen Anwendungsfällen.

10

Anwendungsmöglichkeiten

Die Ionenchromatographie eignet sich für die Analyse einer Vielzahl anorganischer und organischer Anionen und Kationen. Sie zeichnet sich dabei vor allem durch hohe Selektivität und Empfindlichkeit aus. Die große Zahl von Anwendungsmöglichkeiten, die nachfolgend in einer Übersicht vorgestellt wird, ist Beweis für die Vielseitigkeit dieser Methode.

Vor allem auf dem Gebiet der Anionenanalytik ist die Ionenchromatographie zu einem kaum verzichtbaren Instrument des analytisch arbeitenden Chemikers geworden. Sie hat konventionelle nasschemische Methoden wie Titration, Photometrie, Gravimetrie u.a., die arbeitsintensiv, zeitaufwendig und teilweise störanfällig sind, in vielen Fällen abgelöst. Darimont [122] und Schwedt [123] haben schon früh gezeigt, dass die mit der IC und mit herkömmlichen Analyseverfahren erzielten Ergebnisse vergleichbar sind. Die IC wird heute zusätzlich in vielen nationalen und internationalen Normen beschrieben, was zur Akzeptanz der IC beigetragen hat [15,118,119]. Auch auf dem Gebiet der Kationenanalytik besticht die Ionenchromatographie durch Simultaneität und Empfindlichkeit und ist damit eine willkommene Ergänzung zu den atomspektrometrischen Verfahren.

Die Anwendungsschwerpunkte der Ionenchromatographie liegen in den Bereichen:

- Klinische Chemie
- Umweltanalytik
- Kraftwerkschemie
- Halbleiterindustrie
- Haushaltsprodukte und Waschmittel
- Galvanik
- Pharmazeutik
- Nahrungs- und Genussmittel
- Biotechnologie
- Papierherstellung
- Bergbau und Metallverarbeitung

In den Tabellen 2 und 3 sind die in der Ionenchromatographie eingesetzten Trenn- und Detektionsverfahren sowie eine Auswahl der damit analysierbaren ionischen Spezies zusammengefasst.

Tab. 2 Übersicht über die Trennverfahren der in der Ionenchromatographie

Trennverfahren	Mechanismus	Funktionalität des Harzes	empfohlene Eluenten	analysierbare Spezies
HPIC (Anionen)	Anionenaustausch	-NR ₃ ⁺	NaHCO ₃ Na ₂ CO ₃	F ⁻ , Cl ⁻ , Br ⁻ , I ⁻ OCl ⁻ , Cl ₂ ⁻ , ClO ₃ ⁻ , ClO ₄ ⁻ , BrO ₃ ⁻ , IO ₃ ⁻ CN ⁻ , OCN ⁻ , NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , N ₃ ⁻ , H ₂ PO ₂ ²⁻ , HPO ₃ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , P ₂ O ₇ ⁴⁻ P ₄ O ₁₃ ⁶⁻ , PO ₃ F ₂ ²⁻ , AsO ₂ ⁻ , AsO ₄ ⁻ S ²⁻ , SO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , S ₂ O ₃ ²⁻ , SCN ⁻ SeO ₃ ²⁻ , SeO ₄ ²⁻ , MoO ₄ ²⁻ , WO ₄ ²⁻ , CrO ₄ ²⁻ B ₄ O ₇ ²⁻ , BF ₄ ⁻ SiO ₃ ²⁻ , SiF ₆ ⁻ (als Fluorid)
HPIC (Kationen)	Kationenaustausch	-SO ₃ ⁻ -SO ₃ ⁻ / -NR ₃ ⁺ -CO ₂ ⁻ -CO ₂ ⁻ / -PO ₃ ²⁻	HCl, MSA, H ₂ SO ₄ HCl/DAP Oxalat/Citrat Tartrat PDCA	Li ⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Rb ⁺ , CS ⁺ Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ NH ₄ ⁺ Alkylamine, Alkanolamine, biogene Amine, Morpholin Hydroxylamin, Cyclohexylamin Fe ^{2+/3+} , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Zn ²⁺ , Co ²⁺ Cd ²⁺ , Al ³⁺ , UO ₂ ²⁺ , Th ⁴⁺
HPICE	Ionenausschluss	-SO ₃ ⁻	HCl HCl / Mannit Hexansulfonsäure Octansulfonsäure	aliphatische Carbonsäuren aliphatische Hydroxycarbonsäuren F ⁻ , CO ₃ ²⁻ , Borat, Silicat, Alkohole, Aldehyde
MPIC (Anionen)	Ionenpaarbildung und Adsorption	neutral	TBAOH TPAOH TMAOH NH ₄ OH	Metall-Cyanokomplexe BF ₄ ⁻ org.-Sulfonate, org. Sulfate Alkylbenzolsulfonate
MPIC (Kationen)	Ionenpaarbildung und Adsorption	neutral	Octansulfonsäure Hexansulfonsäure HCl	Alkylamine Alkanolamine quartäre Amine Cholin biogene Amine

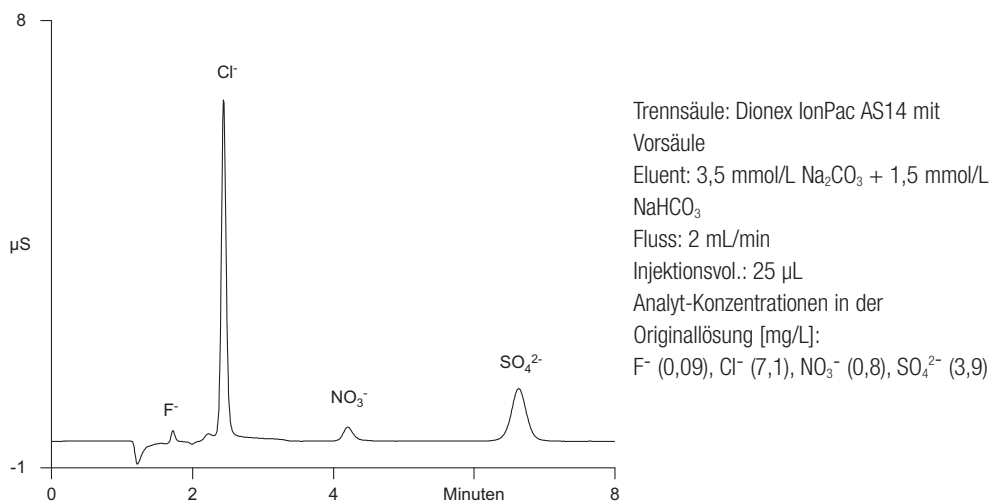
Tab. 3 Übersicht über die Detektionsverfahren in der Ionenchromatographie

Detektionsart	Prinzip	Anwendung für
Leitfähigkeit	elektrische Leitfähigkeit	Anionen und Kationen mit pKA oder pKB <7
Ladungsdetektion	Elektrische Ladung	Anionen und Kationen
Gleichstrom-Amperometrie	Oxidation und Reduktion an geeigneten Elektrodenmaterialien (Ag, Au, Pt, GC)	Anionen und Kationen mit pKA oder pKB >7 (S ²⁻ , CN ⁻ , OCl ⁻ usw.), Catecholamine, Phenole
Gepulste Amperometrie	Oxidation und Reduktion an geeigneten Elektrodenmaterialien (Ag, Au, Pt, GC)	Alkohole, Kohlehydrate, Phenole, Nitroaromaten, Amine, einige Aminosäuren
Integrierende Amperometrie (Mehrpulsamperometrie)	Oxidation und Reduktion an geeigneten Elektrodenmaterialien (Ag, Au, Pt, GC)	Amine, Aminosäuren, Schwefelspezies
Direkte UV/Vis-Detektion in Verbindung mit und ohne Nachsäulenderivatisierung	UV/Vis-Lichtabsorption	UV-aktive Anionen und Kationen Schwermetalle nach Reaktion mit PAR, Tiron etc. Polyvalente Anionen nach Reaktion mit Eisen-(III)-nitrat α -Aminopolycarbonsäuren nach Vorsäulenderivatisierung mit Fe(III)
Fluoreszenz in Verbindung mit und ohne Nachsäulenderivatisierung	Anregung und Emission	Aminosäuren und Polyamine nach Reaktion mit o-Phthaldialdehyd
MS-Detektion	Massen-Trennung nach Ionisation	Ionisierbare Komponenten, organische Säuren, Amine, Kohlehydrate, S-Verbindungen, Aminoglykoside
ICP-(OES)/MS	Elementspezifische Emissions- oder MS-Detektion	Speziesanalytik Chrom, Arsen, Quecksilber, Selen, Antimon, Brom, Iod

10.1. Ionenchromatographie in der Umweltanalytik

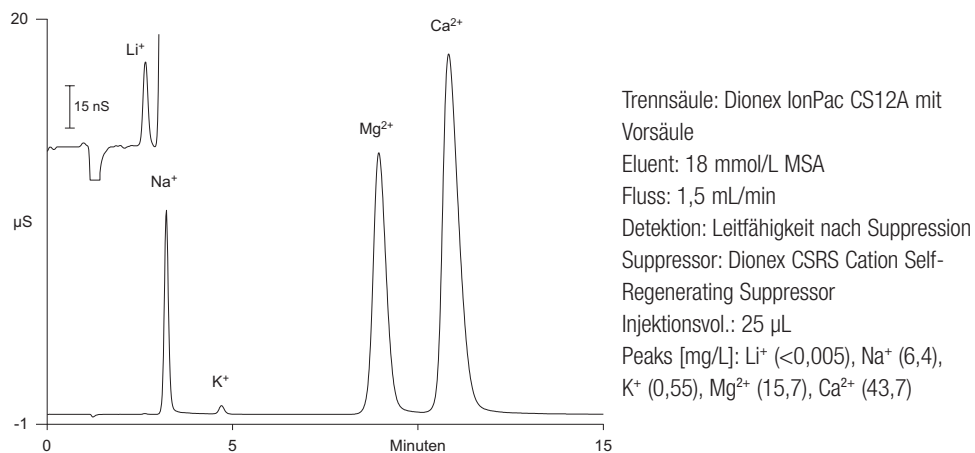
Eines der wichtigsten Anwendungsgebiete der Ionenchromatographie ist die Umweltanalytik, die sich in die Teilbereiche Wasser-, Boden- und Lufthygiene gliedert. Anwendungsschwerpunkt innerhalb der Umweltanalytik ist die qualitative und quantitative Analyse von Anionen und Kationen aller Art [124 - 129]. So können beispielsweise die Anionen Chlorid, Nitrit, Bromid, Nitrat, o-Phosphat und Sulfat, von deren Konzentration die Qualität des Wassers abhängt, in weniger als zehn Minuten bestimmt werden (Abbildung 93). Handelt es sich um eine einfache Trinkwasseranalyse der Hauptkomponenten Chlorid, Nitrat und Sulfat, kann sogar alle drei Minuten eine Bestimmung erfolgen. Eine typische Trennung ist die in Abbildung 93 dargestellt. Je nach Anforderung kommen heute unterschiedliche Trennsäulen zum Einsatz. Die hohe Empfindlichkeit der Methode (Bestimmungsgrenzen bei der Direktinjektion im niedrigen µg/L-Bereich) sowie der hohe Automatisierungsgrad trugen wesentlich zur raschen Verbreitung der IC bei.

Abb. 93 Bestimmung anorganischer Ionen in Trinkwasser



Die simultane Analyse von Alkali- und Erdalkalimetallen ist eine weitere Anwendungsmöglichkeit der IC im Bereich der Trink- und Oberflächenwasser-Untersuchung. Wichtige kationische Wasserinhaltsstoffe wie Natrium, Ammonium, Kalium, Magnesium und Calcium können mit einer Trennsäule vom Typ Dionex IonPac CS12A in weniger als 15 Minuten bestimmt werden (Abbildung 94).

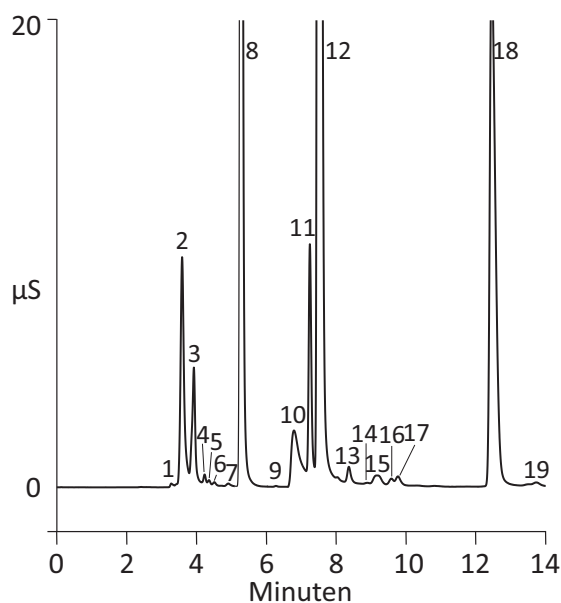
Abb. 94 Kationen-Bestimmung in einem Trinkwasser



Im Bereich der stärker belasteten Wässer wie Abwasser, Deponie- und Sickerwasser werden meist Ionenaustauscher mit einer höheren Austauschkapazität verwendet, um den mitunter hohen Elektrolyt-Gehalten Rechnung zu tragen. Hohe Konzentrationsdifferenzen zwischen Haupt- und Nebenkomponten erfordern insbesondere bei der Nebenkomponten-Bestimmung die Möglichkeit, Proben auch unverdünnt injizieren zu können, ohne die Trennsäulen zu überladen. Folglich wurden Trennmaterialien entwickelt, die sich durch eine vergleichsweise hohe Ionenaustauschkapazität und damit durch eine hohe Probenbelastbarkeit sowie Lösemittelstabilität auszeichnen (z. B. Dionex IonPac AS12A, AS14A, AS9-HC, AS22, AS23; s. auch Abschnitt 2.2). Zusätzlich vereinfachte die Einführung der Trennsäulen vom Typ Dionex IonPac AS22 und Dionex IonPac AS23 die Fluorid-Bestimmung mit der IC auch in komplexeren Matrices.

Nach Einführung der novellierten ISO 10304-1 [15] gibt es für den Anwender im Bereich der Trink- und Abwasser-Analytik mit der IC signifikante Erleichterungen. Zunächst kann der Anwender anhand der experimentellen Daten frei entscheiden, ob eine lineare Kalibrierfunktion, oder eine Kalibrierung höherer Ordnung (z. B. quadratisch) verwendet werden soll. Der Zwang linear zu kalibrieren entfällt. Gleichzeitig wird nicht mehr zwischen Trinkwasser und Abwasser unterschieden – eine weitere Erleichterung für den Anwender, da mit nunmehr dem gleichen Verfahren unterschiedliche Matrices analysiert werden können. Die vielleicht wichtigste Änderung ergibt sich durch die Aufnahme von Gradientenanwendungen in die Norm. Damit sind Gradienten mit elektrolytisch erzeugten RFIC-Hydroxid-Eluenten (s. Abschnitt 9. RFIC-Technologie in der Ionenchromatographie) erstmalig ISO-normkonform. Dem Anwender steht damit die gesamte Anwendungsbreite der konventionellen IC und der modernen RFIC zur Verfügung. Neben einfachen anorganischen Anionen können somit früh eluierende Anionen organischer Säuren aber auch polarisierbare Anionen oder multivalente Anionen, gleichzeitig bestimmt werden (Abbildung 95). Wichtig ist diese Möglichkeit insbesondere bei der Analytik komplexer Proben aus dem Abwasser- oder Oberflächenwasserbereich.

Abb. 95 Anionen-Bestimmung in Abwasser
– Gradientenanwendung (RFIC)



Trennsäule: Dionex IonPac AS18, 4 mm
Eluent: KOH-Gradient (RFIC)
Temp.: 30 °C
Fluss: 1.0 mL/min
Injektionsvol.: 100 µL
Detektion: Leitfähigkeit nach
Suppression
Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor (Recycle Modus)
Probenvorbereitung: Verdünnung 1:100

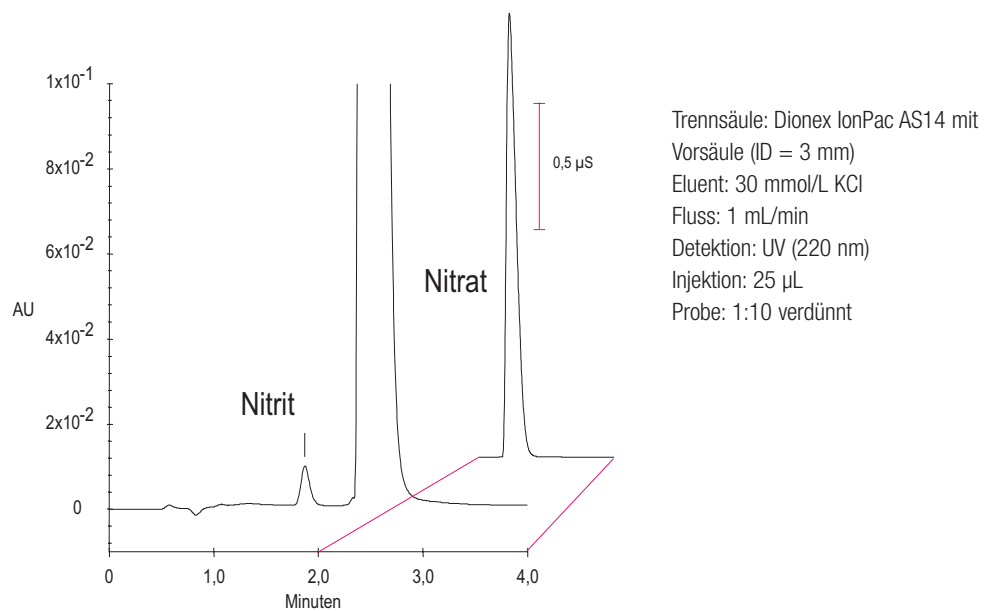
Peaks:

1. Fluorid, 2. Acetat, 3. Formiat, 4. n.n.,
5. n.n., 6. n.n., 7. n.n., 8. Chlorid,
9. Nitrit, 10. Carbonat, 11. Sulfid,
12. Sulfat, 13. Bromid, 14. n.n.,
15. Nitrat, 16. n.n., 17. n.n.,
18. Thiosulfat, 19. n.n.

Für eine zweifelsfreie Bestimmung der beiden Stickstoffparameter Nitrit und Nitrat in schwierigeren Matrices, etwa bei einem hohen Überschuss an Chlorid, ist es empfehlenswert die Leitfähigkeits- und die UV-Detektion zu kombinieren. Beide Stickstoffanionen, aber auch Bromid, absorbieren im UV, während die meisten anderen anorganischen Anionen UV-transparent sind. Der UV-Detektor wird dem Leitfähigkeits-Detektor einfach nachgeschaltet.

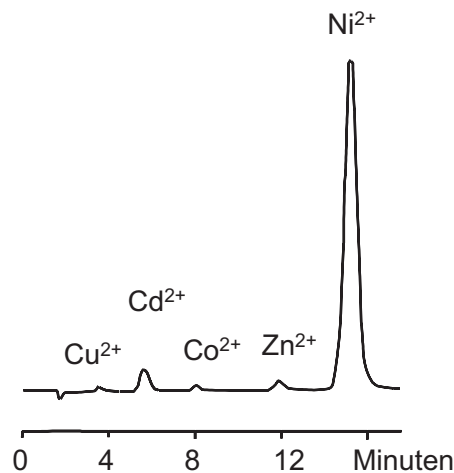
Sind nur diese N-Parameter gefragt, so kann die UV-Detektion sogar alternativ zur Leitfähigkeits-Detektion eingesetzt werden. Durch die Verwendung sog. UV-transparenter Laufmittel – in der Regel setzt man Alkalichlorid oder Alkalisulfat-Lösungen ein – können niedrige Nachweisgrenzen im $\mu\text{g/L}$ -Bereich erreicht werden. Repräsentativ zeigt Abbildung 96 die Untersuchung von Nitrit und Nitrat in einem Kläranlagenablauf. Die zur Detektion verwendete Wellenlänge (220 nm) befindet sich zwar oberhalb der für beide Anionen optimalen Werte, allerdings werden hierdurch mögliche Interferenzen durch organische Säuren umgangen.

Abb. 96 Bestimmung von Nitrit und Nitrat in einem Kläranlagenablauf



Die in Abbildung 97 dargestellte Trennung von Übergangs- und Schwermetallen in einem wässrigen Eluat belegt auf den ersten Blick lediglich die Anwendbarkeit der IC auf eine Substanzklasse, deren Analyse in der Regel mit atomspektroskopischen Methoden erfolgt. Doch auch diese sind im Hinblick auf Matrix-Probleme Limitierungen unterworfen, zumal, wenn es sich wie im vorliegenden Fall um eine Probe handelt, in der geringe Mengen Nickel neben Eisen als Hauptkomponente bestimmt werden sollen. Ionenchromatographisch bereitet dies keine Schwierigkeiten, da die Nickel-Bestimmung bei Anwendung von Oxalsäure als komplexbildenden Eluenten auch durch hohe Fe-Konzentrationen nicht gestört wird.

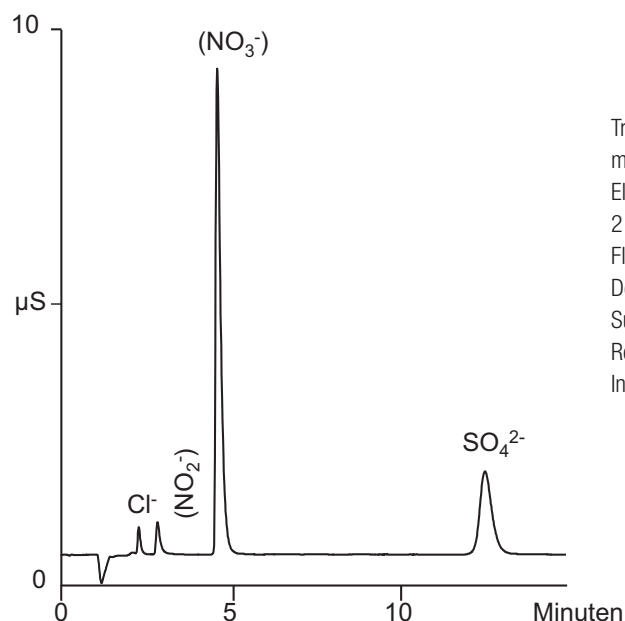
Abb. 97 Übergangs- und Schwermetall-Bestimmung in wässrigen, stark eisenhaltigen Eluat



Trennsäule: Dionex IonPac CS5 mit Vorsäule
 Eluent: 50 mmol/L Oxalsäure, 95 mmol/L LiOH
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Vis (520 nm) nach Reaktion mit PAR
 Injektion: 50 µL Abwasser 1:50 verdünnt
 Konzentrationen in der Originallösung [mg/L]: Cu²⁺ (1,2); Cd²⁺ (70); Co²⁺ (0,8); Zn²⁺ (5,2); Ni²⁺ (96)

Eine interessante Anwendungsmöglichkeit der IC im Bereich der Bodenanalytik ist die simultane Bestimmung der drei Stickstoffparameter durch kombinierte UV- und Fluoreszenz-Detektion (nach Derivatisierung mit OPA). Mit diesem Verfahren können auch 10 %ige KCL-Extrakte analysiert werden. Im Bereich der Lufthygiene gibt es Literaturzitate zur ionenchromatographischen Analyse von anorganischen Anionen und Kationen in Flugaschen [130] und atmosphärischen Aerosolen [131 - 133], zur Analyse von HNO₂ und HNO₃ in der Atmosphäre mit der Denuder-Technik [134, 135] sowie zur Analyse von Formaldehyd und Acetaldehyd [136], Cyanwasserstoff [137], Schwefeldioxid und Stickoxide [138] nach entsprechender Probenahme. Neben der Analyse von Wasser-, Boden- und Luftproben wird die IC als Analysenverfahren bei der elementspezifischen Erfassung organisch gebundener Halogen- und Schwefelverbindungen (AOX und AOS) eingesetzt [139 - 141]. Neben den klassischen Aufschlusstechniken werden heute auch Bombenaufschlussverfahren [142, 143] sowie automatisierte Aufschlusstechniken – bekannt auch unter dem Begriff Combustion IC – eingesetzt [144]. Sie haben sich für unterschiedlichste Matrices, z. B. Kohle, Kunststoffe, Zement und mehr bewährt (Abbildung 98).

Abb. 98 Bestimmung von AOX und AOS in Kohle nach Verbrennungsaufschluss

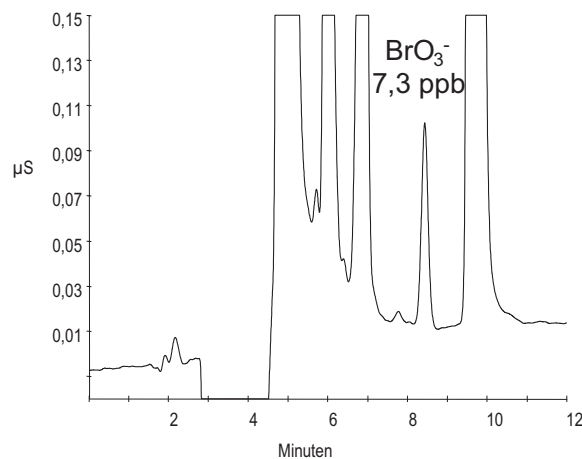


Trennsäule: Dionex IonPac AS9-SC mit Vorsäule
 Eluent: 0,75 mmol/L NaHCO₃ und 2 mmol/L Na₂CO₃
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS II Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvol.: 25 µL

10.1.1. Desinfektionsnebenprodukte

Im Bereich der Trinkwasseranalytik gewinnt die Bestimmung von Desinfektionsnebenprodukten (DNP) eine immer wichtigere Bedeutung. Nachdem ein krebserregendes Potential für Bromat, als eines dieser Nebenprodukte, von der WHO beschrieben wurde, erfolgte die Entwicklung verschiedener chromatographischer Verfahren zur sicheren Bromat-Bestimmung. Bereits 1994 schlug die Europäische Gemeinschaft einen Bromat-Grenzwert von 10 µg/L vor [145]. Die Trinkwasserverordnung der Bundesrepublik Deutschland trägt dem Rechnung [146]. Als eine der ersten normierenden Organisationen hat die ISO ionenchromatographische Verfahren zur Bromat-Bestimmung evaluiert. Bei diesen Verfahren werden die Proben mit Silber und Barium beladenen Kationenaustauschern behandelt, um Chlorid und Sulfat zu entfernen. Abbildung 99 stellt das Chromatogramm einer typischen mit Ozon desinfizierten Trinkwasserprobe dar. Bromat ist im niedrigen Konzentrationsbereich unter Verwendung von chromatographischen Bedingungen, wie sie in ISO 15061 beschrieben sind, interferenzfrei bestimmbar [147]. Mit diesem Verfahren sind Nachweisgrenzen im sub-µg/L-Bereich möglich.

Abb. 99 Bromat-Bestimmung in einem ozonbehandeltem Trinkwasser

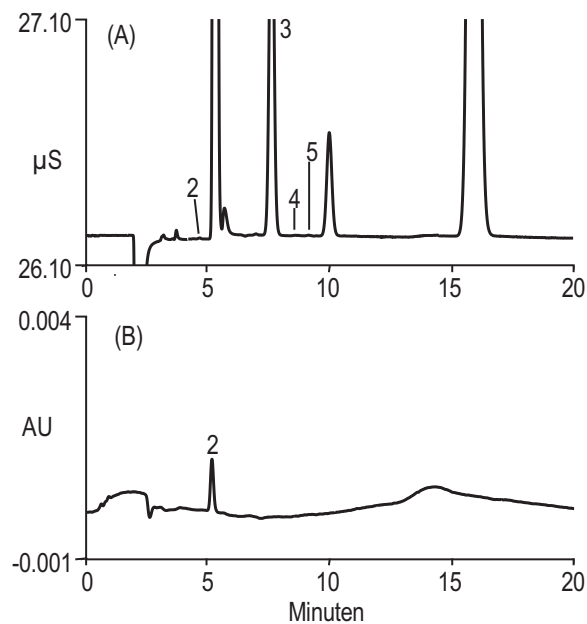


Trennsäule: Dionex IonPac AS9-SC mit Vorsäule
 Injektionsvol.: 750 µL
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS II Anion Self-Regenerating Suppressor (chem. Regen.)
 Eluent: NaHCO₃ & Na₂CO₃ - Stepgradient
 Anreicherungssäule: Dionex IonPac AG9-SC [147]

Zwischenzeitlich haben sich Verfahren am Markt etabliert, bei denen Bromat im Sinne einer Nachsäulenderivatisierung angefärbt und über die UV-Detektion erfasst wird. Die Norm ISO 11206 beschreibt zwei verschiedene Ansätze [148]:

Ein Verfahren bei dem die Leitfähigkeit nach Suppression online gekoppelt mit einer Nachsäulenderivatisierung zum Einsatz kommt. Hierbei erfolgt die Mischung des Effluats nach der LF-Detektion mit einem in-situ hergestellten HI-Reagenz. Im Rahmen von Redox-Reaktionen entsteht Triiodid, das dann sehr empfindlich im UV-Detektor nachweisbar ist. Dem Anwender stehen damit beide Detektionsverfahren gleichzeitig zur Verfügung (Abbildung 100) [149]. Soll allerdings ausschließlich Bromat bestimmt werden, so beschreibt ISO 11206 den Einsatz eines sauren Laufmittels, und der Mischung mit einem NaI-Reagenz direkt nach der Trennung. Die Reaktion erfolgt bei sehr viel niedrigeren Temperaturen, als bei dem in Abbildung 100 gezeigten Verfahren. Thermo Fisher Scientific hat dieses einer weiteren Evaluierung unterzogen und so modifiziert, dass einerseits normkonforme Bedingungen zur Verfügung stehen und gleichzeitig eine größere Vielfalt von Säulen eingesetzt werden kann (Abbildung 101). Erreicht wird das durch den Ersatz des schwefelsauren Eluenten gegen eine mobile Phase bestehend aus MSA [150].

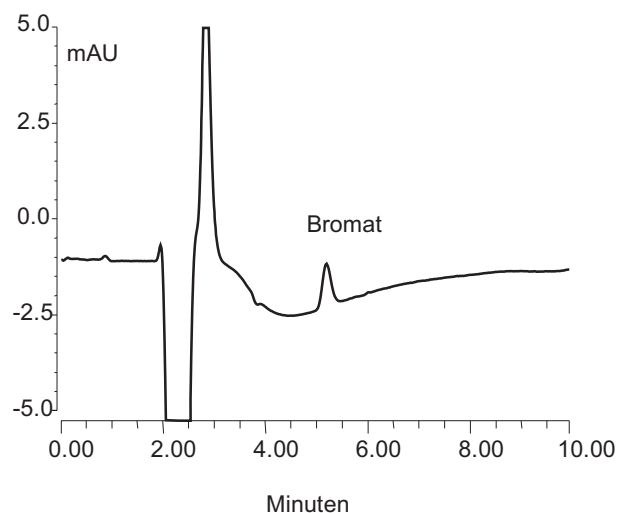
Abb. 100 Bromat-Bestimmung in Trinkwasser – Kombination von LF und UV



Trennsäule: Dionex AS9-HC mit Vorsäule
 Eluent: 9 mmol/L Na_2CO_3
 Temp.: 30 °C
 Fluss: 1.30 mL/min
 Injektionsvol.: 225 μL
 Detektion: (A) LF nach Suppression,
 (B) UV/VIS, 352 nm
 PCR: in-situ angesäuertes KI
 Reaktionstemp.: 80 °C
 Peaks ($\mu\text{g/L}$): (A) 1. Chlorit (-), 2. Bromat (1.52), 3. DCA*, 4. Bromid (1.12), 5. Chlorat (1.08), (B) 2. Bromat (1.84)
 * DCA = Dichloracetat QC Add.

Für die Hersteller von Desinfektionsmitteln ist die Produkt-Qualitätskontrolle von herausragender Bedeutung. Aktuell liegen erste Ergebnisse zur Bestimmung von Bromat in Chlorbleichlauge vor. Eine Machbarkeitsstudie der American Water Works Association and Water Research Foundation beschreibt ein vergleichsweise aufwändiges LC/MS-Verfahren nach Probenvorbereitung mit Malonsäure [151]. Thermo Scientific hingegen konnte zeigen, dass einfachere Verfahren auch ohne aufwändige MS-Detektion möglich sind [152]. Alternativ werden Verfahren eingesetzt, bei denen Bromat über eine Kopplung mit einem ICP (-OES /-MS) erfolgt [153, 154]. Eine Übersicht zur Bestimmung von Desinfektionsnebenprodukten gibt Michalski in [155]. Das jeweilig einzusetzende Verfahren sollte sich nach der instrumentellen Ausstattung des Labors und dem zu erwartenden Probenaufkommen richten.

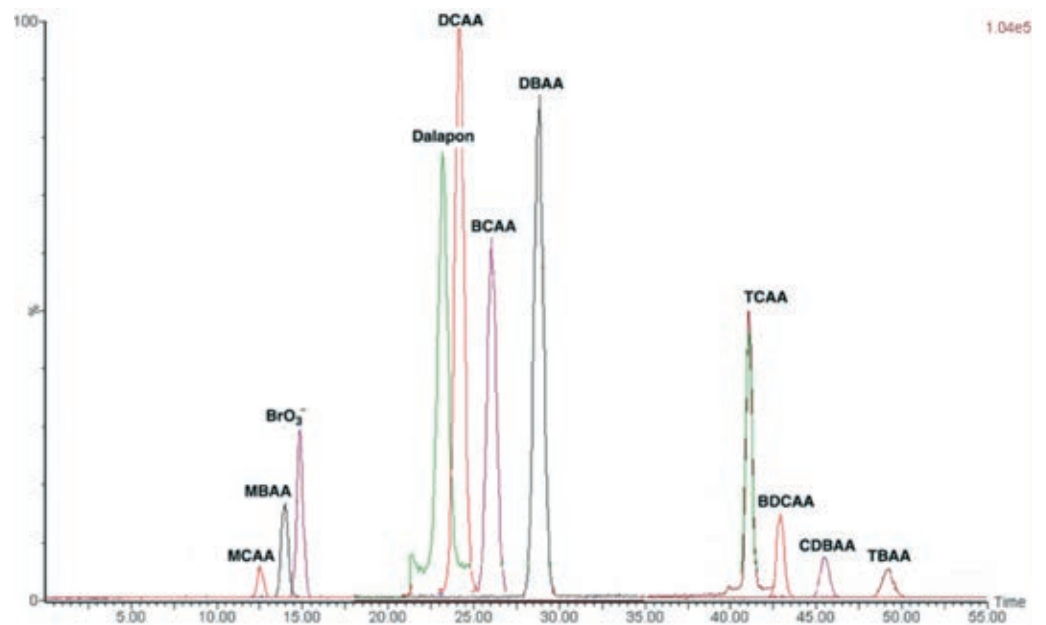
Abb. 101 Bromat-Bestimmung mit einem sauren Laufmittel



Trennsäule: Dionex CarboPac PA1 (4 x 250 mm)
 Eluent: 200 mmol/L MSA
 Fluss: 1 mL/min
 Injektionsvol.: 500 μL
 Detektion: UV 352 nm (nach PCR)
 Temp.: 30 °C
 PCR: 0.27 mol/L KI, 0.05 mmol/L $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
 Fluss: 0.3 mL/min
 Reaktionsschleife: 375 μL
 Peak: Bromat 1.2 $\mu\text{g/L}$

Neben der Bromat-Bestimmung, die in Europa bereits seit Mitte der 1990iger Jahre eine wichtige Rolle spielt, nimmt das Interesse an anderen DNP, etwa Halogenessigsäuren, kontinuierlich zu. Zwar liegt ein ISO-Verfahren mit GC/MS [156] vor, bei dem die Essigsäuren zunächst verestert werden müssen, doch beschreibt die EPA [157] einen eleganten Ansatz über die IC-MS/MS-Kopplung. Hierbei ist keinerlei Probenmanipulation erforderlich – die Halogenessigsäuren werden direkt an einem geeigneten Ionenaustauscher getrennt und über die MS/MS-Detektion spezifisch und empfindlich quantifiziert (Abbildung 102). Zusätzlich können noch weitere DNP wie Bromat und weitere Oxohalogenverbindungen in einem Lauf bestimmt werden.

Abb. 102 Direkte Bestimmung von Bromat, Dalapon und Halogenessigsäuren mit IC-MS/MS nach EPA 557.0 [157]



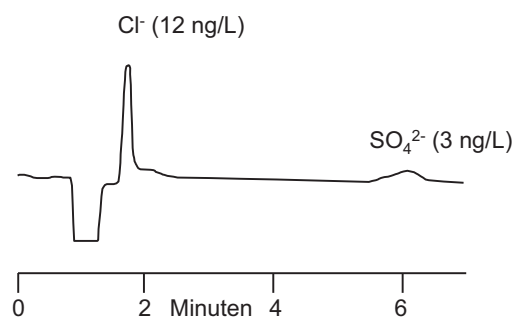
Trennsäule: Dionex IonPac AS24 mit Vorsäule, Fluss: 0,3 mL/min, Injektionsvol.: 100 µL, Eluent: KOH-Gradient, Detektion: MS/MS [157], Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor, Temp.: 15 °C, Nachsäulen Addition: ACN, inline Matrix-Abtrennung für Chlorid, Sulfat und Nitrat

10.2. Ionenchromatographie in der Kraftwerkschemie

Die Bewertung der Wasser-, Dampf- und Kondensat-Qualität gehört zu den wichtigsten Anwendungsmöglichkeiten der Ionenchromatographie im Kraftwerksbereich und erfolgte bisher durch registrierende Messung der elektrischen Leitfähigkeit. Im Rahmen routinemäßiger Betriebsüberwachungen werden nach dieser Methode Kondensatorundichtigkeiten geortet und die Funktion der Wasseraufbereitungsanlagen überwacht. Die Leitfähigkeitsmessung allein ist jedoch unspezifisch, da eine Erhöhung des Mess-Signals nichts über die Art der Verunreinigung aussagt.

Darüber hinaus lassen sich Verunreinigungen durch Natriumchlorid oder -sulfat infolge von Kühlwassereinbrüchen oder schlecht regenerierter Kondensatreinigungsfilter im sub-mg/L-Bereich nicht sicher erfassen. Mit der IC lassen sich Reinstwässer sowohl auf ihren Chlorid- und Sulfat-Gehalt als auch auf ihren Natrium-Gehalt nach Anreicherung auf den entsprechenden Konzentrationsäulen untersuchen. Dazu sollte das Gerät an die Probenahmeleitung angeschlossen werden, um eine definierte Menge des Reinstwassers mit einer Förderpumpe kontaminationsfrei durch die Konzentrationsäule zu pumpen. Abbildung 103 zeigt das Chromatogramm eines solchen Reinstwassers mit Konzentrationen an Chlorid und Sulfat im sub- $\mu\text{g/L}$ -Bereich, das nach Anreicherung von 50 mL Reinstwasser erhalten wurde [158].

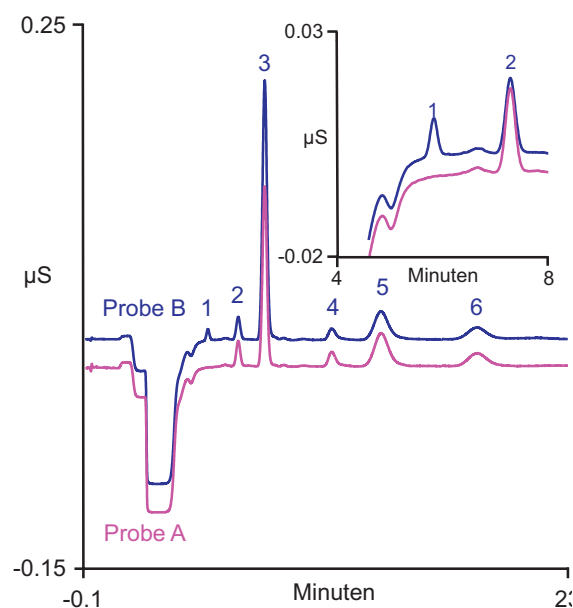
Abb. 103 Anionenanalyse eines Reinstwassers nach Anreicherung



Trennsäule: Dionex IonPac AS4A
mit Vorsäule
Eluent: 1,7 mmol/L NaHCO_3 +
1,8 mmol/L Na_2CO_3
Fluss: 2 mL/min
Konzentriervol.: 50 mL
Reinstwasser

Mit der Einführung der Kapillar-IC stehen Säulen mit deutlich geringeren Innendurchmessern zur Verfügung. Typische Durchmesser liegen im Bereich zwischen 0,25 und 0,5 mm. Im Vergleich zu konventionellen 4-mm oder 5-mm-Phasen ergibt sich damit eine theoretische Steigerung der Massenempfindlichkeit eines solchen Systems um den Faktor 100 oder mehr. Praktisch wird diese dann genutzt um mit deutlich geringeren Injektionsvolumina entsprechende Empfindlichkeiten zu erzielen. Wie das Beispiel in Abbildung 104 zeigt, erreicht man Empfindlichkeiten im ng/L-Bereich mit diesen Techniken schon bei der Injektion von wenigen μL , so dass auf eine zeitaufwendige Anreicherung großer Volumenmengen leicht verzichtet werden kann. Bei Bedarf kann ein geeigneter Autosampler die Probenmenge auf eine monolithische Anreicherungsäule injizieren. Der Einsatz der Kapillar-Ionenchromatographie im Bereich der Reinstwasser-Untersuchung stellt den heutigen Stand der Technik dar.

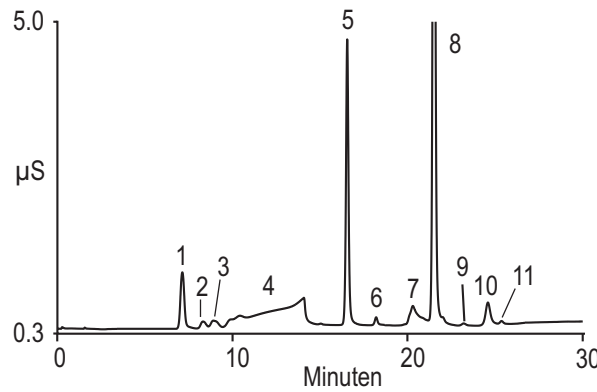
Abb. 104 Kapillar-IC zur Spurenbestimmung von Kationen



Trennsäule: Dionex IonPac CS16
(0,5 × 250) mm
Eluent: 30 mmol/L MSA (RFIC)
Fluss: 10 $\mu\text{L}/\text{min}$
Temp.: 40 °C
Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
Suppressor: Thermo Scientific™
Dionex™ CCESTM™ Cation Capillary
Electrolytic Suppressor
Konzentrationsäule: Dionex IonSwift
MCC-100
Injektionsvol.: 100 μL
Probe B (= Probe A aufgestockt)
Peaks (ng/L): 1. Li^+ (5), 2. Na^+ (20),
3. NH_4^+ (25), 4. K^+ (50), 5. Mg^{2+} (25),
6. Ca^{2+} (50)

Andere Anwendungsbeispiele sind die Bestimmung von anorganischen Anionen und Kationen in Borsäurehaltigen Kernkraftwerks-Kühlwässern. Die in Abbildung 105 gezeigte Probe enthielt Borsäure im g/L-Bereich, während die Analyte im Spurenbereich vorhanden waren. Für derartige Matrices empfiehlt sich eine inline-Matrixeliminierung [159].

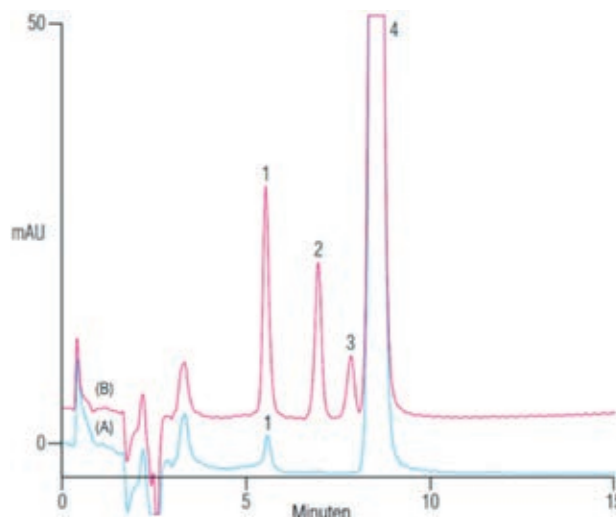
Abb. 105 Anionen-Bestimmung in borierten Kühlwässern [159]



Trennsäule: Dionex IonPac AG15, AS15, 2 mm
 Eluent: KOH-Gradient (RFIC)
 Fluss: 0,40 mL/min
 Temperatur: 30 °C
 Konzentriervol.: 2 mL
 Konzentriers.: Dionex IonPac UTAC-ULP1
 Ultra Trace Anion Concentrator Column
 Suppression: Dionex ASRS Ultra II Anion Self-Regenerating Suppressor (Recycle Mode)
 Probe: 2000 mg/L Bor + 3.8 mg/L Li⁺
 Peaks (µg/L): 1. Fluorid (1,98), 2. Glykolat (1,40), 3. Acetat (1,86), 4. Borat(-), 5. Chlorid (10,5), 6. Nitrit (0,56), 7. Carbonat (-), 8. Sulfat (45,8), 9. Bromid (0,48), 10. Nitrat (3,2), 11. Phosphat (0,65)

Zur Metallbestimmung hat Thermo Fisher Scientific verschiedene Anwendungen entwickelt. Zunächst ist hier ein sehr spezifisches Verfahren zur Übergangsmetallbestimmung zu nennen (Abbildung 106). Die Probe wird konzentriert, und die Analyt-Kationen (Fe, Cu, Ni, Zn) danach von der Konzentriersäule eluiert, an der analytischen Säule getrennt und nach Derivatisierung im UV detektiert [160]. Ist die hohe Spezifität und Empfindlichkeit dieses Verfahrens nicht erforderlich, oder sollen nur Nickel und Zink bestimmt werden, so bietet die in Abbildung 107 gezeigte Anwendung eine Alternative [161]. Wie im vorherigen Beispiel wird die Probe konzentriert, eluiert und an einer geeigneten Säule (Dionex IonPac SCS-1) getrennt. Zur Detektion kommt hier allerdings die Leitfähigkeits-Detektion ohne Suppression zum Einsatz. Anders als mit dem Verfahren in [160] kann Eisen nicht verlässlich bestimmt werden. Ursprünglich als „negativ Peaks“ aufgezeichnet, werden die Signale konventionsbedingt mathematisch im Auswertesystem invertiert und erscheinen so als „positive Peaks“ im Chromatogramm. Moderne Dionex ICS Ionenchromatographie Systeme erlauben den Einsatz der Leitfähigkeits-Detektion in den genannten Varianten (mit oder ohne Suppressor, direkt oder indirekt), und tragen so zur flexiblen Lösung analytischer Aufgaben bei.

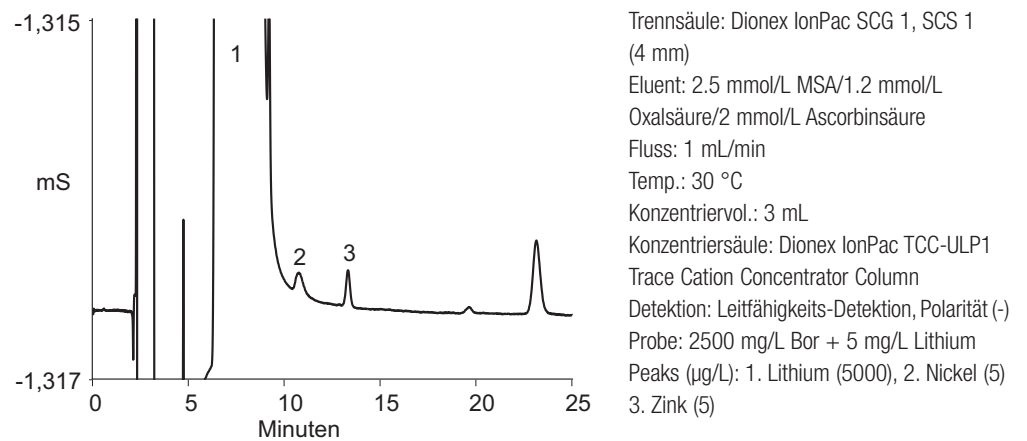
Abb. 106 Übergangsmetalle in borierten Kühlwässern [160]



Trennsäule: Dionex IonPac CS5A (2 mm)
 Eluent: PDCA, KOH, K₂SO₄, CH₃CO₂H
 Eluent: 0.30 mL/min
 Konzentriers.: Dionex IonPac TCC-2
 Konzentriervol.: 4.7 mL
 Temp.: 30 °C, NSD mit PAR
 Detektion: UV (530 nm)
 Chromatogramm (A) Probe,
 Chromatogramm (B) Probe aufgestockt

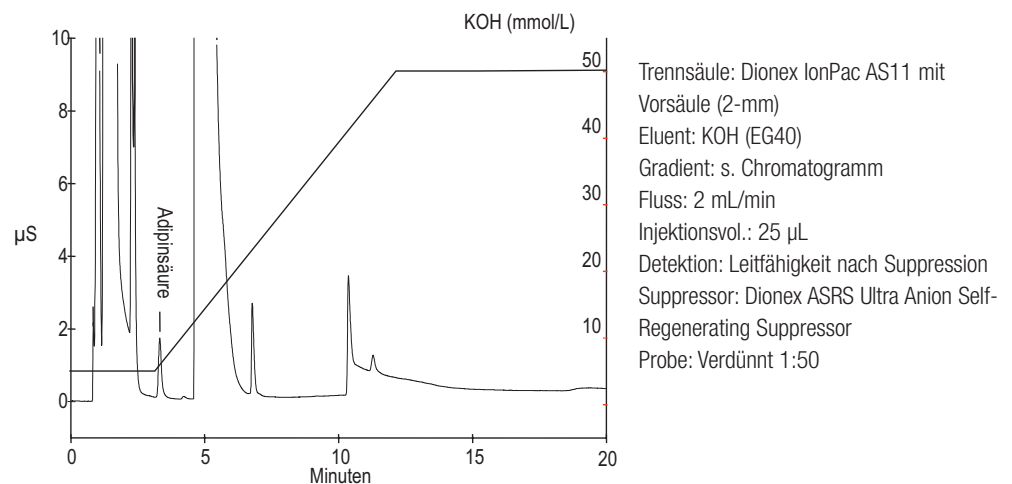
Peaks (µg/L):	A	B
1. Fe(III)	0.05	0.8
2. Cu(II)	<LOD	0.8
3. Ni(II)	<LOD	1.0
4. Zn (II)	15	15

Abb. 107 Bestimmung von Nickel und Zink in borierten Kühlwässern



Neben der Analyse von Kühlwässern ist die Überwachung des Waschkreislaufs von Rauchgasentschwefelungsanlagen (REA) eine weitere wichtige Anwendungsmöglichkeit der Ionenchromatographie. Die Waschlösungen enthalten eine Vielzahl ionogener Bestandteile, die mit der IC bestimmt werden können. Hierzu zählt das Sulfit/Sulfat-Verhältnis, das toxische Chrom(VI), das Ammonium sowie eine Reihe weiterer Schwefelverbindungen wie Dithionat, Amidosulfonsäure und Nitrilotrisulfonsäure. Die einigen Waschlösungen zur Korrektur des pH-Wertes zugesetzte Ameisensäure kann mit der Ionenausschluss-Chromatographie von den anorganischen Anionen getrennt und ebenfalls bestimmt werden. Die in anderen Anwendungsfällen wichtige Adipinsäure-Bestimmung wird mit der HPIC und in Verbindung mit der Gradientenelution durchgeführt (Abbildung 108).

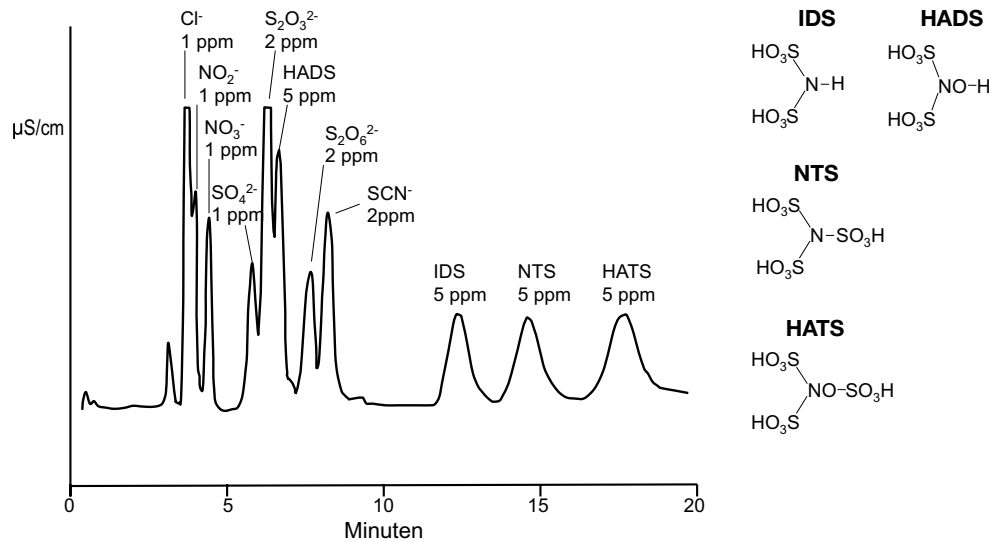
Abb. 108 Adipinsäure-Bestimmung in einer REA-Probe



Die Anwendung der Gradientenelution ist erforderlich, um Adipinsäure von den Überschusskomponenten, Chlorid und Sulfat, chromatographisch zu trennen, da konventionelle Probenvorbereitungstechniken – auch zur ICE – hier nicht eingesetzt werden können. Zur Kontrolle des Rauchgasentstickungsprozesses trägt die IC analytisch bei. Der wichtigste Parameter – das Konzentrationsverhältnis zwischen Nitrit und Nitrat – lässt sich in weniger als fünf Minuten ermitteln. Schließlich sei die Analyse von Kühlwasserkonditionierungsmitteln im Spurenbereich angeführt. Bei diesen Produkten handelt es sich um Gemische aus Polycarbonsäuren und Polyphosphonsäuren, die den

Kühlwässern als Korrosionsinhibitoren zugesetzt werden. Zur Ermittlung des Polyphosphonat-Gehalts in den Kühlwässern, der üblicherweise im oberen $\mu\text{g/L}$ -Bereich liegt, wird sowohl die bereits beschriebene Konzentriertechnik als auch das Verfahren der sog. Large Volume-Injektion angewandt. Das zuletzt genannte Verfahren kann erst durch die Einführung hochkapazitiver Trennsäulen in der Routine eingesetzt werden.

Abb. 109 Bestimmung von Schwefel-Stickstoffverbindungen mit der MPIC [162]



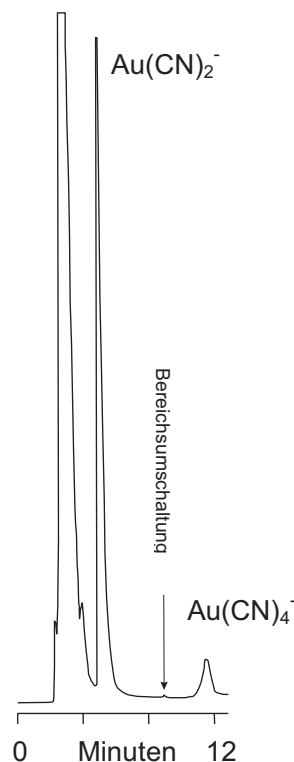
Besondere Bedeutung hat die Bestimmung von Schwefel-Stickstoff-Verbindungen, insbesondere Sulfonsäuren von Ammoniak und Hydroxylamin, in Wässern konventioneller Kraftwerke gewonnen [162]. Diesen Komponenten wird eine korrosive Wirkung auf Rohrleitungen zugesprochen, so dass eine analytische Bestimmung erforderlich wird. Chromatographisch erfolgt die Bestimmung mit der Ionenpaar-Chromatographie, z. B. an einer Dionex IonPac NS1 unter Verwendung der Leitfähigkeits-Detektion nach Suppression. Auf diesem Wege erschließen sich Nitrilotrisulfonsäure (NTS), Iminodisulfonsäure (IDS), Amidosulfonsäure (AS), Hydroxylamin-N,N-disulfonsäure (HADS), Hydroxylamin-N-(mono)sulfonsäure (HAMS), Hydroxylamintrisulfonsäure (HATS), Hydroxylamin-O,N-disulfonsäure (HAODS) und Hydroxylamin-O-(mono)sulfonsäure (HAOMS) in Kraftwerkswässern.

10.3. Ionenchromatographie in der galvanischen Industrie

Die galvanische Industrie hat sich innerhalb kurzer Zeit zu einem der wichtigsten Anwendungsbereiche für die Ionenchromatographie entwickelt [163, 164]. Dabei stehen die Routinekontrolle der Beschichtungsbäder und die Verbesserung der Beschichtungsqualität in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung im Mittelpunkt des Interesses. Mit steigenden Produktionskosten für qualitativ hochwertige Produkte ergab sich die Notwendigkeit, neuartige Analysemethoden einzusetzen, die zum besseren Verständnis der komplexen chemischen Vorgänge in den galvanischen Bädern beitragen.

Ionenchromatographische Analysenverfahren gewährleisten Schnelligkeit und hohe Zuverlässigkeit bei der Analyse von Hauptbestandteilen sowie Reaktions- und Zersetzungsprodukten galvanischer Beschichtungsbäder. Der Vorteil der IC gegenüber den bisher eingesetzten, teilweise unspezifischen nasschemischen Verfahren liegt vor allem in der Selektivität der verwendeten stationären Phasen und Detektionssysteme. So beschränkt sich die Probenvorbereitung in fast allen Fällen auf eine einfache Verdünnung mit entionisiertem Wasser und anschließender Filtration. Eine Vielzahl von Anwendungsmöglichkeiten auf der Basis elektrolytischer und stromloser Abscheidung ist in Tabelle 4 (S. 111) zusammengefasst. Charakteristische Beispiele für die Analyse anorganischer Anionen ist die Chlorid-Bestimmung in Kupfersulfat-Bädern, die Bestimmung der verschiedenen Phosphorspezies in stromlosen Nickelbädern, die Bestimmung der Hauptkomponenten Sulfat und Chromat in schwefelsauren Chrombädern sowie die Untersuchung von Galvano-Abwässern auf anorganische Anionen. Interessant ist die Möglichkeit, Metalle als Cyano-Komplexe bestimmen zu können. Das in Abbildung 110 angegebene Beispiel – die Überwachung von Gold-Beschichtungsbädern – ist typisch für die Kostenersparnis durch Einsatz moderner Analysenverfahren zur Messung des Au(I)/Au(III)-Verhältnisses. Dieses muss laufend bestimmt werden, da mit steigendem Gehalt an Gold(III) während des Beschichtungsprozesses dessen Effizienz abnimmt. Da beide Goldspezies in Gegenwart von Cyanid als stabile anionische Cyano-Komplexe vorliegen, können sie mit der Ionenpaar-Chromatographie getrennt und über ihre elektrische Leitfähigkeit detektiert werden (s. Abb. 110). Konventionelle Analysenverfahren wie AAS und Fällungs- bzw. Titrationsverfahren zur Ermittlung des Gesamtgoldgehaltes erfordern dagegen zeitaufwendige Probenvorbereitungen, um die Komplexbindung aufzuspalten.

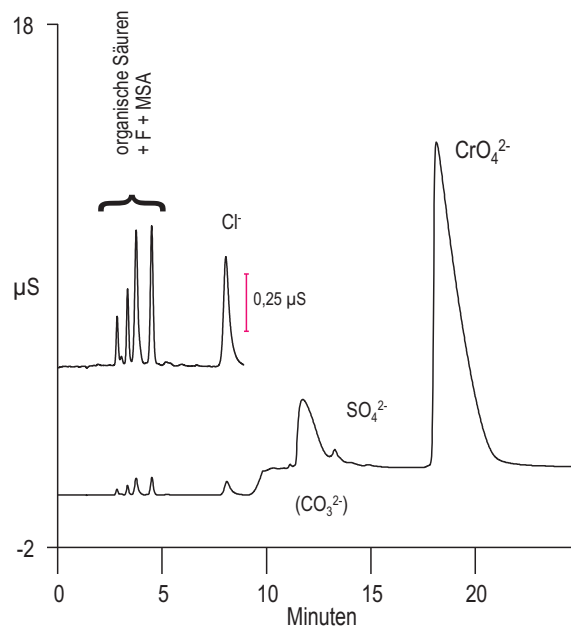
Abb. 110 Trennung von Gold (I) und Gold(III) als Cyano-Komplexe in einem galvanischen Goldbad



Trennsäule: Dionex IonPac NS1
 Eluent: 2 mmol/L TBAOH + 2 mmol/L
 Na₂CO₃ / Acetonitril (60:40; mL/mL)
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Injektion: 50 µL Probe (1:200 verdünnt)

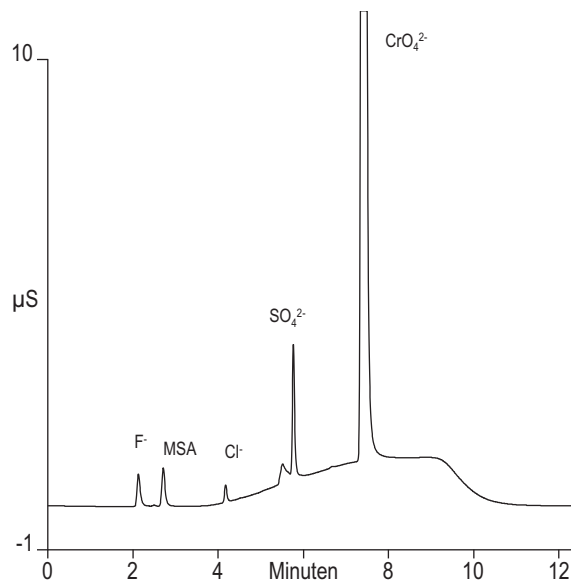
Ein großes Anwendungsspektrum bietet die IC im Bereich der organischen Säuren. Hierzu gehört u.a. die Bestimmung von Di- und Tricarbonsäuren in stromlosen Nickelbädern sowie die Analyse kurzkettiger Fettsäuren und Sulfonsäuren in Kupfer- und Nickelbädern. Zur simultanen Bestimmung anorganischer und organischer Anionen wird häufig die Gradientenelution eingesetzt. Die verschiedenen Anwendungsformen, d.h. kontinuierliche (meist lineare) Gradienten, oder auch einfache Stufen-Gradienten kommen zur Anwendung (Abbildung 111). Der Vorteil der Stufen-Gradient-Technik liegt darin, dass sie auch mit einer Ionenchromatographen durchgeführt werden können [165].

Abb. 111 Stufen-Gradient zur simultanen Trennung organischer und organischer Anionen in einem galvanischen Chromsäure-Bad



Trennsäule: Dionex IonPac AS4A-SC mit Vorsäule
 Eluent: NaOH-Stufengradient
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvol.: 25 µL
 Probe: Chrom-Elektrolyt mit NaOH verdünnt

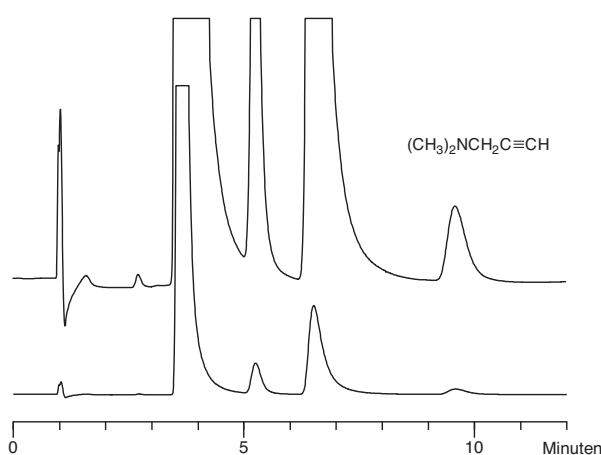
Abb. 112 Linearer Gradient zur Anionen-Bestimmung in einem Chromsäure Bad



Trennsäule: Dionex IonPac AS11 mit Vorsäule
 Eluent: NaOH-Gradient
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvol.: 25 µL
 Probe: Chromsäure-Bad
 Probenvorb.: 1:50 mit NaOH (0,1 mol/L) verdünnt

Ist eine noch höhere chromatographische Auflösung oder eine kürzere Analysenzeit gefordert, kommen zumeist lineare NaOH-Gradienten zum Einsatz. Der Zeitbedarf für Gradiententrennungen kann mit modernen Trennsäulen auf wenige Minuten gesenkt werden [166]. Abbildung 112 zeigt, dass eine Gradient-Elution zur Chromatographie-Untersuchung einschließlich der Rekonditionierung des chromatographischen Systems weniger als 12 Minuten dauert, und damit in der Größenordnung schneller isokratischer Trennungen liegt. Im direkten Vergleich besticht die Gradient-Anwendung durch die deutlich bessere Trennung und die ungleich symmetrischeren Peaks, etwa für das Chromat. Die Gradient-Elution in der IC in Verbindung mit der Leitfähigkeits-Detektion wird erst durch den Einsatz kontinuierlich regenerierter Membransuppressoren möglich. Durch den Einsatz moderner Eluenten Generatoren (s. S. 82) vereinfacht sich diese Technik auf das Bereitstellen von entionisiertem Wasser, aus dem elektrolytisch ein KOH-Eluent erzeugt wird.

Abb. 113 Bestimmung von N,N'-Dimethyl-2-propinylamin in einem galvanischen Nickelbad

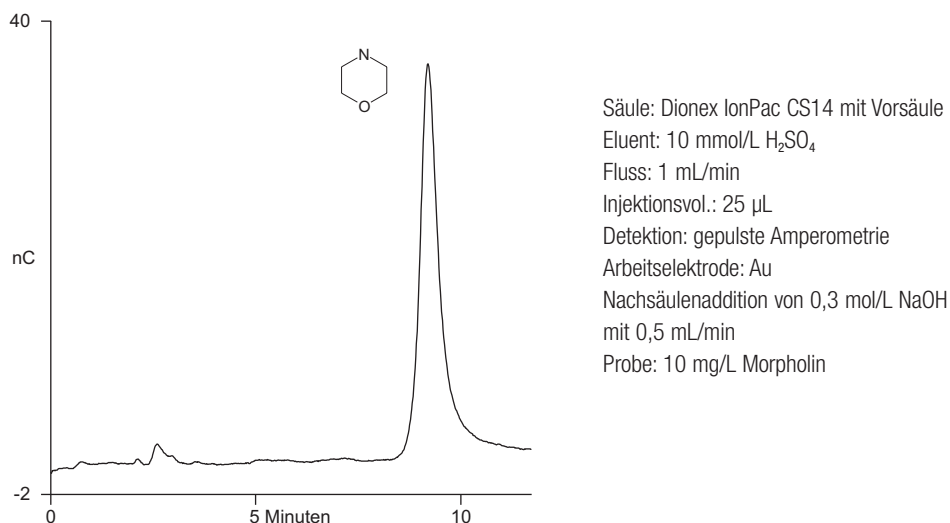


Trennsäule: Dionex IonPac CS10 mit Vorsäule
 Eluent: 40 mmol/L HCl
 100 mL/L Acetonitril
 Fluss: 1,5 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex CMMS II Cation MicroMembrane Suppressor
 Injektionsvol.: 25 µL
 Verdünnung: 1:10
 Probenvorb.: Dionex OnGuard RP-Kartusche
 Konzentration: 50,2 mg/L in der Ausgangslösung

Die Kationenaustausch-Chromatographie hat einen besonderen Stellenwert in der Untersuchung galvanischer Bäder eingenommen, da es mit diesem Verfahren gelingt, unterschiedliche Amin-Zusätze einfach und elegant zu bestimmen. Beispielhaft sei die Bestimmung von N,N'-Dimethyl-2-propinylamin und Morpholin erwähnt. Während die erste Komponente an einem lösemittelstabilen Kationenaustauscher vom Typ Dionex IonPac CS10 getrennt und mit der Leitfähigkeits-Detektion nach Suppression empfindlich detektiert werden kann (Abbildung 113), ist der noch empfindlichere Nachweis von Aminen unter Einsatz der gepulsten Amperometrie (PAD) und der integrierenden Amperometrie (IPAD) möglich (Abbildung 114). Dabei wird die Trennung bei niedrigen pH-Werten an geeigneten Kationenaustauschern vorgenommen. Anschließend wird unmittelbar vor der Messzelle eine NaOH-Lösung – im Regelfall mit $c(\text{NaOH}) = 0,3 \text{ mol/L}$ – addiert, so dass das für die amperometrische Detektion erforderliche freie Elektronenpaar am Stickstoffatom vorliegt. Für verschiedene Alkyl- und Alkanolamine, aber auch für biogene Amine, kann mit diesem Verfahren eine Nachweisgrenze von wenigen µg/L – bezogen auf die injizierte Lösung – erreicht werden [23, 167]. Im Gegensatz zu klassischen HPLC-Verfahren ist keine Derivatisierung der Amine erforderlich. Der Anwendungsbereich der IC umfasst einfache organisch substituierte Amine bis hin zu komplexen Amin-Mischungen, bei deren Analytik die IC zur „Fingerprint-Analyse“ eingesetzt wird. In diesem Fall spielt die Gradient-Elution eine wichtige Rolle, da sie die Elution auch solcher Amine erlaubt, die unter isokratischen Bedingungen nicht oder sehr spät eluieren. In diesem Zusammenhang spielt die Kopplung der IC mit der Massenspektrometrie eine immer wichtigere Rolle.

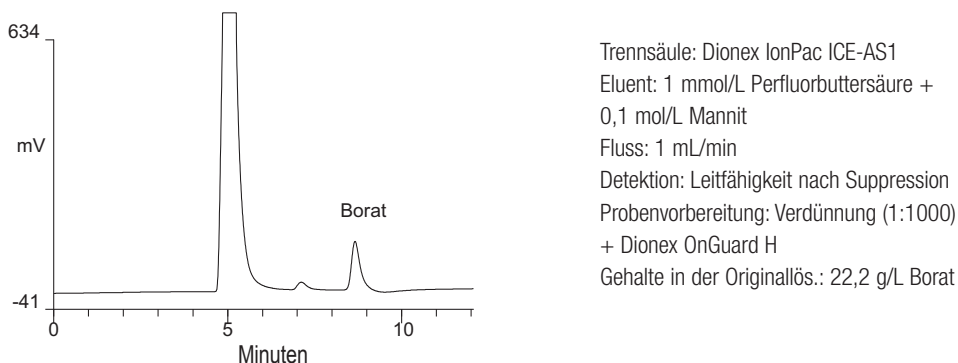
Kerntechnologie ist hierbei die Suppressionstechnik, durch die der Eluent, meist handelt es sich um MSA, in Wasser überführt wird. Damit liegen die Amine in einem MS-kompatiblen Suppressor-Effluat vor. In Einzelfällen kann die Ionisierung und damit die Empfindlichkeit der Amin-Bestimmung durch Zumischen von Acetonitril unmittelbar vor dem MS-Interface gesteigert werden.

Abb. 114 Morpholin-Detektion mit gepulster Amperometrie



Neben der Bestimmung von Alkali- und Erdalkalimetallen, Ammonium, Aminen sowie Übergangs- und Schwermetallen in diversen Badtypen lassen sich auch eine Reihe organischer Additive mit der IC erfassen. Organische Additive spielen eine bedeutende Rolle für die Aufrechterhaltung der Beschichtungsqualität galvanischer Bäder. Nickel-Eisen-Bäder beispielsweise enthalten Saccharin und oberflächenaktive Verbindungen wie Natriumlaurylsulfat, die beide ionenpaarchromatographisch bestimmbar sind. Große Bedeutung besitzen Thioharnstoff-Derivate wie 2 Imidazolidinthion und N,N'-Diphenylthioharnstoff, die in stromlosen Nickelbädern als Glanzzusatz verwendet werden. Zur Trennung dieser basischen Substanzen eignet sich ein neutrales Polymer; der Nachweis erfolgt über die Messung der Lichtabsorption. Neben der Ionenaustausch-Chromatographie (IC) und der Ionenpaar-Chromatographie (MPIC, IPC) findet auch die Ionenausschluss-Chromatographie (ICE) Anwendung in der Analytik galvanischer Bäder. Als exemplarisches Beispiel für die Bestimmung schwacher Säuren zeigt Abbildung 115 die chromatographische Analyse von Borsäure in einem Nickelbad. Der Mannit-Zusatz zum Eluenten ermöglicht den empfindlicheren Borat-Nachweis in der Leitfähigkeits-Detektion durch die Bildung stärker dissoziierter Borsäure-Mannit-Ester. Zur Verringerung der aufgetragenen Kationenmenge wird die Probe – nach Verdünnung – einzig über einen stark sauren Ionenaustauscher vom Typ Dionex OnGuard H injiziert. Mit diesem Verfahren sind auch andere schwache anorganische und organische Säuren chromatographisch bestimmbar, wobei bei deren Bestimmung auf den Mannit-Zusatz zum Eluenten verzichtet wird.

Abb. 115 Borat-Bestimmung in einem Nickelbad



Tab. 4 Ausgewählte Anwendungsbereiche und Analysenbeispiele in der galvanischen Industrie

Art des Beschichtungsbad	Analysen- und Anwendungsbeispiele
Kupfer (stromlos)	Bestimmung von Ameisensäure, Weinsäure, Triethanolamin, EDTA und $\text{Cu}(\text{EDTA})^{2-}$
Kupfersulfat (elektrolytisch)	Bestimmung des $\text{Cl}^-/\text{SO}_4^{2-}$ Verhältnisses, von metallischen Verunreinigungen wie Ni^{2+} und Zn^{2+} , organischen Additiven
Kupferpyrophosphat (elektrolytisch)	Bestimmung von Ammonium, Orthophosphat und Nitrat
Kupfercyanid	Bestimmung von Cu^{2+} nach Vorbereitung mit starken Säuren, Hexacyanoferraten
Nickelsulfamat (elektrolytisch)	Bestimmung von Sulfamat, Chlorid, Sulfat und Ammonium
Nickel/Eisen (elektrolytisch)	Bestimmung des $\text{Ni}^{2+}/\text{Fe}^{2+}$ -Verhältnisses, von Na^+ , Cu^{2+} , Borsäure, Saccharin und Laurylsulfat
Nickel (stromlos)	Bestimmung von Hypophosphit, Phosphit, Citronensäure, Bernsteinsäure, $\text{Ni}^{2+}/\text{Co}^{2+}$ - Verhältnis
Nickel/Cobalt (stromlos)	
Goldcyanid	Bestimmung von $\text{Au}(\text{CN})_2^-$, $\text{Au}(\text{CN})_4^-$, $\text{Co}(\text{CN})_6^{3-}$, CN^- , Cl^- , Phosphat, Carbonat und Hexacyanoferrat (II) und Hexacyanoferrat(III)

10.4. Ionenchromatographie in der Halbleiterindustrie

Eines der Schlüsselprobleme in der Halbleiterindustrie ist die Lebensdauer der produzierten Halbleiterbauelemente, die durch ionische Kontaminationen entscheidend verringert wird. Zu Ursachen bzw. Quellen der Verunreinigungen zählen vor allem

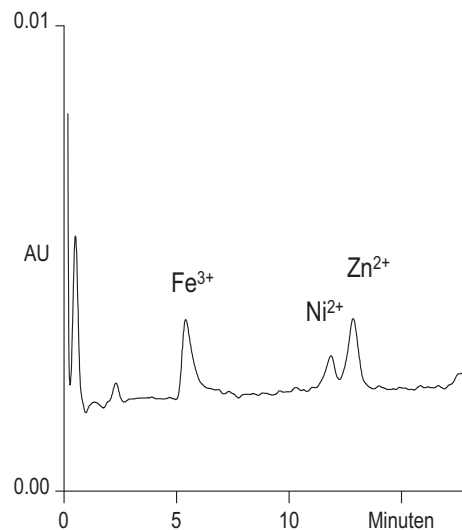
- Die unzureichende Qualität des verwendeten Wassers
- Unvollständige Spülprozesse
- Verunreinigungen in den verwendeten Chemikalien
- Kontaminationen in den Passivierungsschichten
- Die Qualität und Art der eingesetzten Polymere

Die Komplexität, das Entwicklungstempo sowie die Diversifizierung dieses Industriezweiges stellen somit höchste Ansprüche an die Qualität des eingesetzten Wassers, der verwendeten Chemikalien und der Lösemittel.

Für den Bereich der Fabrikation von Halbleiterbauelementen und Leiterplatten bietet sich die IC als leistungsfähige Methode zur Bestimmung ionischer Spezies an. Im Laufe der letzten Jahre hat sie herkömmliche Verfahren zur Identifizierung und Quantifizierung korrosionsverursachender Ionen abgelöst und wird vom Semiconductor Equipment and Materials Institute, Inc. (SEMI) als

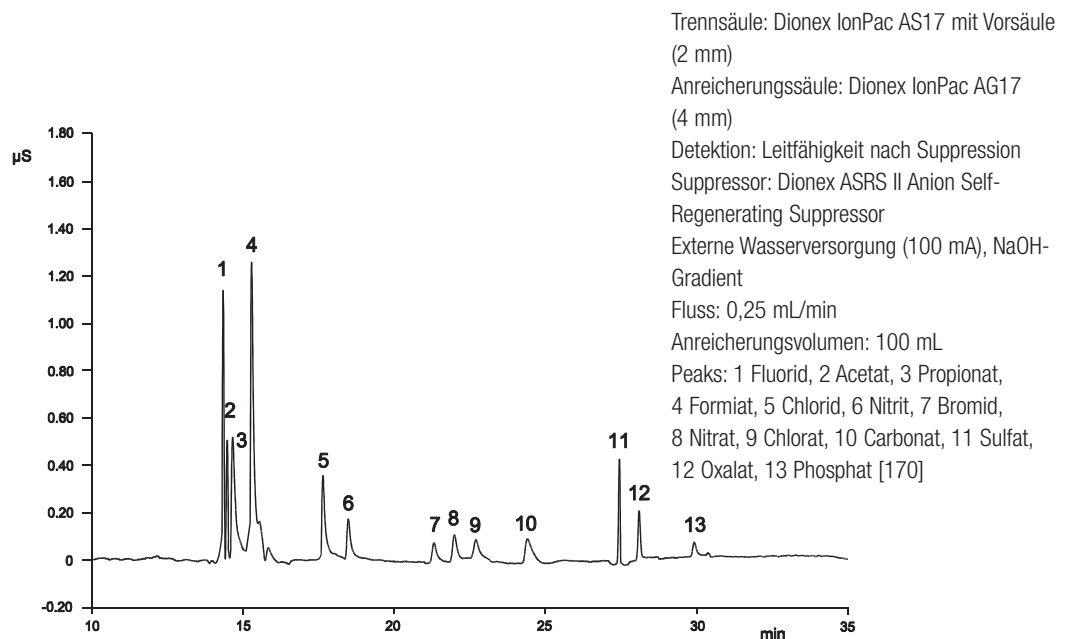
Referenzverfahren – insbesondere für spurenanalytische Aufgabenstellungen – beschrieben. Die verschiedenen Anwendungsbereiche sowie typische Beispiele sind in Tabelle 5 zusammengefasst. Die vielen Einsatzmöglichkeiten der IC im Bereich der Mikroelektronik sind nachfolgend anhand charakteristischer Beispiele erläutert. Große Bedeutung besitzt die Qualität des bei der Herstellung von Leiterplatten in großen Mengen benötigten ultrareinen Wassers [168]. Wie im Bereich der Kraftwerkschemie werden auch in der Halbleiterindustrie zur Sicherstellung dieser Qualität seit einigen Jahren ionenchromatographische Verfahren zur Bestimmung von Mineralsäuren [169], Silikat, Alkalimetallen sowie Übergangs- und Schwermetallen eingesetzt (s. Abbildung 116), die heutzutage vollständig automatisiert sind. Die dazu notwendige gerätetechnische Ausstattung lässt sich sowohl für den Laborbetrieb als auch für den Online-Betrieb konfigurieren. Auf Grund der gestiegenen Anforderungen im Bereich der Reinstwasseranalytik wird heutzutage neben den so genannten Standard-Anionen auch die Quantifizierung organischer Säuren gefordert. Zu deren ionenchromatographischer Bestimmung im Spurenbereich war bislang sowohl eine geeignete Anreicherungstechnik als auch eine sichere chromatographische Trennung erforderlich.

Abb. 116 Übergangsmetall-Bestimmung in Reinstwasser



Trennsäule: Dionex IonPac CS 5 mit Vorsäule (4 mm)
 Eluent: PDCA, LiOH
 Fluss: 1 mL/min
 Konzentriers.: Dionex IonPac CG2
 Anreicherungsvol.: 310 mL
 Detektion: UV (520 nm) nach Derivatisierung mit PAR
 Peaks [ng/L; ppt]: Fe³⁺ (8); Ni²⁺ (2); Zn²⁺ (38)

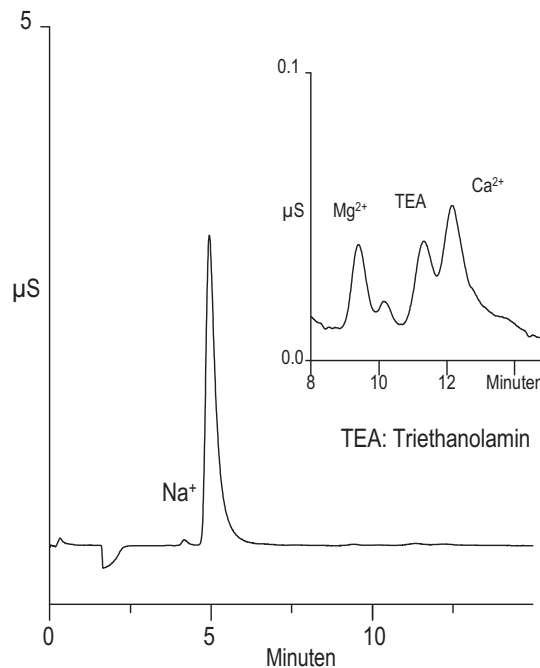
Abb. 117 Basislinien normiertes Chromatogramm einer „10-ng/L“-Anionenstandardlösung



Trennsäule: Dionex IonPac AS17 mit Vorsäule (2 mm)
 Anreicherungssäule: Dionex IonPac AG17 (4 mm)
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS II Anion Self-Regenerating Suppressor
 Externe Wasserversorgung (100 mA), NaOH-Gradient
 Fluss: 0,25 mL/min
 Anreicherungsvolumen: 100 mL
 Peaks: 1 Fluorid, 2 Acetat, 3 Propionat, 4 Formiat, 5 Chlorid, 6 Nitrit, 7 Bromid, 8 Nitrat, 9 Chlorat, 10 Carbonat, 11 Sulfat, 12 Oxalat, 13 Phosphat [170]

Abbildung 117 zeigt die Trennung einer entsprechenden Standardlösung im ng/L-Bereich (ppt). Um Komponenten mit stark unterschiedlichen Wechselwirkungen zu Anionenaustauschern chromatographisch trennen zu können, kommt die Gradientenelution zum Einsatz. Beachtenswert ist hierbei die hohe chromatographische Auflösung der interessierenden Komponenten.

Abb. 118 Kationen-Bestimmung in einem Reinstwasser

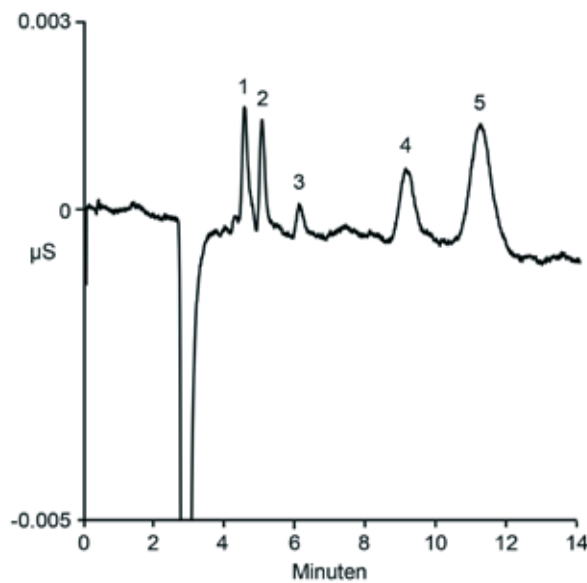


Trennsäule: Dionex IonPac CS12 mit Vorsäule
 Eluent: 20 mmol/L MSA
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Anreicherungsvol.: 100 mL
 Konzentrersäule: Dionex IonPac CG12
 Probe: Reinstwasser (nach Polisher)
 Peaks [μg/L]: Natrium (0,009); Ammonium (0,634); Kalium (0,005); Magnesium (0,002); Calcium (0,005)

Zur Vollständigkeit sei darauf hingewiesen, dass es sich bei dem gezeigten Chromatogramm um eine reale Analyse handelt, die mit einem Thermo Scientific Dionex DX-800 Process Analyzer Online-IC System erhalten wurde. Mit dem Verfahren der Anreicherung konnten die Bestimmungsgrenzen für anorganische Anionen, Übergangsmetalle (Abbildung 116) und Kationen sowie kurz-kettige Amine (Abbildung 118) auf Werte unter 10 ng/L (ppt) gesenkt werden. Der Einsatz von μ bore-Säulen in der IC hat eine weitere Möglichkeit zur Spurenanalytik anorganischer und organischer Ionen eröffnet. Durch die Verkleinerung des Säuleninnendurchmessers (ID = 2 mm), und des resultierenden geringeren Volumenstroms wird bei gleich bleibendem Injektionsvolumen eine höhere Empfindlichkeit des Detektionsverfahrens erreicht. Bei Verwendung größerer Injektionsvolumina (bis zu 1500 μ L) sind Nachweisgrenzen für Ionen in Reinstwasser im Bereich von 200 ng/L ohne Anreicherung möglich [171]. Dieser Ansatz wird im angelsächsischen Sprachraum auch als Large Loop Injection bezeichnet. Eine weitere Steigerung der Nachweisgrenzen wird durch den Einsatz von Kapillarsäulen erreicht. Die noch geringeren Säulendurchmesser (0,25 bis 0,5 mm) führen zu einer deutlichen Steigerung der Massenempfindlichkeit des Ionenchromatographen, so dass mit Injektionsvolumina von wenigen μ L Nachweisgrenzen im sub- μ g/L-Bereich möglich werden (s. Abbildung 119).

Die Ionenchromatographie wird jedoch nicht nur zur Überwachung der Wasserqualität, sondern auch zur Analyse einer Vielzahl von Prozesslösungen eingesetzt. Hierzu gehören Reiniger, Aktivatoren auf Basis von Palladium sowie diverse galvanische Bäder, deren Analytik bereits kurz beschrieben wurde.

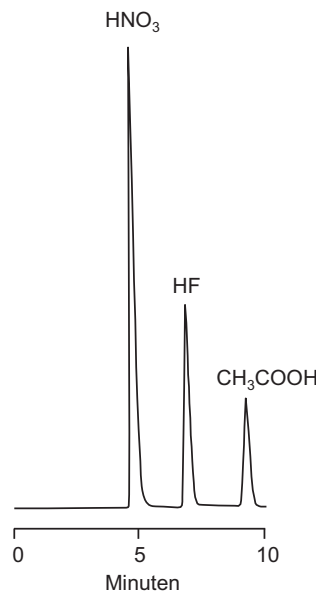
Abb. 119 Spurenbestimmung von Kationen mit der Kapillar-IC



Trennsäule: Dionex IonPac CG12A, CS12A (0,4 × 250 mm)
 Eluent: MSA (RFIC)
 Eluent: 20 mmol/L MSA
 Fluss: 10 µL/min
 Temp.: 30 °C
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppression: Dionex CCES Capillary Cation Electrolytic Suppressor
 Injektionsvol.: 0,4 µL
 Probe: Reinstwasser nach online Entsalzung mit Dionex CR-CTC Continuously Regenerated Cation Trap Column
 Peaks (µg/L): 1. Natrium (0,4), 2. Ammonium (0,6), 3. Kalium (0,2), 4. Magnesium (0,6), 5. Calcium (1,5)

Ein weiteres Einsatzgebiet der IC ist die Analytik von Ätzlösungen. Hierbei handelt es sich um Gemische verschiedener anorganischer und organischer Säuren, die zur Entfernung von Metalloxiden und anderen Verunreinigungen von Metalloberflächen dienen. Abbildung 120 zeigt beispielhaft das Chromatogramm einer verdünnten HF/HNO₃/HOAc-Ätzlösung, das mit der Ionenausschluss-Chromatographie erhalten wurde. Auch nach Fertigstellung von Leiterplatten und Halbleiterbauelementen kommt die IC nutzbringend zum Einsatz. Fehlfunktionen werden meist durch Korrosionsverursachende Anionen im Innern der Gehäuse, in denen die Mikrochips eingebettet sind, hervorgerufen. Die Identifizierung und Quantifizierung dieser Verbindungen mit ionenchromatographischen Verfahren ist oft ein wesentlicher Beitrag zur Lokalisierung von Kontaminationsquellen. Daneben wird die IC zur Reinheitsuntersuchung etwa von Wasserstoffperoxid und HF sowie von organischen Lösemitteln wie Aceton, 2-Propanol und zur Untersuchung von Anionen in Laugen oder Kationen in Säuren erfolgreich eingesetzt [172 - 174].

Abb. 120 Chromatogramm eines HF/HNO₃/HOAc-Ätzmischtes



Trennsäule: Dionex IonPac ICE AS1
 Eluent: 1 mmol/L Octansulfonsäure
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit mit Suppressorsystem
 Injektion: 50 µL
 Probe: 1:1000 verdünnt

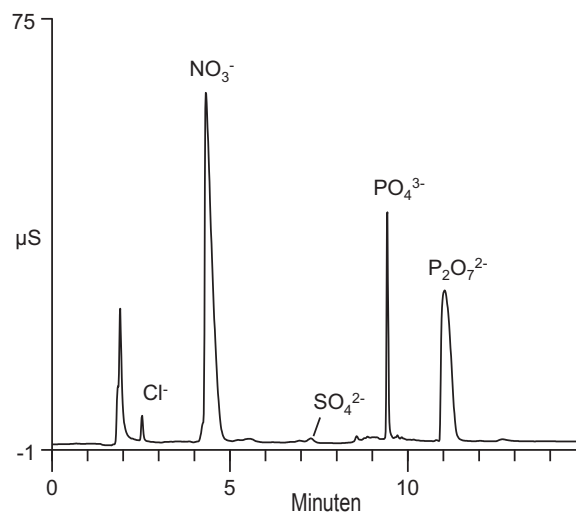
Tab. 5 Typische Anwendungsbeispiele in der Halbleiterindustrie

Anwendungsbereich	Analysen- und Anwendungsbeispiele
Wasseranalyse	Bestimmung von anorganischen Mineralsäuren in entionisiertem Wasser, Prozess-, Spül-, und Abwasser
Ätzlösungen	Bestimmung von Hauptbestandteilen und Verunreinigungen in HF/HNO ₃ ⁻ , HF/HOAc/HNO ₃ ⁻ Gemischen
Lösemittel	Bestimmung von Chlorid (direkt oder nach Extraktion)
Säuren	Bestimmung von Fremdanionen wie Chlorid, Nitrat und Sulfat in Phosphorsäure
Laugen	Bestimmung von Natrium in 46 %iger NaOH
Polymere	Bestimmung von anionischen und kationischen Verunreinigungen in "dual in line"-Gehäusen

10.4.1. Wasserstoffperoxid-Untersuchungen

Zur Untersuchung von Halbleiterchemikalien wird die Ionenchromatographie häufig mit einer inline-Probenvorbereitung, z. B. zur Matrix-Eliminierung, gekoppelt.

Abb. 121 Anionenbestimmung in 60 % H₂O₂ nach Matrix-Eliminierung

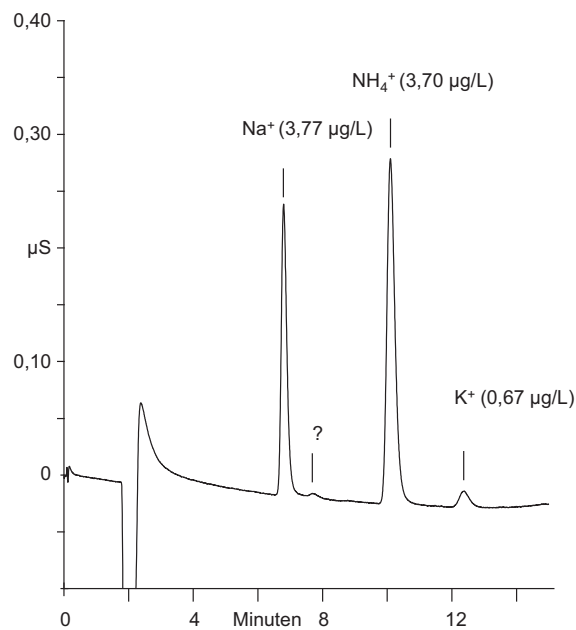


Trennsäule: Dionex IonPac AS11 mit Vorsäule
 Eluent: 10 mmol/L NaOH für 6 Minuten
 Stufen-Gradient auf 44 mmol/L NaOH nach 6,1 Minuten
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Suppressor: Dionex ASRS I Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvol.: 100 µL
 Probenvorbereitung: Verdünnung 1:10 und Online Matrixeliminierung
 Peaks [mg/L]: Chlorid (4,4), Nitrat (115), Sulfat (3,0), Phosphat (33), Pyrophosphat (97)

Zur Injektion wird ein konventioneller Schleifeninjektor verwendet. Der Inhalt der Injektionsschleife wird mit einer Transportlösung zur Konzentratorsäule gefördert. Die Transportlösung ist so gewählt, dass die Analyte zurückgehalten werden, während die Matrix-Bestandteile die Anreicherungs-säule passieren. Die Konzentratorsäule ist an einem Säulenschaltventil angebracht, das sie nach beendtem Proben-transfer und nach Matrix-Eliminierung, d.h. nach ausreichender Elution mit der Transportlösung, in den Eluentenstrom schaltet. Die Analyte werden eluiert und an der nachfolgenden Säule getrennt. Unterschiedliche Chemikalien und Matrizes sind mit diesem Verfahren zugänglich.

Beispielhaft sei auf die in Abbildung 121 gezeigte Untersuchung von Wasserstoffperoxid verwiesen [175, 176]. In beiden Fällen kommt ein chromatographisches Verfahren zur Matrixeliminierung zum Einsatz, bei dem die Probe mit entionisiertem Wasser über eine vorgeschaltete Säule geleitet wird. Im Falle der Ionenbestimmung in H_2O_2 werden die Analyte zurückgehalten, während die Matrix (H_2O_2) die Säule passiert. Als Anreicherungssäule wird in diesem Fall die Vorsäule der gewählten Trennphase vom Typ Dionex IonPac AG11 eingesetzt. Auf diese Weise gelingt die gezeigte Bestimmung der verschiedenen Anionen in 60 % H_2O_2 . Es ist sowohl die Untersuchung von stabilisiertem, wie auch hochreinem H_2O_2 , das in der Halbleiterindustrie eingesetzt wird, möglich [176]. Dieses inline-Verfahren ist darüber hinaus zur Bestimmung von Alkalimetallen und Ammonium in hochreinem Wasserstoffperoxid anwendbar, wie Abbildung 122 verdeutlicht [177].

Abb. 122 Kationenbestimmung in 30 % H_2O_2 nach Matrix-Eliminierung (Halbleiterqualität)



Trennsäule: Dionex IonPac CS10 mit Vorsäule
 Anreicherungssäule: Dionex IonPac CG12A
 Eluent: 40 mmol/L MSA
 Fluss: 1 mL/min
 Injektionsvolumen: 1000 µL
 Detektion: Leitfähigkeit nach AutoSuppression
 Suppressor: Dionex CSRS Ultra Cation
 Self-Regenerating Suppressor, externe
 Wasserversorgung

Bei der Anionenbestimmung in HF erfolgt die Vortrennung an einer Ionenausschlussphase, bei der die Matrix (die schwachsaure Flussssäure) stärker zurückgehalten wird als die zu bestimmenden Anionen. Durch eine entsprechende Heart-cutting-Technik ist es möglich, die interessierende Fraktion des Säuleneluats auf eine Anreicherungssäule zu bringen, von der die Analyte zur Trennung an einem Anionenaustauscher automatisch eluierbar sind [44].

10.5. Ionenchromatographie in der Wasch- und Haushaltsmittel-Industrie

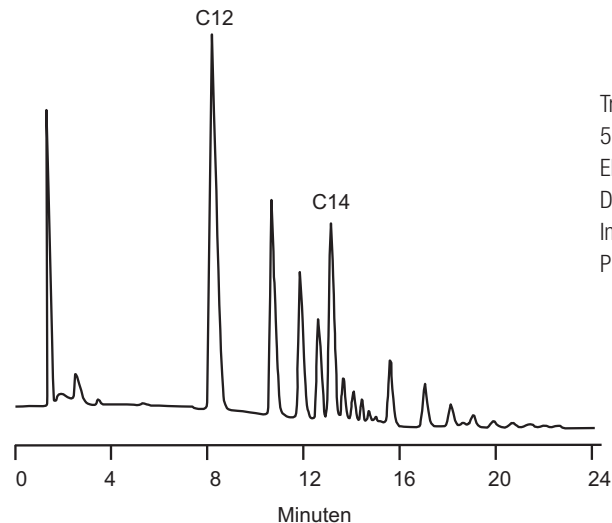
10.5.1. Waschmittel

Ionogene Waschmittel-Inhaltsstoffe wie

- Tenside
- Gerüststoffe
- Bleichmittel
- Hilfsstoffe

besitzen eine zentrale Bedeutung beim Ablauf des Waschvorganges. Zu den konventionellen nass-chemischen und instrumentellen Methoden zur Analyse ionogener Waschmittel-Inhaltsstoffe zählen die Gravimetrie zur Bestimmung von Sulfat [178], die Potentiometrie zur Bestimmung von Chlorid, Phosphat und Borat [179, 180], die Komplexometrie zur Bestimmung von NTA und EDTA [181] sowie die Photometrie wiederum zur Bestimmung von Sulfat [182]. Methoden dieser Art sind sehr arbeitsintensiv und zeitaufwendig und werden konsequenterweise durch die wesentlich schnelleren und empfindlicheren ionenchromatographischen Verfahren [183] ersetzt.

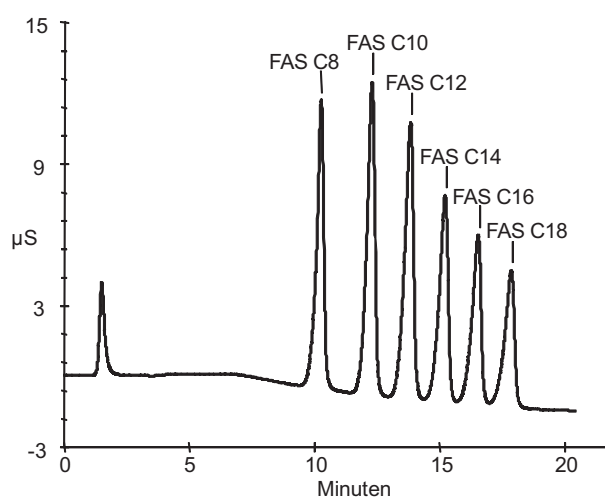
Abb. 123 Trennung eines Laurylethersulfats (Texapon® N25, Henkel Co.)



Die Tenside bilden die wichtigste Gruppe aller Waschmittel-Inhaltsstoffe; sie sind in allen Waschmitteln enthalten. Sie wurden bisher mit der 2-Phasentitration [184, 185] analysiert. Eine chromatographische Bestimmung ist mit der Ionenpaar-Chromatographie in Verbindung mit Leitfähigkeit oder UV-Detektion möglich. Abbildung 123 zeigt hierzu das Chromatogramm eines Fettalkoholethersulfats, das als waschaktive Substanz in einer Vielzahl von Wasch- und Reinigungsmitteln enthalten ist. Für die Trennung dieses komplexen Substanzgemisches diente in diesem Fall ein chemisch modifiziertes Kieselgel als stationäre Phase. Mit Natriumacetat als Ionenpaar-Reagenz

und Acetonitril als organisches Lösemittel lassen sich auf diese Weise Fettkohleoethersulfate nach Alkylkettenlänge und Ethoxylierungsgrad auftrennen. Zur zweifelsfreien Identifizierung von Tensiden in Waschmittel-Fertigprodukten ist häufig eine Vortrennung der einzelnen Tensidklassen erforderlich, da Waschmittelformulierungen oftmals eine Kombination verschiedener Tensidgruppen enthalten. Zur Auftrennung haben sich unter anderem dünnenschichtchromatographische Verfahren bewährt. Waldhoff et al. [186], sowie Scherler et al. [187] beschreiben Verfahren zur Vorreinigung, sowie der Tensid-Anreicherung zur nachfolgenden flüssigchromatographischen Bestimmung. Abbildung 124 zeigt darüber hinaus die Möglichkeit NH_4OH – alternativ kann auch KOH verwendet werden – als Ionenpaarbildner einzusetzen. Mit diesem Verfahren werden Fettkoholsulfate in den unterschiedlichsten Waschmitteln untersucht. Neben den gezeigten Beispielen sind auch kationische Tenside mit diesem Verfahren in unterschiedlichen Haushaltsmitteln bestimmbar.

Abb. 124 Trennung eines Fettkoholsulfat-Standards



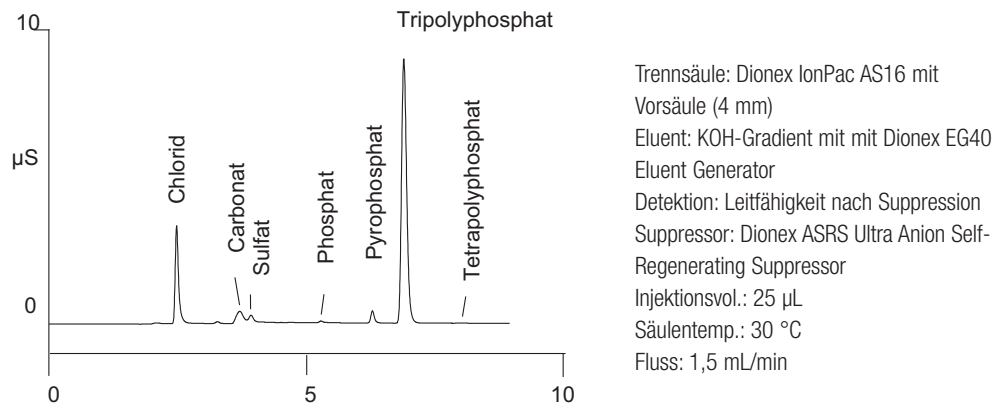
Trennsäule: Dionex IonPac NS1 mit Vorsäule
 Eluent: NH_4OH /Acetonitril-Gradient
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Injektionsvolumen: $50\mu\text{L}$

Verschiedene aktuelle Beispiele demonstrieren, dass auf Grund der Größe der untersuchten Verbindungen vergleichsweise einfache Ionenpaarbildner einsetzbar sind. Zur Anwendung kommen dabei Mineralsäuren wie Salz- und Schwefelsäure. Bei den verschiedenen Beispielen erfolgt die Quantifizierung über die Leitfähigkeits- und UV-Detektion. Die Entwicklung moderner Kieselgel-Trennmaterialien, etwa der Acclaim Surfactant, HILIC-Phasen und Säulen mit gemischter Ionenaustausch- und RP-Selektivität, ermöglicht heute zusätzlich zur Leitfähigkeits- und UV-Detektion auch den Einsatz der Charged Aerosol Detektion, so dass neben ionischen auch nicht-ionische Tenside häufig sogar in einem Lauf erfasst werden können. Liu et al. geben in einem interessantem Statuspapier Hinweise zur Strategie in der Tensid-Analytik mit der modernen HPLC [188].

Zu den Gerüststoffen zählen Komplexbildner wie Natriumtriphosphat, Ionenaustauscher, wie Zeolith A und Waschalkalien wie Natriumcarbonat und Natriumsilikat. Für die Analyse kondensierter Phosphate und Polyphosphonate wendet man zum einen die Anionenaustausch-Chromatographie in Verbindung mit einer Nachsäulenderivatisierung [189] an, bei der die Phosphorverbindungen zu Orthophosphat hydrolysiert und nach Reaktion mit Natriummolybdat photometrisch detektiert werden. Zum anderen kommen heute Verfahren zum Einsatz, bei denen die polyvalenten Anionen an einem geeigneten analytischen Austauschermaterial mit der Gradiententechnik getrennt und über die elektrische Leitfähigkeit nachgewiesen werden (Abbildung 125). Carbonat und Silikat können mit der Ionenausschluss-Chromatographie analysiert werden. Während Carbonat über die elektrische Leitfähigkeit detektiert werden kann, weist man Silikat nach Derivatisierung

mit Natriummolybdat ebenfalls photometrisch nach. Als Bleichmittel wird in Europa häufig Perborat verwendet, das zusammen mit Carbonat mit der ICE bestimmt werden kann. Als Stellmittel für pulverförmige Waschmittel wird meist Natriumsulfat verwendet, das neben Chlorid und Orthophosphat mit der Anionenaustausch-Chromatographie in einem Lauf analysiert werden kann.

Abb. 125 Polyphosphat-Bestimmung in einem Geschirrspülmittel



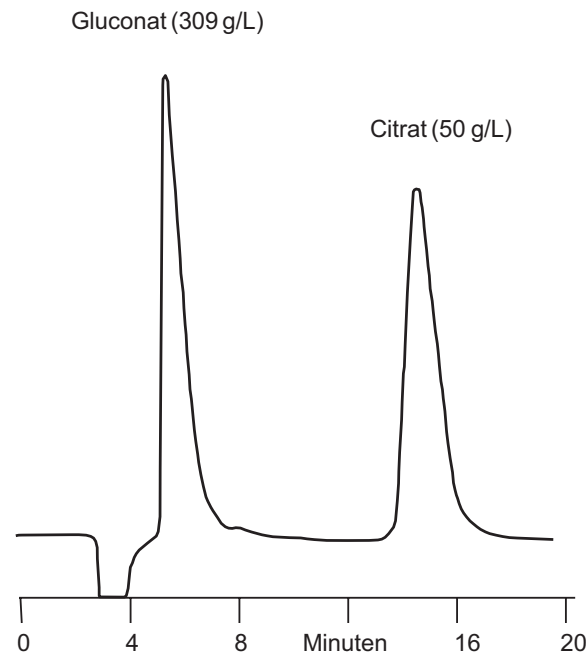
Gegenüber der nasschemischen Methode mit einer effektiven Arbeitszeit von 2,5 Stunden pro Probe benötigt man ionenchromatographisch lediglich 20 Minuten für die einzelne Sulfat-Bestimmung, wobei der Zeitaufwand zur Kalibrierung des Ionenchromatographen bereits berücksichtigt ist. Zur Konfektionierung von Flüssigwaschmitteln und Reinigern werden unter anderem kurzkettige Alkylbenzolsulfonate wie Toluol- oder Cumolsulfonat verwendet, die ionenpaarchromatographisch bestimmt werden können. Da aromatische Sulfonate sowohl über ihre Leitfähigkeit als auch über ihre UV-Absorption detektiert werden können, hängt die Wahl des geeigneten Detektionssystems von der Art der Matrix ab.

10.5.2. Haushaltsmittel

Die Trennung von Gluconsäure und Citronensäure als Hauptkomponenten eines schwach alkalischen Reinigers wird aus dem Bereich der Haushalts- und Industriereiniger gezeigt. Da es sich bei diesen Verbindungen um Hydroxycarbonsäuren handelt, erfolgte die Trennung mit der Ionenausschluss-Chromatographie an einer stationären Phase vom Typ Dionex IonPac ICE-AS5 (Abbildung 126). Heute wird diese Trennung an einer Säule vom Typ Dionex IonPac ICE-AS6 durchgeführt.

Das in Reinigern oftmals als Base fungierende Triethanolamin kann an einem neutralen Polymer, aber auch an einem stark sauren Kationenaustauscher vom Typ Dionex IonPac CS10, getrennt werden. Mit reiner Natronlauge als Elutionsmittel, oder nach Addition von NaOH zum Säuleneluat, lassen sich Alkanolamine ähnlich den Kohlehydraten mit gepulster Amperometrie an einer Au-Arbeits Elektrode detektieren. Die Amperometrie mit einer Pt-Arbeits Elektrode eignet sich auch für die Detektion von Hydroxylamin, das häufig anstelle von Triethanolamin als Base in Reinigern eingesetzt wird.

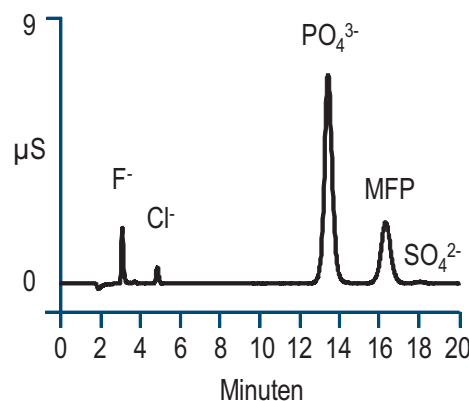
Abb. 126 Trennung von Gluconsäure und Citronensäure in einem schwach alkalischen Reiniger



Trennsäule: Dionex IonPac ICE-AS5
 Eluent: 1,6 mmol/L Perfluorbuttersäure
 Fluss: 0,5 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit mit Suppressorsystem
 Injektion: 50 µL
 Probe: 1:1000 verdünnt

Ein charakteristisches Beispiel aus dem Bereich der Körperpflegemittel ist die Trennung und Bestimmung von Monofluorphosphat (MFP) in Zahncreme. Neben MFP kann mit der Anionenaustausch Chromatographie auch Orthophosphat als dessen Abbauprodukt sowie Chlorid und Sulfat in einem Lauf analysiert werden. Dazu wird die eingewogene Menge in entionisiertem Wasser aufgeschlämmt und der Extrakt zum Schutz des Austauschers vor der Injektion durch eine Kartusche vom Typ Dionex OnGuard-RP geleitet, die zur Entfernung nicht-ionischer oder oberflächenaktiver Organika dient (Abbildung 127). Neben den gezeigten isokratischen Anwendungen spielt die Gradientenelution im Bereich der Haushaltsprodukte eine immer wichtigere Rolle. So erlaubt sie die Bestimmung von wenig retardierten monovalenten Carbonsäuren und stark zurückgehaltenen multivalent geladenen Anionen in einem Lauf. Ein typisches Beispiel zeigt Abbildung 128. Hierbei handelt es sich um eine erweiterte Analyse von Zahnpasta, bei der es um die Bestimmung zusätzlicher Additive ging. Der Einsatz moderner Ionenaustauscher erlaubt die Gradiententrennung unter vergleichbarem Zeitbedarf einer isokratischen Trennung, wie der Vergleich der beiden Abbildungen verdeutlicht. Gleichzeitig zeigen sich weiteren Vorteile der Gradientenelution in der IC in diesem Vergleich: Die Peak-Effizienz und die Trennung verbessert sich signifikant. Strenggenommen zeigt sich in diesem Vergleich sogar, dass die Gradientenelution im täglichen Betrieb zu einer erheblichen Effizienzsteigerung beitragen kann. Hintergrund sind hierbei Überlegungen, dass der Informations-gehalt einer Gradiententrennung dem von zwei oder mehreren isokratischen Anwendungen entsprechen kann.

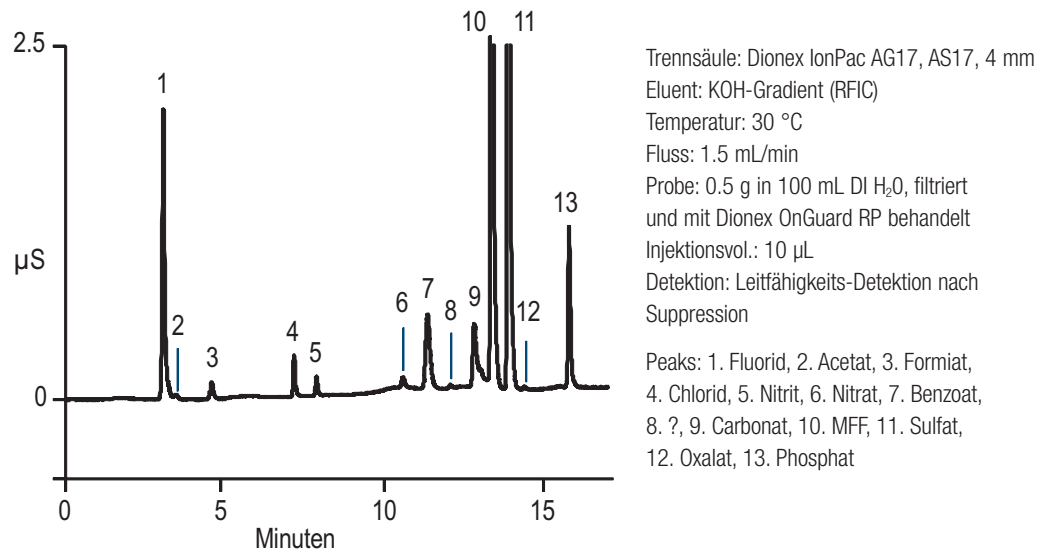
Abb. 127 Bestimmung von Monofluorphosphat in Zahnpasta



Trennsäule: Dionex IonPac AS14 mit Vorsäule
 Eluent: 2,5 mmol/L NaHCO₃, 2,0 mmol/L Na₂CO₃
 Fluss: 1,2 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach AutoSuppression
 Suppressor: Dionex ASRS Anion Self-Regenerating Suppressor
 Injektionsvolumen: 10 µL

Neben Verfahren der Ionenaustauschchromatographie kommen Techniken aus dem Bereich der Ionenpaar- und Ion-Suppression-Chromatographie etwa zur Bestimmung langkettiger organischer Säuren und verschiedener oberflächenaktiver Verbindungen zum Einsatz. Während in der Vergangenheit nicht chromophore ionische Verbindungen dieser Substanzklassen meist mit der Leitfähigkeits- und UV-Detektion nachgewiesen wurden, kommt heute in diesem Bereich verstärkt die Charged Aerosol Detektion und die massenspektrometrische Detektion zum Einsatz.

Abb. 128 Bestimmung verschiedener Zahnpasta-Additive

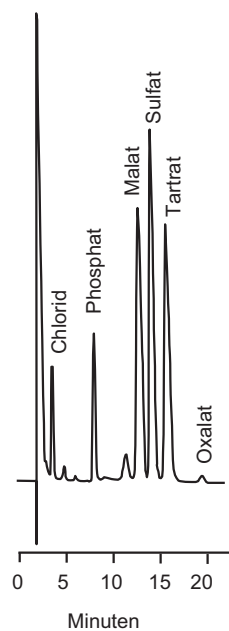


10.6. Ionenchromatographie in der Nahrungs- und Genussmittel-Industrie

Aufgabe der Nahrungs- und Genussmittelproduzenten ist es, die Kunden mit einem wohlschmeckenden und bekömmlichen Produkt zu versorgen, dessen Nährwert und Haltbarkeit definiert sind. Herstellungs- und Überwachungsvorgänge sind häufig soweit automatisiert, dass nur wenige – meist einfache – Qualitätskontrollen notwendig sind. In einigen Fällen sind jedoch auch heutzutage aufwendige Analysen zur Qualitätssicherung erforderlich. Hierbei bietet die Ionenchromatographie die Möglichkeit, anorganische und organische Anionen sowie Kationen und Kohlehydrate auch in komplexer Matrix schnell, einfach und exakt zu bestimmen. Die IC wird zunehmend von vielen Kontroll- und Forschungslaboratorien der Nahrungs- und Genussmittel-Industrie genutzt, da für die Analyse mit dieser Methode in der Regel nur eine minimale Probenvorbereitung erforderlich ist. Oft ist eine Extraktion mit entionisiertem Wasser mit anschließender Membranfiltration (0,45 µm) des Extraktes ausreichend. Einen Überblick über die Anwendungsmöglichkeiten in der Nahrungs- und Genussmittel-Industrie ist in Tabelle 6 (S. 131) zusammengefasst. Eines der Hauptanwendungsgebiete der Ionenchromatographie im Bereich der Nahrungs- und Genussmittelindustrie ist die Analyse anorganischer und organischer Anionen sowie von Kohlehydraten in Getränken aller

Art [190]. Hierzu gehört vor allem die Untersuchung von Wein, Bier, Fruchtsaft und diversen Erfrischungs-getränken sowie von Genussmitteln wie Kaffee und Tee. Abbildung 129 zeigt die isokratische Trennung anorganischer und organischer Anionen in Portwein, die nur durch Kombination zweier Trennsäulen mit unterschiedlichen Selektivitäten erzielt werden kann. Mit dieser Säulenkombination ist es darüber hinaus möglich, die Nitrat-Bestimmung in den unterschiedlichsten Säften vorzunehmen. Normierungsgremien haben sich in den vergangenen Jahren damit beschäftigt, die IC zur Nitrat-Bestimmung durch die Einführung einer genormten Arbeitsvorschrift offiziell als vergleichbares Verfahren anzuerkennen [191, 192].

Abb. 129 Analyse von anorganischen und organischen Anionen in einem 10 Jahre alten Portwein

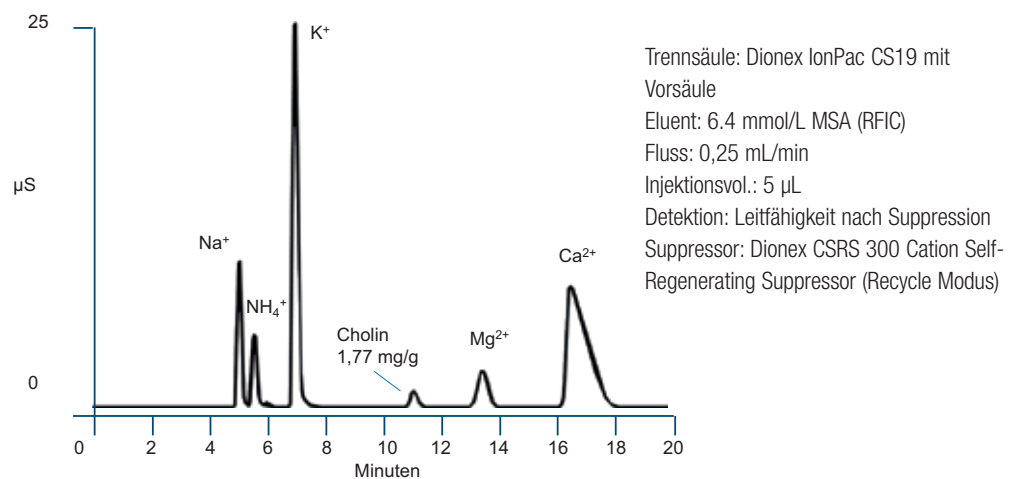


Trennsäulen: Dionex IonPac AS4 + Dionex IonPac AS4A
 Eluent: 2,8 mmol/L NaHCO₃ + 2,2 mmol/L Na₂CO₃
 Fluss: 1,5 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Injektion: 50 µL
 Probe: 1:50 verdünnt

Kombinationen von Nitrit- und Nitratsalzen werden üblicherweise als Pökelschutzstoffe von Fleischerzeugnissen eingesetzt. Neben der Hemmung von *Clostridium botulinum*, verleihen sie den umgeröteten Produkten die charakteristische Farbe und geschmacklichen Eigenheiten. Allerdings kann Nitrit zur Methämoglobinämie, der Hemmung des Sauerstoff-Transports im Blut, führen und gilt als Vorläufer kanzerogener Nitrosamine. Obwohl Nitrat weniger toxisch ist, ist die mikrobielle Reduktion zu Nitrit möglich, so dass innerhalb Europas die maximal zulässigen Höchst-mengen geregelt sind [193]. In der Bundesrepublik muss die Probenvorbereitung – unabhängig von der angewendeten Bestimmungsmethode – in der nach §35 LMBG vorgeschriebenen Weise durchgeführt werden. Zur Bestimmung der beiden Stickstoffparameter werden in den letzten Jahren vermehrt ionenchromatographische Verfahren eingesetzt. Nach Trennung an einem Anionenaustauscher erfolgt der Nitrit- und Nitrat-Nachweis mit Leitfähigkeit und UV-Absorption nach Suppression [194, 195], aber auch alleine durch Einsatz der UV-Absorption bei kurzen Wellenlängen (s. Abbildung 96, S. 98, chromatographische Bedingungen) [196, 197]. Schoch et al. zeigten, dass der Acetonitril-Zusatz zum chloridhaltigen Eluenten (>200 mL/L) chromatographische Interferenzen – hervorgerufen durch organische Säuren – mit Nitrit und Nitrat verhindert [198]. Zu beachten ist die höhere Kapazität des bei dieser Applikation eingesetzten Anionenaustauschers (200 µequiv/g). Die bei der Fleischwarenherstellung eingesetzten Kutter- und Umrötehilfsmittel lassen

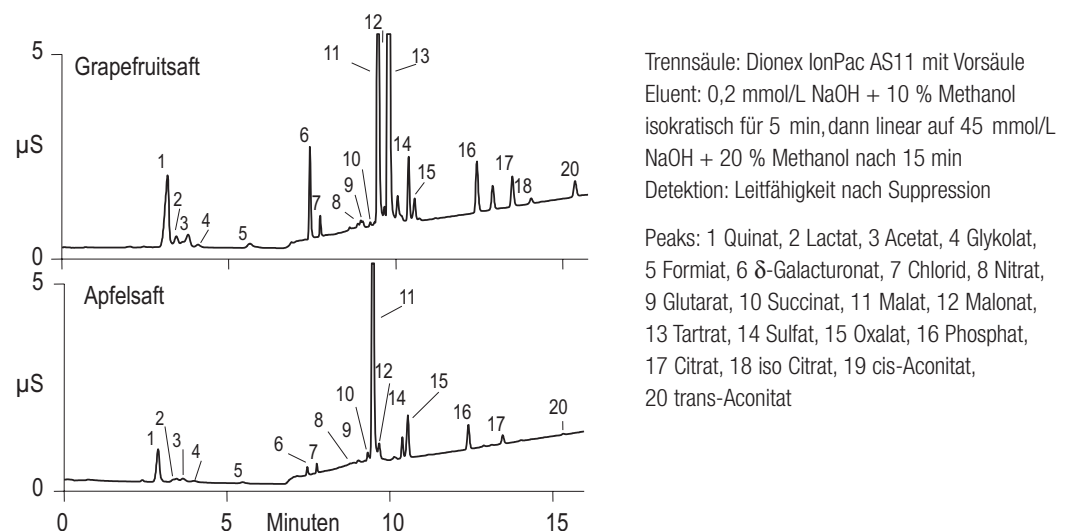
sich ebenfalls ionenchromatographisch auf ihre wertbestimmenden Inhaltsstoffe untersuchen. Zu diesen gehören anorganische Anionen wie Chlorid und Diphosphat, Ascorbinsäure sowie Kohlehydrate wie Glucose, Saccharose und Maltose. Typisches Anwendungsbeispiel auf dem Gebiet der Säuglingsnahrung ist die Bestimmung von Cholin (Abbildung 130). Während die herkömmliche Methode zur Cholin-Bestimmung sehr zeitaufwendig ist, kann diese Substanz mit der IC in Verbindung mit RFIC und Leitfähigkeit nach Suppression in weniger als 15 Minuten analysiert werden. Untersuchungen zeigen zudem eine sehr gute Korrelation zwischen den ionenchromatographisch ermittelten Gehalten und denen nach der AOAC Methode 999.14 ermittelten [199].

Abb. 130 Bestimmung von Cholin in Säuglingsnahrung



Neben der isokratischen Untersuchung anorganischer und organischer Säuren in flüssigen Lebensmitteln wird die Gradientenelution insbesondere unter Verwendung der Leitfähigkeits-Detektion mit Suppressionstechnik auch in diesem Bereich verstärkt eingesetzt. In verschiedenen Arbeiten zeigen beispielsweise Koswig et al. [200] und Gherardi et al. [201] verschiedene Applikationen an unterschiedlichen Säulen. Bei diesen Untersuchungen findet die Trennsäule vom Typ Dionex IonPac AS 11 Verwendung (s. Abbildung 131), da die hohe chromatographische Auflösung die Bestimmung einer Vielzahl anionischer Inhaltsstoffe mit unterschiedlichsten chromatographischen Eigenschaften erlaubt. Als Alternative zu den in Abbildung 131 beschriebenen Bedingungen zeigen Koswig et. al, dass durch die Kombination von zwei Dionex IonPac AS11-Säulen auf den Zusatz eines organischen Modifiers zum Eluenten verzichtet werden kann [200].

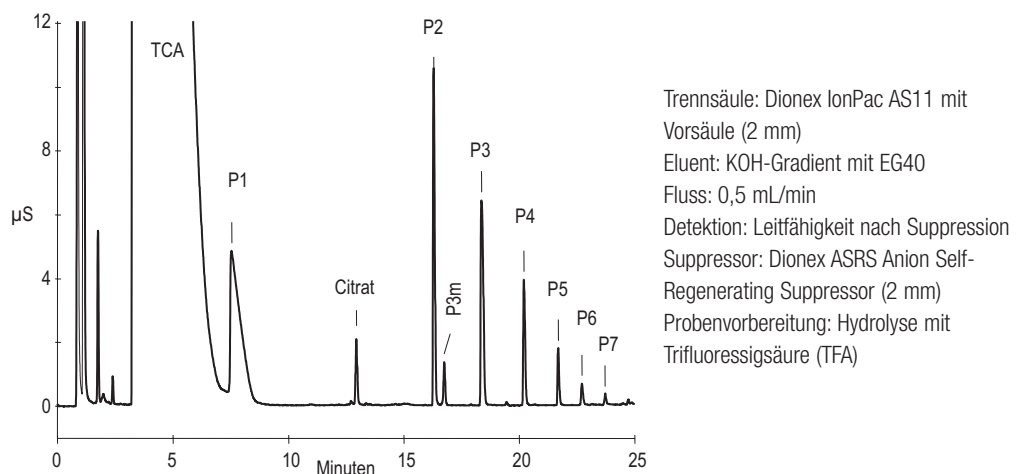
Abb. 131 Schnelle Simultanbestimmung anorganischer und organischer Anionen mit der Gradientenelution



Andere Arbeiten weisen die Eignung der Dionex IonPac AS17 zur Untersuchung von Fruchtsäften in einer entsprechenden Säulenkombination nach [202]. Der Vorteil dieser Applikation liegt in der verkürzten Analysendauer gegenüber dem in [200] beschriebenen Verfahren. Die 1997 vorgestellte Dionex IonPac AS11-HC ist eine spezielle Weiterentwicklung des Dionex IonPac AS-11-Materials [203]. Wie bei der Dionex IonPac AS9-HC und Dionex IonPac AS10 wird ein makroporöses, sulfoniertes Substrat eingesetzt, an dem die Latex-Partikel agglomeriert werden. Als Folge der vergrößerten Oberfläche steigt die Zahl der agglomerierten Latex-Partikel und folglich die Kapazität des Austauschers. Zusätzlich verbessert sich die Auflösung monovalenter Carbonsäuren, so dass mit diesem Material auch Proben mit einem hohen Überschuss stärker retardierter Anionen untersucht werden können. Im Gegensatz zur ihrem niedrig kapazitiven Analogon, wird bei der Injektion solcher Proben die Peakform der früh eluierenden einwertigen Anionen weniger gestört.

Entsprechend wird heute die Dionex IonPac AS11-HC bevorzugt eingesetzt. Als Lebensmittel-additive verhindern Polyphosphate unter anderem unerwünschte Farbänderungen, sie dienen zur Stabilisierung von Vitamin C und werden Käse, Schinken, Wurstwaren und auch Fischprodukten zugesetzt. Da Polyphosphate die Resorption von physiologisch wichtigem Calcium verhindern können, ist deren Gehaltsbestimmung sowie Speziation in Lebensmitteln erforderlich. Im gezeigten Beispiel (Abbildung 132) erfolgt eine Behandlung der Originalprobe mit Trichloressigsäure (TCA) zur Proteinabtrennung sowie zur Freisetzung gebundener Komponenten. Chromatographisch wird die im Überschuss vorliegende TCA von den zu analysierenden P-Spezies an einer Dionex IonPac AS11 mit einem KOH-Gradienten interferenzfrei getrennt. Neben der Ermittlung der quantitativen Produktverteilung ist in diesem Beispiel auch die Differenzierung zwischen offenkettigen kondensierten Phosphaten (P1 bis P7) und cyclischen Phosphaten (z. B. Trimetaphosphat; P3m) möglich [204].

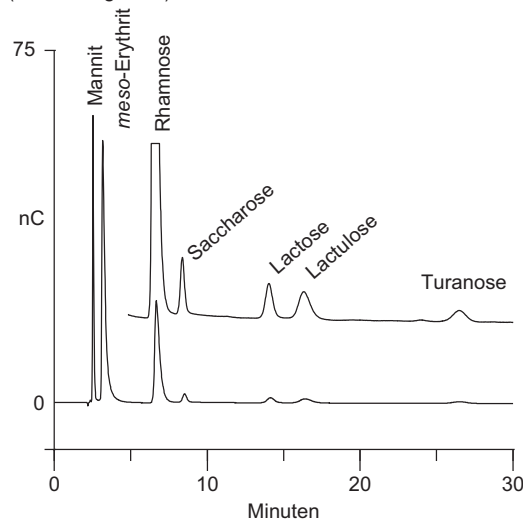
Abb. 132 Polyphosphat-Bestimmung in Käse



Ein besonders interessante Aufgabenstellung ist die Bestimmung von Kohlehydraten in Lebensmittelproben. Da die gepulste Amperometrie als Detektionsmethode sehr empfindlich ist, können zu untersuchende Getränke sehr stark verdünnt werden, so dass Interferenzen durch die Matrix nur selten auftreten. Obwohl konventionelle Anionenaustauscher, wie sie für die Bestimmung anorganischer Anionen verwendet werden, nicht mit Proteinen belastet werden dürfen, kann

Vollmilch nach Verdünnung und Membranfiltration (0,22 µm) direkt injiziert werden, ohne die Trennsäule auf Dauer zu schädigen [24]. Dennoch erfolgt zur Untersuchung milchhaltiger Lebensmittel die Entfernung der Proteine meist durch Denaturierung nach Carrez-Fällung oder durch organische Lösemittel, wie Methanol oder Acetonitril, gefolgt von einem Filtrationsschritt (Abbildung 133).

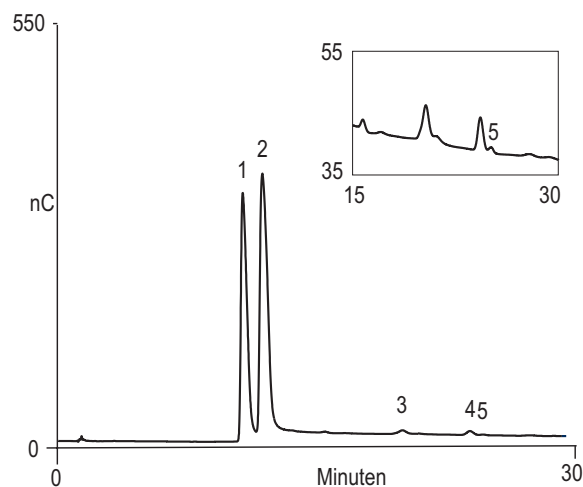
Abb. 133 Verfahren zur Kohlehydrat-Bestimmung in Milch



Trennsäule: Dionex CarboPac PA1 mit Vorsäule
 Eluent: 12,5 mmol/L NaOH + 2,5 mmol/L NaOAc
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Pulsed Amperometric Detection PAD, Arbeitselektrode (Au)

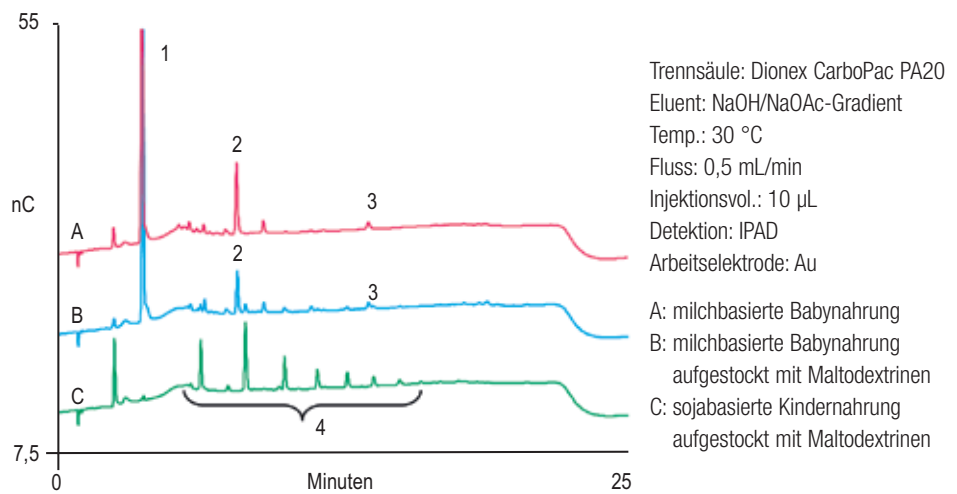
Die HPAEC-PAD kommt darüber hinaus bei der Untersuchung laktosefreier Lebensmittel (Laktose < 0,1 % (< 1000 mg/L)) zum Einsatz. Nach Probenvorbereitung wird die Probe an einer Dionex CarboPac PA 20 getrennt und die Laktose über integrierende und gepulste Amperometrie (IPAD) nachgewiesen. Das Nachweisvermögen des Verfahrens ermöglicht den Spurennachweis von Laktat in laktosefrei deklarierten Lebensmitteln [205] (Abbildung 134). Auch die Bestimmung von Sialinsäuren in Säuglingsnahrung, wichtig für das Immunsystem und die kognitive Entwicklung, ist mit der HPAEC-IPAD leicht möglich. Nach Hydrolyse oder enzymatischem Verdau werden die Sialinsäuren direkt und ohne Derivatisierung erfasst [206] (Abbildung 135). Auch die Bestimmung von Oligosacchariden unterschiedlichster Typen und Zusammensetzung in Säuglingsnahrung wird von der Ernährungsindustrie seit vielen Jahren genutzt, um ähnliche Eigenschaften wie die der Muttermilch zu erhalten [207].

Abb. 134 Laktose-Bestimmung in laktosefreier, fettarmer Milch



Trennsäule: Dionex CarboPac PA20 mit Vorsäule
 Temp.: 30 °C
 Eluent: NaOH/NaOAc-Gradient
 Fluss: 0,4 mL/min
 Detektion: IPAD
 Arbeitselektrode: Au
 Peaks: 1 Galaktose, 2 Glucose, 3 n.n., 4 n.n., 5 Laktose (0,6 mg/L)

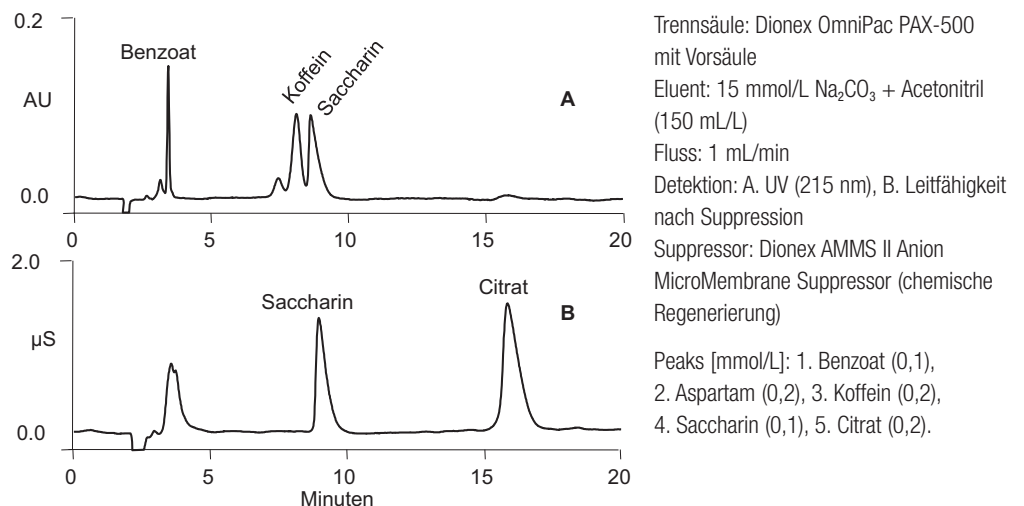
Abb. 135 Sialinsäure-Bestimmung in Säuglingsnahrung nach saurer Hydrolyse



Typisch für die Analyse von Milchprodukten ist zudem die Bestimmung von Iodid in Milch oder Molke. Die Trennung erfolgt meist mit der Anionenaustausch-Chromatographie. Um die sehr geringen Gehalte im unteren $\mu\text{g/L}$ Bereich mit ausreichender Präzision erfassen zu können, bedient man sich der amperometrischen Detektion an einer Ag- oder Pt-Arbeitselektrode. Ein weiteres Anwendungsbeispiel im Bereich der Käseprodukte ist die Bestimmung organischer Säuren, die nach entsprechender Probenvorbereitung mit der Ionenausschluss-Chromatographie erfolgt.

Prinzipiell kann auch Honig zum Süßen von Speisen und Getränken verwendet werden. Honig ist ein außerordentlich komplex zusammengesetztes Produkt, das neben Saccharose auch Invertzucker in wechselnden Mengen enthält. Neben diesen Hauptkomponenten findet man in Honig diverse Di- und Trisaccharide wie beispielsweise Melzitose im Tannenhonig. Immer häufiger werden Lebensmittel mit Zuckeraustauschstoffen anstelle von Zucker oder Glukosesirup gesüßt. Zu den bekanntesten Zuckerersatzstoffen gehören Saccharin, Natriumcyclamat und Acesulfam K. Da all diese Verbindungen im alkalischen Milieu als Anionen vorliegen, ist die Anionenaustausch-Chromatographie mit anschließender Leitfähigkeits-Detektion eine willkommene Alternative zu den bisher angewendeten RPLC-Verfahren [208].

Abb. 136 Simultane Bestimmung von Limonaden-Zusatzstoffen



Verschiedentlich ergibt sich bei der Untersuchung von Lebensmitteln die Notwendigkeit chromophore und nicht chromophore Inhaltsstoffe zu quantifizieren. Wie bereits diskutiert ist die Kombination aus Leitfähigkeits- und UV-Detektion ein einfach zu realisierender Ansatz. Sind allerdings ionische und nicht ionische Inhaltsstoffe zu erfassen, dann kommen Trennphasen mit gemischten Eigenschaften (RP- und Ionenaustausch) zum Einsatz. Polymere Trennsäulen vom Typ Dionex OmniPac ermöglichen dabei den Einsatz von Eluenten mit extremen pH-Werten – sei es mit stark sauren Eluenten, oder wie in Abbildung 136 gezeigt, mit stark basischen Eluenten. Mit kieselgel-basierenden Materialien sind entsprechende Laufmittel nicht einsetzbar, man muss auf „mildere“ Bedingungen – etwa borsäurehaltige Laufmittel – ausweichen.

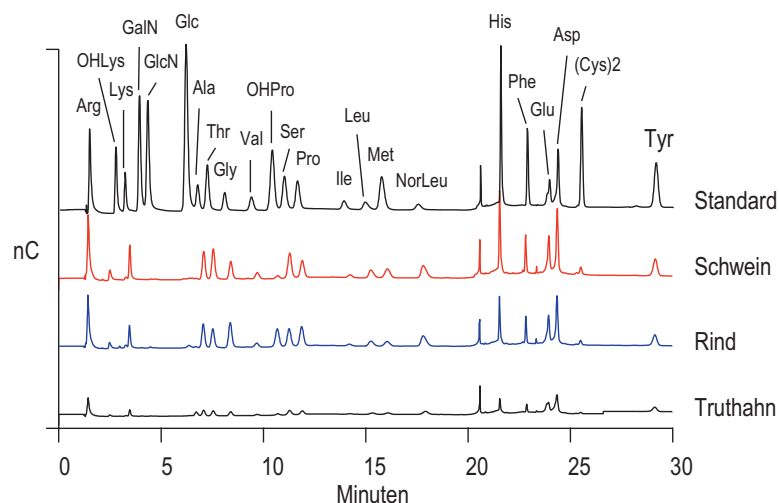
10.7. Aminosäure-Analytik

Dionex, heute Teil von Thermo Fisher Scientific, entwickelte ein einfaches chromatographisches Verfahren, das die direkte Bestimmung der wichtigsten Aminosäuren, von Zuckern und Aminozuckern erlaubt. Zur Detektion dient die integrierende Amperometrie (IPAD), bei der Aminosäuren an einer Goldelektrode oxidiert werden. Beim Thermo Scientific™ Dionex™ AAA Direct™ System werden die Komponenten bei hohem pH-Wert mit Eluenten die NaOH und NaOAc enthalten an einem pellikularen Anionenaustauscher vom Typ Dionex AminoPac PA10 getrennt. Dieser Anionenaustauscher auf Latex-Basis wurde zur chromatographischen Trennung von Aminosäuren, Phospho-Aminosäuren, Aminozuckern und einfachen Zuckern bei hohen pH-Werten entwickelt. Neben einer vergleichsweise hohen Kapazität des Ionenaustauschers (60 µequiv/Säule; ID = 2 mm) zeichnet sich die Dionex AminoPac PA10 durch stark hydrophobe Eigenschaften aus, die eine Trennung hydrophiler Aminosäuren zusätzlich unterstützen. Dieser Polymerionenaustauscher ist lösemittel- und pH-stabil, so dass die Säule bei Bedarf sowohl mit organischen Lösemitteln als auch mit Säuren gespült werden kann.

Ein offensichtliches Einsatzgebiet der Aminosäure-Chromatographie ist die Lebensmittelkontrolle. In Abbildung 137 sind repräsentative Chromatogramme aus der Untersuchung verschiedener Frischfleischsorten dargestellt. Man erkennt aus den jeweiligen Chromatogrammen, dass sich Unterschiede vor allem in den Konzentrationen der Aminosäuren ergeben. Die Untersuchung und Unterscheidung von Fleischprodukten ist unter identischen Bedingungen möglich.

Abb. 137 Aminosäure-Bestimmungen in Frischfleisch

Trennsäule: Dionex AminoPac PA10
 Injektionsvolumen: 25 µL
 Eluent: NaOH/NaOAc-Gradient
 Detektion: IPAD (Standard-Pulssequenz)
 Fluss: 0,25 mL/min
 Probenvorbereitung: Hydrolyse von 1 g Fleisch mit 5 mL Methansulfonsäure (MSA) 100 °C/16 h; Verdünnung der Probe und Addition von Norleucin als internen Standard



Auf Grund der hohen Empfindlichkeit des Detektionsverfahrens ist bei diesen Beispielen eine starke Verdünnung des ursprünglichen Hydrolysats möglich, so dass auf weitere Probenvorbereitungsschritte verzichtet werden kann. Gleichzeitig wird auch die Konzentration von verbleibendem Methansulfonat so weit gesenkt, dass identische Retentionszeiten für die Aminosäuren aus den Proben und aus den zur Kalibrierung eingesetzten Standardlösungen resultieren. Dieses Verfahren erlaubt die problemlose Trennung von Prolin und Hydroxyprolin, deren Unterscheidung in der Fleischwirtschaft von besonderem Interesse ist. Aus dem Verhältnis beider Aminosäuren kann abgeleitet werden, ob und wie viel Bindegewebe und sehnenhaltiges Material verarbeitet wurde. In der klassischen Analytik erfordert die simultane Bestimmung von Prolin und Hydroxyprolin den Einsatz eines Mehrwellenlängen-UV-Detektors, oder aber die sequentielle Analyse des Hydrolysats bei unterschiedlichen Absorptionswellenlängen. Bei dem vorgestellten Verfahren werden jedoch diese Aminosäuren simultan erfasst, so dass die Produktkontrolle stark vereinfacht wird.

10.8. Applikationen zu Stärke, modifizierter Stärke und anderen Polysacchariden

10.8.1. Amylopektine und Maltrine

Das HPAEC-PAD Verfahren ist als gradientenfähiges Verfahren ein sehr wirkungsvolles Werkzeug, um Grundlagenforschung an Stärke und modifizierter Stärke zu ermöglichen, die unter anderem als Fettersatzstoffe eingesetzt werden [209, 210]. In Abbildung 138 wird die Kettenlängenverteilung bis zu DP 55 von partiell gespaltenen Amylopektinen verschiedener Nutzpflanzen gezeigt. Diese Chromatogramme werden als Fingerprint zur Charakterisierung der Stärkequellen herangezogen. Die wesentlichen Unterschiede der Stärke-Hydrolysate zeigen sich innerhalb der ersten 10 Minuten der chromatographischen Analyse (Abbildung 138).

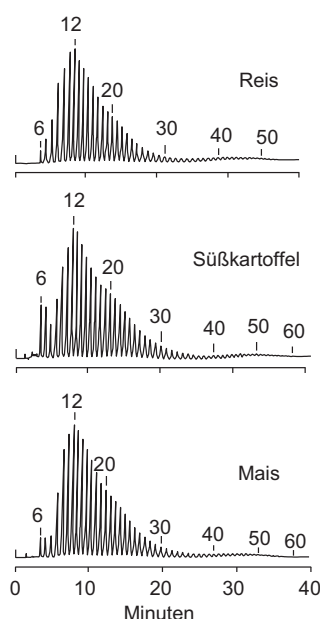


Abb. 138 Verteilung der Kettenlängen partiell gespaltenen Amylopektine aus verschiedenen Nutzpflanzen [209]

Weitere Unterschiede der Proben werden darüber hinaus auch im Bereich um DP 20 deutlich [209]. Eine weitere Charakterisierung der Kettenlängenverteilung mit Hilfe der HPAEC-PAD ist an zwei kommerziell erhältlichen Maltodextrinen (Maltrin MO40, Maltrin M700) durchgeführt worden [211]. Während Maltrin MO40 ein Dextroseäquivalent von 5 trägt, hat Maltrin M700 eines von 10. Maltrin MO40 wird zur Herstellung von speziellen Filmauflagen eingesetzt. Maltrin M700 ist dagegen zur Produktion von Partikeln kleiner Dichte geeignet, die als Träger für künstliche Süßstoffe eingesetzt werden. Die Unterschiede der physikalischen Eigenschaften beider Maltodextrine zeigen sich in den verschiedenen Kettenlängenverteilungen.

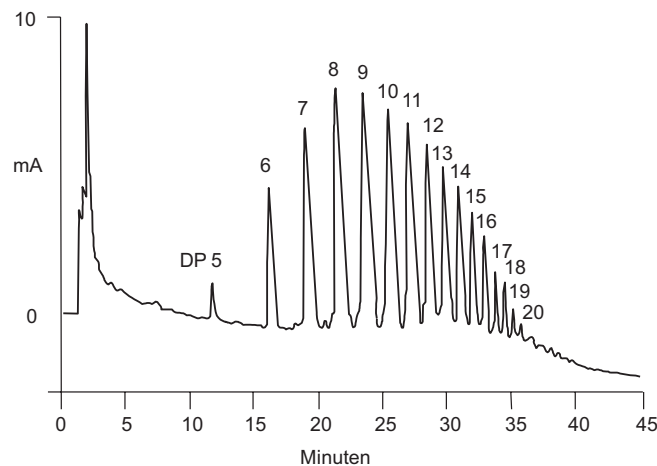
10.8.2. Pentosane und Dextrine

Ein großer Anteil von Polysacchariden, die in Weizenmehl nicht auf Stärke basieren, sind die Pentosane. Der Pentosan-Anteil von Weizenmehl beträgt lediglich 2 % gegenüber einem Stärkeanteil von 85 %. Dieses Verhältnis ist für die Bestimmung der Pentosan-Anteile in Weizenmehl über kolorimetrische Verfahren oder mit der Gaschromatographie problematisch. In einem Hydrolysat erschwert folglich der hohe Glucose-Gehalt die Bestimmung der Minor-Komponenten. Um dies zu vermeiden, wurde erst kürzlich ein modifiziertes HPAEC-PAD Verfahren entwickelt, bei dem die Glucose enzymatisch über die Glucoseoxidase vor der chromatographischen Trennung der Komponenten zu Gluconsäure umgesetzt wird. Gluconsäure, das Oxidationsprodukt der Glucose, stört die Bestimmung der Pentosane nicht, die nach dieser Probenvorbereitung leichter identifiziert und quantifiziert werden können. Die HPAEC-PAD wurde auch für eine Studie über den Zusammenhang zwischen löslichen Dextrinen und dem Härtingsprozess von Brot verwendet [212]. Bis zu 41 wasserlösliche Dextrine konnten in Abhängigkeit von der enzymatischen Behandlung des Brotes mit α -Amylase getrennt werden. Die Verteilungsmuster korrelierten mit einem erniedrigten bzw. erhöhten Härtingszustand des Brotes.

10.8.3. Pektine

Pektin ist ein natürliches Zellwandpolysaccharid, das aus einer Mischung von partiell methylierten Oligogalacturonsäuren besteht. Ein spezielles Pektin, das Slendid, wird von der Firma Hercules als Fettersatzstoff für Lebensmittel hergestellt. Die Analyse von Pektin und seiner Zusammensetzung ist in diesem Zusammenhang nicht nur für die Grundlagenforschung, sondern auch für die Qualitätskontrolle kommerzieller Produkte wichtig. Ein Weg zur Charakterisierung von Pektin ist die Bestimmung von Produkten aus der partiellen Hydrolyse des Polymers. Dieser Ansatz ist in der Vergangenheit auf Grund der zu diesem Zeitpunkt verfügbaren chromatographischen Verfahren nicht ohne weiteres möglich gewesen. Erst mit der Entwicklung der HPAEC-PAD konnten die größten underivatisierten Oligogalacturonsäuren mit $DP > 11$ getrennt werden. In Abbildung 139 wird ein typisches Chromatogramm underivatisierter Oligogalacturonsäuren eines Citruspektinhydrolysats gezeigt. Hotchkiss et al. konnten Oligogalacturonsäuren im Bereich von DP 2 bis DP 50 trennen [213].

Abb. 139 Bestimmung von Oligouronsäuren aus einem Pektin-Hydrolysat

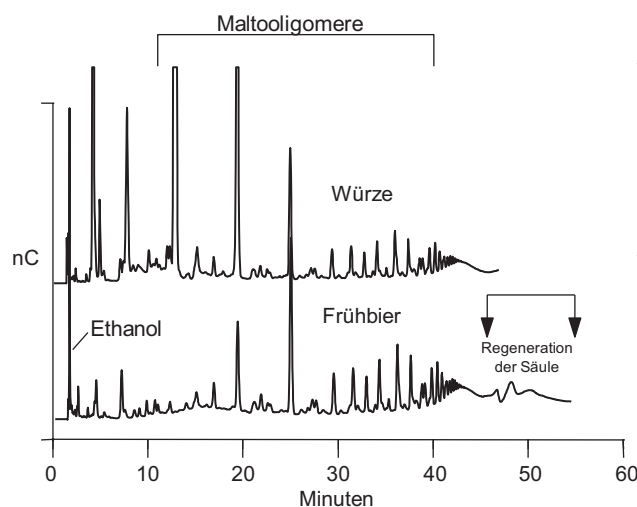


Trennsäule: Dionex CarboPac PA1
 Eluent: A: 100 mmol/L NaOH und 400 mmol/L NaOAc; B: 100 mmol/L NaOH und 900 mmol/L NaOAc
 Gradient: linear 0-100 % B in 45 min
 Fluss: 1,0 mL/min
 Detektion: IPAD an Gold

10.8.4. Oligomaltose

In den letzten Jahren besteht ein verstärktes Interesse an einer routinemäßigen Bestimmung einzelner Kohlehydrate während des Brauprozesses. Die Bestimmung von fermentierbaren Zuckern ist insofern wertvoll, da auf diese Weise die metabolischen Fähigkeiten neuer Hefestämme untersucht werden können. Darüber hinaus kann die Fermentierbarkeit von Würzen bestimmt werden, die nicht mit Standardmaterialien wie Mais und Gerste bearbeitet wurden. Die wachsende Verwendung von Brauzusätzen und auch die Anwendung neuer Brauverfahren erfordern eine analytische Methode, mit der die einzelnen Kohlehydrate reproduzierbar bestimmt werden können. Das HPAEC-PAD Verfahren wurde bereits in vielen Fällen für die Bestimmung der Konzentrationsprofile einzelner Zucker und Maltoseoligomere in allen Stadien der Bierproduktion verwendet. Ein Beispiel eines Kohlehydratprofils von Bierwürze und des Bier-Rohproduktes nach HPAEC-PAD ist in Abbildung 140 gezeigt.

Abb. 140 Bestimmung des Kohlehydratprofils während des Brauprozesses



Oben: Würze; Unten: Frühbier
 Trennsäule: Dionex CarboPac PA10
 Eluent: A: 100 mmol/L NaOH, B: 100 mmol/L NaOH und 250 mmol/L NaOAc
 Gradient: linear 0-100 % B in 40 min
 Fluss: 1,0 mL/min
 Temperatur: RT
 Detektion: IPAD an Gold

10.8.5. Quantifizierung der Polysaccharide

Um den Gehalt eines jeden Polysaccharids zu quantifizieren, ist die Ermittlung des Ansprechfaktors des Polysaccharids am Detektor erforderlich. Häufig sind allerdings kommerzielle Referenzstandards für verschiedene Maltoseoligomere nicht erhältlich. Koizumi und Mitarbeiter beschreiben daher ein Verfahren zur Ermittlung der relativen PAD-Ansprechfaktoren für höhere Maltooligomere. Hierzu isolierten sie die einzelnen Maltosaccharide, und verglichen deren Ansprechfaktoren mit denen von kommerziell verfügbaren Maltoseoligomere (DP 2 bis DP 7) [209]. Ein alternativer Ansatz, mit dem die Isolierung der einzelnen Polysaccharide umgangen werden kann, ist die Verwendung eines Enzymreaktors vor der PAD-Detektion, in dem Oligo- und Polysaccharide zu einem einfachen Monosaccharid, z. B. Glucose, umgesetzt werden. Dieser Ansatz wurde erfolgreich von Jane et al. an der Iowa State University für die Bestimmung unterschiedlicher Kettenlängenverteilungen von unverzweigten Amylopektinen durchgeführt [214].

Tab. 6 Anwendungsbereiche und ausgewählte Analysenbeispiele in der Nahrungs- und Genussmittel-Industrie

Anwendungsbereich	Analysenbeispiele
Milchprodukte	Bestimmung von Iodid in Vollmilch; Chlorid und/oder Natrium in Butter; Laktat, Pyrovat und Citrat in Käse, Polyphosphate, Laktose, Kohlehydrate
Fleischverarbeitung	Bestimmung des Nitrit/Nitrat-Verhältnisses in Fleischprodukten; Nitrat im verwendeten Wasser
Getränke	Bestimmung von anorganischen Anionen und Kationen im verwendeten Wasser, in Süß- und Aromastoffen und in den Endprodukten; von organischen Säuren und Kohlehydraten in Bier, Wein und Saft, Oligosaccharid-Profiling
Lebensmittelkonserven	Bestimmung von Chlorid, Nitrat, Natrium, organischen Säuren und Schwermetallen in Obst- und Gemüsekonserven, Würzen, Essig und Fisch
Säuglingsnahrung	Bestimmung von Cholin und Schwermetallen, Sialinsäuren, Nitrit/Nitrat
Getreideprodukte	Bestimmung von Bromat und Propionat in Backwaren, Mehl etc.; Fe ²⁺ und Fe ³⁺
Fette, Öle, Kohlehydrate und Aromastoffe	Bestimmung von Fettsäuren und Kohlehydraten
Laktosefreie Lebensmittel	Kohlehydrate / Laktose

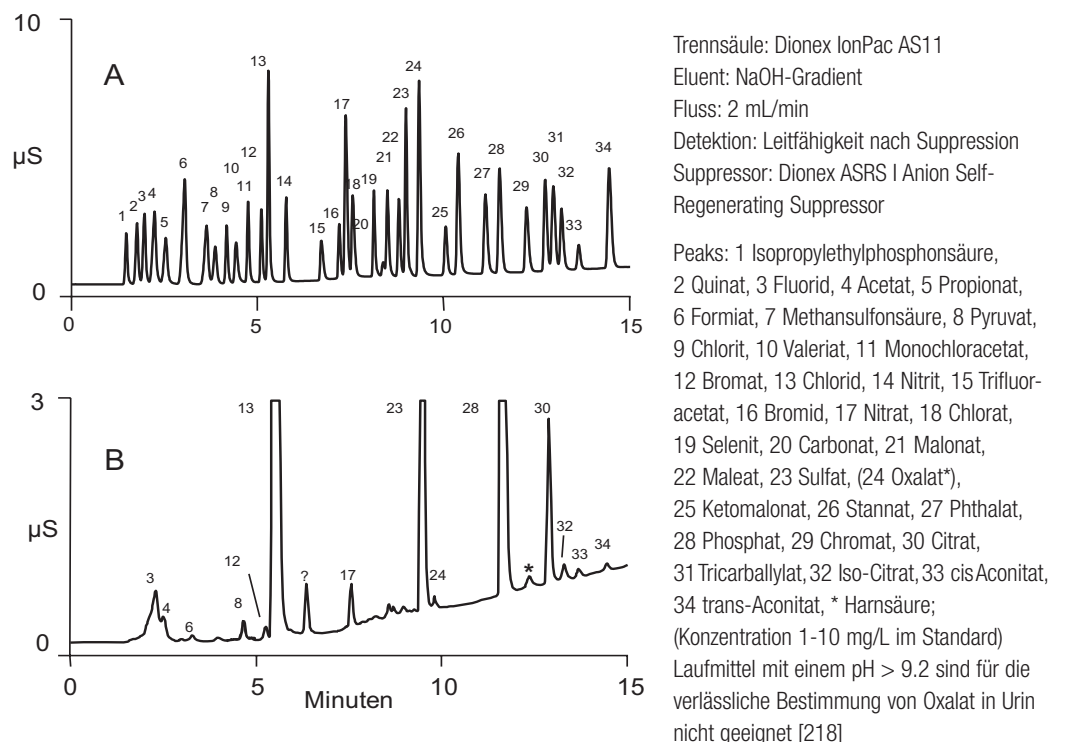
10.9. Anwendungen der Ionenchromatographie in der klinischen Analytik

Die nachstehend diskutierten Beispiele sind von Thermo Fisher Scientific ausschließlich für den Einsatz in Forschungs- und Entwicklung konzipiert, nicht jedoch zur Diagnose von Patienten entwickelt worden. Der Einsatz analytischer Verfahren zur Diagnostik unterliegt streng regulierten Auflagen, die vom Anwender eingehalten werden müssen.

10.9.1. Anionen und Kationen

Die Bestimmung einer Reihe anorganischer und organischer Anionen kann für die Charakterisierung des physiologischen Zustands eines Patienten zweckmäßig sein. Erhöhte Mengen an organischen Säuren in Körperflüssigkeiten können Hinweise auf beispielsweise eine Azidose oder eine Hyperoxalurie geben. Abbildung 141 verdeutlicht die hohe Trennfähigkeit moderner analytischer Anionenaustauscher. Zur Detektion wird die Leitfähigkeits-Detektion nach Suppression eingesetzt. Dieses Verfahren kann unter anderem für die Bestimmung von Nitrit und Nitrat eingesetzt werden, deren Bedeutung im Zusammenhang mit einer akuten Vergiftung in Form einer Methämoglobinämie diskutiert wird [215]. Die Bestimmung von Nitrit und Nitrat lässt auch Rückschlüsse auf den Gehalt an freien Radikalen wie Stickstoffmonoxid (NO) zu, wie es bei der Angiogenese, der Krebszellproliferation und der Bildung von Metastasen zurzeit untersucht wird [93]. Der hohe Chlorid-Gehalt ist bei diesem Verfahren durch den Einsatz von Kationenaustauschern in der Silberform zu reduzieren. Während in diesem Fall auch die Leitfähigkeits-Detektion zum Einsatz kam, zeigten Monaghan et al., dass die Nitrit und Nitrat-Bestimmung in Serum allein unter Einsatz der UV-Detektion gelingt [92].

Abb. 141 Bestimmung anorganischer Anionen und organischer Säuren in einem Standard (A) und in Urin (B)

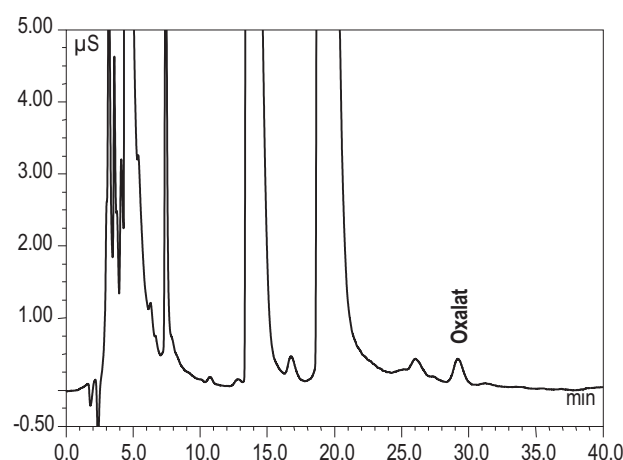


Zu den einfacheren Matrices im Bereich der Körperflüssigkeiten zählt Urin, der meist nach einer einfachen Verdünnung mit entionisiertem Wasser direkt injiziert werden kann. In Abbildung 141 wird der Anionen-Nachweis in einer Urinprobe gezeigt, bei der die ermittelte Harnsäuremenge einen Hinweis auf eine Gicht-Erkrankung geben kann. Der Harnsäuregehalt im Urin ist auch bei Patienten zu bestimmen, die gegen chronische myelogene Leukämie therapiert werden. Das beschriebene Verfahren gilt als Alternative zu der geläufigen HPLC-Methode. Soll Oxalat bestimmt werden, dürfen nur Laufmittel mit einem pH kleiner 9.2 (z. B. Tetraborat/Borsäure) eingesetzt werden, da sonst eventuell vorhandene Ascorbinsäure zu Oxalat und anderen organischen Säuren zerfällt und damit einen zu hohen Gehalt vortäuscht. Auch in proteinreichen Matrices wie Seren können Anionen nach einer geeigneten Probenvorbereitung nachgewiesen werden, um sich beispielsweise ein Bild über Veränderungen der Elektrolyt-Zusammensetzung im Blut eines Patienten zu machen. Die Probenvorbereitung vor der ionenchromatographischen Analyse von Seren und Plasmen ist erforderlich, da die in den Proben enthaltenen Proteine die Trennleistung der Säule dauerhaft erniedrigen. Verschiedene Möglichkeiten zur Entfernung der Proteine stehen zur Verfügung:

1. Ein Fällungsschritt der Proteine mit Perchlorsäure; das überschüssige ClO_4^- wird anschließend mit Kaliumcarbonat in der Kälte gefällt
2. Die Ultrafiltration gewinnt zur Entfernung von Proteinen an Bedeutung, da der experimentelle Aufwand und die Kontamination der Probe geringer sind
3. Denaturierung der Proteine mit organischen Lösemitteln, wie Methanol oder Acetonitril, gefolgt von einer Filtration der Probe
4. Entfernung der Proteine durch den Einsatz von Ionenaustauschern vor der Injektion

Das jeweilig eingesetzte Verfahren orientiert sich an den zu analysierenden Komponenten und der sich anschließenden Analytik. So stört beispielsweise Perchlorat bei der Bestimmung anionischer Komponenten einerseits, wenn die Leitfähigkeits-Detektion eingesetzt werden soll und andererseits durch Überladung des analytischen Anionenaustauschers. Aus diesen Gründen werden in der letzten Zeit meist die Verfahren 2) bis 4) zur Probenvorbereitung eingesetzt.

Abb. 142 Bestimmung von Oxalat in Urin [216]

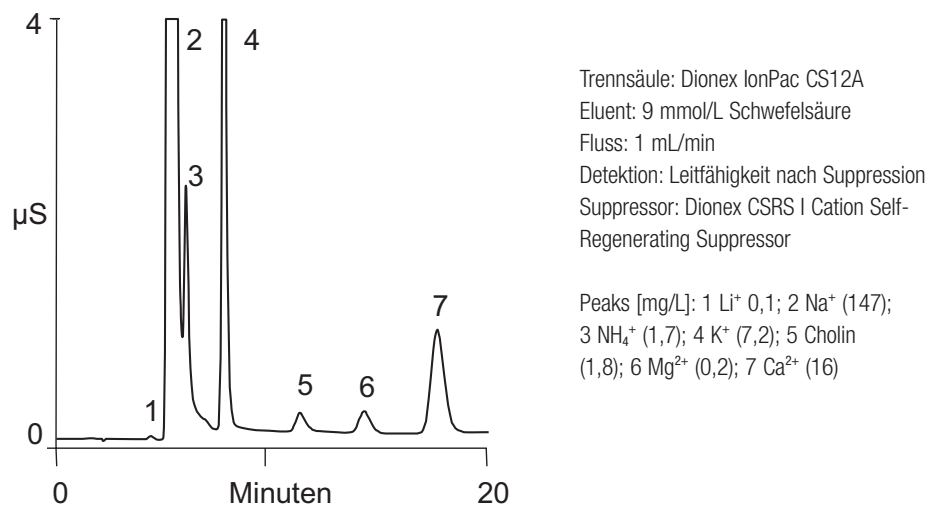


Trennsäule: Dionex IonPac AS22 mit Vorsäule
 Eluent: 200 mmol/L H_3BO_3 + 30 mmol/L KOH (RFIC)
 Fluss: 0,6 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression
 Probenvorbereitung: Verdünnung
 pH des Eluenten < 9.2

In der Nephrologie (Erkennung und Behandlung von Nieren- und Hochdruckkrankheiten) hat die Ionenchromatographie einen hohen Stellenwert erreicht. Bestimmungen beispielsweise von Oxalat in Urin zählen heute zu den wichtigsten Untersuchungen von Patienten, die an Nierensteinen oder der vererblichen primären Oxalurie leiden. Viele der bisher angewendeten Analysemethoden erwiesen sich als ungeeignet für die Bestimmung des Oxalats. Die Spektrophotometrie, bei der Oxalat zu Glyoxylsäure oder Glykolsäure reduziert wird, ist sehr arbeitsintensiv und zeitaufwendig, da vor der Bestimmung von Oxalat dessen Abtrennung von der Matrix erforderlich ist. Auch die enzymatische Analyse ist umstritten, da Matrix-Bestandteile wie Sulfat und Phosphat die Enzyme hemmen und so einen zu niedrigen Oxalat-Gehalt vortäuschen können. Basierend auf den Arbeiten von Robertson et al. [217] wurde ein ionenchromatographisches Verfahren entwickelt, das die interferenzfreie Oxalat-Bestimmung ermöglicht. Die Probenvorbereitung beschränkt sich auf eine einfache Verdünnung der Originalprobe (Abbildung 142). Die Verwendung eines mit Borat gepufferten Eluenten bei pH 9,2 unterdrückt den Abbau von Ascorbinsäure im Urin zu Oxalat, ein Vorgang, der bei hohen pH-Werten auftritt. Diese Methode, deren Nachweisgrenze für Oxalat bei etwa 0,2 mg/L liegt, ist von der U.S. Pharmacopeia (USP) für die Bestimmung von Oxalat in Calciumgluconat anerkannt.

In der klinischen Analytik ist neben der Bestimmung von Alkali- und Erdalkalimetallen auch die Untersuchung von Übergangs- und Schwermetallen in Körperflüssigkeiten ein wichtiger Beitrag der Beurteilung eines Krankheitszustandes. Eine typische Bestimmung mono- und divalenter Kationen sowie von Cholin ist in Abbildung 143 gezeigt.

Abb. 143 Bestimmung von Alkali- und Erdalkalimetallen und Cholin in Serum



Lithium tritt in hohen Konzentrationen auf, wenn es als Medikation gegen manische Depression verabreicht wird. Ionisiertes Calcium wird meist dann untersucht, wenn Organtransplantationen oder Herzoperationen durchgeführt werden, bei denen Citrat als Blutantikoagulant verabreicht wird. Citrat komplexiert Calcium und setzt so den Calcium-Gehalt im Blut herab. Zur Kompensation wird Calcium verabreicht, dessen Dosierung durch eine vorangegangene Analyse festgelegt wird.

Gegenüber konventionellen Verfahren, wie der Atomabsorptions-Spektroskopie (AAS), der Gaschromatographie oder ionenselektiven Elektroden zeichnet sich die IC in diesem Bereich durch eine hohe analytische Verlässlichkeit und Robustheit aus. Mit dieser Methode lassen sich auch andere Krankheitsbilder wie das Rye-Syndrom untersuchen, bei dem die Ammonium-Konzentration im Blut oft vor den charakteristischen Leberenzymen erhöht ist. Neben diesen und anderen Kationen kann über die Ionenchromatographie auch Magnesium-Mangel im Blut aufgedeckt werden [218].

Die Gruppe der Übergangs- und Schwermetalle wurde in den letzten Jahren häufig im Zusammenhang mit Krankheitsbildern genannt. Niedrige Kupferwerte im Serum gelten als Hinweis für die Wilson-Krankheit; erhöhte Werte lassen auf eine Anzahl von chronischen und akuten Krankheiten wie der Hodgkin's-Krankheit oder der Leukämie schließen. Bei der lymphatischen Leukämie wird ein Zusammenhang zwischen erhöhten Kupfer- und erniedrigten Zink-Werten im Blut beobachtet, wodurch sich die Notwendigkeit einer simultanen Bestimmung beider Metalle ergibt [219]. Zurzeit wird vorwiegend die AAS zur Bestimmung dieser Metalle eingesetzt, die allerdings bei der Analyse von Körperflüssigkeiten häufig auf Grund von Matrixeinflüssen oder mangelnder Nachweisempfindlichkeit nur wenig befriedigende Ergebnisse liefert. Die ionenchromatographische Methode ist daher eine attraktive Alternative, bei der die Metalle nach der chromatographischen Analyse mit PAR umgesetzt und bei 520 nm detektiert werden. In [220] wird die Trennung von Blei, Kupfer, Kobalt, Zink und Nickel in Serum mit einem Oxalat-Eluenten gezeigt, wobei das Oxalat die divalenten Metalle zu komplexieren vermag und auf diese Weise eine chromatographische Trennung ermöglicht. Auf Grund des stabilen Oxalat-Komplexes stören hohe Eisengehalte bei diesem Verfahren nicht, so dass geringe Gehalte der anderen Kationen interferenzfrei bestimmbar sind. Sollen neben den genannten Metallen auch Eisen (III), Cadmium und Mangan nachgewiesen werden, erfolgt die Trennung unter Verwendung eines Eluenten mit Pyridin-2,6-Dicarbonsäure als chelatierendem Agens [220]. Die Verwendung lösemittelkompatibler Säulen vom Typ Dionex IonPac CS5A ermöglicht zudem im Falle einer Kontamination mit organischen Komponenten die Reinigung der Trennsäule mit Methanol oder Acetonitril.

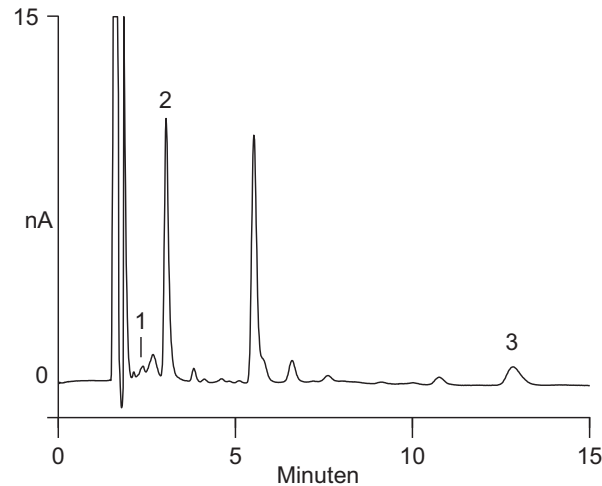
10.9.2. Catecholamine, Kohlehydrate

Die chromatographische Trennung zahlreicher ionischer oder ionisierbarer Substanzen wie Catecholamine, Kohlehydrate oder Thiol-Verbindungen erfolgt mit der Ionenpaar- oder Ionenaustausch-Chromatographie. Der Nachweis erfolgt in diesen Fällen häufig über die amperometrische Detektion, bei der Redox-Reaktionen der Verbindungen an einer Glassy Carbon (GC)-Elektrode oder Metallelektrode erfolgen. Das Chromatogramm erhält man als transientes Signal des resultierenden Stroms.

Eine der wichtigsten Applikationen in der klinischen Analytik ist die Bestimmung von Catecholaminen und ihrer Zersetzungsprodukte in Hirngewebe, Urin oder Plasma, um sich ein physiologisches Bild von Herzfunktion und Blutdruck eines Patienten zu verschaffen. Die Trennung der Catecholamine erfolgt ionenpaarchromatographisch an einer chemisch modifizierten Umkehrphase mit anschließender amperometrischer Detektion. Die in diesem Fall verwendete Gleichstrom-Amperometrie an einer GC-Elektrode stellt die erforderliche hohe Nachweisempfindlichkeit sicher.

Die elektrochemische Umsetzung der Analyte erfolgt bei einem Potential von 0,8 V [221]. Ein entsprechendes Chromatogramm ist in Abbildung 144 dargestellt. Für diese Applikation wurde ein Filterpapier in die Windeln der Babys gelegt. Die Injektion des wässrigen Extrakts des Filterpapiers erfolgte direkt, ohne weiteren Probenvorbereitungsschritt.

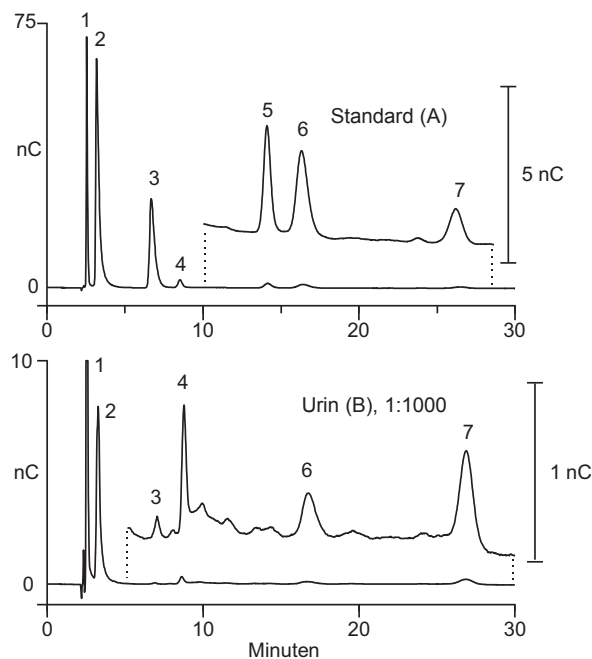
Abb. 144 Bestimmung von Catecholaminen in Urin



Trennsäule: RP 300 C₁₈
 Eluent: 5 mmol/L Triethylamin, 1 mmol/L C₄H₉SO₃Na, 70 mmol/L KH₂PO₄ (pH 3) plus 100 mL/1000 mL Methanol
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: DC (+ 0,8 V)
 Arbeitselektrode: GC
 Peaks [μmol/L]: 1 Vanillinmandelsäure (9,8), 2 iso-Vanillinmandelsäure (10); 3 Homovanillinmandelsäure (10,1)

Zu den neuesten Anwendungen der Ionenchromatographie in der klinischen Analytik gehören die Analysen von Zuckeralkoholen, Mono-, Di- und Oligosacchariden und ihrer Derivate in Urin, Serum und anderen Körperflüssigkeiten. Diese Methode hat als High Performance Anion Exchange Chromatography with Integrated and Pulsed Amperometric Detection (HPAEC-IPAD) eine breite Anwendung gefunden. Sie ermöglicht die Bestimmung von Kohlehydraten auch unter Gradientenbedingungen, angefangen bei den Zuckeralkoholen über Oligosaccharide bis hin zu den Glycosaminoglykanen (GAG).

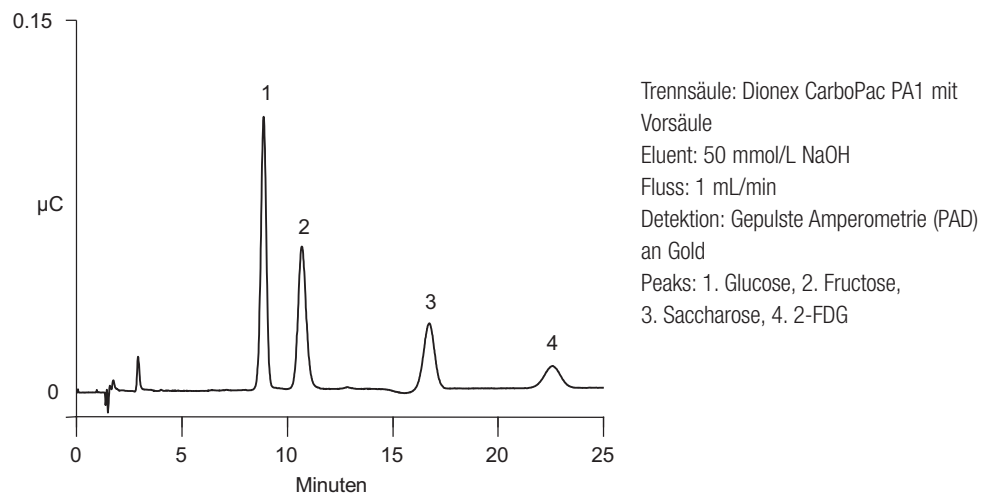
Abb. 145 Bestimmung von Kohlehydraten in einem Standard (A) und in Urin (B)



Trennsäule: Dionex CarboPac PA1
 Eluent: 12 mmol/L NaOH, 2,5 mmol/L NaOAc
 Fluss: 1 mL/min
 Detektion: Gepulste Amperometrie (PAD) an Gold
 Peaks in (A) [μmol/L]: 1 meso-Erythrit* (40), 2 Mannit (40), 3 Rhamnose (40), 4 Saccharose (1), 5 Lactose (1), 6 Lactulose (1), 7 Turanose* (1)
 * Interner Standard in der Probe

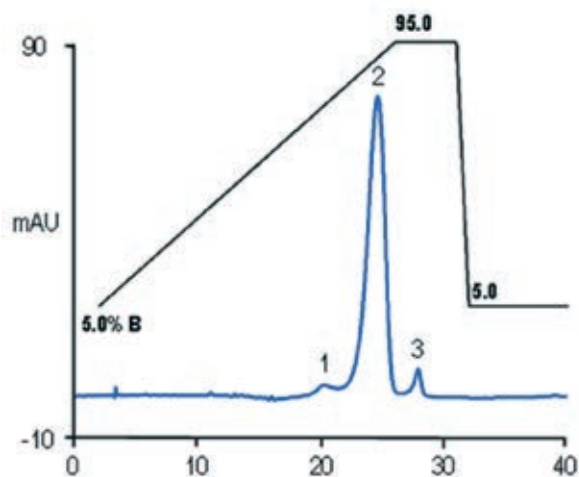
Eine typische isokratische Trennung von Zuckeralkoholen und einfachen Zuckern aus Urin und ihrem elektrochemischen Nachweis zeigt Abbildung 145. Die Zuckeralkohole eluieren zu Beginn des Chromatogramms, gefolgt von den Mono- und Disacchariden. Insbesondere bei Untersuchungen zur Nierenfunktion dienen die untersuchten Zucker zur Indikation des Krankheitsbildes. Liegt bei einem Patienten eine bakterielle Infektion des Dünndarms vor, kann die verminderte Resorptionsaktivität des Dünndarms beispielsweise nach Verabreichung von Xylose über die Anreicherung des Zuckers im Serum ermittelt werden. Patel et al. [222] zeigten eine weitere Anwendung der HPAEC-PAD Methode, mit der sie die urinaire Ausscheidung von Glykogen-abgeleiteten Tetrasacchariden als Hinweis auf die Leberfunktion von Patienten mit Pankreatitis untersuchten. Polysaccharide, wie die Glycosaminoglycane, sind ein Bestandteil der Bindegewebe und Blutkapillärwände, die vorwiegend aus sulfatierten Zuckerbausteinen des Chondroitin- und Dermatan-sulfat aufgebaut sind. Nach einer gezielten enzymatischen Hydrolyse können die Verteilungsmuster der einzelnen Disaccharide im Urin analysiert werden. Rückschlüsse auf bestimmte Bindegewebskrankheiten (Mucopolysaccharidosen, Marfan-Syndrom, Arthrididen usw.) sind damit möglich [223]. Eine weitere wichtige Applikation ist die Trennung von Glucose und halogenierten Kohlenhydrate, wie 2-Fluordeoxyglucose, die dem Patienten als radioaktive Marker zur Untersuchung von Stoffwechselfvorgängen verabreicht wird (Abbildung 146).

Abb. 146 Bestimmung von 2-Fluordeoxyglucose (2-FDG)



Heparin ist ein komplexes, hoch sulfatiertes Glycosaminoglycan, das seit dem frühen zwanzigsten Jahrhundert als Gerinnungshemmer zur Vorbeugung von Thrombose verabreicht wird. Weltweit erhalten mehr als 10 Millionen Menschen Heparin jährlich. Über 70 Millionen Ampullen werden pro Jahr für Herz-Operationen, bei Dialyse und einer Vielzahl anderer Anwendungen verkauft. Im Jahr 2008 fanden Forscher in Heparin Proben eine Verunreinigung, die heute als übersulfatiertes Chondroitinsulfat (oversulfated chondroitin sulfate OSCS) bekannt ist. OSCS wurde mit lebensgefährlichen allergischen Reaktionen hunderter Patienten in Verbindung gebracht. In diesen Proben wurde darüber hinaus eine weitere Verunreinigung Dermatan-sulfat (DS) gefunden, das in Heparin bei unvollständiger Produktaufreinigung gefunden wird. Im Rahmen der Suche nach geeigneten Verfahren zum sicheren Nachweis von OSCS und DS wurden verschiedene flüssigchromatographische Verfahren getestet [224]. In der Folge wurde eine Methode entwickelt, die die Trennung der drei Komponenten in weniger als 40 Minuten ermöglicht (Abbildung 147).

Abb. 147 Trennung von DS und OSCS (je 1 % bezogen auf Heparin) von 20 mg/mL Heparin [224]



Trennsäule: Dionex IonPac AS11-HC mit Vorsäule (2 x 250 mm)
 Eluent: A: Wasser, B: 2.5 mol/L NaCl + 20 mmol/L Tris (pH 3). Gradient von 5 % B auf 95 % B in 26 Minuten
 Detektion: UV (215 nm), Basislinien Subtraktion
 Peaks: 1 DS, 2 Heparin, 3 OSCS

10.10. Untersuchung ionischer Flüssigkeiten

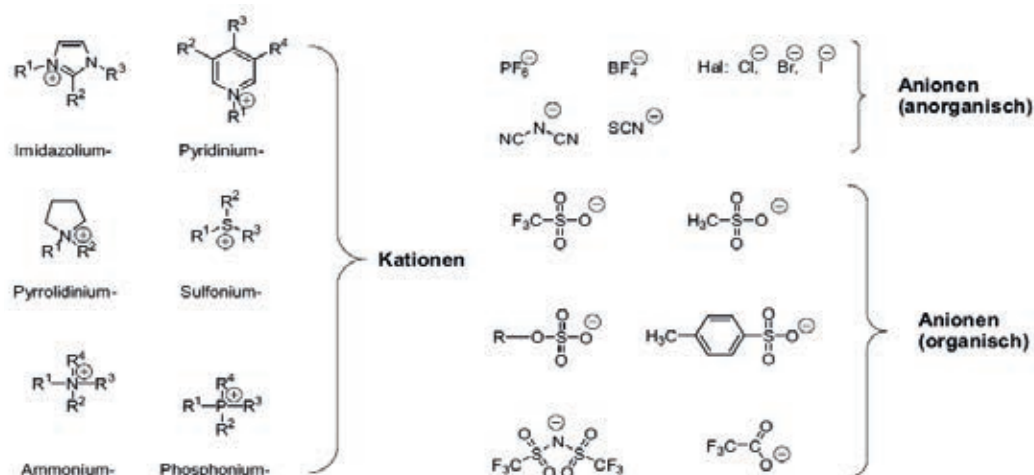
Die IC ist ein effizientes Analysenverfahren zur Untersuchung von ionischen Flüssigkeiten (ionic liquids IL) und deren Mischungen. Die Anwendung der Suppressionstechnik sowie der Einsatz lösungsmittelstabiler Ionenaustauscher ermöglichen die flexible Variation der chromatographischen Bedingungen, die nachweisstarke Leitfähigkeitsdetektion und die Bestimmung von Haupt- und Nebenkomponten. Die Variationsmöglichkeiten der chromatographischen Bedingungen (Säulentemperatur, Zusatz organischer Modifier sowie Ionenstärke-Gradienten) lassen sich gezielt zur Optimierung der Trennung von IL-relevanten Anionen und Kationen in komplexen Mischungen nutzen.

10.10.1. Kationische Bestandteile

Ionische Flüssigkeiten sind eine neue Generation von Lösungsmitteln mit einem erheblichen Potenzial herkömmliche organische Lösungsmittel in zahlreichen technischen Anwendungen zu ersetzen. Als ionische Flüssigkeiten bezeichnet man organische Salze mit einem Schmelzpunkt unter 100 °C. Sie haben einen sehr geringen Dampfdruck, leiten den elektrischen Strom, sind schwer entzündlich und haben selektive Löseeigenschaften. Eine häufig verwendete Gruppe ionischer Flüssigkeiten basiert auf dem Imidazolium-Kation, z. B. 1-Alkyl-3-methylimidazolium. Weitere für ionische Flüssigkeiten typische Kationen und Anionen sind in Abbildung 148 zusammengestellt [225].

Durch Variation des Anions und durch Variation der Alkyl-Reste ergibt sich eine große Anzahl ionischer Flüssigkeiten mit breiten Eigenschaftsfenstern für Viskosität, Dichte, Hydrophobie und Lösevermögen. Die Eigenschaften der ILs lassen sich an die spezifische Aufgabenstellung durch die Modifizierung der funktionellen Gruppen des Kations oder auch des Anions wirkungsvoll anpassen und gezielt zur Prozessoptimierung einsetzen. Einige ionische Flüssigkeiten sind außerordentlich stabil gegen elektrochemische Redox-Vorgänge und thermisch merklich belastbar.

Abb. 148 Typische Anionen und Kationen ionischer Flüssigkeiten [225]



Sie finden bereits heute als maßgeschneiderte Lösungsmittel, Modifizier und Reagenzien in der organischen Synthese und in der homogenen Katalyse Anwendung. Ökologische und sicherheitstechnische Probleme, die z. B. durch das Ausgasen flüchtiger klassischer organischer Lösungsmittel auftreten, lassen sich mit ionischen Flüssigkeiten deutlich verringern [226]. Die stoffliche Vielfalt und das Potential in der Anwendung ionischer Flüssigkeiten forcieren deren Produktion und Verwendung im technischen Maßstab. Die Produktionsüberwachung bei der Herstellung von ionischen Flüssigkeiten sowie die Prozesskontrolle bei deren Einsatz erfordern eine effiziente Analytik hinsichtlich der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung komplexer Reaktionssysteme und speziell der ionischen Flüssigkeiten. Aufgrund der Ladung der ionischen Flüssigkeiten ist die IC mit Leitfähigkeitsdetektion eine geeignete analytische Methode zur Trennung komplexer Elektrolytsysteme [227, 228]. Zusätzlich zur Ionenaustauschwechselwirkung können Adsorptionsvorgänge eine Rolle spielen, die von der Größe, der Polarisierbarkeit und der Struktur der zu trennenden Ionen, der stationären Phase sowie dem Eluenten abhängen. Die Struktur der Imidazole, besonders auch die Variabilität der Alkylreste, lassen dies erwarten.

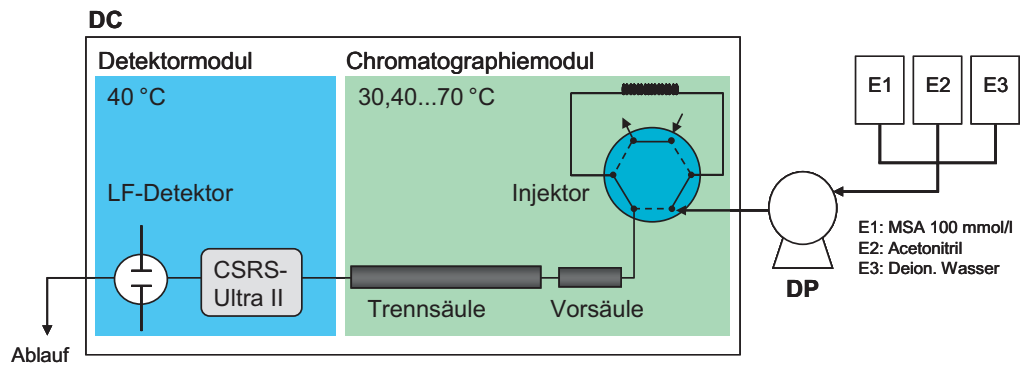
In der konventionellen IC werden für typische anorganische Ionen meist rein wässrige Eluenten verwendet, während zur Untersuchung organischer Ionen auch organische Lösemittel im Laufmittel zum Einsatz kommen.

Tab. 7 Strukturelle Merkmale untersuchter ionischer Flüssigkeiten

Systematischer Name	Abkürzung	Chemische Formel
1-Ethyl-3-methylimidazolium-Chlorid	EMIM-Cl	Cl^-
1-Butyl-3-methylimidazolium-Chlorid	BMIM-Cl	Cl^-
1-Hexyl-3-methylimidazolium-Octylsulfat	HMIM-OcSO ₄	OcSO_4^-
1-Octyl-3-ethylimidazolium-Ethylsulfat	OEIM-EtSO ₄	EtSO_4^-

Der gewählte apparative Aufbau des Ionenchromatographen ist in Abbildung 149 gezeigt. Spezielle Trennsäulen, wie die Dionex IonPac CS17, sind geeignet, um hydrophobe und polarisierbare Kationen auch mit Einsatz organischer Lösemittel effizient zu trennen. Die Anwendung der Leitfähigkeits-Detektion in Verbindung mit der MSA-Gradienten-Elution wird durch den Einsatz eines Dionex CSRS kontinuierlich regenerierten Kationensuppressors oder eines Dionex Kationen-Mikromembransuppressors möglich.

Abb. 149 Schematische Darstellung des Ionenchromatographie-Systems [228]



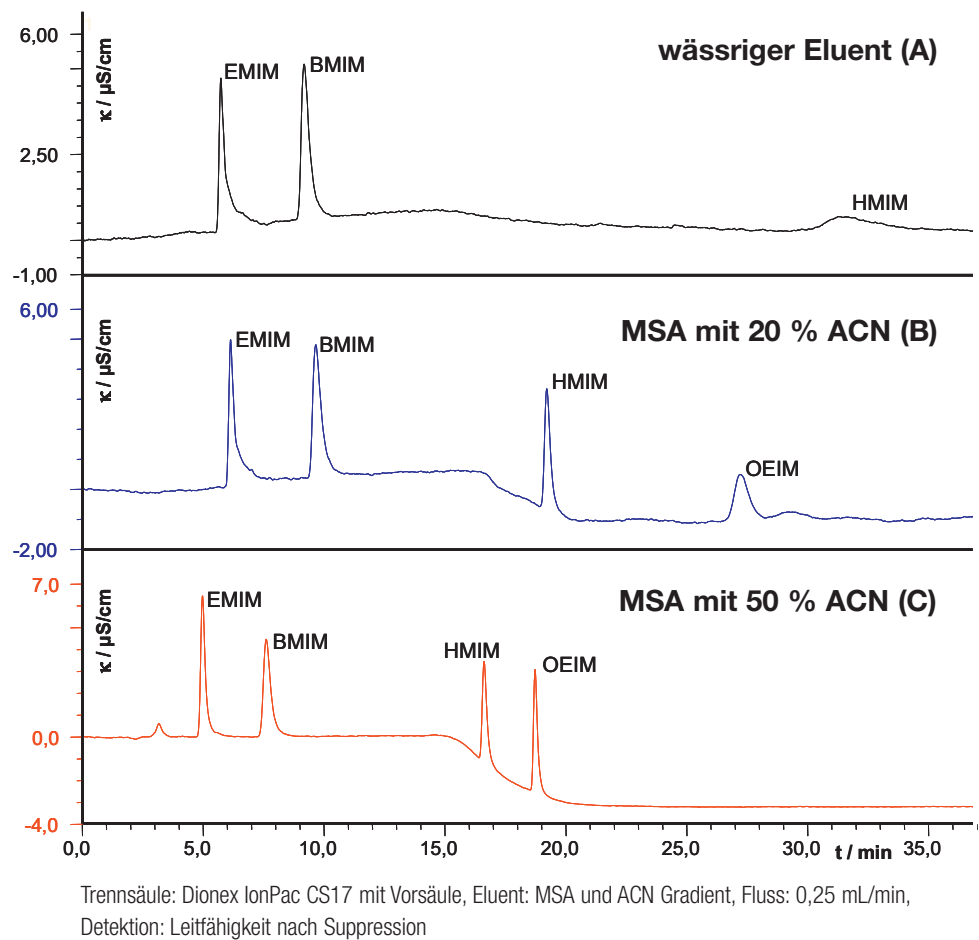
Aufgrund der Variation der Kettenlängen der verwendeten ILs auf Basis der Imidazole ist mit einer merklichen adsorptiven Wechselwirkung zusätzlich zum Ionenaustausch zu rechnen. Abbildung 150 zeigt den Einfluss des organischen Modifiers Acetonitril im Eluenten. Die Säulentemperatur wurde konstant gehalten und für diese Versuchsreihe auf $T_s = 70\text{ °C}$ eingestellt.

Bei rein wässrigen Eluenten werden ausschließlich die Kationen mit den geringsten hydrophoben Wechselwirkungen (EMIM und BMIM) eluiert (Abbildung 150, Elutionsprofil A). Für die größeren organischen Seitenketten Hexyl und Octyl im HMIM bzw. OEIM ermöglicht ein einfacher MSA-Konzentrationsgradient keine Elution der Imidazolium-Kationen in einer akzeptablen Retentionszeit und Qualität. In Anlehnung an die klassische RPLC wurden Zusätze an Acetonitril getestet. Durch Kombination des Ionenstärkegradienten mit einem linearen Acetonitril-Gradienten bis zu einem Anteil von 20 % Acetonitril lassen sich die Ionen HMIM und OEIM in akzeptablen Analysezeiten eluieren (Abbildung 150, Elutionsprofil B). Der organische Modifier hat auf die Retentionszeiten der kleineren Ionen EMIM und BMIM keinen maßgeblichen Einfluss.

Um den Einfluss des organischen Modifiers weiter zu untersuchen, wurde der ACN-Anteil im Gradienten auf 50 % erhöht (Abbildung 150, Elutionsprofil C). Unter diesen Bedingungen eluieren auch die höheren Homologe HMIM und OEIM innerhalb von 20 Minuten effizient. Das Peak-Tailing, eine Konsequenz von Adsorptionsvorgängen, verringert sich, so dass sich die Integration der Peakflächen und damit die quantitative Auswertung vereinfacht.

Die Retention der höheren Homologe wird durch hydrophobe Wechselwirkungen der organischen Seitenketten mitbestimmt und kann über die Verwendung organischer Modifier im Eluenten kontrolliert werden. Der in den Chromatogrammen auffällige Basislinienverlauf resultiert aus der Zugabe des aprotischen Acetonitrils. Bei steigenden ACN-Gehalten nimmt die Grundleitfähigkeit des Eluenten ab.

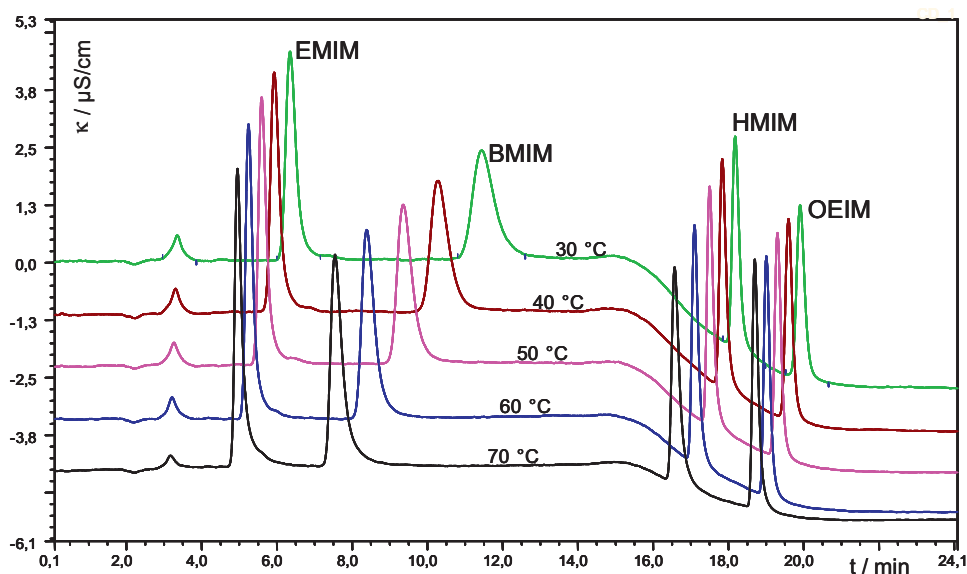
Abb. 150 Trennung verschiedener Imidazole
– Variation der Elutions-Bedingungen ACN-
Anteil und Ionenstärke; $T_s = 70\text{ °C}$



Die Säulentemperatur ist neben der Verwendung organischer Modifizier eine weitere Einflussgröße bei der Trennung hydrophober Komponenten. Daher wurde die Säulentemperatur (T_s) im Bereich $30\text{ °C} < T_s < 70\text{ °C}$ systematisch variiert. Die Elutionsbedingungen wurden nicht verändert und entsprechen dem Elutionsprofil C aus Abbildung 150. Die Ergebnisse der Variation der Säulentemperatur sind in Abbildung 151 dargestellt. Das Retentionsverhalten von BMIM zeigt unter den verwendeten chromatographischen Bedingungen die größte Abhängigkeit von der Säulentemperatur. Die Retentionszeit verkürzt sich im Vergleich der Werte von 30 °C und 70 °C um mehr als 30%. Geringer wirkt sich die Erhöhung der Säulentemperatur auf das Retentionsverhalten von EMIM (-11%), HMIM (-9%) und OEIM (-6%) aus.

Bei höheren Temperaturen verbessert sich aber die Peakgeometrie aller Komponenten. Bei hohen Temperaturen von $T_s = 70\text{ °C}$ sind die Peaks deutlich effizienter und weisen ein geringeres Tailing auf. Insbesondere bei BMIM ist dieser Temperatureffekt besonders ausgeprägt. Aufgrund des höheren ACN-Anteils im Eluenten wirkt sich der Temperatur-Einfluss auf die höheren Homologen HMIM und OEIM geringer aus. Diese Experimente veranschaulichen, dass die Thermostatisierung der Trennsäule für die untersuchten Komponenten eine Voraussetzung für reproduzierbare analytische Ergebnisse ist.

Abb. 151 Trennung verschiedener Imidazole – Einfluss der Säulentemperatur bei konstantem Eluentenprofil



Trennsäule: Dionex IonPac CS17 mit Vorsäule, Eluent: MSA und ACN Gradient, Fluss: 0,25 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression

10.10.2. Anionische Bestandteile

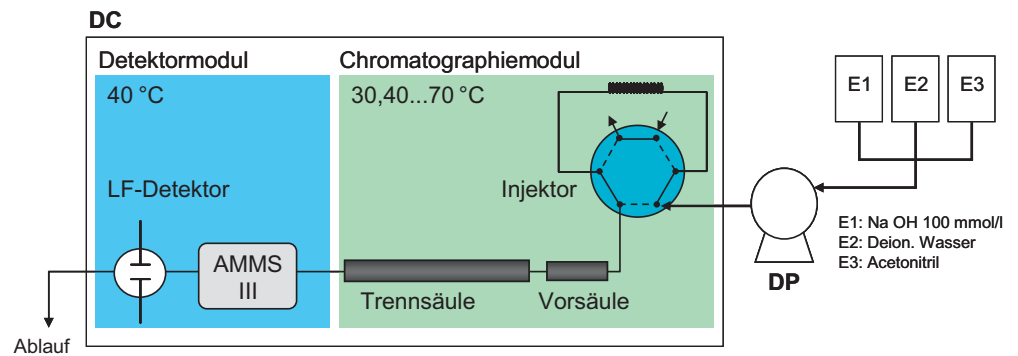
Abbildung 148 verdeutlicht, dass die Vielfalt ionischer Flüssigkeiten aus der Kombination unterschiedlicher Anionen und Kationen resultiert. Während im vorherigen Abschnitt die ionenchromatographische Trennung der Kationen diskutiert wurde, wenden wir uns nachfolgend der der Anionen zu [229]. Die untersuchten Anionen sind in Tabelle 8 zusammengefasst. Neben vergleichsweise einfachen Anionen werden auch solche aufgelistet bei denen die chemische Zusammensetzung oder der Aufbau auf zusätzliche Adsorptionswechselwirkungen mit den gewählten Ionenaustauschern schließen lassen.

Tab. 8 Strukturelle Merkmale der verschiedenen Anionen typischer ionischer Flüssigkeiten

Systematischer Name	Abkürzung	Chemische Formel	
		Kationen	Anionen
Natriumtetrafluorborat	NaBF ₄	Na ⁺	
1-Ethyl-3-Methylimidazolium-Tetrafluorborat	EMIM-BF ₄		
Trifluormethansulfonsäure	CF ₃ SO ₃ H	H ⁺	
Natriumdicyanamid	NaN(CN) ₂	Na ⁺	
Kaliumnonafluorat	KC ₄ F ₉ SO ₃	K ⁺	
Kaliumhexafluorophosphat	KPF ₆	K ⁺	
1-Butyl-3-Methylimidazolium-Hexafluorophosphat	BMIM-PF ₆		

Der apparative Aufbau zur Trennung anionischer Bestandteile von ILs ist in Abbildung 152 gezeigt. Zur Trennung wurde eine hochkapazitive, hydroxid-selektive Anionenaustauscher-Trennsäule vom Typ Dionex IonPac AS20 nebst Vorsäule eingesetzt. Die Anwendung der Leitfähigkeits-Detektion in Verbindung mit der NaOH-Gradienten-Elution wird durch den Einsatz eines Dionex AMMS Anionen-Mikromembransuppressors ermöglicht.

Abb. 152 Schematische Darstellung des Ionenchromatographie-Systems



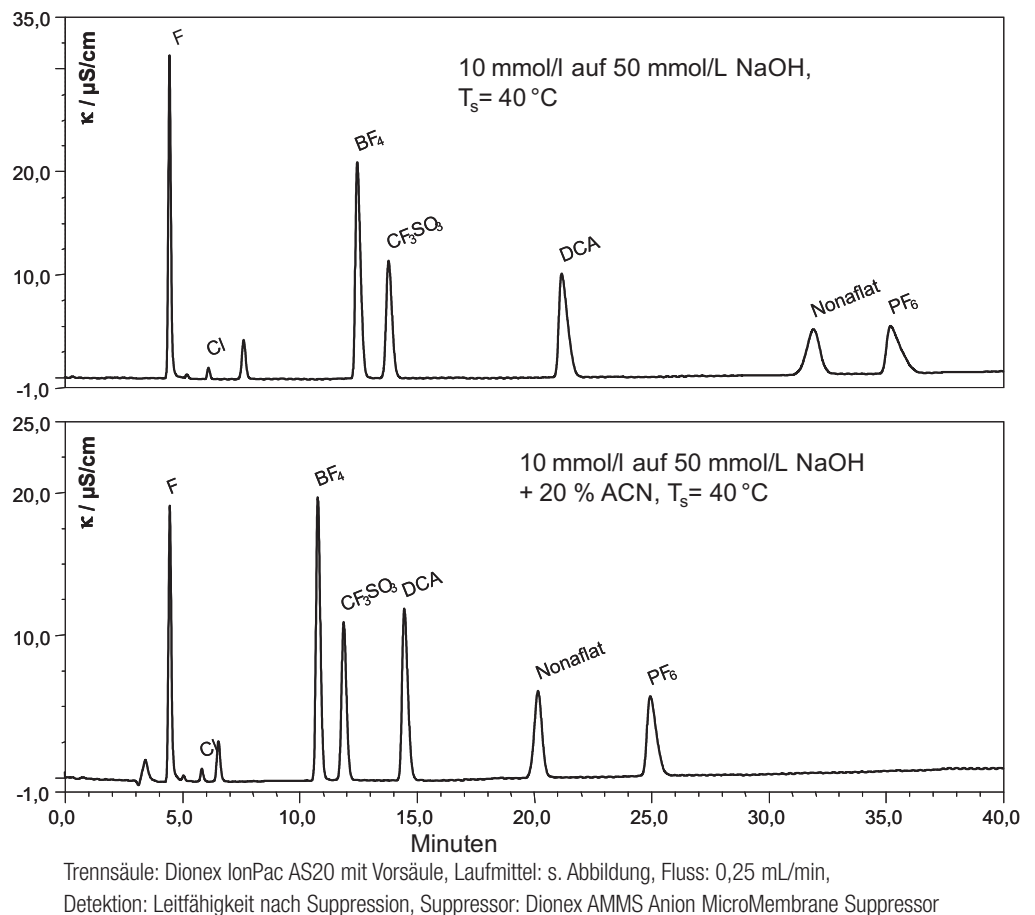
Zusätzlich zur ionischen Wechselwirkung mit der Anionenaustauscher-Säule lassen die Anionen auch eine merkliche adsorptive Wechselwirkung mit dem Säulenmaterial erwarten (Tabelle 8). Die Ladung einiger Anionen (BF_4^- und PF_6^-) ist nahezu komplett von den umgebenden Fluor-Atomen abgeschirmt, Adsorptionswechselwirkungen werden bei der ionenchromatographischen Trennung dieser Ionen eine zunehmende Rolle spielen, so dass sowohl der Einfluss der Elektrolyt-Konzentration als auch der Zusatz eines organischen Lösungsmittels auf die Trennung untersucht wurde. Um den Einfluss der Kationen typischer ILs auszuschließen – die mögliche Bildung eines „ionenchromatographisch stabilen Ionenpaars“ wäre denkbar – kamen für die ersten Untersuchungen ausschließlich einfache Salze zum Einsatz.

In Abbildung 153 ist der Einfluss eines organischen Modifiers auf die Trennung polarisierbarer Anionen dargestellt. Bei gleichem NaOH-Gradienten zeigt sich bei einem konstanten Acetonitril-Anteil von 20 % ein signifikanter Einfluss auf Retention und resultierender Peakform bei speziellen Anionen. Ohne ACN-Zusatz eluiert Hexafluorphosphat (PF_6^-) bei einer Brutto-Retentionszeit von $t_{\text{ms}} = 36,5$ min, während der Zusatz von ACN zu kürzeren Retentionszeiten führt ($t_{\text{ms}}(\text{PF}_6^-) = 26$ min). Die chromatographische Selektivität bleibt erhalten – gleichzeitig führt der Einsatz organischer Lösemittel zu einer deutlichen Verbesserung der Peakgeometrie der später eluierenden Ionen. Hierdurch vereinfachen sich die Flächen-Integration sowie die quantitative Auswertung. Während sich die Retentionszeiten der Ionen mit den größten hydrophoben Resten bzw. mit der stärksten Abschirmung der ionischen Ladung durch Lösemittelzusatz signifikant verkürzen, erfahren die Standard-Anionen Fluorid und Chlorid keine auffällige Verschiebung der Retentionszeiten.

Die Säulentemperatur (T_s) im Chromatographiemodul wurde systematisch im Bereich $30\text{ °C} < T_s < 70\text{ °C}$ variiert, während die Elutions-Bedingungen konstant gehalten wurden. Abbildung 154 zeigt typische Chromatogramme, wie sie sich durch Variation der Säulentemperatur ergeben.

Das Retentionsverhalten von Nonaflat und PF_6^- zeigt unter den verwendeten chromatographischen Bedingungen die stärkste Abhängigkeit von der Säulentemperatur. Bei niedrigen Temperaturen sind beide Peaks um ca. 4 min getrennt. Mit ansteigender Temperatur nähern sich die Signale und eluieren bei der Säulentemperatur von $T_s = 60^\circ\text{C}$ als Summenpeak bei $t_{\text{ms}} = 19$ min. Eine Überlagerung temperaturabhängiger adsorptiver Effekte und Dissoziationsvorgänge könnten hierfür verantwortlich sein. Auffällig ist das Retentionsverhalten von Nonaflat. Aufgrund der vier C-Atome zählenden Seitenkette wäre eine Abnahme der Retentionszeit bei steigender Temperatur die offensichtlichste Erwartung. Allerdings findet man bei Temperaturerhöhung eine Zunahme der Retentionszeit und damit eine Veränderung der chromatographischen Selektivität. Daher vermutet man entweder eine steigende Ladungsdichte der Analyt-Ionen – etwa als Folge einer stärkeren Dissoziation bei höheren Temperaturen – oder eine steigende Dissoziation der Ionenaustauschfunktionen des Säulenharzes (und damit eine virtuelle Zunahme der Austauschkapazität der Säule), so dass eine stärkere Ionenaustauschwechselwirkung und damit eine Zunahme der Retentionszeit resultiert. Hingegen zeigt Hexafluorphosphat ein für hydrophobe Wechselwirkungen typisches Verhalten – die Retentionszeit nimmt mit steigender Temperatur ab.

Abb. 153 Variation der Elutions-Bedingungen ACN-Anteil und Ionenstärke; $T_s = 40^\circ\text{C}$

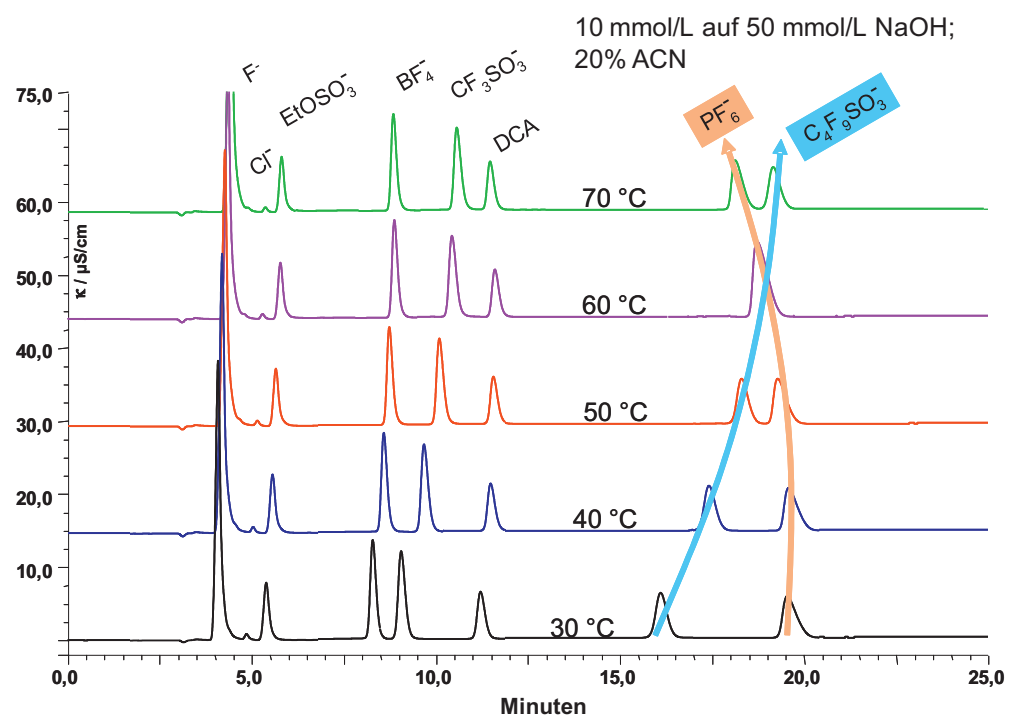


Wie Nonaflat zeigt sich für das Säureanion der Trifluormethansulfonsäure $\text{CF}_3\text{SO}_3\text{H}$ mit steigender Temperatur eine zunehmende Retention (Abbildung 154). Auch hier vermuten wir einen temperaturabhängigen Dissoziationseinfluss.

Für BF_4^- und DCA nimmt die Retentionszeit zunächst mit steigender Temperatur zu, um dann entweder zu einer kürzeren Retentionszeit (DCA) oder einer stabilen Retentionszeit (BF_4^- $T_s > 60^\circ\text{C}$) zu gelangen. Dieses Elutionsverhalten ließe sich wiederum über temperaturabhängige Dissoziationsvorgänge sowie Adsorptions/Desorptionsvorgänge, im Falle von DCA sogar durch eine Kombination beider, deuten.

Die vielfältigen Variationsmöglichkeiten der chromatographischen Bedingungen lassen sich gezielt zur Optimierung der Trennung von IL-relevanten Anionen in komplexen Mischungen nutzen. Beispielsweise kann bei der quantitativen Auswertung der Anionen PF_6^- und Nonafat die Temperatur so gewählt werden, dass der jeweils kleinere Peak zuerst eluiert. Hierdurch verbessern sich die Peakintegration und damit die quantitative Bestimmung.

Abb. 154 Einfluss der Säulentemperatur auf die Trennung bei konstantem Eluentenprofil

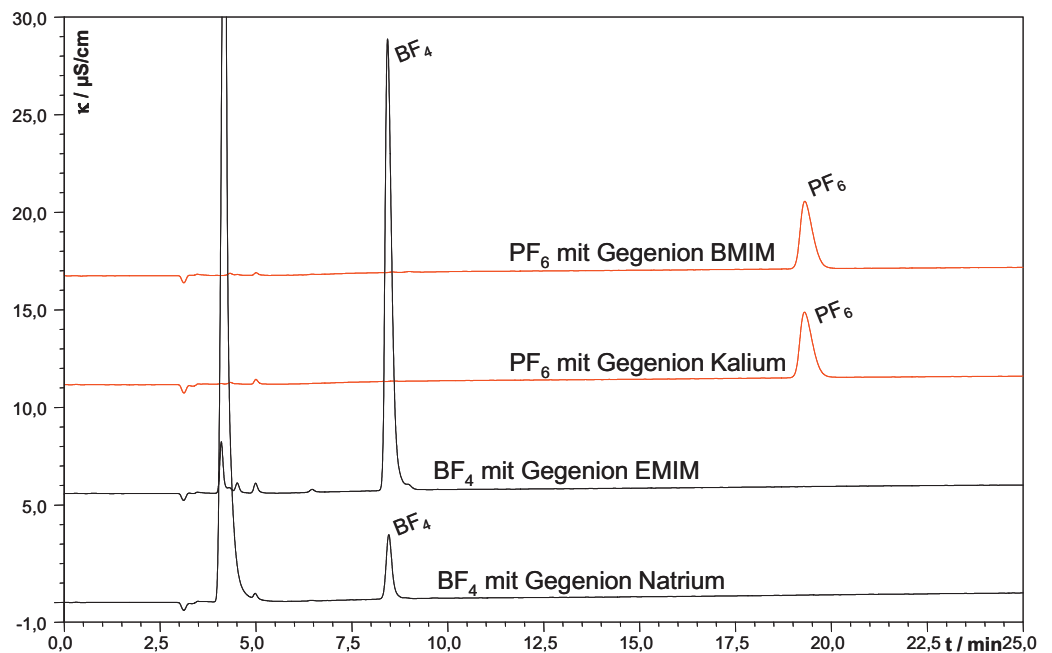


Trennsäule: Dionex IonPac AS20 mit Vorsäule, Laufmittel: s. Abbildung, Fluss: 0,25 mL/min,
Detektion: Leitfähigkeit nach Suppression, Suppressor: Dionex AMMS Anion MicroMembrane Suppressor

10.10.3. Einfluss des IL-Gegenions auf die Trennung

Zusätzlich untersuchten wir den Einfluss des Gegenions auf das Elutionsverhalten ausgewählter Anionen, um eine mögliche Ionenpaar-Bildung, die zu einer Verkürzung der Retentionszeiten etwa bei der Untersuchung von ILs führen sollte, nachzuweisen. Wie Abbildung 155 zeigt, ist kein signifikanter Unterschied in der Retentionszeit festzustellen, wenn als Gegenionen der originalen Probe EMIM (mit Anion BF_4^-) bzw. BMIM (mit Anion PF_6^-) vorhanden sind. Der flächenmäßig größere BF_4^- -Peak bei der Untersuchung von EMIM- BF_4^- – eine typische IL-Kombination – ist auf eine größere eingewogene Menge der Ausgangssubstanz zurückzuführen. Unter den gewählten experimentellen Bedingungen kommt es diesen Untersuchungen folgend zu keiner chromatographisch nachweisbaren Ionenpaar-Bildung.

Abb. 155 Untersuchung von IL-relevanten Anionen mit unterschiedlichen Gegenionen in der Ausgangssubstanz

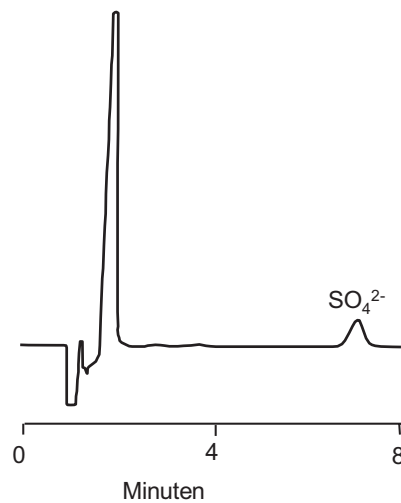


10.11. Weitere Anwendungsgebiete

Neben den ausführlicher beschriebenen Hauptanwendungsgebieten gewinnt die Ionenchromatographie auch in anderen Anwendungsbereichen zunehmend an Bedeutung. Eine wichtige Rolle spielt die IC bei der Charakterisierung pharmazeutisch relevanter Verbindungen, vor allem im Frühstadium der Forschung. Hierzu gehört die Spurenanalyse von Verunreinigungen und Metaboliten, die Elementaranalyse sowie die Aufklärung der Struktur von Gegen-Ionen. Die Vielzahl weiterer Anwendungsmöglichkeiten, wie sie in Tabelle 9 zusammengefasst sind, kann im Rahmen dieses Bandes jedoch nicht näher erläutert werden. Daher sollen an dieser Stelle nur solche herausgegriffen werden, die auf Grund der Komplexität der Matrix in besonderem Maße hervorzuheben sind. Hierzu gehört zweifelsohne die Bestimmung von Chlorid und Sulfat in Reaktivfarbstoffen, die auf Grund ihres aromatischen Grundgerüsts eine sehr hohe Affinität zur stationären Phase eines Anionenaustauschers besitzen und die Bestimmung der anorganischen Komponenten stören. Reproduzierbare Ergebnisse erhält man erst, wenn die Farbstoffe mit einer Dionex OnGuard-P Festphasenextraktionskartusche aus der Probe entfernt werden. Sind viele Proben in Serie zu bestimmen, hat sich der Einsatz einer Dionex IonPac NG1 Vorsäule – einem nicht funktionalisiertem Harz – oder der regelmäßige Austausch der Vorsäule bewährt. Im letzten Fall nimmt der Anwender die gezielte Belastung der Vorsäule in Kauf, spart im Gegenzug allerdings eine unter Umständen zeitraubende manuelle Probenvorbereitung. Eine interessante Applikation aus dem mineralischen Bereich ist die Bestimmung von Ammonium in Zement [24,87].

Ammonium ist ein natürlicher Begleitstoff in den Rohprodukten der Zementindustrie und darf im Fertigprodukt einen bestimmten Gehalt nicht überschreiten, da Zement u.a. zum Ausschlagen von Trinkwasserrohren verwendet wird. Um eine einwandfreie Trennung des Ammoniums von den

Abb. 156 Analyse von Sulfat in einem NaCl-Reinstsalz



Trennsäule: Dionex IonPac AS4A mit Vorsäule
 Eluent: 1,7 mmol/L NaHCO₃ + 1,8 mmol/L Na₂CO₃
 Fluss: 2 mL/min
 Detektion: Leitfähigkeit nach Suppressorsystem
 Injektionsvolumen: 20 µL
 Injektion: 50 µL einer 1%igen Lösung

Alkali- und Erdalkalimetallen zu erhalten, bedient man sich eines Latex-Kationenaustauschers höchster Trennleistung. Dieser muss je nach Zahl der zu untersuchenden Proben arbeitstäglich mit konzentrierterer Salzsäure gespült werden, um die stärker zurückgehaltenen Erdalkalimetalle, die zunehmend Austauscherfunktionen besetzen und damit die Kapazität des Austauschers verringern, wieder von der Säule zu entfernen. Aus dem Bereich der Chemikalienanalyse sei stellvertretend die Analyse von Sulfat in hochreinen Alkali- oder Erdalkalichloriden erwähnt. Die gewünschte Nachweisgrenze kann nur erreicht werden, wenn eine Einwaage von mindestens 10 g/L gewählt wird. Der ungeheure Chlorid-Überschuss führt jedoch zu einer deutlichen Verschlechterung der chromatographischen Effizienz durch Überladung des Anionenaustauschers. Leitet man jedoch die ca. 1%ige Lösung durch eine Kartusche mit einem stark sauren Kationenaustauscher in der Ag-Form, wird die Hauptmenge Chlorid ausgefällt und die Sulfat-Bestimmung auf diese Weise erleichtert. Abbildung 156 zeigt das entsprechende Chromatogramm eines NaCl-Reinstsalzes mit einem Gehalt von $2,4 \times 10^{-3}$ % Sulfat. Aus dieser Darstellung ist ersichtlich, dass der bei analysereinen Qualitäten ausgewiesene Maximalgehalt von 10^{-3} % Sulfat ionenchromatographisch mühelos überprüft werden kann.

Tab. 9 Übersicht über weitere Anwendungsbereiche und zugehörige Analysenbeispiele

Anwendungsbereich	Analysenbeispiele
Papierindustrie Aufbereitung, Bleichprozesse, Papierherstellung, Abwasser	Bestimmung von Schwefel- und Chlorspezies, Alkalimetallen und Ammonium
Landwirtschaft Düngemittel, Bodenextrakte	Bestimmung von anorganischen Anionen, Alkali- und Erdalkalimetallen, Schwermetallen und Ammonium
Bergbau und Metallverarbeitung, Kalibergbau, Kohleverarbeitung, Phosphatierung	Bestimmung von anorganischen Anionen, Alkali- und Erdalkalimetallen, Schwermetallen und Metallkomplexen
Petrochemie Waschlösungen, Erdöl, Prozesswasser, Umweltgifte	Bestimmung von Schwefelverbindungen, Cyanid, Schwermetallen, anorganischen Anionen und organischen Aminen (z. B. Ethanolamine)

11

Probenvorbereitung

Die Probenvorbereitung umfasst alle Operationen, mit deren Hilfe die zu untersuchende Probe in eine für die Analyse geeignete Form gebracht wird. Zu diesen Prozessen zählen das Zerkleinern, Homogenisieren, Aufschließen, Lösen, Extrahieren und Filtrieren der Probe.

Nachstehend werden verschiedene Techniken näher erläutert, wobei der Schwerpunkt auf den für die ionenchromatographische Analyse typischen Verfahrensweisen gelegt wird. Spezielle Probenvorbereitungen – etwa die Entfernung von Proteinen über Fällung oder Ultrafiltration – sind in der Fachliteratur ausführlich beschrieben und verglichen [230].

11.1. Filtration der Probe

Wie bei allen flüssigkeitschromatographischen Verfahren müssen auch in der IC die zu injizierenden Lösungen partikelfrei sein, um eine Verstopfung der Kapillarverbindungen und der Fritten am Säulenkopf zu vermeiden. Für die Filtration von Probelösungen werden meist Einwegfilter verwendet, die auf die Injektionsspritze aufgesteckt sind. Während Membranfilter mit einer Porenweite von 0,45 µm meist völlig ausreichen, sollten bei Proben mit biologischer Aktivität Sterilfilter mit einer Porenweite von 0,22 µm verwendet werden. Membranfilter müssen vor ihrer Verwendung mit entionisiertem Wasser gespült werden, um Kontaminationen auszuschließen. Müssen ganze Probenserien filtriert werden, können in den Flüssigchromatographen sogenannte Hochdruckfilter integriert werden. Diese Filter sind in Halterungen untergebracht, und können in der Zuleitung zum Injektionsventil oder nach dem Injektor in das Flusssystem eingebaut werden. Vorteilhaft ist hierbei, dass die manuelle Filtration entfällt, allerdings müssen die Filtereinsätze in regelmäßigen Abständen ausgetauscht werden. Der Systemgegendruck ist hierbei ein einfacher Indikator für den fälligen Austausch. Hochdruckfilter für die Chromatographie sind im Chromatographie-Bedarfshandel erhältlich, wobei für die IC zu beachten ist, dass die Halterungen dieser Einheiten metallfrei gefertigt sein müssen, um Kontaminationen des Flusssystems und der Trennsäule zu vermeiden.

11.2. Entfernung gelöster Probenbestandteile

11.2.1. Kartuschensysteme zur manuellen Probenvorbereitung

Bei kleineren Probenserien dienen zur Entfernung gelöster Verunreinigungen kleine Einwegkartuschen, die auf die Einwegspritze aufgesteckt werden. Sie enthalten je nach Anwendungszweck unterschiedlichste Packungsmaterialien (Tabelle 10). Hydrophobe Packungsmaterialien wie Divinylbenzol oder chemisch modifiziertes Kieselgel – dieses allerdings nur mit Einschränkungen – werden verwendet, um Aromaten, langkettige Fettsäuren, Kohlenwasserstoffe und Tenside aus dem Probengut zu entfernen. Die erwähnten Limitierungen bei der Verwendung chemisch modifizierter Kieselgele beruhen im Wesentlichen auf den Ionenaustausch-Eigenschaften des Grundgerüsts, die durch eingeschlossene Metall-Kationen hervorgerufen werden. In Abhängigkeit von der Qualität des eingesetzten Kieselgels kann es zu Unterbefunden in der Ionen-Bestimmung bzw. zur Kontamination der Probe kommen. Veränderungen in der Zusammensetzung der zu analysierenden Probe sind auch dann nicht ausgeschlossen, wenn diese Kieselgele intensiv mit Wasser gespült worden sind. Durch den Einsatz von polymeren Adsorbentien werden diese Schwierigkeiten ausgeschlossen.

Polyvinylpyrrolidon (PVP) eignet sich speziell zur Vorbereitung von Proben, die Huminstoffe, Lignine, Tannine oder Azofarbstoffe enthalten. Darüber hinaus besitzt PVP eine hohe Selektivität für phenolische Verbindungen sowie für aromatische Carbonsäuren und Aldehyde. Auch stark saure Kationenaustauscher sind als Einwegkartuschen erhältlich. Sie werden in verschiedenen Formen angeboten: In der Wasserstoffform dienen sie zur Neutralisation stark alkalischer Proben. Typische Anwendungsbereiche sind Soda-Pottasche-Aufschlüsse oder konzentrierte Laugen, die nach Behandlung mit solchen Kartuschen ohne weiteres auf anorganische Anionen untersucht werden können. Kationenaustauscher in der Silberform werden vor allem zur Entfernung hoher Chlorid-Mengen aus Seewasser, Sole und anderen salinaren Proben verwendet, während sie in der Ba-Form zur Entfernung von Sulfat oder verschiedener polyvalenter Carbonsäuren dienen. In der Na-Form dienen diese Materialien zur Metall-Entfernung ohne dabei den pH-Wert der Probe zu ändern.

Grundsätzlich ist bei Verwendung dieser Kartuschen zu beachten, dass sie vor Benutzung gründlich mit entionisiertem Wasser gespült werden, um eine Kontamination der Proben zu vermeiden. Hydrophobe Packungsmaterialien erfordern darüber hinaus eine Behandlung mit organischen Lösemitteln, um die Oberfläche des Materials zu benetzen und um sie so zu „aktivieren“.

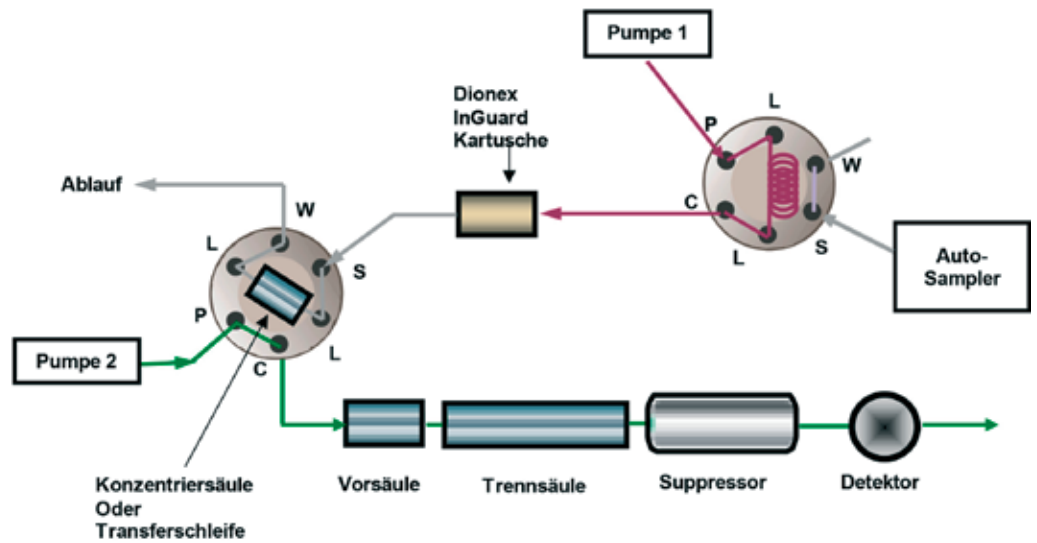
Tab. 10 Probenvorbereitungskartuschen zur manuellen Probenvorbereitung

Bezeichnung	Packungsmaterial	Zur Entfernung von:
Dionex OnGuard-P	Polyvinylpyrrolidon	Phenolen, Huminsäuren, Ligninen; Azo-Farbstoffen
Dionex OnGuard-RP	Divinylbenzol-Polymer	Tensiden aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffen, Carbonsäuren, aromatischen Farbstoffen
Dionex OnGuard-Ag	polymerer, stark saurer Kationenaustauscher in der Silberform	Halogeniden (bis auf Fluorid), Arsenat, Chromat, Cyanid, Thiosulfat und Sulfid
Dionex OnGuard-H	polymerer, stark saurer Kationenaustauscher in der Protonenform	Alkali- und Erdalkalimetallen; Übergangs- und Schwermetallen, Neutralisation basischer Lösungen
Dionex OnGuard-Na	polymerer, stark saurer Kationenaustauscher in der Natriumform	Alkali- und Erdalkalimetallen, Übergangs- und Schwermetallen; keine Veränderung des pH-Wertes
Dionex OnGuard-M	Iminodiacetat-Kationenaustauscher	Übergangs- und Schwermetallen (selektiv)
Dionex OnGuard-A	polymerer, stark basischer Anionenaustauscher in der HCO ₃ ⁻ -Form	Anionen, Neutralisation basischer Lösungen, anionischer Aminosäuren, Peptiden und Proteinen
Dionex OnGuard-Ba	polymerer, stark saurer Kationenaustauscher in der Ba-Form	Sulfat, verschiedene zweiwertige Carbonsäuren

11.2.2. Kartuschensysteme zur inline Probenvorbereitung

Bei größeren Probenserien bietet sich die Automatisierung im Sinne einer inline Probenvorbereitung an. Hierzu gibt es Thermo Scientific™ Dionex™ InGuard™ Kartuschen, die in den Ionenchromatographen integrierbar sind. Ein typischer Geräteaufbau hierzu ist in Abbildung 157 dargestellt. Bei diesem Aufbau wird der Inhalt der Probenschleife meist mit deionisiertem Wasser über eine Dionex InGuard-Kartusche geleitet. Je nach Selektivität (z.B. Ionenaustausch, Adsorption) werden die gelösten Inhaltstoffe zurückgehalten und nur die interessierenden Analyte gelangen zur Fokussiersäule am zweiten Ventil. Bei speziellen Anwendungen hat sich auch eine groß gewählte Transferschleife im mL-Bereich bewährt. Wenn dieses Ventil dann in die Injektionsposition schaltet, können die Zielverbindungen getrennt und bestimmt werden. Tabelle 11 gibt eine Übersicht über die verfügbaren Kartuschen zur inline Probenvorbereitung.

Abb. 157 Inline Probenvorbereitung mit Dionex InGuard Kartuschen



Tab. 11 Probenvorbereitungskartuschen zur inline Probenvorbereitung

Kartusche	Funktionelle Gruppen	Modus	Zur Entfernung von:
Dionex InGuard Ag	Kationenaustauscher in der Ag-Form	Fällungsreaktion	Halogeniden, S-Verbindungen
Dionex InGuard Na	Kationenaustauscher in der Na-Form	Kationenaustausch	Metallen, ohne Veränderung des pH-Wertes
Dionex InGuard H	Kationenaustauscher in der H-Form	Kationenaustausch	Metallen, Neutralisation alkalischer Lösungen
Dionex InGuard HRP	Hydrophiles Divinylbenzol	Adsorption, π - π -Wechselwirkung	hydrophober Spezies, Azo- und Cyanospezies.
Dionex InGuard Na/HRP	Kombiniert die Funktionalitäten der Einzelkartuschen	Ionenaustausch (Na) und Adsorption, π - π -Wechselwirkung	Kombiniert die Einsatzbereiche der Einzelkartuschen.

Zusätzlich lassen sich hydrophobe Verunreinigungen häufig inline mit Hilfe einer zusätzlichen Vorsäule vom Typ Dionex IonPac NG1 entfernen. Diese kann der eigentlichen Vorsäule vorgeschaltet werden und hält die meist organischen Verunreinigungen zurück. Je nach Auslegung des Systems wird diese Vorsäule – ein im Übrigen nicht funktionalisiertes, lösemittelstabiles Harz – entweder in regelmäßigen Abständen ausgetauscht und regeneriert, oder im Sinne einer automatisierten Regeneration im laufenden Betrieb mit organischem Lösemittel regeneriert. Hierzu empfiehlt sich die Installation eines zweiten Ventils, das zwischen Injektor und Trennsatz installiert wird. Die Regeneration kann dann zum Beispiel nach jeder Injektion erfolgen. Meist setzt man zwei Dionex IonPac NG1-Säulen im Tandem-Betrieb ein – eine wird regeneriert, während die zweite die laufende Analyse unterstützt.

11.3. Pflege der Trennsäulen

Eine der effektivsten Methoden zum Schutz der Trennsäulen ist die Verwendung von Vorsäulen (Schutzsäulen), die im Regelfall das gleiche Packungsmaterial enthalten wie die analytischen Säulen. Hydrophobe Verbindungen und Komponenten mit hoher Affinität zur verwendeten stationären Phase werden auf diesen Vorsäulen zurückgehalten. Die „Vergiftung“ der analytischen Trennsäule, die sich gewöhnlich in einer Abnahme der Trennleistung äußert, wird vermieden. Da auch die Kapazität der Vorsäulen begrenzt ist, sollten diese gelegentlich gespült werden. Die Art der Spülmittel richtet sich in erster Linie nach den Eigenschaften der stationären Phase, das Handbuch der jeweiligen Dionex IonPac Trennsäule liefert wertvolle Hinweise.

Grundsätzlich sollten Vor- und Trennsäulen nach einem Ausbau verschlossen aufbewahrt werden. Ein Austrocknen der Säule führt zu einer Veränderung des Säulenbettes (z. B. Kanalbildung), was eine Verringerung der Trennleistung zur Folge hat. Vor- und Trennsäulen sollten darüber hinaus vor intensiver, direkter Lichteinstrahlung geschützt und erschütterungsfrei gelagert werden. Fette, Öle, Tenside, Humin- und Ligninstoffe, sowie Zellulose, Eiweißstoffe und andere hochmolekulare Substanzen gelten – speziell für Ionenaustauscher – als „Säulengifte“ und müssen mit einer der eingangs beschriebenen Vorbereitungstechniken, sei es manuell oder automatisiert, aus der jeweiligen Probe entfernt werden.

Dionex IonPac-Ionenaustauscher sind in der Regel lösemittelstabil, so dass sie bei Bedarf mit konventionellen HPLC-Lösemitteln gespült werden können. Um eine sprunghafte Änderung des Säulengegendrucks zu vermeiden, sollte der Wechsel zwischen rein wässrigen Eluenten und mobilen Phasen mit einem höheren Anteil organischer Lösemittel nicht abrupt erfolgen. Allgemein sind bei allen Reinigungsschritten von Trennsäulen die Richtlinien der Säulenhersteller unbedingt zu befolgen; die Handbücher liefern wertvolle Hinweise. Zum Reinigen von Vor- und Trennsäule empfiehlt es sich, beide Säulen entweder getrennt zu spülen oder aber die Reihenfolge umzukehren. Dabei darf die Vorsäule im Regelfall entgegen der eigentlichen Flussrichtung betrieben werden, die Trennsäule jedoch nicht. Sind die Spülschritte beendet, werden die Säulen in der ursprünglichen Konfiguration zusammengebaut und im Eluenten äquilibriert. In der Routine haben sich zwei Verfahren bewährt, mit dem der Anwender sehr leicht entscheiden kann, ob die Vorsäule zu reinigen ist. Richtig angewandt verlängert sich die Lebensdauer der Trennsäule erheblich und die Folgekosten sinken.

11.3.1. Vorsäulen-Überprüfung – Verfahren I

Dieses Verfahren setzt voraus, dass die Vor- und die Trennsäule mit dem gleichen Harzmaterial gefüllt sind; Hinweise hierzu finden sich in den Handbüchern der Trennsäulen. Man geht vom neuen, nicht gebrauchten Trennsatz aus, und nimmt zunächst ein Testchromatogramm auf. Dabei kann es sich um ein Säulentestchromatogramm, oder aber um ein mit eigenen chromatographischen Bedingungen aufgenommenes Chromatogramm handeln – meist werden hierfür die ohnehin zu vermessenden Standardlösungen verwendet. Dieses Chromatogramm dient als Referenz für die nachfolgenden Schritte.

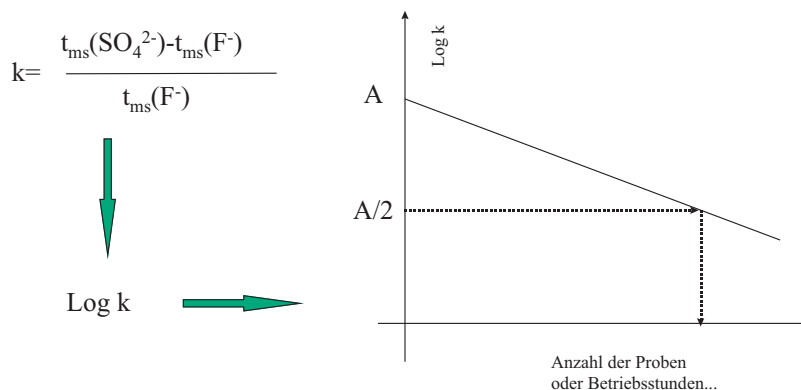
Geht man von einer üblichen Säulenlänge von 250 mm aus, und addiert die Länge der Vorsäule (50 mm), dann ergibt sich ein Retentionsbeitrag der Vorsäule von etwa 17 %. Nimmt man nun in regelmäßigen Abständen das Test-, oder Standardchromatogramm auf, so kann man leicht die eventuelle Abnahme der Vorsäulenkapazität verfolgen. Da die Vorsäule als erstes mit den Verunreinigungen in Kontakt kommt, darf man davon ausgehen, dass eine Retentionszeitverschiebung zunächst durch die Abnahme der Vorsäulenkapazität herrührt. Man verfolgt bei diesem Verfahren einfach die Retentionszeiten eines meist später eluierenden Ions, und errechnet die prozentuale Veränderung in Bezug auf das erste (Referenz) Chromatogramm. In der Praxis hat es sich bewährt die Vorsäule entweder zu reinigen oder auszutauschen, sobald die Retentionszeiten des ausgewählten Ions (z. B. Sulfat oder Calcium) um etwa 8-10 % gesunken sind.

11.3.2. Vorsäulen-Überprüfung – Verfahren II

Dazu wird die Trennsäule ausgebaut, während die Vorsäule im dem Eluenten der jeweiligen Applikation äquilibriert wird. Nachdem die Basislinie stabil ist, wird eine Mischung aus einer Verbindung, die im oder nahe am Totvolumen der Säule eluiert, und einer stärker retardierten Verbindung injiziert. Am Beispiel einer Anionenaustauscher-Vorsäule bedeutet das, dass eine Mischung aus Fluorid und Sulfat aufgetragen wird. Die Brutto-Retentionszeiten dieser Ionen dienen dann der **STARK VEREINFACHTEN** Berechnung des sog. Kapazitätsfaktors. Hierzu wird die Retentionszeit für Sulfat um den Betrag der von Fluorid vermindert und auf diesen Betrag normiert.

Der logarithmierte Betrag wird gegen eine fortlaufende Größe (z. B. die Anzahl der untersuchten Proben, Betriebsstunden o.ä.) aufgetragen. Man erhält eine abfallende Gerade, die auf die Abnahme der Trennleistung zurückzuführen ist. Wird der Test konsequent durchgeführt, beginnend mit dem erstmaligen Einbau der Vorsäule, so ist sogar der Zeitpunkt, zu dem die Vorsäule zu spülen ist (A/2; Abbildung 158) schon im Voraus zu ermitteln. Meist reichen wöchentliche Intervalle aus, in denen die Retentionszeiten bestimmt werden, um eine effektive Kontrolle über den Zustand der Vorsäule zu erreichen. Ist bei diesen Tests die Retentionszeit des negativen Wasserdip gut zu bestimmen, so kann auf das erst-eluierende Anion verzichtet werden. Die Berechnung wird dann mit $t_{ms}(H_2O)$ durchgeführt.

Abb. 158 Ermittlung des Zeitpunktes zum Spülen der eingesetzten Vorsäule



Welches der beiden Verfahren zum Einsatz kommt ist dem Anwender überlassen. Empfehlenswert ist die Überprüfung der Vorsäulenkapazität in jedem Falle. Mit beiden, sehr einfachen Verfahren gelingt es, die Trennsäule effektiv vor Verunreinigungen zu schützen und damit die Betriebskosten erheblich zu senken.

Tab. 12 Reinigungslösungen moderner Ionenaustauschersäulen

Kontamination	Reinigungslösung*)
organische Verbindungen	meist 80 % Acetonitril, dem je nach Säulentyp noch ein Elektrolyt NaCl oder HCl (0,1 mol/L) zugesetzt wird
Metalle	0,1 mol/L Oxalsäure oder HCl
Anionen	10 - 100 fach konzentrierter Eluent 0,1-0,5 mol/L NaOH 0,1 -0,5 mol/L HCl

*) Vor Verwendung alkalischer oder säurehaltiger Reinigungslösungen ist die pH-Stabilität der Trennsäule sicherzustellen; die jeweiligen Vorschriften und Richtlinien des Säulenherstellers sind unbedingt zu befolgen!! Die Handbücher der Trennsäulen liefern wichtige Hinweise.

12

Die Qualität des eingesetzten Wassers

Zum störungsfreien Betrieb eines IC-Messplatzes sind verschiedene Forderungen hinsichtlich der Qualität des eingesetzten Wassers zu erfüllen.

12.1.1. Widerstand und Leitfähigkeit des eingesetzten Reinstwassers

Der Widerstand des eingesetzten Reinstwassers sollte nicht kleiner als $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) sein. Da bei konventionellen Reinstwasseranlagen in der Regel die Leitfähigkeit des entnommenen Wassers angezeigt wird, sollte deren Wert $0,055 \text{ }\mu\text{S/cm}$ ($25 \text{ }^\circ\text{C}$) nicht übersteigen.

12.1.2. TOC-Gehalt des Reinstwassers

Der TOC-Gehalt (Total Organic Carbon) ist seit vielen Jahren eine gefragte Größe zur Beurteilung der Qualität von Reinstwässern in den unterschiedlichsten Sparten der chemischen Industrie. Die Verwendung von Wasser mit einem sehr geringen Gehalt organischer Kontamination ist bei allen chromatographischen Verfahren von hoher Bedeutung. Verschiedene Beispiele aus der Praxis zeigen, dass selbst TOC-Gehalte von etwa $50 \text{ }\mu\text{g/L}$ die Nachweisgrenzen der eingesetzten Detektionsverfahren empfindlich stören. Meist steigt der TOC-Gehalt einer Reinstwasser-Anlage im Labor unbemerkt an, da häufig nur die Leitfähigkeit als Qualitätsmerkmal verwendet wird. Unter Umständen kann der Ionenaustauscher der Reinstwasser-Anlage z. B. durch eine fehlerhafte Wasservorbehandlung über längere Zeit mit organischen Verunreinigungen beschickt werden. Zu Beginn wird auch der TOC-Gehalt durch die Adsorption der gelösten Organika an den gewählten Harzen reduziert. Die organische Belastung führt zu einer Erschöpfung der Aufbereitungsstufe, so dass es zu einem „organischen Durchbruch“ kommt. Obwohl der Widerstand des Wassers selbst dann noch oberhalb von $18 \text{ M}\Omega$ liegt, steigt der TOC-Gehalt stark an. Wichtig ist in diesem Zusammenhang, dass in der Regel die Rückhaltefähigkeit für gelöste organische Verbindungen bei normaler Beanspruchung der Aufreinigungsanlage niedriger ist als die Ionenaustauschkapazität. Durch die Einhaltung der Serviceintervalle und einer regelmäßigen Kontrolle des TOC-Gehaltes kann die Funktionsfähigkeit der Reinstwasseranlage sichergestellt werden.

Für die meisten ionenchromatographischen Anwendungen genügt ein TOC-Gehalt kleiner als 10 µg/L. Mit modernen Aufreinigungsanlagen erzielt man heute TOC-Werte unter 5 µg/L.

12.1.3. Filtration des Reinstwassers an der Entnahmestelle

Partikuläre Verunreinigungen werden in der Regel durch eine in der Reinstwasseranlage integrierte Membranfiltration entfernt. Membranfilter werden hauptsächlich aus Zellulose, Polyamid, Polysulfon, Polypropylen, PTFE und PVDF hergestellt. Durch ihre belastbare und homogene Struktur geben sie keine Partikel an das Filtrat ab. Die Partikelrückhaltung ist ein oberflächenorientierter Prozess, so dass die Aufnahmekapazität meist niedrig ist. Membranfilter in Reinstwasseranlagen haben meist Porenweiten um 0,2 µm und sind in die Anlage häufig unmittelbar an der Entnahmestelle integriert.

12.1.4. Destillation oder Ionenaustausch?

Die Destillation ist ein altes und traditionelles Verfahren zur Wasseraufbereitung. Frisch destilliertes Wasser weist meist eine geringe Leitfähigkeit und geringe Keimzahlen auf. Weniger geeignet ist die Destillation zur effektiven Abtrennung organischer Substanzen. In ungünstigen Fällen können sich leichtflüchtige Verbindungen oder Komponenten, die als azeotropes Gemisch mit Wasser übergehen, sogar im Destillat konzentrieren. Bis auf wenige Bereiche, z. B. bei der Herstellung von Wasser für Injektionslösungen oder Infusionslösungen, wurde das Verfahren immer stärker verdrängt. Die nicht unerheblichen Energie-, Wasser- und Wartungskosten haben aus ökologischen Gründen dazu beigetragen, dass heute Ionenaustauschverfahren die größere Verbreitung besitzen. Die Entsalzung des Wassers erfolgt dabei durch Austausch der Anionen gegen Hydroxid-Ionen und der Kationen gegen Protonen. Meist werden in diese Anlagen noch spezielle Vorrichtungen integriert, um den Eintrag organischer Materialien (TOC; s.o.) zu minimieren.

13

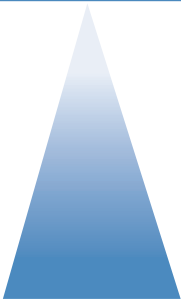
Elutionsmittel - Herstellung

13.1.1. Entgasung des Eluenten

Im Bereich der Flüssigkeitschromatographie nimmt die Herstellung der Elutionsmittel eine zentrale aber häufig unterschätzte Stellung ein. In jedem Fall müssen gelöste Gase aus dem Elutionsmittel entfernt werden, da bereits bei der Förderung mit konventionellen Pumpen Ausgasungsprobleme auftreten können. Wird das vorgelegte Elutionsmittel von der Pumpe angesaugt, so entsteht ein geringer Unterdruck, durch den gelöste Gase (O_2 , N_2) in der Pumpe ausgasen können. Da Gase im Gegensatz zu Flüssigkeiten komprimierbar sind, werden so z. T. drastische Druck- und damit Basislinienschwankungen hervorgerufen, die zu empfindlichen Störungen der analytischen Trennungen führen. Eine einfache Lösung besteht in der Entgasung der Eluenten. Dabei werden die Möglichkeiten angewandt, die in der nachstehenden Tabelle aufgeführt sind. Es ist zu beachten, dass die Entgasung im Ultraschallbad zwar die einfachste Variante darstellt, allerdings im Vergleich zu den restlichen Varianten auch die geringste Leistungsfähigkeit aufweist. Die nächst leistungsfähigere Möglichkeit besteht in der Vakuum-Membranfiltration des Eluenten. Dabei wird das Elutionsmittel – in der Ionenchromatographie ist es meist das Wasser – durch einen pH-stabilen Membranfilter gesaugt. Durch den Unterdruck und die feine Zerstäubung der Flüssigkeit in den evakuierbaren Auffangkolben werden die gelösten Gase entfernt. Die Kombination aus einer Vakuum-Entgasung und der Behandlung mit Ultraschall stellt eine Steigerung gegenüber den Einzelverfahren dar. In der modernen IC kommen seit vielen Jahren sog. Online-Vakuum-Degasser zum Einsatz. Das Elutionsmittel, oder im Falle der RFIC nur das Wasser, wird entgast, indem es im Niederdruck-Bereich des chromatographischen Systems ein gaspermeables Membranbündel passiert, das in einer Vakuumkammer liegt. Durch den Druckunterschied zwischen dem Inneren der Membranen und der Vakuumkammer werden gelöste Gase aus dem Laufmittel entfernt. Mit diesen Online-Vakuum-Degassern lassen sich Gase (wie z. B. O_2 , N_2) einfach und elegant entfernen. Neben den in den Pumpen integrierten Degassern gibt es diese Module auch separat, so dass eine Nachrüstung jederzeit möglich ist. Die besten Ergebnisse werden allerdings durch die Entgasung mit Helium erreicht, das allerdings auch das teuerste Verfahren darstellt. Da Helium sich nicht in konventionellen Lösemitteln und Wasser löst, und gleichzeitig auch das Kohlendioxid austreibt, eignet sich die He-Entgasung in der IC vor allem dann, wenn möglichst carbonatfreie Eluenten – etwa für NaOH zu Kohlehydrat-Trennungen – erforderlich sind.

Zusätzlich können gelöste Gase im Laufmittel oder Reagenzien zur Nachsäulenderivatisierung unter Umständen verschiedene Detektionsverfahren empfindlich stören. Als gängigstes Beispiel sei an dieser Stelle auf die bekannten Quench-Effekte von gelöstem Sauerstoff bei Verwendung der Fluoreszenz-Detektion hingewiesen.

Tab. 13 Entgasungsmöglichkeiten des Eluenten geordnet nach zunehmender Wirksamkeit

Entgasung durch:	
1) Ultraschall	
2) Vakuum	
3) Ultraschall + Vakuum	
4) Online-Vakuum-Degasser	
5) He-Entgasung	

13.1.2. Eluentenkonzentrate

In der klassischen IC werden zumeist wässrige Eluenten eingesetzt. Diese Elutionsmittel werden durch verdünnen geeigneter Stammlösungen hergestellt. Von der Herstellung der arbeitstäglich benötigten Lösungen durch die Einwaage geringer Salzmengen wird abgeraten.

Die Stammlösungen sind entweder kommerziell erhältlich, oder werden aus geeigneten Ausgangssubstanzen (p.A.-Qualität) hergestellt. In der Anionenaustausch-Chromatographie werden meist wässrige Eluenten mit Mischungen aus Carbonat/Hydrogencarbonat verwendet. Thermo Fisher Scientific bietet verschiedene Konzentrate an, aus denen die gewünschten Eluenten durch Verdünnen mit entgastem Wasser hergestellt werden. Es sind entweder 100fache Carbonat/Hydrogencarbonat-Konzentrate oder Lösungen mit einer Konzentration von 0,5 mol/L der Einzelkomponente.

13.1.3. Einzelkonzentrate

In der Praxis hat sich die Verwendung von Einzelkonzentraten zur Herstellung der Eluenten als besonders flexibel erwiesen. Bei der Verwendung von Eluenten, in denen die Sollkonzentration an Hydrogencarbonat kleiner als 0,5 mmol/L ist, sollten *nur* Einzelkonzentrate verwendet werden. Bei sehr niedrigen Hydrogencarbonat-Konzentrationen kann es selbst in Konzentraten zu einer Verschiebung des $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-$ -Gleichgewichts kommen, so dass sich die Elutionseigenschaften des verdünnten Elutionsmittels verschiebt. Für Eluenten, in denen die Hydrogencarbonat-Konzentration ≥ 1 mmol/L liegen soll, können 100- bis 1000fache Eluentenkonzentrate verwendet werden. Die nachstehende Tabelle 14 fasst die Herstellung verschiedener Eluentenkonzentrate zusammen.

Bei der Verwendung von NaOH-Eluenten oder Eluenten, in denen NaOH erforderlich ist (z. B. bei der Kohlehydrat-Analytik) wird die Verwendung einer 50 % NaOH-Lösung (z. B. Fisher Scientific) empfohlen. Damit vermeidet man die aufwendige Herstellung der Natronlauge aus Plätzchen und gleichzeitig wird der Carbonat-Eintrag in die verdünnten NaOH-Eluenten minimiert.

Tab. 14 Herstellung verschiedener Eluentenkonzentrate und gebrauchsfähiger Eluenten (blau unterlegt)

Elektrolyt	Einwaage [g/L]	Konzentration [mol/L]
NaHCO ₃	84,0	1 *)
Na ₂ CO ₃	106	1 *)
	Volumen [mL → L]	Konzentration [mol/L]
NaOH (50 %)	5,2	0,1
H ₂ SO ₄ (95-97 %)	0,5	9 x 10 ⁻³
Methansulfonsäure (99 %)	1,35	20 x 10 ⁻³
HNO ₃ (65 %)	6,93	0,1
HNO ₃ (70 %)	6,43	0,1
HCl (25 %)	2,6	20 x 10 ⁻³

*) Diese Konzentrate sind bei 4°C für mehrere Monate stabil

13.1.4. Mischkonzentrate

Werden in der Routineanwendung gleichbleibende Eluenten eingesetzt, bietet sich die Verwendung sog. Mischkonzentrate an. Diese werden meist im Bereich der Anionenaustausch-Chromatographie und der Übergangsmetall-Chromatographie eingesetzt.

Bei den Eluenten zur Anionenchromatographie ist zu beachten, dass die Konzentration an Hydrogencarbonat in der gebrauchsfähigen Lösung 1 mmol/L nicht unterschreiten sollte. In der Routine haben sich 100- bis 1000fache Konzentrate für Hydrogencarbonat/Carbonat-Eluenten bewährt. Diese Konzentrate sind bei 4 °C für mehrere Monate stabil.

14

Verschiedene Standardsäulen in der modernen IC/LC

14.1. Anionenaustauscher

Säule	Format	Primärer Eluent	Applikation	Partikel Durchm.	Substrat Vernetzung	Durchmesser [nm]	Vernetzung	Säulenkapazität	Funktionelle Gruppe	Hydrophobie
Carbonathaltige Eluenten										
Dionex IonPac AS23	2×250 mm 4×250 mm	Carbonat	Anorganische Anionen und Oxohalogeniden, Spurenbestimmung von Bromat in Trinkwasser	6 µm	55 %	–	–	80 µeq 320 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS22	2×250 mm 4×250 mm	Carbonat	Schnelle Bestimmung der Standard Anionen	6.5 µm	55 %	–	–	52.5 µeq 210 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS14A-5µm	3×150 mm	Carbonat	Schnelle Bestimmung der Standard Anionen	5 µm	55 %	–	–	40 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Mittel
Dionex IonPac AS14A	4×250 mm	Carbonat	Bestimmung der Standard Anionen	7 µm	55 %	–	–	120 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Mittel
Dionex IonPac AS14	2×250 mm 4×250 mm	Carbonat	Moderat kapazitive Säule zur schnellen Bestimmung der Standard-Anionen	9 µm	55 %	–	–	16 µeq 65 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Mittel-Hoch
Dionex IonPac AS12A	2×200 mm 4×200 mm	Carbonat	Moderat kapazitive Säule zur Bestimmung anorganischer Anionen und Oxohalogeniden, Spurenbestimmung von Chlorid und Sulfat in stark Carbonathaltigen Matrices	9 µm	55 %	140	0.20 %	13 µeq 52 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Mittel
Dionex IonPac AS9-HC	2×250 mm 4×250 mm	Carbonat	Bestimmung von anorganischen Anionen und Oxohalogeniden Spurenbestimmung von Bromat in Trinkwasser.	9 µm	55 %	90	18 %	48 µeq 190 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Mittel-Niedrig
Dionex IonPac AS9-SC	4×250 mm	Carbonat	Niedrig kapazitive Säule zur schnellen Bestimmung von Anionen und Oxohalogeniden	13 µm	55 %	110	20 %	30-35 µeq	Quaternäres Alkylammonium	Mittel-Niedrig
Dionex IonPac AS4A-SC	2×250 mm 4×250 mm	Carbonat	Niedrig kapazitive Säule zur schnellen Bestimmung der Standard-Anionen	13 µm	55 %	160	0.50 %	5 µeq 20 µeq	Quaternäres Alkoholammonium	Mittel-Niedrig

Säule	Format	Primärer Eluent	Applikation	Partikel Durchm.	Substrat Vernetzung	Durchmesser [nm]	Vernetzung	Säulenkapazität	Funktionelle Gruppe	Hydrophobie
Hydroxid-Eluenten										
Dionex IonPac AS26	4×250 mm 2×250 mm 0,4×250 mm	Hydroxid	Halogenessigsäuren mit MS oder MS/MS Detektion – 2DIC	7,5 µm	55 %	–	–	250 µeq 62,5 µeq 2,5 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS25	4×250 mm 2×250 mm 0,4×250 mm	Hydroxid	Multivalente Anionen polarisierbare Anionen (Perchlorat), sowie Schwefel-Speziation (Sulfit, Sulfat, Thiocyanat, Thiosulfat)	7,5 µm	55 %	–	–	350 µeq 87,5 µeq 3,5 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS24	2×250 mm	Hydroxid	Halogenessigsäuren mit MS oder MS/MS Detektion	7 µm	55 %	–	–	140 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS21	2×250 mm	Hydroxid	Spurenbestimmung von Perchlorat in Verbindung mit MS oder MS/MS Detektion	7 µm	55 %	–	–	45 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS20	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Spurenbestimmung von Perchlorat in Verbindung mit Leitfähigkeit nach Suppression	7,5 µm	55 %	–	–	77,5 µeq 310 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS19	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Anorganische Anionen und Oxohalogenide, Spurenbestimmung von Bromat in Trinkwasser	7,5 µm	55 %	–	–	60 µeq 350 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Niedrig
Dionex IonPac AS18	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Trennung der Standard Anionen	7,5 µm	55 %	65	8 %	75 µeq 285 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Niedrig
Dionex IonPac AS17-C	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Schnelle Spurenanionen-Bestimmungen in Reinstwasser, Carboxyliertes Substrat, daher kein Sulfat-Blank	10,5 µm	55 %	75	6 %	7,5 µeq 30 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Niedrig
Dionex IonPac AS16	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Bestimmung hydrophober Anionen, wie Iodid, Thiocyanat, Thiosulfat und Perchlorat und zur Bestimmung polyvalenter Anionen wie Polyphosphate und Polycarboxylate	9 µm	55 %	80	1 %	42,5 µeq 170 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS15	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Anorganische Anionen und niedermolekulare organische Säuren in Reinstwasser, Anionen in nitrathaltigen Matrices, Spezielle Selektivität für Nitrat!	9 µm	55 %	–	–	56,25 µeq 225 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Mittel-Hoch
Dionex IonPac AS15-5µm	3×150 mm	Hydroxid	Schnelle Bestimmung anorganischer Anionen und niedermolekularer organischer Säuren in Reinstwasser, Anionen in nitrathaltigen Matrices, Spezielle Selektivität für Nitrat!	5 µm	55 %	–	–	70 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Mittel-Hoch
Dionex IonPac AS11-HC	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Anorganische und organische Anionen in diffizilen Matrices	9 µm	55 %	70	6 %	72,5 µeq 290 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Mittel-Niedrig
Dionex IonPac AS11	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Schnelles Screening von anorganischen und organischen Anionen	13 µm	55 %	85	6 %	11 µeq 45 µeq	Quaternäres Alkanolammmonium	Sehr niedrig

Säule	Format	Primärer Eluent	Applikation	Partikel Durchm.	Substrat Vernetzung	Durchmesser [nm]	Vernetzung	Säulenkapazität	Funktionelle Gruppe	Hydrophobie
Dionex IonPac AS10	2×250 mm 4×250 mm	Hydroxid	Anorganische und organische Anionen in nitrathaltigen Matrices, Spezielle Selektivität für Nitrat	8.5 µm	55 %	65	5 %	42.5 µeq 170 µeq	Quaternäres Alkanolammonium	Niedrig
Dionex IonPac Fast Anion IIIA	3×250 mm	Hydroxid	Bestimmung von Phosphorsäure und Zitronensäure in Cola-Softdrinks	7.5 µm	55 %	–	–	55 µeq	Quaternäres Alkanolammonium	Sehr niedrig
Dionex IonPac AS7	4×250 mm	Applikationsabhängig	Polyvalente Anionen und Chelat-Bildner, wie Polyphosphonate und Polyphosphate, Cyanid, Sulfid, Cr(VI), und Arsen-Spezies	10 µm	2 %	530	5 %	100 µeq	Quaternäres Alkanolammonium	Mittel-Hoch

14.2. Kationenaustauscher

Säule	Format	Primärer Eluent	Applikation	Partikel Durchm.	Substrat Vernetzung	Durchmesser [nm]	Vernetzung	Säulenkapazität	Funktionelle Gruppe	Hydrophobie
Dionex IonPac CS19	2×250 mm 4×250 mm	MSA (Methansulfonsre.)	Schnelle Gruppe I/II Kationen, polare Amine (Alkanolamine und Methylamine) sowie moderat hydrophobe und polyvalente Amine (biogene Amine und Diamine)	5,5 µm	55 %	–	–	2,41 meq 600 µeq 24,1 µeq		Mittel
Dionex IonPac CS18	2×250 mm	MSA	Gruppe I/II Kationen, polare Amine (Alkanolamine und Methylamine) sowie moderat hydrophobe und polyvalente Amine (biogene Amine und Diamine)	6 µm	55 %	–	–	0.29 meq		Mittel
Dionex IonPac CS17	2×250 mm 4×250 mm	MSA	Gruppe I/II, Kationen hydrophobe und polyvalente Amine (biogene Amine und Diamine)	7 µm	55 %	–	–	0.363 meq 1.45 meq		Sehr niedrig
Dionex IonPac CS16	3×250 mm 5×250 mm	MSA	Gruppe I/II Kationen, große Konzentrationsunterschiede etwa bei Natrium/Ammonium, Einsetzbar für Alkylamine und Alkanolamine	5 µm	55 %	–	–	3.0 meq 8.4 meq		Mittel
Dionex IonPac CS15	2×250 mm 4×250 mm	MSA	Gruppe I/II Kationen, große Konzentrationsunterschiede von Natrium und Ammonium, Spurenbestimmung von Ethanolamin bei hohen Kalium-Konzentrationen Alkanolamine	8.5 µm	55 %	–	–	0.7 meq 2.8 meq	// Kronenether	Mittel

Säule	Format	Primärer Eluent	Applikation	Partikel Durchm.	Substrat Vernetzung	Durchmesser [nm]	Vernetzung	Säulenkapazität	Funktionelle Gruppe	Hydrophobie
Dionex IonPac CS14	2×250 mm 4×250 mm	MSA	Aliphatische Amine, aromatische Amine, Polyamine, plus Gruppe I/II Kationen	8.5 µm	55 %	–	–	0.325 meq 1.3 meq		Niedrig
Dionex IonPac CS12A-MS	2×100 mm	MSA	IC-MS. Schnelle Übersichtsanalyse mit niedrigen Flussraten	8.5 µm	55 %	–	–	0.28 meq	/	Mittel
Dionex IonPac CS12A-5 µm	3×150 mm	MSA	Schnelle Trennung von Gruppe I/II Kationen	5 µm	55 %	–	–	0.94 meq	/	Mittel
Dionex IonPac CS12A	2×250 mm 4×250 mm	MSA	Gruppe I/II Kationen inklusive Mangan, Alkylaminen, und aromatischen Aminen	8.5 µm	55 %	–	–	0.7 meq 2.8 meq	/	Mittel
Dionex IonPac CS11	2×250 mm	HCl + DAP	Gruppe I/II Kationen, sowie Ethanolamine, wenn zweiwertige Kationen nicht gefordert	8 µm	55 %	200	–	0.035 meq	Sulfonsre.	Mittel
Dionex IonPac CS10	4×250 mm	HCl + DAP	Gruppe I/II Kationen	8.5 µm	55 %	200		0.08 meq	Sulfonsre.	Mittel
Dionex IonPac CS5A	2×250 mm 4×250 mm	PDCA (Pyridindicarbonsäure)	Übergangs- und Schwermetalle, Aluminium	9 µm	55 %	140 75		0.02 meq/ 0.005 meq 0.04 meq/ 0.01 meq	Sulfonsre./ Quaternäres Alkanolammonium	–

14.3. Ionenausschluss

Säule	Format	Primärer Eluent	Applikation	Partikel Durchm.	Substrat Vernetzung	Durchmesser [nm]	Vernetzung	Säulenkapazität	Funktionelle Gruppe	Hydrophobie
Dionex IonPac ICE-AS1	4×250 mm 9×250 mm	Heptafluorbuttersäure (HFBA)	Organische Säuren in komplexen Proben. Schnelle Trennung organischer Säuren	7.5	8 %	–	–	5.3 meq 27 meq	Sulfonsäure	Niedrig
Dionex IonPac ICE-AS6	9×250 mm	HFBA	Organische Säuren, Hydroxycarbonsäuren in komplexen Matrices	8	8 %	–	–	27 meq	Sulfonsäure und Carboxylsäure	Moderat
Dionex IonPac ICE-Borate	9×250 mm	MSA/ Mannitol	Spurenbestimmung von Borat	7.5	8 %	–	–	27 meq	Sulfonsäure	Niedrig

14.4. Proteinsäulen

Säule	Phase	Applikation	Trennmaterial	Substrat Vernetzung	Kapazität	Empf. Flussrate [mL/min]	Lösemittelkompatibilität	Max. Gegen- druck	pH Stabilität
Dionex ProPac WCX-10	Schwacher Kationenaustauscher	Hohe Auflösung und Effizienz bei Trennungen von Proteinen und Glykoproteinen, pI = 3-10, MW > 10.000 Da	10-µm Ø, nicht porös, Propfpolymer trägt Carboxylatgruppen	55 %	6 mg/ mL Lysozym	0.2 – 2	80 % ACN, Aceton. Nicht kompatibel mit Alkoholen	3000 psi	2 – 12.0
Dionex ProPac SCX-10	Starker Kationenaustauscher	Hohe Auflösung und Effizienz bei Trennungen von Proteinen und Glykoproteinen, pI = 3-10, MW > 10.000 Da	10-µm Ø, nicht porös, Propfpolymer trägt Sulfonatgruppen	55 %	3 mg/ mL Lysozym	0.2 – 2.0	80 % ACN, Aceton, Methanol	3000 psi	2 – 12.0
Dionex ProPac WAX-10	Schwacher Anionenaustauscher	Hohe Auflösung und Effizienz bei Trennungen von Proteinen und Glykoproteinen, pI = 3-10, MW > 10.000 Da	10-µm Ø, nicht porös, Propfpolymer trägt tertiäre Amingruppen	55 %	5 mg/ mL BSA/ mL	0.2 – 2.0	80 % ACN, Aceton, Methanol	3000 psi	2 – 12.0
Dionex ProPac SAX-10	Starker Anionenaustauscher	Hohe Auflösung und Effizienz bei Trennungen von Proteinen und Glykoproteinen, pI = 3-10, MW > 10.000 Da	10-µm Ø, nicht porös, Propfpolymer trägt quartäre Amoniumgruppen	55 %	15 mg/ mL BSA	0.2 – 2.0	80 % ACN, Aceton, Methanol	3000 psi	2 – 12.0
ProSwift RP-1S	Reversed-Phase	Schnelle Protein-Trennung	Monolith; Polystyrol/ Divinylbenzol mit Phenylgruppen funktionalisiert	Monolith Standard Permeabilität	5.5 mg/mL Insulin	2 – 4	Übliche organische Lösemittel	2800 psi	1 – 14
ProSwift RP-2H	Reversed-Phase	Schnelle Protein-Trennung	Monolith; Polystyrol/ Divinylbenzol mit Phenylgruppen funktionalisiert	Monolith Hohe Permeabilität	1.0 mg/mL Lysozym	1 – 10	Übliche organische Lösemittel	2800 psi	1 – 14
ProSwift RP-3U	Reversed-Phase	Schnelle Protein-Trennung und hohe Kapazität	Monolith; Polystyrol/ Divinylbenzol mit Phenylgruppen funktionalisiert	Monolith Sehr hohe Permeabilität	0.5 mg/mL Lysozym	1 – 16	Übliche organische Lösemittel	2800 psi	1 – 14
ProSwift SAX-1S	Starker Anionenaustauscher	Schnelle Protein-Trennung mit guter Auflösung über Anionenaustausch	Monolith; Polymetacrylat mit quartären Ammonium-Gruppen	Monolith Standard Permeabilität	18 mg/mL BSA	0.5 – 1.5 (4.6 mm) 0.05 – .25 (1.0 mm)	Übliche organische Lösemittel	1000 psi (4.6 mm) 2000 psi (1.0 mm)	2 – 12.0

Säule	Phase	Applikation	Trennmateri- al	Substrat Vernetzung	Kapazität	Empf. Flussrate [mL/min]	Lösemittel- kompatibilität	Max. Gegen- druck	pH Stabili- tät
ProSwift SCX-1S	Starker Kationenaus- tauscher	Schnelle Protein-Trennung mit guter Auflösung über Kationenaustausch	Monolith; Polymetacrylat mit Sulfonsäure-Gruppen	Monolith Standard Permeabilität	30 mg/mL Lysozym	0.5 – 1.5 (4.6 mm)	Übliche organische Lösemittel	1000 psi (4.6 mm)	2 – 12.0
ProSwift WAX-1S	Schwacher Anionenaus- tauscher	Schnelle Protein-Trennung mit guter Auflösung über Anionenaustausch	Monolith; Polymetacrylat mit tertiären Amingruppen (DEAE)	Monolith Standard Permeabilität	18 mg/mL BSA	0.5 – 1.5 (4.6 mm) 0.05–.25	Übliche organische Lösemittel	1000 psi (4.6 mm) 2000 psi (1.0 mm)	2 – 12.0
ProSwift WCX-1S	Schwacher Kationenaus- tauscher	Schnelle Protein-Trennung mit guter Auflösung über Kationenaustausch	Monolith; Polymetacrylat mit Carboxylat-Funktionen	Monolith Standard Permeabilität	23 mg/mL Lysozym	0.5 – 1.5 (4.6 mm) 0.05-0.20	Übliche organische Lösemittel	1000 psi (4.6 mm) 2000 psi (1.0 mm)	2 – 12.0
Dionex ProPac IMAC-10	Immobilisierte Metall Affinität	Hohe Auflösung bestimmter metallkoo- ordinierender Proteine und Peptide	10-µm Ø, nicht porös, Propfpolymer aus poly (IDA)	55 %	>60 mg Lysozym/ mL Gel (4×250 mm)	1.0	Ethanol, Harnstoff, NaCl, nichtionische Detergentien, Glycerin, Essigsäure, Guanidin HCl	3000 psi	2 – 12.0
Dionex ProPac HIC-10	Reversed- Phase	Protein Trennung über hydrophobe Wechselwirkung mit einem Salz-Gradient	Sphärisches 5 µm, hochreines Kieselgel, 300 Å, Oberfläche 100 m ² /g	n/a	340 mg Lysozym pro 7.8×75 mm Säule	1.0	2 mol/L Ammonium Sulfat/ Phosphat Salze, Organische Lösemittel zur Reinigung	4000 psi	2.5 – 7.5

14.5. Kohlehydrat-Säulen

Säule	Applikation	Trennmaterial	Substrat Vernetzung	Latex Vernetzung	Kapazität	Empf. Eluenten	Empf. Flussrate [mL/min]	Lösemittelkompatibilität	Max. Gegen- druck	pH Stabili- tät
Dionex CarboPac MA1	Zuckeralkohole, Mono- und Disaccharide	7,5-µm Durchmesser Makroporöses oberflächenfunktionalisiertes Harz mit quartären Alkylammonium Funktionen	15 %	–	1450 µeq (4×250 mm)	Hydroxid	0.4 mL/min	0 %	2000 psi	0 – 14
Dionex CarboPac PA1	Standardphase für die meisten Mono, Di- und Oligosaccharide	10-µm Durchmesser, nicht porös mit 500-nm-Latex; quartäre Ammoniumfunktionen	2 %	5 %	100 µeq (4×250 mm)	Hydroxid, Acetat/ Hydroxid	1.0 mL/min	0 – 5 %	4000 psi	0 – 14
Dionex CarboPac PA10	Mono- und Disaccharid Bestimmung	10-µm Durchmesser, nicht porös mit 460-nm-Latex; quartäre Ammoniumfunktionen	55 %	5 %	100 µeq (4×250 mm)	Hydroxid, Acetat/ Hydroxid	1.0 mL/min	0 – 90 %	3500 psi	0 – 14
Dionex CarboPac PA20	Schnelle Mono- und Disaccharid Bestimmung	6,5-µm Durchmesser, nicht porös mit 130-nm-Latex; quartäre Ammoniumfunktionen	55 %	5 %	65 µeq (3×150 mm)	Hydroxid, Acetat/ Hydroxid	0.5 mL/min	0 – 100 %	3000 psi	0 – 14
Dionex CarboPac PA100	Oligosaccharid Mapping und Bestimmung	8,5-µm Durchmesser, nicht porös mit 275-nm-Latex; quartäre Ammoniumfunktionen	55 %	6 %	90 µeq (4×250 mm)	Hydroxid, Acetat/ Hydroxid	1.0 mL/min	0 – 90 %	4000 psi	0 – 14
Dionex CarboPac PA200	Hoch auflösendes Oligosaccharid Mapping und Bestimmung	5,5-µm Durchmesser, nicht porös mit 43-nm-Latex; quartäre Ammoniumfunktionen	55 %	6 %	35 µeq (3×250 mm)	Hydroxid, Acetat/ Hydroxid	0.5 mL/min	0 – 100 %	4000 psi	0 – 14

15

Index

- Abwasser 25, 97, 99, 115, 147, 181
Acclaim Trinity 58, 83, 178
Acclaim Surfactant 118
Acesulfam K 126
Adipinsäure 105
Aminosäuren 31, 32, 44, 45, 77, 78, 79, 81, 95, 127, 128, 151
 Dionex AAA-Direct System 127
AMPA 81, 82
Amperometrische Detektion 30, 63, 74, 75, 76, 77, 109, 126, 135
Arsen 95
Arsenat 17, 23, 151
Arsenatzo I 80
Arsen Spezies 85, 165
Arsen III 74,85
Arsen V 85
Borat 15, 50, 71, 74, 94, 104, 110, 117, 119, 133, 134, 142, 166, 184
Brechungsindex (RI) 26, 63, 84
Capillary Electrolytic Suppressor 57, 65, 67, 71, 103, 114
Catecholamine 76, 95, 135, 136, 187
Cephalosporin 61
Charged Aerosol Detection (CAD) 26, 63, 82, 83, 118, 121
Chlorat 14, 15, 18, 22, 23, 24, 101, 112, 132, 183
Cholin 83, 94, 123, 131, 134, 186
Chondroitinsulfat 137
Chrom 95
Chromat 15, 21, 23, 79, 107, 109, 132, 151
Combustion IC 99
Corona CAD 82, 83
Corona Charged Aerosol Detector 82, 83
Dermatansulfat 137
Desinfektionsnebenprodukte (DNP) 25, 100, 101
Dionex CarboPac MA1 27, 28, 169
Dionex CarboPac PA1 27, 28, 29, 101, 125, 130, 136, 137,
Dionex CarboPac PA10 29, 130, 169
Dionex CarboPac PA100 29, 169
Dionex CarboPac PA20 28, 29, 30, 125, 126,169
Dionex CarboPac PA200 29, 30, 169
Dionex CarboPac SA10 29, 30
Dionex IonPac AS15 21, 164
Dionex IonPac AS16 22, 119, 164
Dionex IonPac AS10 14, 16, 20, 124, 165
Dionex IonPac AS11 15, 16, 20, 90, 91, 105, 108, 115, 123, 124, 132, 164
Dionex IonPac AS11-HC 20, 21, 56, 74, 124, 138, 164
Dionex IonPac AS12A 17, 97, 163
Dionex IonPac AS14 17, 18, 96, 98, 120, 163
Dionex IonPac AS14A 18, 97, 163
Dionex IonPac AS15 21, 104, 164
Dionex IonPac AS16 21, 22, 119, 164
Dionex IonPac AS17 18, 112, 121, 124
Dionex IonPac AS17-C 164
Dionex IonPac AS18 22, 97, 164
Dionex IonPac AS18Fast 57
Dionex IonPac AS19 22, 23, 164

- Dionex IonPac AS20 23, 143, 144, 145, 164
 Dionex IonPac AS21 23, 164
 Dionex IonPac AS22 23, 24, 25, 97, 133, 163, 175
 Dionex IonPac AS22-Fast 24
 Dionex IonPac AS23 24, 25, 97, 163, 175
 Dionex IonPac AS24 24, 25, 102, 164
 Dionex IonPac AS25 25, 164
 Dionex IonPac AS26 25, 164
 Dionex IonPac AS4 122
 Dionex IonPac AS4A 103, 122, 147
 Dionex IonPac AS4A-SC 13, 14, 108, 163
 Dionex IonPac AS5A 15
 Dionex IonPac AS7 14, 85, 165
 Dionex IonPac AS9-HC 20, 97, 124, 163
 Dionex IonPac AS9-SC 14, 20, 99, 100, 101, 163
 Dionex IonPac CS10 34, 35, 36, 109, 116, 119, 166
 Dionex IonPac CS11 35, 166
 Dionex IonPac CS12 35, 36, 37, 113
 Dionex IonPac CS12A 36, 37, 38, 80, 96, 114, 134, 166
 Dionex IonPac CS14 36, 37, 110, 166
 Dionex IonPac CS15 37, 165
 Dionex IonPac CS16 38, 103, 165
 Dionex IonPac CS17 38, 140, 141, 142, 165
 Dionex IonPac CS18 38, 165
 Dionex IonPac CS19 39, 123, 165
 Dionex IonPac CS5 99
 Dionex IonPac CS5A 42, 104, 135, 166
 Dionex IonPac FastAnion IIIA 165
 Dionex IonPac ICE-AS1 48, 49, 56, 57, 84, 110, 114, 166
 Dionex IonPac ICE-AS5 119, 120
 Dionex IonPac ICE-AS6 49, 56, 119, 166
 Dionex IonPac ICE-Borate 166
 Dionex IonPac NS1 51, 52, 106, 107, 118
 Dionex IonPac SCS-1 104
 Dionex IonPac TBC-1 50
 Dionex IonPac TCC-2 104
 Dionex IonPac UTAC-ULP1 104, 105
 Dionex IonSwift MAC-200 57
 Dionex IonSwift MCC-100 103
 Dionex OmniPac 58, 59, 60, 61, 126, 127
 Dionex SRS 65, 69, 70, 71, 86, 87, 92
 Direkte Leitfähigkeit 117
 Eluent-Generator 18, 88, 89, 90, 91, 92, 119
 Fettalkoholsulfat 118
 Fluordeoxyglucose 137
 Fluoreszenz-Detektion 5, 26, 31, 63, 81, 82, 95, 99, 160
 Glycosaminoglykanen GAG 136
 Galacturonat 123
 Gepackter Suppressor 66, 67
 Gleichstrom-Amperometrie (DC) 75, 76, 77, 135
 Gluconsäure 119, 120, 129
 Glutarat 123
 Glykolat 21, 104, 123
 Glyphosat 81, 82, 180
 Gold 78, 107, 137
 Heparin 137, 138, 188
 HILIC 26, 118
 HPAEC-IPAD 125, 136
 HPIC 8, 9, 50, 94, 105
 Hydrovoltammogramm 75
 Hyperbranched Polymer 12, 19, 23, 24
 Ionenausschluss 5, 8, 47, 49, 56, 66, 94, 105, 110, 114, 116, 118, 119, 126, 166
 Ionenpaar-Chromatographie 5, 8, 22, 51, 54, 58, 94, 106, 107, 110, 117, 119, 121, 135
 Ionische Flüssigkeit (Ionic Liquids IL) 138 ff
 Kapazitätsfaktor 10, 154
 Kläranlagenauslauf 98
 Kohlehydrate 26 ff, 76, 77, 79, 95, 119, 121, 123, 124, 130, 131, 135, 136, 137
 Dextrine 129
 Maltrine 128
 Oligomaltose 130
 Pektine 129
 Pentosane 129
 Kraftwerkschemie 93, 102, 112, 184
 S-N-Verbindungen 106

Lactat 123
Ladungsdetektion (QD) 5, 63, 72, 73, 74, 95
Malat 83, 122, 123
Malonat 15, 21, 123, 132
Milch 125, 126, 131
Monofluorophosphat 120
Morpholin 94, 109, 110
Natriumcyclamat 126
Nickelbad 107 ff
Oberflächenwasser 96, 97
Pellikular 10, 11, 12, 17, 20, 21, 31, 43, 44, 58, 127
Perchlorat 21, 22, 23, 25, 55, 61, 133, 164, 183
Polyphosphat 14, 80, 119, 124, 131, 164, 165, 186
Probenvorbereitung 149 ff
Propfpolymerisation 11
Proteine 43, 44, 45, 46, 124, 125, 133, 149, 151, 167, 168
Proteinsäulen 44, 167
Quinat 15, 21, 123, 132
Saccharin 110, 111, 126
Säuglingsnahrung 123, 125, 126, 131
Selektivitätskoeffizient 9, 40
Serum 132, 134, 135, 136, 137, 187
SPE-Kartusche 146
Speziation 95, 124, 164, 181
Succinat 123
Tartrat 83, 94, 122, 123
Trinkwasser 19, 22, 23, 24, 96, 97, 100, 101, 146, 163, 164, 183
Übergangsmetalle 40, 41, 104, 112, 113
Urin 132, 133, 134, 135, 136, 137
UV/Vis 31, 63, 79, 95, 101
Verteilungskoeffizienten 10
Zahnpasta 120, 121
Zweidimensionale IC 25, 55, 56, 57

16

Literatur

- [1] H. Small, T. S. Stevens und W.C. Baumann, *Anal. Chem.* 47 (1975) 1801.
- [2] E. L. Johnson: "Developments in Ion Chromatography". Vortrag anlässlich des Symposiums: "Moderne Chromatographie von Ionen", Wien 1982.
- [3] J. R. Stillian und C. A. Pohl, *J. Chromatogr.* 499 (1990) 249.
- [4] G. Aced, H. Möckel „Liquidchromatographie“, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1991.
- [5] D.T. Gjerde, J.S. Fritz, *Ion Chromatography*, 2nd Edition, Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg Basel New York, 1987.
- [6] D. DuVal, J.S. Fritz, *J. Chrom.* 295 (1984) 89.
- [7] J. Weiß, S. Reinhard, C. Pohl, C. Saini und L. Narayanan, *J. Chrom. A* 706 (1995) 81.
- [8] C. Saini, C. Pohl und L. Narayanan, "An improved Ion Exchange Phase for the Determination of Fluoride and other common Anions by Ion Chromatography", Vortrag anlässlich der Pittsburgh Conference (1995).
- [9] C. Pohl, C. Saini, "A New Hydroxide-Selective Column for the Analysis of Disinfectant Byproduct Anions"; Vortrag anlässlich der Pittsburgh Conference (2004).
- [10] Data Sheet Thermo Scientific Dionex IonPac AS23, LPN 1817, www.dionex.com, Stand Juni 2012.
- [11] Data Sheet Thermo Scientific Dionex IonPac AS22, LPN 1816-04, www.dionex.com, Stand Juni 2012.
- [12] Small, H., Riviello, J., *Anal. Chem.* 70 (1998) 2205-2212.

- [13] Small, H., Liu, Y. und Avdalovic, N., *Anal. Chem.* 70 (1998) 3629-3635.
- [14] D. Jensen, C. Rattmann, *GIT, Spezial „Chromatographie“* 6 (1996) 115-119.
- [15] ISO 10304, Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von gelösten Anionen mittels Flüssigkeits-Ionenchromatographie - Teil 1: Bestimmung von Bromid, Chlorid, Fluorid, Nitrat, Nitrit, Phosphat und Sulfat; Beuth Verlag, Berlin, www.beuth.de
- [16] Yoko Sekiguchi; Posterpräsentation anlässlich des International Ion Chromatography Symposium, Osaka (Japan) 1998.
- [17] EPA 557.0 Determination of Haloacetic Acids, Bromate, and Dalapon in Drinking Water by Ion Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (IC/ESI-MS/MS); <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/labcert/upload/met557.pdf>.
- [18] J.A. Rendleman, *Ionization of Carbohydrates*, American Chemical Society, Washington D.C., 1973, p. 51.
- [19] S. Kandzia, „N-glycan Mapping of Recombinant Biopharmaceutical Glycoproteins“, Vortrag anlässlich des IICS 2012, Berlin.
- [20] E. Uçaktürk, *J. Sep. Sci.* 35 (2012) 341–350.
- [21] W. R. LaCourse, D. C. Johnson, M. A. Rey und R. W. Slingsby, *Anal. Chem.* 63 (1991) 134.
- [22] *High Performance Liquid Chromatography in Biochemistry*, A. Henschen, K.-P. Hupe, F. Lottspeich, W. Voelter, VCH, Weinheim, Deerfield Beach (Florida), Basel, 1985.
- [23] D. Jensen, *Labo Analytica* 92 (1992) 64.
- [24] J. Weiss, „Grundlagen der Ionenchromatographie“, 2. Aufl., VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1991
- [25] *Säulenhandbuch der Dionex IonPac CS12*; Dionex Corporation 1992.
- [26] D. Jensen, J. Weiss, M.A. Rey und C. A. Pohl, *J. Chrom. A*, 640 (1993) 65.
- [27] J. Riviello: "Transition Metal Ion Chromatography with Postcolumn Reaction Detection". Dionex Dept. of Research and Development, Interner Bericht 1982.
- [28] R. W. Wheaton und W.C. Bauman *Ind. Eng. Chem.* 45 (1953) 228.
- [29] R. Wood, L. Cummings und T. Jupille, *J. Chromatogr. Sci.* 18 (1980) 551.

- [30] T. Jupille, D.W. Togami und D.E. Burge, *Ind. Res. Dev.* 25 (1983) 151.
- [31] Application Report 02-2010-395, Dionex, Olten, Switzerland.
- [32] W.E. Rich, F. Smith, L. McNeill und T. Sidebottom: " Ion Exclusion coupled to Ion Chromatography: Instrumentation and Application in Ion Chromatographic Analysis of Environmental Pollutants", Vol. 2 Ann Arbor Science Press, Ann Arbor/Michigan (1979), S. 17.
- [33] W.E. Rich, E.L. Johnson, L. Lois, B.E. Stafford, P.M. Kabra und L.J. Marton: " Organic Acids by Ion Chromatography". Kapitel 17, *Liquid Chromatography in Clinical Analysis*, Editor: I.J. Marton, P.M. Kabra, The Human Press 1981.
- [34] C. Horvath, W. Melander, I. Molnar und P. Molnar, *Anal. Chem.* 49 (1977) 2295.
- [35] C. Horvath, W. Melander, I. Molnar, *J. Chrom.* 125 (1976) 129.
- [36] J.C. Kraak, K.M. Jonker und J.F.K. Huber, *J. Chrom.* 142 (1977) 671.
- [37] N.E. Hoffmann und J.C. Liao, *Anal. Chem.* 49 (1977) 2231.
- [38] P.T. Kissinger, *Anal. Chem.* 49 (1977) 883.
- [39] Technical Note 12, "Methods Development Using Ion-Pair Chromatography with Suppressed Conductivity Detection", Thermo Scientific, www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [40] B.A. Bidlingmeyer, S.N. Deming, W.P. Price, jr. B. Sachok und M. Petrussek *J. Chromatogr.* 186 (1979) 419.
- [41] B.A. Bidlingmeyer, *J. Chromatogr. Sci.* 18 (1980) 525.
- [42] C.F. Poole und S.A. Schuette, "Contemporary practice of chromatography", 195 ff, und hier zitierte Literatur.
- [43] C.F. Poole und S.A. Schuette, "Contemporary practice of chromatography", 334 ff.
- [44] Technical Note 45, „Determination of Trace Anions in Hydrofluoric Acid, Ammonium Fluoride, and a Buffered Oxide Etchant", Thermo Scientific, www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [45] Applikationsbericht Nr. 09/2002/05, Dionex GmbH.
- [46] Persönliche Mitteilung Y. Sekiguchi, 2006
- [47] Persönliche Mitteilung, Ye Mingli, März 2012.

- [48] Data Sheet „Acclaim Trinity P1 Column“, www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [49] J.R. Stillian, C. Pohl, J. Chrom. 499 (1990) 246.
- [50] J. Weiß, GIT „Chromatographie“ 2 (1992) 67 ff.
- [51] D.T. Gjerde und J.S. Fritz, Anal. Chem. 53 (1981) 2324.
- [52] D.T. Gjerde, J.S. Fritz und G. Schmuckler, J. Chrom. 186 (1979) 509.
- [53] J.F. Girard und J.F. Glatz, Am. Lab.13 (1981) 26.
- [54] T.Okada und T. Kuwamoto, Anal. Chem. 55 (1983) 1001.
- [55] J.P. Ivey, J. Chrom. 287 (1984) 128.
- [56] K. Irgum, Anal. Chem. 59 (1987) 358.
- [57] D.T. Gjerde, J. S. Fritz und G. Schuckler, J. Chrom. 186 (1979) 509.
- [58] J.R. Stillian, V. Barreto, K. Friedman, S. Rabin, M. Toofan, J. Statler and L. Takahashi: "Chemical Suppression in Ion Chromatography: 1975 to Present". Vortrag anlässlich des International Ion Chromatography Symposium, Linz (Österreich) 1992.
- [59] P.R. Haddad, und P.E. Jackson, „Ion Chromatography Principles and Applications“, Elsevier, Amsterdam, 1990, 2632.
- [60] W.F.Koch, Anal. Chem., 51 (1979) 1571.
- [61] D. Jensen, „22 Jahre Suppression zur Leitfähigkeitsdetektion in der Ionenchromatographie“ Vortrag anlässlich der InCom 1997, Düsseldorf.
- [62] W. Maxwell, und J. Sweeney, LC-GC , 12/9 (1994) 678-682.
- [633] FDA Policy Guide 7132a.15.
- [64] Guideline for Submitting Samples and Analytical Data for Methods Validation (U.S. EPA, Rockville, Maryland, 1987).
- [65] GLP Standard (Japanisches Gesundheitsministerium, Tokyo, 1988).
- [66] W.B.Furman, T.P. Layloff, und R.R.Tetzlaff, „Validation of Computerized HPLC Systems“, Vortrag anlässlich des „Workshop on Antibiotics and Drugs in Feeds“, 106. AOAC Versammlung, Cincinnati, Ohio, 30 August 1992.

- [67] U.S. Pharmacopoeia XXII, 625 — Chromatography (U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Philadelphia, Pennsylvania, 1 Januar 1990), 1566-1567.
- [68] T.S. Stevens, J.C. Davis, H. Small, *Anal. Chem.*, 53 (1981) 1488.
- [69] J. Stillian, *LC Mag.*, 3 (1985) 802.
- [70] S.Rabin, J. Stillian, V. Barreto, K. Friedman, M. Toofan, *J. Chrom.*, 640 (1993) 97.
- [71] A. Henshall, S. Rabin., J. Statler, J. Stillian, *American Laboratory*: 330 (1992) 20R.
- [72] Data Sheet „Eluent Suppressors for Ion Chromatography“, www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [73] B. Yang, Y. Chen, M. Mori, S. Ohira, A. K. Azad, P. K. Dasgupta, K. Srinivasan *Anal. Chem.*, 82 (3) (2010) 951.
- [74] K. Srinivasan, S. Bhardwaj, M. Sengupta, C. Pohl, Y. Chen, P.K. Dasgupta, “Recent Developments in a New Detector for Ion Chromatography”, Vortrag anlässlich der Pittcon 2012, Orlando, USA..
- [75] R.D. Rocklin und E.L. Johnson, *Anal. Chem.* 55 (1983) 4.
- [76] K. Han und W.F. Koch, *Anal. Chem.* 59 (1987) 1016.
- [77] L.K. Han und J.F. Dutrizac, *Anal. Chem.* 58 (1986) 1383.
- [78] Application Report 02-2012-665, Dionex (EU) Management AG, Olten, Schweiz.
- [79] J. Weiss, „Grundlagen der Ionenchromatographie“, 2. Aufl., VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1991, 311.
- [80] Technical Note 21, “Optimal Settings for Pulsed Amperometric Detection of Carbohydrates Using the Dionex ED40 Electrochemical Detector“, www.dionex.com, Stand Juli 2012
- [81] Technical Note 20, „Analysis of Carbohydrates by High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection (HPAE-PAD)“, www.dionex.com, Stand Juli 2012
- [82] J. Weiss, „Grundlagen der Ionenchromatographie“, 2. Aufl., VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1991, 232.
- [83] J. Cheng , P. Jandik, X. Liu, C. Pohl, *J. of Electroanalytical Chemistry* 608 (2007) 117–124.
- [84] P. Jandik und J. Cheng, “Disposable Working Electrodes for HPLC Detection”, Vortrag, Pittcon 2007.

- [85] Data Sheet, "Disposable Electrodes for Electrochemical Detection", www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [86] A.P. Clarke, P. Jandik, R. D. Rocklin, Y. Liu, N. Avdalovic, *Anal. Chem.* 71 (1999) 2774.
- [87] D. Jensen, F. Höfler, *BIOforum* 5 (1999) 282.
- [88] P. Jandik, N. Avdalovic, *BIOforum International* 2 (1999) 54.
- [89] R.P. Buck, S. Singhadeja und L.B. Rogers, *Anal. Chem.* 26 (1954) 1240.
- [90] S.H. Kola, K.A. Buckle und M. Wooton, *J. Chrom.* 260 (1983) 189.
- [91] P.E. Jackson, P.R. Haddad und D. Dilli, *J. Chrom.* 295 (1984) 471.
- [92] J.M. Monaghan, K. Cook, D. Gara und D. Crowther, *J. Chrom. A*, 770 (1997) 143.
- [93] M.R.L. Stratford, M. F. Daennis, R. Cochrane, C. S. Parkins, S. A. Everett, *J. Chrom. A*, 770 (1997) 151.
- [94] Data Sheet, „IonPac ® AS7 Anion-Exchange Column“, www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [95] DIN 38413–8: Bestimmung der gelösten Komplexbildner Nitrilotriessigsäure (NTA) Ethylendinitrilotetraessigsäure (EDTA) und Diethyltrinitrilopentaessigsäure (DTPA mit der Flüssigchromatographie (LC), www.beuth.de
- [96] R. Geschke, M. Zehringer *Fresenius J Anal Chem* (1997) 357: 773-776.
- [97] E. Vaeth, P. Sladek und K. Kenar, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 329 (1987) 584.
- [98] J. Stillian, "Trace Analysis via Post Column Chemistry in Ion Chromatography: Silica and ppb Calcium and Magnesium in Brines", Vortrag zur Pittsburgh Conference 1984, Atlantic City, N.J., USA
- [100] Applikationsnote AU 106, Dionex Corporation, Sunnyvale, CA, USA, 1993.
- [101] H. Small und T.E. Miller jr., *Anal. Chem.* 54 (1982) 462.
- [102] Application Note 109, „Determination of Glyphosate by Cation-Exchange Chromatography with Postcolumn Derivatization“, LPN 0663-01 1M 4/97, www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [103] M. Roth und H. Hampai, *J. Chrom.* 83 (1973) 353.
- [104] J.H. Sherman und N.D. Danielson, *Anal. Chem.* 59 (1987) 490.

- [105] J.H. Sherman und N.D. Danielson, *Anal. Chem.* 59 (1987) 1483.
- [106] K. Bächmann und K.-H. Blaskowitz, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 333 (1989) 15.
- [107] S. Almeling, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.* (2012), doi:10.1016/j.jpba.2012.03.019
- [108] B.Y.H. Liu, D.Y.H. Pui, *J. Aerosol Sci.* 6 (1975) 249–264.
- [109] M. Adachi, Y. Kousaka, K. Okuyama, *J. Aerosol Sci.* 16 (1985) 109.
- [110] R.W. Dixon, D.S. Peterson, Development and testing of a new detector for liquid chromatography based on aerosol charging, *Anal. Chem.* 74 (2002) 2930–2937.
- [111] T. Vehovec, A. Obreza, *J. Chrom. A* 1217 (2010) 1549–1556.
- [112] C. Crafts, B. Bailey, M. Plante, J. Waraska, I. Acworth, "Improving the Quantitation of Unknown Impurity Analysis Using Dual-Gradient HPLC with Charged Aerosol Detection", 89128-PO-EAS-Quantification-Unknowns-23Nov2010-LPN2666-01.pdf, www.dionex.com, Stand Juli 2012.
- [113] E.A. Stadlbauer, C. Trieu, H. Hingmann, H. Rohaztsch, J. Weiß und R. Maushart, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 330 (1988) 1.
- [114] E.A. Woolson und N. Aharonson, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 63 (1980) 523.
- [115] Application Note: 43099, "IC-ICP-MS speciation analysis of As in applejuice using the iCAP Q ICP-MS", www.thermoscientific.com, Stand Juli 2012.
- [116] Application Note 43098, „Speciation analysis of Cr (III) and Cr (VI) in drinking waters using anion exchange chromatography coupled to the Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS“, www.thermoscientific.com, Stand Juli 2012.
- [117] D. Jensen und W. Blödorn, *GiT, Spezial „Chromatographie“*, 7 (1995), 23.
- [118] ISO 10304 Teil 2 bis 4. Verschiedene ISO-Verfahren zur ionenchromatographischen Anionen-Bestimmung in unterschiedlichen Matrices. Beuth-Verlag, Berlin.
- [119] ISO 14911: 1998. Bestimmung von Alkali- und Erdalkalimetallen sowie Ammonium in Wasser und Abwasser mit der IC. Beuth-Verlag, Berlin.
- [120] Small, H., Riviello, J., *Anal. Chem.* 70 (1998) 2205-2212.
- [121] Small, H., Liu, Y. und Avdalovic, N., *Anal. Chem.* 70 (1998) 3629-3635.

- [122] T. Darimont, G. Schulze und M. Sonneborn, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 314 (1983) 383.
- [123] G. Schwedt, Ionen-Chromatographie (IC) - die High Performance-LC für Anionen und Kationen", *Labor-Praxis* Januar/Februar (1984).
- [124] J.A. Mosko, *Anal. Chem.* 56 (1984) 629.
- [125] M.A. Tabatabai und W.A. Dick, *J. Environ. Qual.* 12 (1983) 209.
- [126] O.A. Shipgun, *Trends Anal. Chem.* 4 (1985) 29.
- [127] F. Schöller und F. Ollram, *Österr. Wasserwirtsch.* 35 (1983) 73
- [128] G. Resch und E. Grünschläger, *Vom Wasser* 62 (1984) 207.
- [129] R. Schwabe, T. Darimont, T. Möhlmann, E. Pabel und M. Sonneborn, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 14 (1983) 169.
- [130] H. Matusiewicz und D.F.S. Natusch, *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 8 (1980) 227.
- [131] U. Baltensperger und J. Hertz, *J. Chrom.* 324 (1985) 153.
- [132] M.J. Willison und A.G. Clarke, *Anal. Chem.* 56 (1984) 1037.
- [133] Jaeschke, W., Dierssen, J.P. und Salkowski, in „Spurenanalytische Bestimmung von Ionen“, Ecomed Verlag, Landsberg, 1997, 50ff.
- [134] J. Forrest, D.J. Spandau, R.L. Tanner und L. Newman, *Atmos. Environ.* 16 (1982) 1473.
- [135] K. Acker, D. Möller, R. Auel, W. Wieprecht, V. Schmidt, D. Kalaß und J. Hofmeister, „Kopplung von 'Wet Effluent Diffusion Denuder'- Technik und Ionenchromatographie zur nachweisstarken und quasikontinuierlichen Bestimmung reaktiver Spurenstoffe in der Atmosphäre, Vortrag anlässlich der 2. Fachtagung „Ionenanalyse mit Chromatographie und Kapillarelektrophorese“, 1999, Idstein.
- [136] J.M. Lorrain, C.R. Fortune und B. Dellinger, *Anal.Chem.* 53 (1981) 1302.
- [137] T.W. Dolzine, G.G. Esposito und D.S. Rinehart, *Anal. Chem.* 54 (1982) 470.
- [138] D.V. Viniamoori und C.S. Ling, *Anal. Chem.* 53 (1981) 1689.
- [139] H. Sontheimer und M. Schnitzler, *Vom Wasser* 59 (1982) 169.
- [140] M. Schnitzler, G. Lévy, W. Kühn und H. Sontheimer, *Vom Wasser* 61 (1983) 263.

- [141] M. Schnitzler, GIT Supplement Chromatographie 4 (1985) 32.
- [142] D. Jensen, H. Pinhack und A. Reichert, GIT, 4, (1996), 404
- [143] U. Gutzeit, Diplomarbeit an der Fachhochschule Mannheim, Mannheim 1997.
- [144] K. Chassaniol, „Automated Combustion Sample Preparation for Ion Chromatography“, Vortrag anlässlich des IICS 2006, Pittsburgh, USA.
- [145] Proposal for a Council Directive 80/778/EEC, Commission of the European Communities, 1994, Part B, 75.
- [146] Erste Verordnung zur Änderung der Trinkwasserverordnung vom 3. Mai 2011, Bundesgesetzblatt Jahrgang 2011 Teil I Nr. 21, www.bundesgesetzblatt.de
- [147] ISO 15061. Wasserbeschaffenheit, Bestimmung von gelöstem Bromat, Verfahren mittels Ionenchromatographie, Deutsche Fassung EN ISO 15061:2001, Beuth-Verlag, Berlin; www.beuth.de.
- [148] Water quality — Determination of dissolved bromate — Method using ion chromatography (IC) and post column reaction (PCR), ISO/DIS 11206:2011, Beuth-Verlag, Berlin; www.beuth.de.
- [149] Application Note 149, „Determination of Chlorite, Bromate, Bromide, and Chlorate in Drinking Water by Ion Chromatography with an On-Line-Generated Postcolumn Reagent for Sub-µg/L Bromate Analysis“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [150] Technical Note 116, „Determination of Bromate by ISO Method 11206“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [151] American Water Works Association and Water Research Foundation, „Hypochlorite – An Assessment of Factors That Influence The Formation of Perchlorate and Other Contaminants“, <http://www.awwa.org/files/GovtPublicAffairs/PDF/HypochloriteAssess.pdf>, Stand August 2012.
- [152] Applikationsberichte 06-2012-108 und 06-2012-708 B, Thermo Fisher Scientific Olten, Schweiz
- [153] F. Sacher, „Vergleich verschiedener Methoden zur chromatographischen Bromatbestimmung“, Vortrag anlässlich 2. Fachtagung „Ionenanalyse mit Chromatographie und Kapillarelektrophorese“ 14./15. September 1999, Idstein.
- [154] Z. Guo, Q. Cai, C. Yu und Z. Yang J. Anal. At. Spectrom., 2003, 18, 1396.
- [155] R. Michalski, Polish Journal of Environmental Studies Vol. 14, No. 3 (2005), 257.

- [156] ISO 23631 Wasser Qualität – Bestimmung von Dalapon, Trichloressigsäure und verschiedenen Halogenessigsäuren, Beuth Verlag, Berlin, www.beuth.de
- [157] EPA 557.0, „Determination of Haloacetic Acids, Bromate, and Dalapon in Drinking Water by Ion Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry (IC/ESI-MS/MS)“, <http://water.epa.gov/scitech/drinkingwater/labcert/upload/met557.pdf>, Stand August 2012.
- [158] H. Bendlin, Chem. Labo Betrieb 3 (1989) 108.
- [159] Application Note 185, „Determination of Trace Organic Acids and Inorganic Anions in Boric Acid-Treated Power Plant Waters Using an Automated Reagent-Free Ion Chromatography System“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [160] Application Note 277, „Fast and Sensitive Determination of Transition Metals in Power Industry Waters Using Ion Chromatography“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [161] Application Note 250, „Determination of Trace Nickel and Zinc in Borated Power Plant Waters Containing Lithium Hydroxide Using Nonsuppressed Conductivity Detection“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [162] H. Prenzel, „Entwicklung der Ionenchromatographie in der Kraftwerkschemie“, Vortrag anlässlich der 2. Fachtagung „Ionenanalyse mit Chromatographie und Kapillarelektrophorese“, 1999, Idstein.
- [163] K. Haak, Plat. Surf. Finish 70 (1983) 34.
- [164] J. Weiß, Galvanotechnik 77 (1986) 2675.
- [165] G. Heikenfeld, J. Kerth, „Validierungskriterien und Leistungsmerkmale eines modernen Ionenchromatographen“, Vortrag anlässlich der INCOM 1997, Düsseldorf.
- [166] Applikationsbericht Nr. 05/93/06, Dionex GmbH, Idstein.
- [167] Applikationsbericht Nr. 04/94/01, Dionex GmbH, Idstein.
- [168] S. Heberling, B. Joyce und K. Haak, "Applications of Transition Metal Ion Chromatography to High Purity and Industrial Process Waters", Vortrag zur 5. Semiconductor Pure Water Conference 1986, San Francisco, CA, USA.
- [169] M.M. Plechaty, LC-Magazin 2 (1984) 684.
- [170] Th. Ehmann, L. Fabry, L. Kotz, S. Pahlke, „Ion Chromatography and Capillary Electrophoresis in the Semiconductor Industry“, Vortrag anlässlich der 2. Fachtagung Ionenchromatographie, Idstein, 1999.

- [171] E. Kaiser et al. J. Chrom. A, 739 (1996) 71.
- [172] Application Note 93, „Determination of Trace Anions in Concentrated Bases Using AutoNeutralization Pretreatment and Ion Chromatography“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [173] Application Note 94, „Determination of Trace Cations in Concentrated Acids Using AutoNeutralization Pretreatment/Ion Chromatography“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [174] Application Report No. 02-2012-661, Thermo Fisher Scientific, Olten, Schweiz.
- [175] J.-G. Chen, M. Wu, Micro 1 (1997) 31.
- [176] J. Kerth, D. Jensen, J. Chrom. A, 706 (1995) 191.
- [177] J. Kerth, C. Rattmann, „Bestimmung kationischer Verunreinigungen in Wasserstoffperoxid“; Poster anlässlich der 2. Fachtagung „Ionenanalyse mit Chromatographie und Kapillarelektrophorese“, 1999, Idstein.
- [178] L. Longwell und W.D. Maniece, Analyst, London 80 (1955) 167.
- [179] G.F. Longman, The Analysis of Detergents and Detergent Products. John Wiley & Sons London 1975; S. 446, 455 und 480.
- [180] A. Hofer, E. Brosche und R. Heidinger, Fresenius Z. Anal. Chem. 253 (1971) 117.
- [181] G.F. Longman, The Analysis of Detergents and Detergent Products. John Wiley & Sons London 1975; S. 403.
- [182] K. Kiemstedt und W. Pfab, Fresenius Z. Anal. Chem. 213 (1965).
- [183] J. Weiß, Tenside Detergents 23 (1986) 237.
- [184] G.F. Longman, The Analysis of Detergents and Detergent Products. John Wiley & Sons London 1975, 234.
- [185] J.M. Rosen und H.A. Goldsmith, Systematic Analysis of Surface Active Agents. John Wiley & Sons London 1972.
- [186] Waldhoff et.al, „Spurenanalytische Tensidbestimmung mit flüssigchromatographischen Verfahren“, Vortrag anlässlich der Tagung der GdCH Fachtagung 1995, Leipzig.
- [187] Scherler et al. Vortrag anlässlich der InCom1997, Düsseldorf.

- [188] X. Liu, M. Tracy und C. Pohl, „The Strategy of Surfactant Analysis by HPLC“, 87422-PO-HPLC-Surfactant-Analysis-08July10-LPN2525-1 .pdf, <http://www.dionex.com>, Stand September 2012.
- [189] J. Weiß Fresenius Z. Anal. Chem. 320 (1985) 679.
- [190] P. Edwards, Food Technology 6 (1983) 53-56.
- [191] DIN EN 12014-2:1997, Lebensmittel - Bestimmung des Nitrat- und/oder Nitritgehaltes - Teil 2: HPLC/IC-Verfahren für die Bestimmung des Nitratgehaltes in Gemüse und Gemüseerzeugnissen. Beuth Verlag, Berlin, www.beuth.de
- [192] DIN EN 12014-4:2005 Lebensmittel - Bestimmung des Nitrat- und/oder Nitritgehaltes - Teil 4: Ionenchromatographisches Verfahren (IC) für die Bestimmung des Nitrat- und Nitritgehaltes in Fleischerzeugnissen. Beuth Verlag, Berlin, www.beuth.de
- [193] European Parliament and Council Directive (95/2/EC), Feb. 1995.
- [194] B. Schmidt und G. Schwedt, Dtsch. Lebensm. Rdsch. 80 (1984) 137.
- [195] B. Luckas, Fresenius Z. Anal. Chem. 318 (1984) 428.
- [196] W. Arneth, B. Herold Fleischwirtschaft, 72 (1992) 901.
- [197] D.C. Siu, A. Henshall, J. Chrom. A 804 (1998) 157.
- [198] A. Schoch, M. Gibis, A. Fischer, „Entwicklung einer HPLC/UV Methode zur Bestimmung von Nitrit und Nitrat in Fleischerzeugnissen und Vergleich mit der enzymatischen Methode.“, Poster anlässlich des Deutschen Lebensmittelchemiker-Tages in Hamburg, 1999.
- [199] Application Update 189, „Determination of Choline in Infant Formula and Other Food Samples by IC“, www.dionex.com, Stand September 2012
- [200] S. Koswig, H.-J. Hofsommer, J. Weiß, D. Jensen. in „Spurenanalytische Bestimmung von Ionen“, Ecomed Verlag, Landsberg, 1997, 9ff.
- [201] in [132] zitierte Literatur.
- [202] R. Neufang, G. Maio, D. Jensen, unveröffentlichte Ergebnisse, 2000.
- [203] C. Pohl, Vortrag anlässlich des IICS '97, San Francisco.
- [204] Y. Sekiguchi und A. Matsunaga, "Determination of Polyphosphates and Phytate in Food by Ion Chromatography", Poster Nr. 135, IICS 98, Osaka, Japan.

- [205] Application Note 248, „Determination of Lactose in Lactose-Free Milk Products by High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection“, www.dionex.com, Stand September 2012.
- [206] Application Note 253, „HPAE-PAD Determination of Infant Formula Sialic Acids“, www.dionex.com, Stand September 2012.
- [207] „Analytik von prebiotischen Oligosacchariden mittels HPAEC-PAD“, B. Müller-Werner, Vortrag anlässlich des IC Anwendertreffens, Berlin, 2012.
- [208] T.A. Biemer J. Chrom. 463 (1989) 463.
- [209] K. Koizumi , M. Fukuda, S. Hizukuri, J. Chrom. 585, 233, 1991.
- [210] K.S. Wong und J. Jane J. Liq. Chrom. 18, 63, 1995.
- [211] Better Solutions for Food and Beverage Analysis. Dionex Corp. (ed.) 1995, S.24.
- [212] A.A. Akers und R.C. Hosney, Cereal Chem. 71, 223, 1994.
- [213] A.T. Hotchkiss und K.B.Hicks Anal. Biochem. 184, 200, 1990.
- [214] K.S.Wong und J.Jane unveröffentlicht.
- [215] Osweiler G.D., Carson T.L., Buck W.B., van Gelder G.; Clinical and Diagnostic Veterinary Toxicology, 1A, 460-467 (1985).
- [216] Application Report 12-2010-514, Thermo Fisher Scientific, Olten, Schweiz
- [217] Robertson W.G., Scurr D.S., Smith A., Orwell R.L.; Clin. Chim. Acta 91 (1982) 126.
- [218] Application Note 107, „Ions in Physiological Fluids“, www.dionex.com, Stand Oktober 2012
- [219] Ong C.N., Ong H.Y., Chua L.H.; Analytical Biochemistry, 64 (1988) 173.
- [220] Application Note 108, „Determination of Transition Metals in Serum and Whole Blood by Ion Chromatography“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [221] Application Update 112, „Determination of Catecholamines“, www.dionex.com, Stand August 2012.
- [222] S. Everett, M. F. Dennis, K. B. Patel, P. Wardman, M.R.L. Stratford, J. Chrom. A, 770 (1997) 273.

- [223] Hay E.D. In: Cell biology of Extracellular Matrix, Plenum Press, New York (1991).
- [224] Application Update 178, „A Faster Solution with Increased Resolution for Determining Chromatographic Identity and Absence of OSCS in Heparin Sodium“, www.dionex.com, Stand Oktober 2012.
- [225] T. Schubert, Nachr. Chem., 53 (2005), 1222-1226
- [226] P. Wasserscheid, T. Welton, „Ionic Liquids in Synthesis“, Weinheim, Wiley-VCH, 2003
- [227] P. Stepnowski, W. Mrozik, J. of Sep. Sci., 28 (2005), Nr. 2, 149-154
- [228] A. König, D. Weckesser, D. Jensen, GIT, 6, 2006
- [229] A. König, D. Weckesser, D. Jensen, GIT, 1, 2007
- [230] L. Jiang, L. He, M. Fountoulakis, J. Chrom. A 1023 (2004) 317–320

Thermo Fisher Scientific GmbH
Im Steingrund 4-6
63303 Dreieich
Deutschland

Tel.: +49 (0) 6103 408 0
Fax: +49 (0) 6103 408 1222
E-Mail: analyze.de@thermofisher.com

www.thermoscientific.com

ISBN 978-3-00-044477-7



www.thermoscientific.com/dionex

©2013 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ISO is a trademark of the International Standards Organization. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.



Australia +61 3 9757 4300	Denmark +45 70 23 62 60	Japan +81 6 6885 1213	Singapore +65 6289 1190
Austria +43 810 282 206	Finland +358 9 3291 0200	Korea +82 2 3420 8600	Sweden +46 8 556 468 00
Belgium +32 53 73 42 41	France +33 1 60 92 48 00	Latin America +1 561 688 8700	Switzerland +41 61 716 77 00
Brazil +55 11 3731 5140	Germany +49 6103 408 1014	Netherlands +31 76 579 55 55	Taiwan +886 2 8751 6655
Canada +1 800 530 8447	India +91 22 6742 9494	New Zealand +64 9 980 6700	UK/Ireland +44 1442 233555
China 800 810 5118 (free call domestic) 400 650 5118	Italy +39 02 950 591	Norway +46 8 556 468 00	USA +1 800 532 4752

XX70909_E11/13S

Thermo
SCIENTIFIC

Part of Thermo Fisher Scientific

Grundlagen der Ionenchromatographie