

ABC der Probenvorbereitung (16)

Dr. Ute Beyer, SGE Europe

Ionenaustausch-SPE, Teil 2: Probenvorbehandlung

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 24. September 2010)

Fassen wir zunächst noch einmal zusammen, was wir in der letzten Folge als **Voraussetzung für eine erfolgreiche Ionenaustausch-SPE** erfahren haben:

- Der **Analyt** muss **ionisch** sein, d.h. geladen vorliegen.
- Der **Ionenaustauscher** muss **entgegengesetzt geladen** vorliegen.
- Entweder der Analyt oder der Ionenaustauscher sollte ein **schwaches Ion** sein, d.h. abhängig vom pH-Wert geladen bzw. ungeladen (neutral) vorliegen
- Die **Ionenstärke** der Probelösung sollte $< 0,1 \text{ M}$ sein, besser nur **20 – 50 mM**

Was bedeutet dies für die Probenvorbehandlung?

- Die **Ionenstärke** lässt sich ggf. durch **Verdünnung** mit Wasser herabsetzen.
- Um die **Ladung** von Analyt und Ionenaustauscher sicher zu stellen, muss der **pH-Wert der Probe eingestellt** bzw. kontrolliert werden, und zwar wie folgt:

Starke Ionen als Analyt:

- keine pH-Werteinstellung nötig, da permanent geladen

Schwache Ionen als Analyt:

- pH-Werteinstellung gemäß pK-Wert

Beispiel:

Anreicherung von organischen Säuren in wässriger Lösung (Wasser, biologische Flüssigkeiten) mittels Anionenaustausch

- Funktionelle Gruppe der Analyten:
Carbonsäuregruppe, pK_a ca. 4,8 (Beispiel)

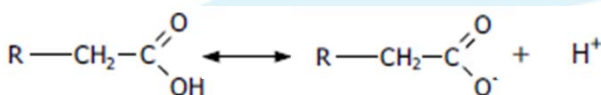
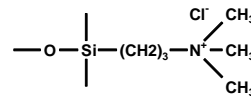


Tabelle 1 zeigt die **Struktur** der Carbonsäure in **Abhängigkeit vom pH-Wert**.

pH-Wert	pH 2,8 = $pK_a - 2$	pH 4,8 = pK_a	pH 6,8 = $pK_a + 2$
vorliegendes Molekül	100% $\text{R}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{OH} \end{array}$	50% $\text{R}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{OH} \end{array}$	
		50% $\text{R}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{O}^- \end{array}$	100% $\text{R}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{O} \\ // \\ \text{O}^- \end{array}$

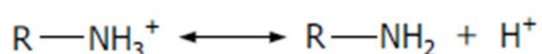
- Nach Henderson-Hasselbalch liegt bei $\text{pH} = \text{pK}_a$ das Molekül **zur Hälfte** in der **protonierten Form** (hier neutrale Säure) und **zur Hälfte** in der **deprotonierten Form** vor (hier anionisches Carboxylat-ion).
- Demzufolge erhöht sich der Anteil an protonierter Form bei Säurezugabe:
 - Bei $\text{pH} = \text{pK}_a - 2$ liegt zu **100%** die **protonierte Form** vor, also im Beispiel die neutrale Säure.
- Folglich liegt bei $\text{pH} = \text{pK}_a + 2$ zu **100%** die **deprotonierte Form** vor, hier das Carboxylat-Anion.
- Zur **Anreicherung eines schwachen Ions** würde man zunächst **einen starken Ionenaustauscher** nehmen, in diesem Beispiel einen **starken Anionenaustauscher (SAX)**, z.B. eine **quarternäre Ammoniumverbindung**



(klassisch auf Kieselgelbasis wie in der Abbildung, aber auch auf Polymerbasis erhältlich).

- Um die **Carbonsäure als Anion binden** zu können, muss, wie oben gezeigt, der **pH-Wert** der Probe $\geq \text{pK}_a + 2$, also im **Beispiel $\geq 6,8$** sein.

Eigentlich ganz einfach. **Analog** funktioniert es bei **basischen Analyten**, im folgenden ein Beispiel mit pK_a ca 9



ABC der Probenvorbereitung (16)

Dr. Ute Beyer, SGE Europe

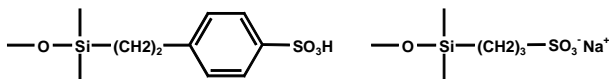
Ionenaustausch-SPE, Teil 2: Probenvorbehandlung

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 24. September 2010)

Tabelle 2 zeigt die Struktur des primären Amins in Abhängigkeit vom pH-Wert.

pH-Wert	pH 7 = pKa - 2	pH 9 = pKa	pH 11 = pKa + 2
vorliegendes Molekül	100% R—NH ₃ ⁺	50% R—NH ₃ ⁺	
		50% R—NH ₂	100% R—NH ₂

- Bei **schwachen Basen** liegt das Molekül zu 100% in der **ionischen** (positiv geladenen) Form vor bei $\text{pH} \leq \text{pKa} - 2$, also im **Beispiel unterhalb pH 7**.
- Eine **schwache Base** kann man an einem **starken Kationenaustauscher** (SCX) anreichern, beispielsweise an einer Benzolsulfonsäure oder einer Propylsulfonsäure.



(klassisch auf Kieselgelbasis wie in der Abbildung, aber auch auf Polymerbasis erhältlich).

- Mehr zur Auswahl der richtigen SPE-Phase in einer der nächsten Folgen.

Für den Ionenaustauscher gilt das gleiche:

Starke Ionen als Ionenaustauscher

- permanent geladen, unabhängig vom pH-Wert der Probe
- die Einstellung des **pH-Werts der Probe** richtet sich nur nach dem **pKa-Wert der Analyten**

Schwache Ionen als Ionenaustauscher:

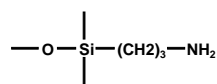
- pH-Werteinstellung gemäß pKa-Wert des Ionenaustauschers** notwendig

Was ist zu beachten, wenn ein schwaches Analytation mit einem schwachen Ionenaustauscher kombiniert wird?

- Zunächst wird man immer ein **starkes Analytation** mit einem **schwachen Ionenaustauscher** kombinieren und ein **schwaches Analytation** mit einem **starken Austauscher**, so dass sich der **pH-Wert der Probe** immer **nach dem schwachen Ion** richtet.
- Sollte diese Kombination aus irgendeinem Grund nicht möglich sein oder nicht funktionieren und ein **schwaches Ion mit einem schwachem Austauscher** kombiniert werden, ist **doppelte Vorsicht** angesagt.
- Der **pH-Wert der Probe** muss dann auf **beide pKa-Werte** abgestimmt werden.

Beispiel: Carbonsäure an schwachem Anionen-Ionenaustauscher

- Die **Carbonsäure** (schwaches Ion, pKa 4,8) braucht **pH $\geq 6,8$ (pKa + 2)**
- Ein **schwacher Anionenaustauscher** (WAX) kann z.B. eine **Aminopropylphase** sein, pK 9,8.



- Als **schwache Base** braucht das **Amin** **pH $\leq \text{pKa} - 2$** , um vollständig ionisch (protoniert) vorzuliegen, also im **Beispiel pH $\leq 7,8$**
- Für die **Probenvorbehandlung** für die Kombination **Carbonsäure – Aminopropylaustauscher** bedeutet das: **pH $\leq 7,8$ und pH $\geq 6,8$**
- also darf der **pH-Wert** für **vollständige Wechselwirkungen** nur **zwischen 6,8 und 7,8** liegen.

Sicher nicht immer ganz einfach zu kontrollieren.

ABC der Probenvorbereitung (16)

Dr. Ute Beyer, SGE Europe

Ionenaustausch-SPE, Teil 2: Probenvorbehandlung

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 24. September 2010)

Was passiert, wenn der pH-Wert nicht richtig eingestellt wird?

- Dann können die Wechselwirkungen unter Umständen nicht maximal erfolgen.
- Schwache Analyten laufen zum Teil oder ganz durch, werden nicht gebunden.
- Schwache Ionenaustauscher zeigen nicht ihre komplette Kapazität und können so unter Umständen nicht alle Analytmoleküle binden.

Kurz zusammengefasst die Regeln für die pH-Werteinstellung:

Eine pH-Werteinstellung ist notwendig, um die schwachen Ionen (Analyt oder Ionenaustauscher) in den ionischen Zustand zu überführen, sonst sind keine ionischen Wechselwirkungen möglich.

Anionenaustausch:

schwacher Analyt (-): braucht $\text{pH} \geq \text{pKa} + 2$

schwacher Austauscher (+): braucht $\text{pH} \leq \text{pKa} - 2$

Kationenaustausch:

schwacher Analyt (+): braucht $\text{pH} \leq \text{pKa} - 2$

schwacher Austauscher (-): braucht $\text{pH} \geq \text{pKa} + 2$

Oder noch einfacher:

Um ein schwaches Kation in die geladene Form zu überführen, wird protoniert bis $\text{pH} \leq \text{pKa} - 2$

Um ein schwaches Anion in die geladene Form zu überführen, wird deprotoniert bis $\text{pH} \geq \text{pKa} + 2$

