

Tipps und Tricks

Ionenchromatographie

Säulen-Performance kontrollieren und erhalten

Eine der Grundvoraussetzungen für zuverlässige chromatographische Analysen ist eine leistungsfähige Trennsäule. Benutzer der IC sollten die Leistung ihrer Säule regelmässig kontrollieren. Zeichnet sich ein Nachlassen der Leistung ab, können dadurch rechtzeitig Schritte unternommen werden, um die einwandfreie Funktion der Säule wiederherzustellen bzw. aufrechtzuerhalten. Erfahren Sie hier, wie Sie die Säulenleistung bewerten können, welche Parameter Sie dazu überwachen sollten und mit welchen Massnahmen Sie eine gute Säulen-Performance sicherstellen können.

Inbetriebnehmen einer neuen Säule

Wenn Sie eine Säule zum allerersten Mal verwenden, empfiehlt es sich, ihre Ausgangsleistung zu überprüfen. Das Analysenzertifikat (kurz CoA für *Certificate of Analysis*), das Sie beim Kauf jeder Metrohm Säule erhalten, dient als Referenz dafür. Nehmen Sie ein Chromatogramm auf und verwenden Sie dabei die im CoA angegebenen Analysenbedingungen, u. a. Flussrate, Temperatur, Eluent und Analytkonzentration. Die Säulen-Performance kann dann durch Vergleich einiger Ergebnisparameter mit den im CoA aufgeführten Werten, z. B. Retentionszeit, Trennstufenzahl, Asymmetrie, Auflösung sowie Peakhöhe und -fläche, evaluiert werden.

« *Auch Säulen, die bereits in Gebrauch sind, sollten regelmässig getestet werden.* »

Regelmässiges Monitoring der Säulen-Performance

Auch Säulen, die bereits in Gebrauch sind, sollten regelmässig überwacht werden. Es empfiehlt sich, diese Tests mit Checkstandards unter Applikationsbedingungen durchzuführen, denn abhängig von der Art der Analyse und den damit verbundenen Analysenbedingungen sowie dem instrumentellen Aufbau kann die Leistung unterschiedlich ausfallen. Wird eine nachlassende Leistung festgestellt, sind die Anforderungen der Applikation entscheidend dafür, ob sie weiterverwendet werden kann. Im Folgenden wird die Bestimmung der Säulenleistung anhand von fünf Leistungsindikatoren beschrieben. Zudem erfahren Sie, wie Sie einem Rückgang der Leistung vorbeugen bzw. ihn beheben können.



Gegendruck

Überwachen Sie den Gegendruck, indem Sie zunächst bei Inbetriebnahme Ihrer neuen Säule den Gegendruck unter den Analysenbedingungen Ihrer Applikation als Referenzwert («Common Variable» in MagIC Net) speichern. Verwenden Sie dann die benutzerdefinierten Resultate, um die Differenz zwischen dem anfänglichem Gegendruck und dem der aktuellen Bestimmung zu überwachen.

Ist ein Anstieg des Gegendrucks gegenüber seinem Anfangswert erkennbar, weist das auf abgelagerte Partikel in der Vor- oder Trennsäule hin. Beträgt dieser Anstieg mehr als 1 MPa, muss gehandelt werden. Dazu sollte man zunächst überprüfen, welche der Säulen betroffen ist. Ist die Vorsäule verschmutzt, sollte sie ersetzt werden. Ist die Trennsäule betroffen, spülen Sie sie zunächst für einige Stunden in entgegengesetzter Flussrichtung. Hilft das nicht, muss auch hier ein Austausch der Säule in Betracht gezogen werden. Dieser wird unerlässlich, wenn der maximale für die Säule erlaubte Gegendruck erreicht ist.

Retentionszeit

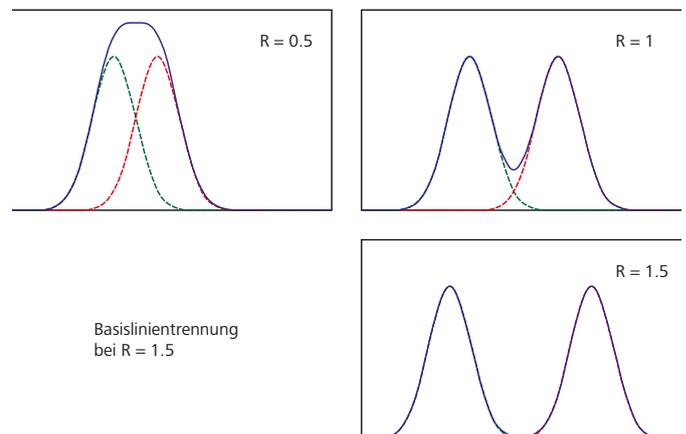
Um die Veränderung der Retentionszeit zu verfolgen, wird die Retentionszeit des letzten Peaks im Chromatogramm überwacht. Sulfat eignet sich hierfür beispielsweise, da es meist ganz zum Schluss eluiert. Auch hier arbeiten Sie mit einer Common Variable, um den Anfangswert zu speichern.

Instabile Retentionszeiten können durch Kohlenstoffdioxid aus der Luft oder Luftblasen im Eluenten verursacht werden. Diese Probleme lassen sich einfach beheben (siehe Tabelle 1, S. 31). Zudem könnte die Säule an Kapazität verloren haben. Der Kapazitätsverlust der Säule kann durch hochvalente Ionen verursacht werden. Die Säule sollte dann gemäss dem Säulenmerkblatt regeneriert werden, um mögliche Verschmutzungen zu entfernen. Wird dadurch keine Verbesserung erzielt, muss je nach den Anforderungen der Applikation ein Austausch der Säule erwogen werden. Dies gilt insbesondere bei fortschreitendem Kapazitätsverlust.

Auflösung

Überwachen Sie die chromatographische Auflösung, indem Sie Messungen eines vordefinierten Checkstandards einem Initialreferenzwert gegenüberstellen. Ist die Auflösung $R > 1.5$, ist die Basislinientrennung gegeben (siehe Abbildung unten). Bei hohen Matrices und dadurch verbreiterten Peaks muss die Auflösung sogar noch höher sein, damit die Basislinientrennung gewährleistet ist.

Stellen Sie zunächst sicher, dass der Verlust der Auflösung seine Ursache nicht im Eluenten oder im IC-System hat. Ist das ausgeschlossen, kann die adsorptive Wirkung von Verunreinigungen in der Vor- oder Trennsäule verantwortlich für den Auflösungsverlust sein. Eine verunreinigte Vorsäule sollte ausgetauscht werden. Liegt die Ursache des Problems in der Trennsäule, sollte diese gemäss dem Säulenmerkblatt regeneriert werden, um sie von möglichen organischen oder anorganischen Verschmutzungen zu befreien. Bei fortschreitendem Auflösungsverlust ist ein Austausch unvermeidbar.



Trennstufen

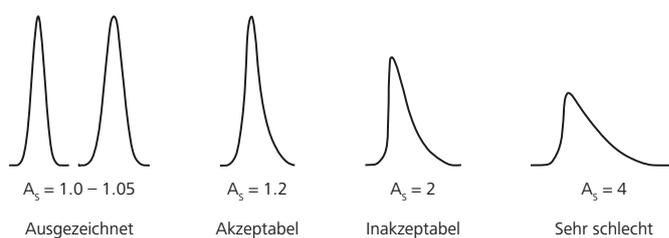
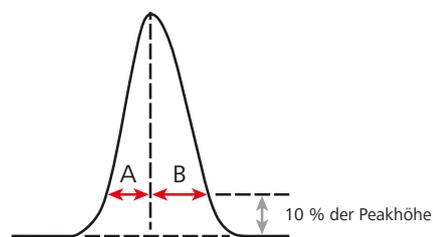
Speichern Sie die anfängliche Trennstufenzahl in MagIC Net als Common Variable ab. Üblicherweise wird der zuletzt eluierende Peak verwendet, im Anionenchromatogramm eignet sich z. B. Sulfat. Verwenden Sie die benutzerdefinierten Resultate, um die Entwicklung der Trennstufenzahl zu verfolgen.

Die Abnahme der Trennstufenzahl kann auf Totvolumen im IC-System hinweisen (s. Tabelle 1). Eine geringe Trennstufenzahl kann auch dann beobachtet werden, wenn die Säule z. B. durch eine hohe Salzkonzentration in der Probenmatrix überladen wurde. Wenn die Trennstufenzahl um über 20 % abnimmt, weist das darauf hin, dass die Säulenleistung nachlässt. Je nach den Anforderungen der Applikation kann Handlungsbedarf bestehen. Ist die Vorsäule der Grund für die abnehmende Leistung, sollte sie ersetzt werden. Liegt das Problem in der Trennsäule, empfiehlt sich eine Säulenregeneration gemäss dem Säulenmerkblatt, um eventuelle organische oder anorganische Verunreinigungen zu eliminieren. Hilft das nicht, muss über einen Austausch der Säule nachgedacht werden, insbesondere wenn ein Trend hin zu niedrigeren Trennstufenzahlen beobachtet wird.

Asymmetrie

Bestimmen Sie die anfängliche Asymmetrie ihrer Analyten durch Messung eines vordefinierten Checkstandards unter den Analysenbedingungen Ihrer Applikation. Speichern sie ihn als Common Variable. Verwenden Sie dann die benutzerdefinierten Resultate, um die Entwicklung der Asymmetrie im Verlauf der Zeit zu beobachten. Die maximalen akzeptablen Werte für die Asymmetrie unterscheiden sich je nach Analyt. Zum Beispiel weisen Calcium- und Magnesium-Peaks initial bereits verhältnismässig hohe Asymmetriewerte auf.

Asymmetrie ist definiert als der Abstand von der Mittellinie des Peaks zur absteigenden Peakseite (B in der Abbildung) geteilt durch den Abstand von der Mittellinie des Peaks zur aufsteigenden Peakseite (A in der Abbildung), wobei beide Abstände bei 10 % der Peakhöhe gemessen werden.



$A_s > 1$ bedeutet Tailing und $A_s < 1$ bedeutet Fronting. Die beste Chromatographie wird mit Peak-Asymmetrien möglichst nahe bei 1 erreicht. Allgemein lässt sich sagen, dass die Säulenleistung nachlässt, wenn die Asymmetrie $A_s > 2$ oder $A_s < 0.5$ ist. Je nach Anforderungen der Applikation müssen in diesem Fall Massnahmen getroffen werden, um die Symmetrie zu verbessern und dadurch eine bessere Integration zu ermöglichen. Der Grund für hohe Asymmetriewerte kann im Ionenchromatographen liegen – z. B. aufgrund von Totvolumen. Ist das nicht der Fall, gilt es herauszufinden, ob die Asymmetrie durch Probleme mit der Vorsäule oder mit der Trennsäule verursacht wird. Verursacht die Vorsäule die Asymmetrie, so sollte sie ausgetauscht werden. Ist es die Trennsäule, so sollte sie zunächst gemäss dem Säulenmerkblatt regeneriert werden, um mögliche organische oder anorganische Verschmutzungen zu entfernen. Hilft das nicht, muss ein Austausch der Säule in Betracht gezogen werden. Ist ein Trend hin zu höheren Asymmetriewerten zu beobachten, wird ein Austausch unerlässlich.

Tabelle 1. Leistungsrückgang von IC-Säulen vorbeugen und korrigieren

| Ursache | | Vorbeugungs- bzw. Korrekturmassnahmen |
|--------------------------|---|---|
| Steigender Gegendruck | Partikel auf der Vorsäule | Vorsäule ersetzen |
| | Partikel auf der Trennsäule | Trennsäule in umgekehrter Flussrichtung ausspülen <ul style="list-style-type: none"> • Säulenausgang in ein Becherglas halten • Trennsäule ca. eine Stunde lang ausspülen • Trennsäule wieder in Flussrichtung einsetzen |
| Verkürzte Retentionszeit | Partikel in der Probe | Probenvorbereitung, z. B. Partikel durch Inline-Ultrafiltration entfernen |
| | Carbonat im Eluenten | Kohlenstoffdioxid aus der Luft beeinflusst das Carbonat-Hydrogencarbonat-Gleichgewicht im Eluenten. Ein Carbonat-Hydrogencarbonat-Eluent wird mit der Zeit schwächer, ein Hydroxid eluent stärker. <ul style="list-style-type: none"> • Eluentenflaschen und Flaschen mit Eluentkonzentrat immer gut verschliessen • Immer einen CO₂-Adsorber verwenden |
| | Luftblasen im Eluenten | Durch Luftblasen wird der Eluentenfluss instabil. Der Gegendruck ist ein Indikator für instabilen Fluss. Er sollte in einem Bereich von ± 0.1 MPa stabil bleiben. <ul style="list-style-type: none"> • Entlüften Sie die Hochdruckpumpe • Verwenden Sie einen Eluent-Degasser |
| Auflösungsverlust | Kapazitätsverlust der Säule aufgrund hochvalenter Ionen | Regeneration der Säule gemäss Säulenmerkblatt, um mögliche anorganische Ablagerungen zu entfernen. |
| | Eluent zu alt oder falsch hergestellt | Eluenten sollten frisch hergestellt werden. Achten Sie auf eine korrekte Herstellung, insbesondere darauf, dass Carbonat und Hydrogencarbonat nicht vertauscht werden. |
| Trennstufenverlust | Adsorptive Wirkung von in der Vorsäule abgelagerten Verunreinigungen | Vorsäule ersetzen |
| | Adsorptive Wirkung von in der Trennsäule abgelagerten Verunreinigungen | Regeneration der Säule gemäss Säulenmerkblatt, um mögliche organische oder anorganische Ablagerungen zu entfernen. |
| | Vorsäule verschmutzt | Vorsäule ersetzen |
| | Trennsäule verschmutzt Trennsäule wurde überladen | Regeneration der Säule gemäss Säulenmerkblatt, um mögliche organische oder anorganische Ablagerungen zu entfernen. Die Trennsäule kann z. B. durch hohen Salzgehalt in der Probenmatrix überladen werden. <ul style="list-style-type: none"> • Probe verdünnen • Weniger Probe injizieren |
| Asymmetrie | Totvolumen im IC-System | <ul style="list-style-type: none"> • Überprüfen, dass alle Kapillaren einen Durchmesser ≤ 0.25 mm haben; wenn nicht, Kapillaren ersetzen • Überprüfen, ob alle Kapillaren korrekt installiert wurden. Der Installationsprozess ist im Multimediaguide «IC Maintenance» Schritt für Schritt erklärt. |
| | Totvolumen oder Verunreinigungen auf der Vorsäule Trennsäule verschmutzt | Vorsäule ersetzen Regeneration der Säule gemäss Säulenmerkblatt, um mögliche organische oder anorganische Ablagerungen zu entfernen. |