

# Säulenhandbuch



Metrosep Carb 2 (6.1090.XX0 / 6.01090.XX0)

## Handbuch

8.107.8039DE / 2016-08-30





Metrohm AG  
CH-9100 Herisau  
Schweiz  
Telefon +41 71 353 85 85  
Fax +41 71 353 89 01  
[info@metrohm.com](mailto:info@metrohm.com)  
[www.metrohm.com](http://www.metrohm.com)

## **Säulenhandbuch**

**Metrosep Carb 2 (6.1090.XX0 /  
6.01090.XX0)**

**Handbuch**

Technische Dokumentation  
Metrohm AG  
CH-9100 Herisau  
[techdoc@metrohm.com](mailto:techdoc@metrohm.com)

Diese Dokumentation ist urheberrechtlich geschützt. Alle Rechte vorbehalten.

Diese Dokumentation wurde mit grösster Sorgfalt erstellt. Dennoch sind Fehler nicht vollständig auszuschliessen. Bitte richten Sie diesbezügliche Hinweise an die obenstehende Adresse.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Allgemeine Informationen</b>	<b>1</b>
1.1 Bestellinformationen .....	1
1.2 Technische Spezifikationen .....	2
<b>2 Allgemeines ABC des Arbeitens mit Trennsäulen</b>	<b>4</b>
<b>3 Eluentherstellung</b>	<b>8</b>
3.1 Chemikalien .....	8
3.2 Herstellung des Standardeluenten .....	9
<b>4 Inbetriebnahme</b>	<b>11</b>
4.1 Vorsäule anschliessen und spülen .....	12
4.2 Trennsäule anschliessen .....	15
4.3 Konditionierung .....	18
<b>5 Applikationen</b>	<b>20</b>
5.1 Standardchromatogramm .....	20
5.2 Effekte der Flussratenmodifikation .....	22
5.3 Einfluss der Temperatur .....	24
5.4 Variation des Eluenten .....	26
5.5 Bestimmung der Hauptzuckeranteile in Apfelsaft .....	29
5.6 Luftpartikel-Analyse von Tracern wie Levoglucosan von Holzfeuern .....	30
5.7 Kosmetikproduktanalyse .....	31
5.8 Bestimmung von Lactose in lactosefreier Milch .....	32
5.9 Multikomponentenanalyse .....	33
5.10 Joghurt .....	34
5.11 Meerwasseranalyse mittels UV-Detektion .....	35
5.12 Bestimmung von Chrom-Spezies .....	36
5.13 Verwendung der Metrosep $\text{CO}_3^{2-}$ Trap 1 – 100/4.0 .....	37
5.14 Verwendung der Metrosep $\text{BO}_3^{3-}$ Trap 1 – 100/4.0 .....	37
<b>6 Problembehandlung</b>	<b>38</b>
6.1 Regeneration .....	38
6.2 Abnehmende Auflösung / Peakformen .....	39



<b>6.3</b>	<b>Instabile Retentionszeiten .....</b>	<b>40</b>
<b>6.4</b>	<b>Unbekannte Peaks .....</b>	<b>41</b>
<b>6.5</b>	<b>Steigender Rückdruck .....</b>	<b>41</b>
<b>7</b>	<b>Literatur</b>	<b>42</b>
	<b>Index</b>	<b>43</b>

# 1 Allgemeine Informationen

Die Trennsäule Metrosep Carb 2 eignet sich speziell für die Bestimmung von Kohlenhydraten unter Verwendung alkalischer Eluenten und der gepulsten amperometrischen Detektion. Die Analyse von Zuckeralkoholen, Anhydrozucker, Monosacchariden sowie Disacchariden kann mit dieser Säule durchgeführt werden.

Weiter lässt sich die Metrosep Carb 2 auch für die Bestimmung von Nitrit, Bromid und Nitrat in Meerwasser einsetzen.

## 1.1 Bestellinformationen

*Tabelle 1 Säulen 4mm*

<b>Bestellnummer</b>	<b>Bezeichnung</b>
6.1090.410	Metrosep Carb 2 - 100/4.0
6.1090.420	Metrosep Carb 2 - 150/4.0
6.1090.430	Metrosep Carb 2 - 250/4.0

*Tabelle 2 Säulen 2mm*

<b>Bestellnummer</b>	<b>Bezeichnung</b>
6.01090.210	Metrosep Carb 2 - 100/2.0
6.01090.220	Metrosep Carb 2 - 150/2.0
6.01090.230	Metrosep Carb 2 - 250/2.0

*Tabelle 3 Vorsäulen*

<b>Bestellnummer</b>	<b>Bezeichnung</b>
6.1090.500	Metrosep Carb 2 Guard/4.0
6.1090.510	Metrosep Carb 2 S-Guard/4.0
6.01090.600	Metrosep Carb 2 Guard/2.0
6.01090.610	Metrosep Carb 2 S-Guard/2.0



## 1.2 Technische Spezifikationen

<i>Säulenmaterial</i>	Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymer mit quaternären Ammoniumgruppen		
<i>Partikelgrösse</i>	5 µm		
<i>Abmessungen</i>	<b>Bestellnummer</b> <b>Abmessungen</b>		
	6.1090.410	100 × 4.0 mm	
	6.1090.420	150 × 4.0 mm	
	6.1090.430	250 × 4.0 mm	
	6.01090.210	100 × 2.0 mm	
	6.01090.220	150 × 2.0 mm	
	6.01090.230	250 × 2.0 mm	
<i>pH-Bereich</i>	0 bis 14		
<i>Temperaturbereich</i>	20 bis 60 °C		
<i>Empfohlene Standardtemperatur</i>	30 °C		
<i>Maximaler Druck</i>	20 MPa (200 bar)		
<i>Flussrate</i>	<b>Bestellnummer</b>	<b>Empfohlene Flussrate</b>	<b>Maximale Flussrate</b>
	6.1090.410	0.8 mL/min	1.6 mL/min
	6.1090.420	0.8 mL/min	1.2 mL/min
	6.1090.430	0.5 mL/min	0.8 mL/min
	6.01090.210	0.2 mL/min	0.7 mL/min
	6.01090.220	0.13 mL/min	0.45 mL/min
	6.01090.230	0.13 mL/min	0.30 mL/min
<i>Standardeluent</i>	100 mmol/L Natriumhydroxid + 10 mmol/L Natriumacetat		
<i>Erlaubte organische Zusätze</i>			
<i>im Eluenten</i>	0 bis 50 % Acetonitril oder Methanol		
<i>in der Probenmatrix</i>	0 bis 100 % Aceton, Acetonitril oder Methanol		
<i>Vorbereitung</i>	1. Die Säule mit einem Flussgradienten innerhalb von 5 min auf den Standardfluss einstellen.		

2. Die Säule während 2 h bei 30 °C mit dem gewünschten Eluenten einspülen.

## *Aufbewahrung*

Die Säule in Standardeluent bei Raumtemperatur lagern.

## *Typischer Druck*

Für Säulen mit Vorsäule unter Standardbedingungen

<b>Bestellnummer</b>	<b>Typischer Druck</b>
6.1090.410	9 MPa ( $\pm 2$ MPa)
6.1090.420	9 MPa ( $\pm 2$ MPa)
6.1090.430	10 MPa ( $\pm 2$ MPa)
6.01090.210	5.5 MPa ( $\pm 2$ MPa)
6.01090.220	5.5 MPa ( $\pm 2$ MPa)
6.01090.230	8.0 MPa ( $\pm 2$ MPa)

## Gehäusematerial

intelligente Säule mit Chip, sogenannte iColumn aus PEEK

## Anwendung

Bestimmung von Kohlenhydraten wie Mono- und Disaccharide, Zuckeralkohole, Anhydrozucker, Aminozucker, substituierte Zucker, Oligosaccharide

## *Optionen*

Einsetzbar mit folgenden Trap-Säulen:

- Metrosep  $\text{BO}_3^{3-}$  Trap 1 - 100/4.0 (6.1015.200)
  - Metrosep  $\text{CO}_3^{2-}$  Trap 1 - 100/4.0 (6.1015.300)



## 2 Allgemeines ABC des Arbeitens mit Trennsäulen

### Aufbewahrung

Wenn sich der Rückdruck in Ihrem Ionenchromatographen abgebaut hat, bauen Sie die Säule bei Raumtemperatur aus. Verschliessen Sie die Säule beidseitig mit den originalen Stopfen (6.2744.060). Bewahren Sie sie im Standardeluenten bei Raumtemperatur auf.

### Bakterienwachstum

Bakterienwachstum verschlechtert die Chromatographie signifikant und zerstört Trennsäulen. Sehr viele chromatographische Probleme sind auf den Bewuchs mit Algen, Bakterien und Pilzen zurückzuführen.

Um Bakterienwachstum zu verhindern, setzen Sie Eluenten, Spülösungen und Regenerierlösungen immer frisch an. Verwenden Sie keine Lösungen, die Sie länger nicht gebraucht haben. Wir empfehlen, alle Gefäße vor dem erneuten Befüllen wie folgt zu reinigen:

1. Gründlich mit hochreinem und UV-behandeltem Wasser ( $> 18.2 \text{ M}\Omega$ ) spülen.
2. Mit einem Methanol-Wasser-Gemisch oder einem Aceton-Wasser-Gemisch ausschwenken.
3. Nochmals mit Wasser spülen.

Wenn sich trotz dieser Vorsichtsmassnahmen Bakterien oder Algen bilden, dürfen Sie dem Eluenten 5 % Methanol oder Acetonitril zusetzen.

### Chemikalienqualität

Sämtliche Chemikalien müssen mindestens die Qualität p.a. oder puriss. aufweisen. Standardlösungen müssen speziell für die Ionenchromatographie geeignet sein.

### Chemischer Stress

Obwohl viele Trennphasen von der Spezifikation her pH 0 bis 14 tolerieren, bedeutet das nicht, dass sie chemisch inert sind. Trennsäulen erreichen die längste Lebensdauer unter konstanten chemischen Bedingungen. Eine Säule darf niemals austrocknen und muss immer gut verschlossen sein.

### CO<sub>2</sub>

Kohlendioxid aus der Luft beeinflusst Natriumhydroxid-Eluenten. Der Eluent entwickelt mit der Zeit eine stärkere Elutionskraft. Um das zu vermeiden, rüsten Sie die Eluentenflasche immer mit einem CO<sub>2</sub>-Adsorbermaterial ("Natronkalk", "soda lime") aus.

### Eluentenflaschen

Die Eluenten werden in speziellen Eluentenflaschen meist direkt auf dem IC-System platziert. Damit keine Feuchtigkeit und kein Kohlendioxid in den Eluenten gelangt, sind die Flaschen mit einem Adsorberrohr versehen. Im

Normalfall ist das Adsorberrohr mit Molekularsieb und für Natriumhydroxid-Eluenten und Carbonat-Eluenten mit Natronkalk – als schwacher CO<sub>2</sub>-Adsorber – gefüllt.

#### *Entgasen des Eluenten*

Um Blasenbildung zu verhindern, empfehlen wir, die hergestellten Eluenten vor ihrer Verwendung im IC-System zu entgasen. Legen Sie dafür für ca. zehn Minuten mit einer Wasserstrahlpumpe oder einer Ölspülung ein Vakuum an. Verwenden Sie ein Ultraschallbad, oder arbeiten Sie mit dem Eluent-Degasser.

#### *Filter*

Wenn Probleme mit IC-Systemen auftreten, so stehen sie meistens im Zusammenhang mit Partikeln. Diese können aus folgenden Quellen eingeschleppt werden:

- durch Bakterienwachstum
- durch nicht filtrierte Eluenten
- aus der Probe
- durch die Spülösung und/oder Regenerierlösung

Minimieren Sie dieses Risiko, indem Sie einen Ansaugfilter (6.2821.090), den Inline-Filter (6.2821.120) und eine Vorsäule verwenden. Die Filter gehören zur Grundausrüstung der Metrohm-Ionenchromatographen und sind im Lieferumfang enthalten. Wir empfehlen auch, die Filter regelmäßig zu ersetzen.

#### *Filtrieren des Eluenten*

Alle Eluenten müssen unmittelbar vor ihrer Verwendung mikrofiltriert (0.45 µm) werden.

#### *Partikel*

Sämtliche Lösungen, Proben, Regenerierlösungen, das Wasser und die Eluenten müssen frei von Partikeln sein. Partikel verstopfen mit der Zeit die Trennsäulen (der Säulendruck steigt an). Achten Sie besonders bei der Herstellung der Eluenten auf Partikelfreiheit. Der Eluent fließt kontinuierlich durch die Säule, pro Arbeitstag 500 bis 1000 mL im Vergleich zu ca. 0.5 mL Probenlösung. Filtrieren oder dialysieren Sie die Probe vollautomatisch mit einer der Metrohm Inline-Probenvorbereitungstechniken (MISP).

#### *Probenvorbereitungskartuschen*

Probenvorbereitungskartuschen dienen der Vorbereitung kritischer Proben, die nicht direkt in die Trennsäule injiziert werden dürfen. Sie entfernen z. B. organische Verunreinigungen oder neutralisieren stark alkalische oder saure Proben. Probenvorbereitungskartuschen sind Verbrauchsmaterialien, die in der Regel nicht regeneriert werden können. Probenvorbereitungskartuschen ersetzen nicht die Vorsäule, die mit jeder Trennsäule standardmäßig verwendet werden sollte. Alternativ zu Probenvorbereitungskartuschen bieten sich Metrohm Inline-Probenvorbereitungstechniken (MISP) an, z. B. für die Neutralisation alkalischer Proben.

#### *Pulsationsdämpfer*

Wir empfehlen, einen Pulsationsdämpfer (6.2620.150) zu verwenden. Vor allem die Polymethacrylat-Säulen und Polyvinylalkohol-Säulen müssen vor



kurzen Druckstößen, die zwangsläufig beim Schalten der Ventile entstehen, geschützt werden.

#### *Mechanischer Stress*

Jede mechanische Belastung der Säule sollte vermieden werden. Wenn die Säule beispielsweise auf eine harte Oberfläche aufschlägt, kann in der Säulenpackung (Trennphasenmaterial) ein Bruch oder eine Lücke entstehen, was sich auf die Chromatographie auswirkt. Die Säule wird dadurch irreversibel zerstört.

#### *Regenerieren von Trennsäulen*

Wenn Trennsäulen mit sauberen Eluenten betrieben und mit partikelfreien Proben beladen werden, so ist in der Regel eine sehr lange Lebensdauer zu erwarten. Eine Regeneration der Säule ist dann nicht erforderlich und nach einer Vielzahl von Injektionen auch nicht mehr möglich.

Falls dennoch unerwartet der Druck der Säule ansteigen oder die Trennleistung nachlassen sollte, dann können die zu jeder Säule angegebenen Regenerationsschritte durchgeführt werden. Generell ist zu beachten, dass die Regeneration ausserhalb der analytischen Linie stattfindet. Schliessen Sie die Trennsäule direkt an die Pumpe an. Leiten Sie die Regenerierlösung durch die Säule direkt in den Abfallbehälter. Bevor die Trennsäule wieder eingebaut wird, muss sie ausreichend mit frischem Eluenten gespült werden.

#### *Stilllegen des Ionenchromatographen*

Wenn Sie über längere Zeit (> 1 Woche) nicht mit dem Ionenchromatographen arbeiten, dann empfehlen wir, die Trennsäule auszubauen und mit den mitgelieferten Stopfen zu verschliessen. Spülen Sie den Ionenchromatographen mit Methanol/Wasser (1:4). Lagern Sie die Trennsäule in dem auf dem Säulenmerkblatt verzeichneten Medium und wenn nicht anderes erwähnt am besten zwischen 4 und 8 °C.

Wenn Sie mit Natriumhydroxid-Eluenten arbeiten, spülen Sie die Lauge spätestens nach einer Standzeit von zwei Tagen mit Wasser aus dem Ionenchromatographen heraus.

Wenn Sie das Gerät wieder in Betrieb nehmen, spülen Sie den Ionenchromatographen mit frischem Eluenten. Bringen Sie Trennsäule wieder auf Raumtemperatur, bevor Sie sie einbauen. Anschliessend ggf. die Temperatur erhöhen.

#### *Spass*

Ionenchromatographie soll Spass machen und nicht Ihre Nerven strapazieren. Metrohm setzt alles daran, dass Ihre IC-Systeme mit einem Minimum an Unterhalt, Wartung und Kosten zuverlässig arbeiten. Metrosep-Trennsäulen stehen für Qualität, lange Lebensdauer und ausgezeichnete Ergebnisse.

#### *Umweltschutz*

Ein grosser Vorteil der Ionenchromatographie ist, dass meistens mit wässrigen Medien gearbeitet wird. Die in der Ionenchromatographie verwen-

deten Chemikalien sind deshalb weitestgehend ungiftig und belasten die Umwelt nicht. Sofern Sie jedoch mit Säuren, Basen, organischen Lösungsmitteln oder Schwermetallstandards arbeiten, entsorgen Sie diese nach Gebrauch ordnungsgemäß.

## Vorsäulen

Vorsäulen dienen dem Schutz der Trennsäulen. Ihre Verwendung wird dringend empfohlen. Sie enthalten in der Regel die gleiche stationäre Phase, die auch in den Trennsäulen verwendet wird, jedoch in deutlich geringerer Menge, um einen Einfluss auf die Chromatographie zu verhindern. Vorsäulen entfernen kritische Verunreinigungen, die mit dem Säulenmaterial reagieren könnten, zudem entfernen sie wirkungsvoll Partikel und bakterielle Verunreinigungen. Spätestens wenn der Gegendruck im System ansteigt oder wenn sich die Chromatographie verschlechtert, ist es an der Zeit, die Vorsäule zu wechseln. Vorsäulen sind für alle Metrosep-Trennsäulen erhältlich.

## Wasserqualität

In der Ionenchromatographie wird vorwiegend mit wässrigen Medien gearbeitet. Die Wasserqualität ist deshalb ganz entscheidend für eine gute Chromatographie. Ist die Wasserqualität ungenügend, so sind es die Ergebnisse definitiv auch. Zusätzlich besteht die Gefahr, dass Geräte und Trennsäulen durch ungenügende Wasserqualität beschädigt werden. Das verwendete Reinstwasser sollte einen spezifischen Widerstand grösser als  $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  aufweisen und partikelfrei sein. Wir empfehlen deshalb, das Wasser durch ein  $0.45\text{-}\mu\text{m}$ -Filter zu filtrieren und mit UV zu behandeln. Moderne Reinstwasseranlagen für den Laborbedarf garantieren diese Wasserqualität (Typ I).



### **3 Eluentherstellung**

Wir empfehlen, sowohl für die Standardherstellung als auch für die Eluent-herstellung Chemikalien von hohem Reinheitsgrad zu wählen.

### **3.1 Chemikalien**



VORSICHT

Natriumhydroxid-Eluenten dürfen nicht aus Natriumhydroxidpellets hergestellt werden. Die äussere Schicht der Pellets beinhaltet Carbonat. Dies beeinflusst die Chromatographie!



VORSICHT

Natriumhydroxidlösungen nehmen leicht CO<sub>2</sub> aus der Luft auf. Um den Luftkontakt zu minimieren, empfehlen wir, ein Aliquot in ein zweites Gefäß zu nehmen und die Stocklösung möglichst wenig zu öffnen.

## *Empfohlene Chemikalien*

- Natriumhydroxidlösung  $\geq$  30 % in H<sub>2</sub>O, TraceSelect®  
Sigma Aldrich Bestellnummer: 13171-250ML
  - Natriumhydroxidlösung 50 bis 52 % in H<sub>2</sub>O  
Sigma Aldrich Bestellnummer: 72064-500ML
  - Natriumacetat  $\geq$  99.0 %, 82.03 g/mol, anhydrous, ReagentPlus®  
Sigma Aldrich Bestellnummer: S8750-250G
  - Deionisiertes Reinstwasser vom Typ I (siehe ASTM D1193)  
Widerstand > 18 M $\Omega$ ·cm (25 °C)  
TOC < 10 µg/L

## **3.2 Herstellung des Standardeluenten**

Für die Eluentherstellung empfehlen wir, eine Polypropylen Eluentenflasche (6.1608.120) mit zugehörigem Deckel (6.1602.200) zu verwenden. So lässt sich eine Kontamination mit Borat aus Borosilikatglas verhindern. Achten Sie außerdem darauf, dass der Eluent möglichst wenig mit der Luft in Kontakt kommt.

Um 1 L des Standardeluenten mit 100 mmol/L Natriumhydroxid und 10 mmol/L Natriumacetat herzustellen, gehen Sie wie folgt vor:

## **1 L Standardluent herstellen**

## *Erforderliches Zubehör*

- Eluentenflasche (6.1608.120)
  - Deckel (6.1602.200) ausgerüstet mit CO<sub>2</sub>-Adsorber
  - Reinstwasser
  - Natriumhydroxidlösung 50 bis 52 % in H<sub>2</sub>O
  - Natriumacetat ≥ 99.0 %, 82.03 g/mol, anhydrous, ReagentPlus®

**1** 990 mL Reinstwasser vor der Reagenzzugabe während mindestens zehn Minuten entgasen.

**2** Unter leichtem Rühren 5.3 mL 50-prozentige Natriumhydroxidlösung und 0.82 g Natriumacetat beigeben.

**3** Den Eluenten an das Chromatographiesystem anschliessen.

Eine Schicht Argon oder Stickstoff als Schutzgas über dem Eluenten aufgebracht, schützt diesen vor CO<sub>2</sub>-Kontamination.

Mit diesem Eluenten (100 mmol/L Natriumhydroxid und 10 mmol/L Natriumacetat) und den Standardbedingungen für den amperometrischen Detektor (PAD Mode, Arbeitselektrode: Au, 3 mm, Referenzelektrode: Pd; Arbeitspotential: 50 mV) ist ein Hintergrundstrom < 500 nA zu erwarten. Typischerweise beträgt das Rauschen weniger als 3 nA.

Die Tabelle 4 zeigt die Konzentrationen in mol/L und g/L sowie die entsprechende Dichte pro gegebenen Massenanteil Natriumhydroxid in Gewichtsprozent.

*Tabelle 4*

<b>NaOH in Gewichts-%</b>	<b>4.0</b>	<b>10.0</b>	<b>20.0</b>	<b>30.0</b>	<b>40.0</b>	<b>50.0</b>
NaOH in [mol/L]	1.04	2.77	6.09	9.95	14.3	19.05
NaOH in [g/L]	41.7	110.9	243.8	398.3	572.0	762.2
Dichte [g/cm <sup>3</sup> ]	1.043	1.109	1.219	1.328	1.430	1.524



Die *Tabelle 5* zeigt das benötigte Volumen (mL) und die benötigte Masse (g) für die Herstellung von 1 L Natriumhydroxid-Eluent aus einer 30-prozentigen respektive 50-prozentigen Natriumhydroxid-Stocklösung.

*Tabelle 5*

<b>Eluent Konzentration [mmol/L]</b>	<b>30 % (w/w) NaOH-Lösung</b>		<b>50 % (w/w) NaOH-Lösung</b>	
	<b>[mL]</b>	<b>[g]</b>	<b>[mL]</b>	<b>[g]</b>
5	0.5	0.7	0.3	0.4
10	1.0	1.3	0.5	0.8
20	2.0	2.7	1.1	1.6
30	3.0	4.0	1.6	2.4
40	4.0	5.3	2.1	3.2
50	5.0	6.7	2.6	4.0
60	6.0	8.0	3.2	4.8
70	7.0	9.3	3.7	5.6
80	8.0	10.7	4.2	6.4
90	9.0	12.0	4.7	7.2
100	10.0	13.4	5.3	8.0
200	20.1	26.7	10.5	16.0
300	30.2	40.0	15.8	24.0
400	40.2	53.4	21.0	32.0

Die Verwendung von organischen Zusätzen im Eluenten führt zu einer Erhöhung des Rauschens im amperometrischen Detektor. Der prozentuelle Anteil des organischen Lösungsmittels muss je nach Applikation bestimmt werden.

## 4 Inbetriebnahme



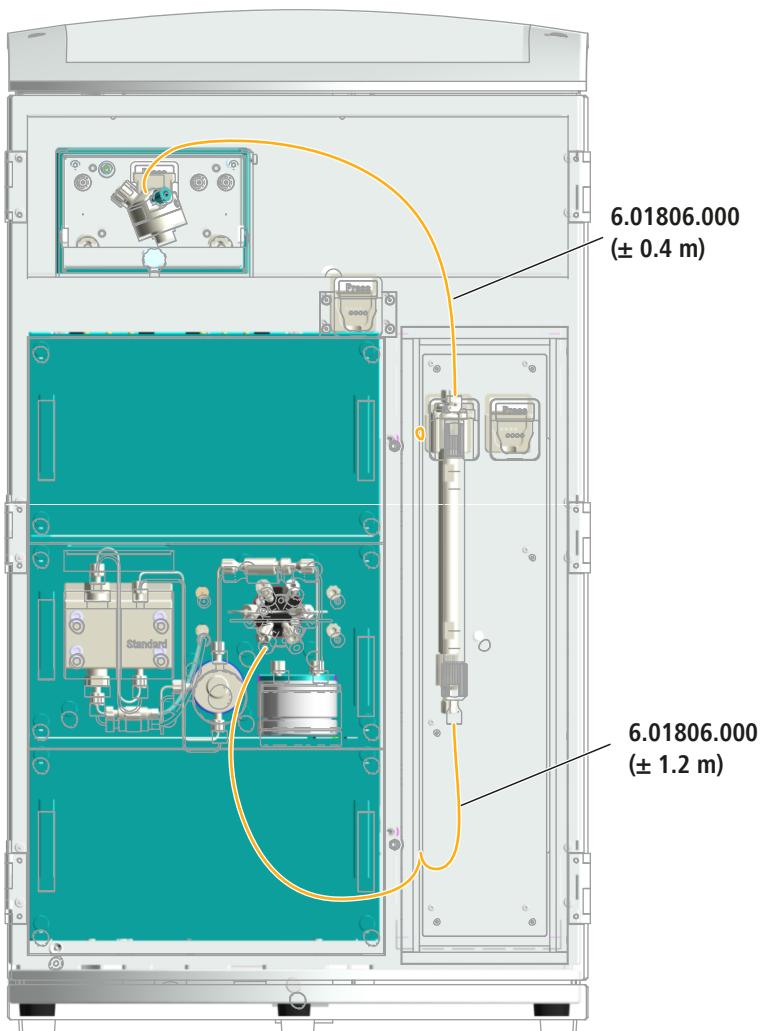
## HINWEIS

Um die Chromatographie zu optimieren, müssen die Systeme, die mit den Metrosep Carb 2 - XXX/2.0 eingesetzt werden, vor dem Einsatz angepasst werden.

Um das Totvolumen zu verringern, müssen zwei Kapillaren wie folgt ersetzt werden:

- Säulen-Einlasskapillare: Ersetzen Sie die Säulen-Einlasskapillare durch ein 1.2 m langes Stück der PEEK-Kapillare 0.18 mm i.D./ 2 m (6.01806.000).
  - Säulen-Auslasskapillare: Ersetzen Sie die Säulen-Auslasskapillare durch ein ca. 40 cm langes Stück der PEEK-Kapillare 0.18 mm i.D./ 2 m (6.01806.000).

Verbinden Sie den Auslass der Säule mit dem Einlass der amperometrischen Messzelle. Die Vorwärmkapillare im Detektor wird nicht verwendet. Je nachdem wo der Detektor platziert ist, kann die Kapillare auch kürzer sein. Je kürzer die Kapillare umso kleiner das Totvolumen und umso besser die Peakform.



## **4.1 Vorsäule anschliessen und spülen**

Vorsäulen schonen die Trennsäulen und erhöhen deren Lebensdauer beträchtlich. Die bei Metrohm erhältlichen Vorsäulen sind entweder eigentliche Vorsäulen oder Vorsäulenkartuschen, welche zusammen mit einem Kartuschenhalter verwendet werden. Die Installation einer Vorsäulenkartusche in den zugehörigen Halter ist im Merkblatt der Vorsäule beschrieben.



## HINWEIS

Metrohm empfiehlt, immer mit Vorsäulen zu arbeiten. Diese schützen die Trennsäulen und können bei Bedarf regelmässig ersetzt werden.



**HINWEIS**

Welche Vorsäule für Ihre Trennsäule geeignet ist, entnehmen Sie bitte dem **Metrohm Säulenprogramm** (das über Ihre Metrohm-Vertretung erhältlich ist), dem mitgelieferten Merkblatt Ihrer Trennsäule, den Produktinformationen zur Trennsäule auf <http://www.metrohm.com> (Produktbereich Ionenchromatographie) oder lassen Sie sich direkt von Ihrer Vertretung beraten.



**VORSICHT**

Neue Vorsäulen sind mit Lösung gefüllt und beidseitig mit Stopfen oder Kappen verschlossen.

Stellen Sie vor dem Einsetzen der Vorsäule sicher, dass diese Lösung mit dem verwendeten Eluenten mischbar ist (Angaben des Herstellers beachten).



## HINWEIS

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

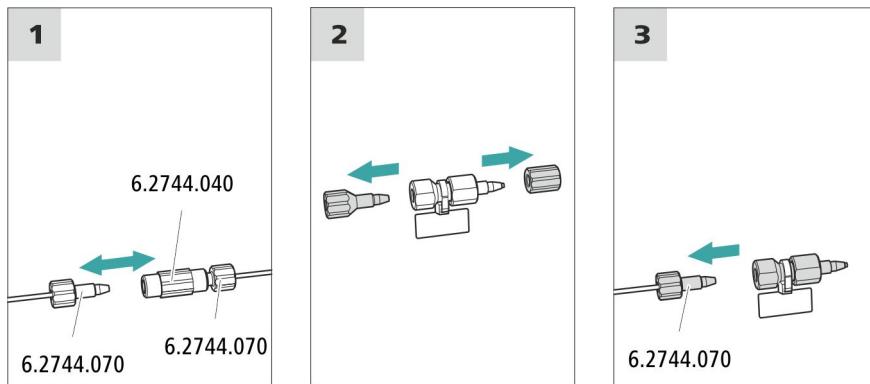
## Zubehör

Für diesen Arbeitsschritt brauchen Sie das folgende Zubehör:

- Vorsäule (passend zur Trennsäule)



### **Vorsäule anschliessen**



## 1 Kupplung entfernen

Die Kupplung (6.2744.040), die für die erste Inbetriebnahme zwischen der Säulen-Einlasskapillare und der Säulen-Auslasskapillare montiert wurde, entfernen.

## 2 Vorsäule vorbereiten

- Den Stopfen und die Verschlusskappe von der Vorsäule abschrauben.

### 3 Vorsäule anschliessen



VORSICHT

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

- Den Eingang der Vorsäule mit einer kurzen Druckschraube (6.2744.070) an der Säulen-Einlasskapillare befestigen.
  - Falls die Vorsäule mit einer Verbindungskapillare an der Trennsäule angeschlossen wird, diese Verbindungskapillare mit einer Druckschraube am Ausgang der Vorsäule befestigen.

### **Vorsäule spülen**

## 1 Vorsäule spülen

- Ein Becherglas unter den Ausgang der Vorsäule stellen.

- In MagIC Net die manuelle Bedienung starten und die Hochdruckpumpe auswählen: **Manuell** ► **Manuelle Bedienung** ► **Pumpe**
    - **Fluss: gemäss Säulenmerkblatt**
    - **Ein**
  - Die Vorsäule ca. 5 Minuten mit Eluent spülen.
  - In der manuellen Bedienung von MagIC Net die Hochdruckpumpe wieder stoppen: **Aus**.

## 4.2 Trennsäule anschliessen

Die intelligente Trennsäule (iColumn) ist das Herz der ionenchromatografischen Analyse. Sie trennt die unterschiedlichen Komponenten entsprechend ihrer Wechselwirkungen mit der Säule auf. Die Metrohm-Trennsäulen sind mit einem Chip ausgestattet, auf dem ihre technischen Spezifikationen und ihre Geschichte (Inbetriebnahme, Betriebsstunden, Injektionen usw.) abgespeichert sind.



## HINWEIS

Welche Trennsäule für Ihre Applikation geeignet ist, entnehmen Sie bitte dem **Metrohm Säulenprogramm**, den Produktinformationen zur Trennsäule oder lassen Sie sich von Ihrer Vertretung beraten.

Die Produktinformationen zur Trennsäule finden Sie auf <http://www.metrohm.com> im Produktbereich Ionenchromatographie.

Jeder Säule liegt ein Testchromatogramm und ein Merkblatt bei. Detaillierte Informationen zu speziellen IC-Applikationen finden Sie in den entsprechenden "**Application Bulletins**" oder "**Application Notes**". Diese sind im Internet unter <http://www.metrohm.com> im Bereich Applikationen zu finden oder können bei der zuständigen Metrohm-Vertretung kostenlos angefordert werden.

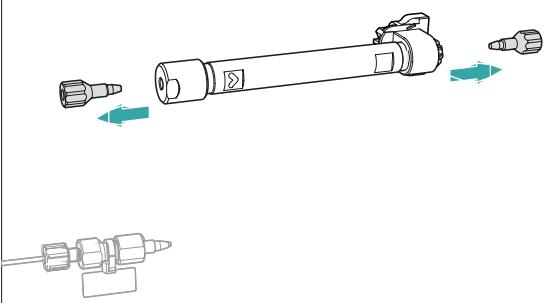
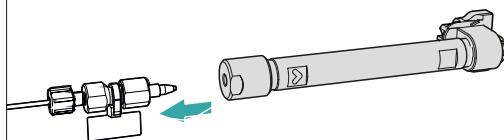
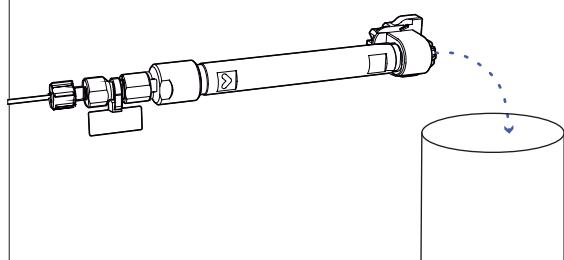
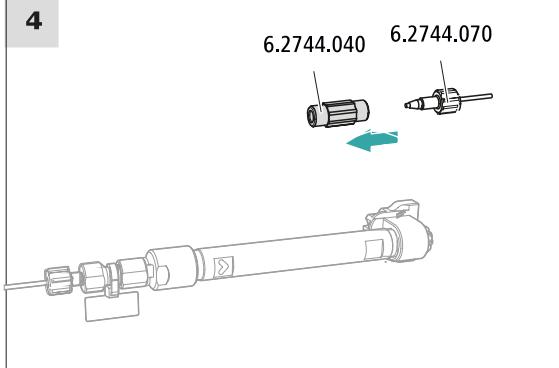
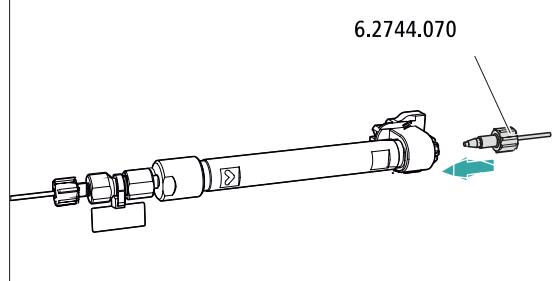
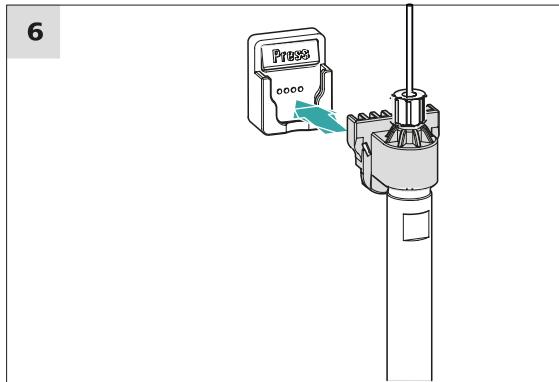


VORSICHT

Neue Trennsäulen sind mit Lösung gefüllt und beidseitig mit Stopfen verschlossen. Stellen Sie vor dem Einsetzen der Säule sicher, dass diese Lösung mit dem verwendeten Eluenten mischbar ist (Angaben des Herstellers beachten).

**HINWEIS**

Schliessen Sie die Trennsäule erst nach der ersten Inbetriebnahme des Gerätes an. Setzen Sie bis dahin anstelle der Vorsäule und der Trennsäule eine Kupplung (6.2744.040) ein.

**1****2****3****4****5****6**

## Trennsäule anschliessen

### 1 Stopfen entfernen

- Die Stopfen von der Trennsäule abschrauben.

### 2 Eingang der Trennsäule montieren



#### VORSICHT

Achten Sie beim Einsetzen der Säule immer darauf, dass diese gemäss der eingezeichneten Flussrichtung richtig eingesetzt wird.

Es gibt drei Möglichkeiten:

- Den Säuleneinlass direkt auf die Vorsäule aufschrauben, oder
- falls die Vorsäule mit einer Verbindungskapillare an der Trennsäule angeschlossen wird: Den Säuleneinlass mit der PEEK-Druckschraube (6.2744.070) an der Auslasskapillare der Vorsäule anschliessen, oder
- falls keine Vorsäule verwendet wird (nicht empfohlen): Die Säulen-Einlasskapillare mit einer kurzen Druckschraube (6.2744.070) am Eingang der Trennsäule befestigen.

### 3 Trennsäule spülen

- Ein Becherglas unter den Ausgang der Trennsäule stellen.
- In MagIC Net die manuelle Bedienung starten und die Hochdruckpumpe auswählen: **Manuell ▶ Manuelle Bedienung ▶ Pumpe**
  - Fluss:** schrittweise auf die im Säulemerkblatt empfohlene Flussrate erhöhen.
  - Ein**
- Die Trennsäule ca. zehn Minuten mit Eluent spülen.
- In der manuellen Bedienung von MagIC Net die Hochdruckpumpe wieder stoppen: **Aus**.

### 4 Kupplung entfernen

- Die Kupplung (6.2744.040) von der Säulen-Auslasskapillare entfernen.

### 5 Ausgang der Trennsäule montieren

- Die Säulen-Auslasskapillare mit einer kurzen PEEK-Druckschraube (6.2744.070) am Säulenauslass befestigen.



## 6 Trennsäule einsetzen

- Die Trennsäule mit dem Chip in den Säulenhalter einsetzen, bis sie hörbar einrastet.

Die Trennsäule wird jetzt von MagIC Net erkannt.

## **4.3 Konditionierung**

In den folgenden Fällen muss das System so lange mit Eluent konditioniert werden, bis eine stabile Basislinie erreicht ist:

- nach der Installation
  - nach jedem Einschalten des Gerätes
  - nach jedem Eluentenwechsel



## HINWEIS

Nach einem Eluentenwechsel kann sich die Konditionierzeit deutlich verlängern.

### **System konditionieren**

## 1 Software vorbereiten



VORSICHT

Achten Sie darauf, dass die eingestellte Flussrate nicht höher ist als die für die entsprechende Säule zulässige Flussrate (siehe Säulenmerkblatt und Chip-Datensatz).

- Das PC-Programm **MagIC Net** starten.
  - In MagIC Net die Registerkarte **Equilibrierung** öffnen: **Arbeitsplatz** ▶ **Ablauf** ▶ **Equilibrierung**.
  - Eine geeignete Methode auswählen (oder erstellen).  
Siehe auch: *MagIC Net Bedienungslehrgang* und Online-Hilfe.

## 2 Gerät vorbereiten

- Sicherstellen, dass die Säule gemäss der auf dem Aufkleber eingezeichneten Flussrichtung richtig eingesetzt ist (Pfeil muss in Flussrichtung zeigen).

- Sicherstellen, dass der Eluent-Ansaugschlauch in den Eluenten eingetaucht ist und genügend Eluent in der Eluentenflasche vorhanden ist.

### 3 Equilibrierung starten

- In MagIC Net die Equilibrierung starten: **Arbeitsplatz** ▶ **Ablauf** ▶ **Equilibrierung** ▶ **Start HW**.
  - Visuell kontrollieren, ob alle Kapillaren und deren Anschlüsse von der Hochdruckpumpe bis zum Detektor dicht sind. Wenn irgendwo Eluent austritt, dann die entsprechende Druckschraube stärker anziehen oder die Druckschraube lösen, das Kapillarenden prüfen und ggf. mit dem Kapillarschneider kürzen und die Druckschraube wieder anziehen.

4 System konditionieren

Das System so lange mit Eluent spülen, bis die gewünschte Stabilität der Basislinie erreicht ist.

Das Gerät ist nun bereit für Messungen von Proben.



## 5 Applikationen

## **5.1 Standardchromatogramm**

## *Probenvorbereitung:*

-

### Amperometrische Detektion:

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

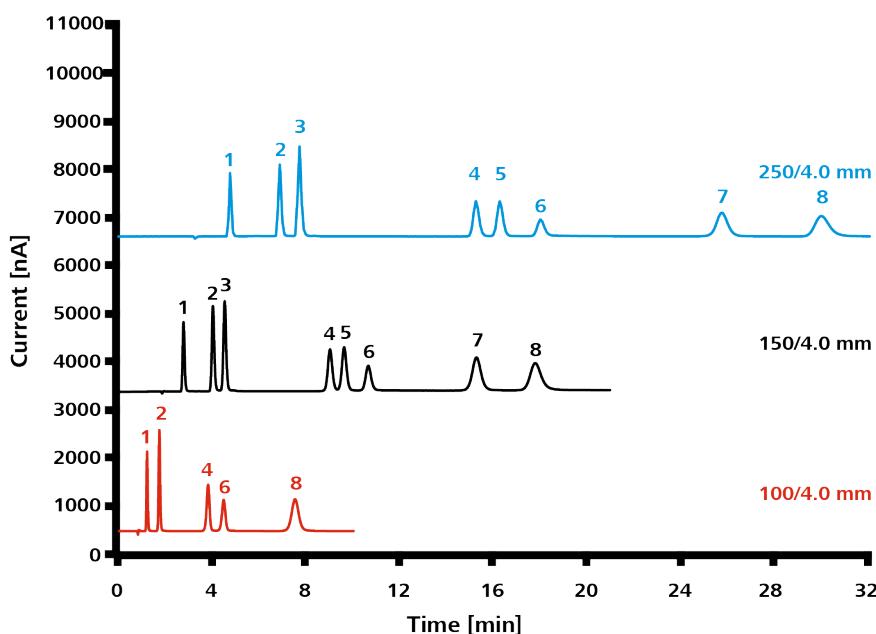
## Potentialprofil

	<b>Dauer [ms]</b>	<b>Dauer total [ms]</b>	<b>Potential [V]</b>
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

Temperatur: 30 °C

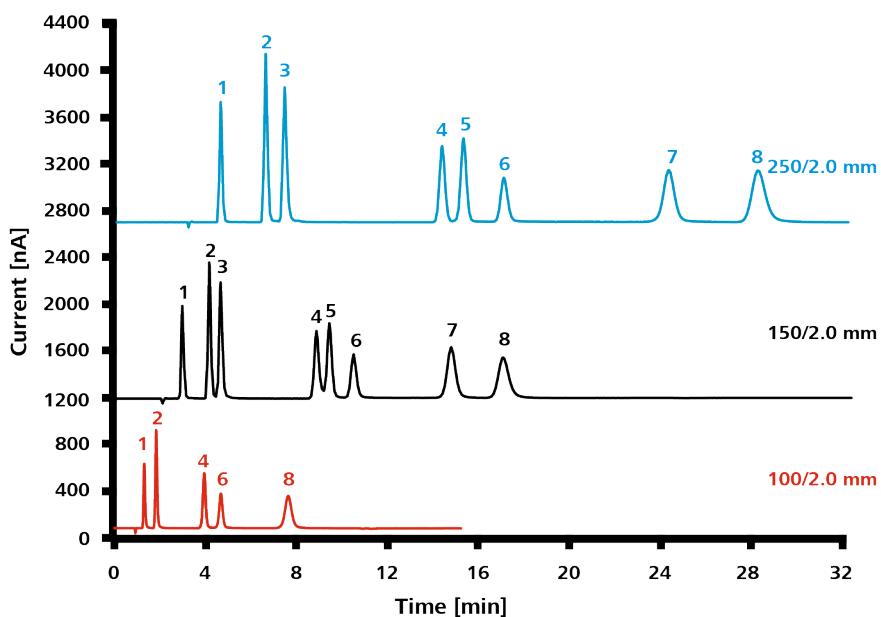
*Loop:* 4 mm: 20  $\mu$ L  
2 mm: 5  $\mu$ L

*Eluent:* 100 mmol/L Natriumhydroxid, 10 mmol/L Natriumacetat



<b>Carb 2</b>	<b>100/4.0</b>	<b>150/4.0</b>	<b>250/4.0</b>
<b>Flussrate [mL/min]</b>	<b>0.8</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>
1 2.5 mg/L Inositol	X	X	X

	<b>Carb 2</b>	<b>100/4.0</b>	<b>150/4.0</b>	<b>250/4.0</b>
	<b>Flussrate [mL/min]</b>	<b>0.8</b>	<b>0.5</b>	<b>0.5</b>
2	5 mg/L Arabitol	x	x	x
3	5 mg/L Sorbitol		x	x
4	5 mg/L Glucose	x	x	x
5	5 mg/L Xylose		x	x
6	5 mg/L Fructose	x	x	x
7	10 mg/L Lactose		x	x
8	15 mg/L Sucrose	x	x	x



	<b>Carb 2</b>	<b>100/2.0</b>	<b>150/2.0</b>	<b>250/2.0</b>
	<b>Flussrate [mL/min]</b>	<b>0.2</b>	<b>0.13</b>	<b>0.13</b>
1	2.5 mg/L Inositol	x	x	x
2	5 mg/L Arabitol	x	x	x
3	5 mg/L Sorbitol		x	x
4	5 mg/L Glucose	x	x	x
5	5 mg/L Xylose		x	x
6	5 mg/L Fructose	x	x	x
7	10 mg/L Lactose		x	x
8	15 mg/L Sucrose	x	x	x



## 5.2 Effekte der Flussratenmodifikation

4-mm-Säule

## Probenvorbereitung:

-

### Amperometrische Detektion:

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil

	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

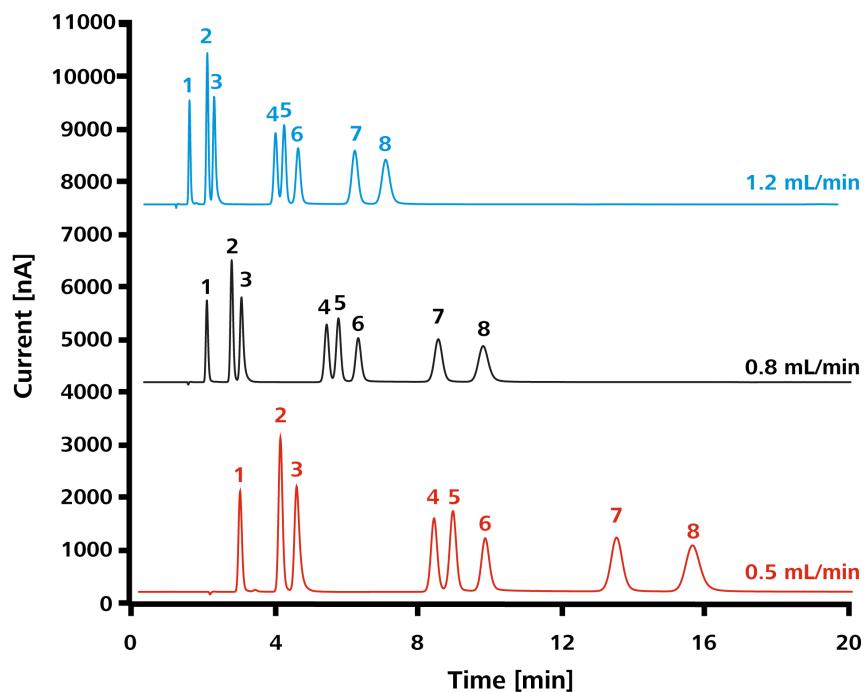
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:* 0.5, 0.8, 1.2 mL/min

Temperatur: 30 °C

*Loop:* 20 µL

*Eluent:* 100 mmol/L Natriumhydroxid, 10 mmol/L Natriumacetat



<b>Metrosep Carb 2 - 150/4.0</b>			
1	2.5 mg/L Inositol	5	5 mg/L Xylose
2	5 mg/L Arabitol	6	5 mg/L Fructose
3	5 mg/L Sorbitol	7	10 mg/L Lactose
4	5 mg/L Glucose	8	15 mg/L Sucrose

## **2-mm-Säule**

## *Probenvorbereitung:*

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil

	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

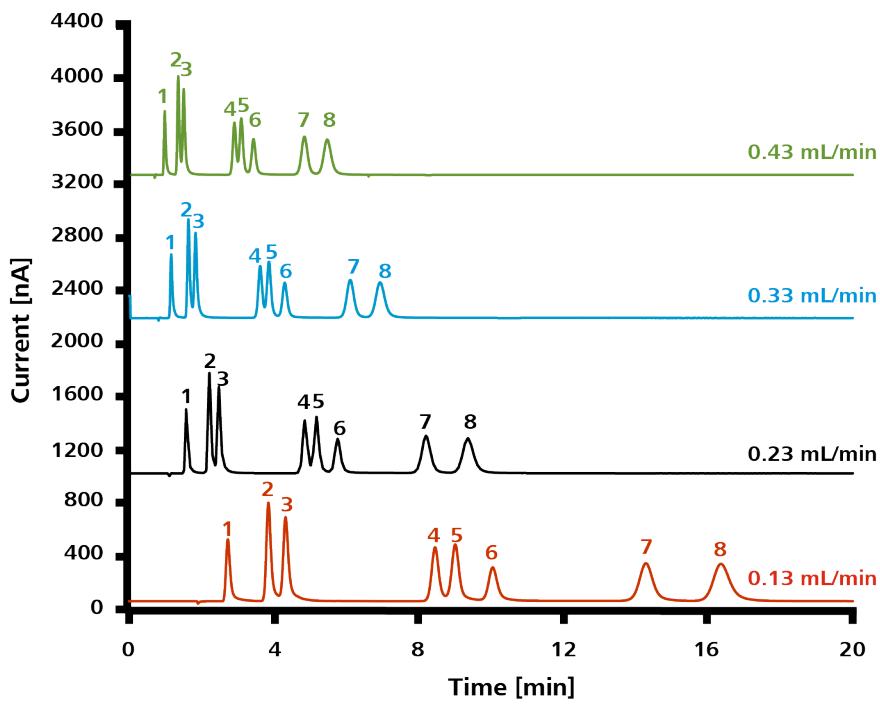
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/2.0

Flussrate: 0.13, 0.23, 0.33, 0.43 mL/min

Temperatur: 30 °C

*Loop:* 5 µL

*Eluent:* 100 mmol/L Natriumhydroxid, 10 mmol/L Natriumacetat



## Metrosep Carb 2 - 150/4.0

1	2.5 mg/L Inositol	5	5 mg/L Xylose
2	5 mg/L Arabitol	6	5 mg/L Fructose
3	5 mg/L Sorbitol	7	10 mg/L Lactose
4	5 mg/L Glucose	8	15 mg/L Sucrose

## **5.3 Einfluss der Temperatur**

## Probenvorbereitung:

-

*Amperometrische  
Detektion:*

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil

	<b>Dauer [ms]</b>	<b>Dauer total [ms]</b>	<b>Potential [V]</b>
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

## Säule:

Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:*

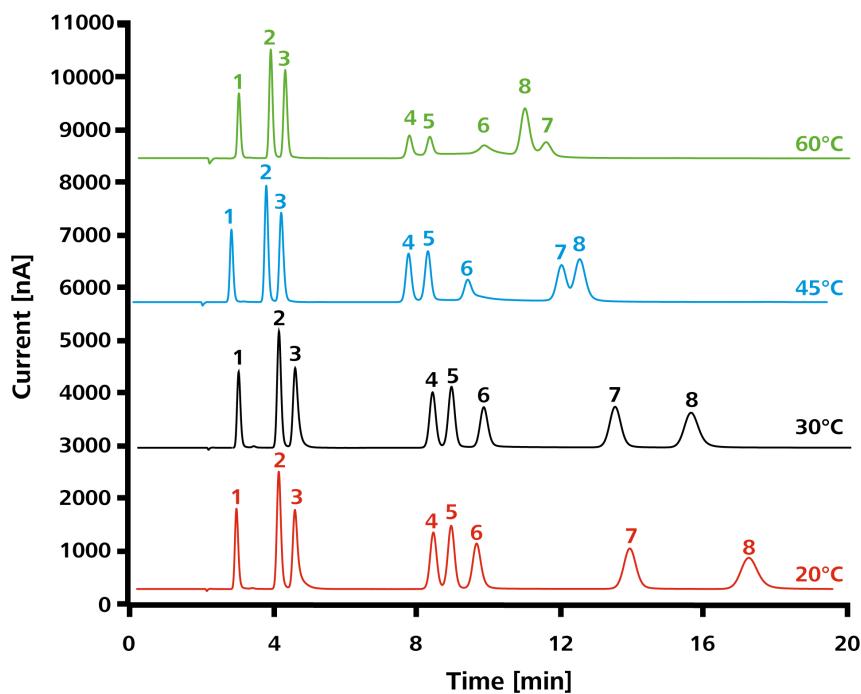
0.5 mL/min

*Temperatur:*

20, 30, 45, 60 °C

Loop: 20 µL

Eluent: 100 mmol/L Natriumhydroxid, 10 mmol/L Natriumacetat

**Metrosep Carb 2 - 150/4.0**

1	2.5 mg/L Inositol	5	5 mg/L Xylose
2	5 mg/L Arabitol	6	5 mg/L Fructose
3	5 mg/L Sorbitol	7	10 mg/L Lactose
4	5 mg/L Glucose	8	15 mg/L Sucrose

Der Hintergrundstrom steigt mit höherer Temperatur stetig an. Wenn der Hintergrundstrom bei 20 °C noch 130 nA beträgt, steigt er bei 60 °C auf über 750 nA an. Grundsätzlich führen höhere Temperaturen zu kürzeren Retentionszeiten. Die Fructose verliert deutlich an Empfindlichkeit, wenn bei Temperaturen über 45 °C analysiert wird. Die Sucrose eluiert bei 60 °C vor der Lactose.



## **5.4 Variation des Eluenten**

## **Variation der Natriumhydroxid-Konzentration**

## *Probenvorbereitung:*

-

## Amperometrische Detektion:

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil

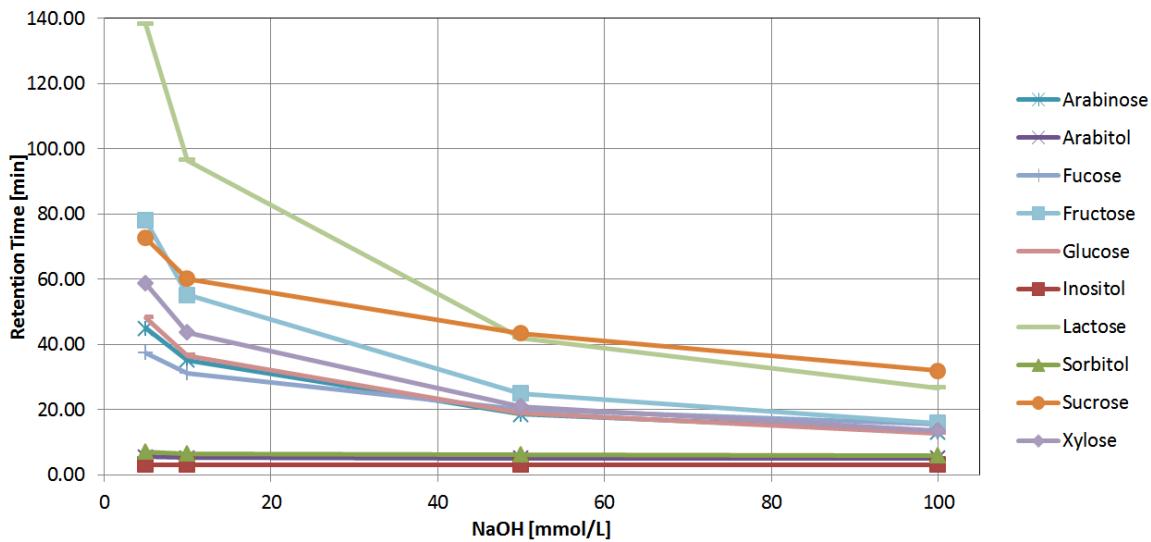
	<b>Dauer [ms]</b>	<b>Dauer total [ms]</b>	<b>Potential [V]</b>
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:* 0.5 mL/min

Temperatur: 30 °C

*Eluent:* 5, 10, 50, 100 mmol/L Sodiumhydroxid, 0 mmol/L Sodiumacetat



Die Retentionszeit wird mit zunehmender Natriumhydroxid-Konzentration, insbesondere für die Mono- und Disaccharide, stark verkürzt. Zuckeralkohole werden nur minimal beeinflusst. Sucrose und Lactose tauschen die Elutionsreihenfolge.

## Variation Natriumacetat-Konzentration neben 150 mmol/L Natriumhydroxid

*Probenvorbereitung:*

-

*Amperometrische Detektion:*

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

*Potentialprofil*

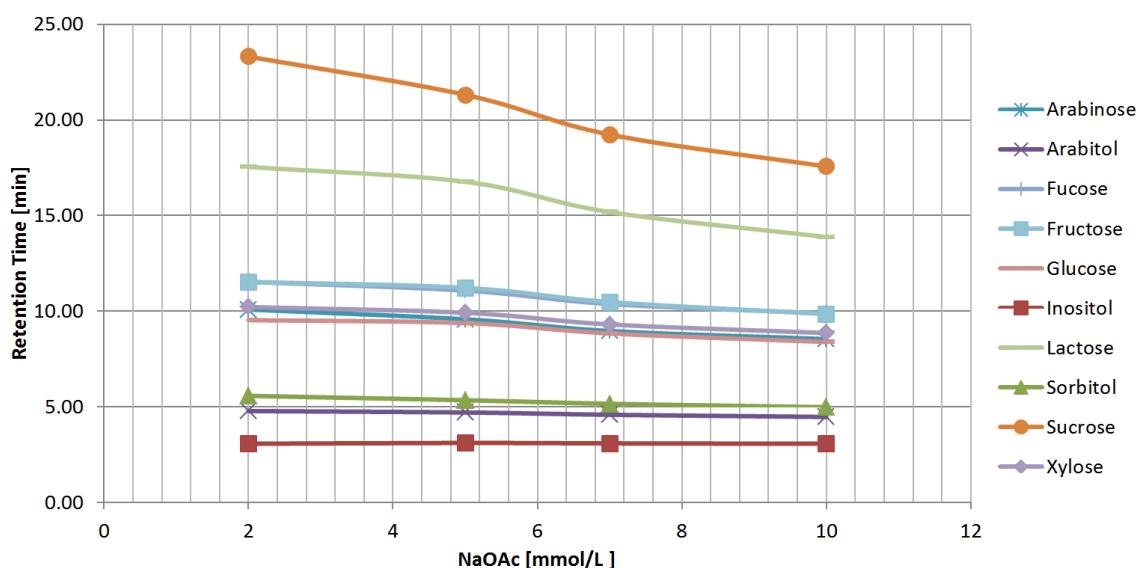
	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

*Säule:* Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:* 0.5 mL/min

*Temperatur:* 30 °C

*Eluent:* 150 mmol/L Natriumhydroxid, 2, 5, 7, 10 mmol/L Natriumacetat



Die Retentionszeit wird mit zunehmender Natriumacetatkonzentration bei den Disacchariden etwas stärker als bei den Monosacchariden verkürzt.

Zuckeralkohole werden nur minimal beeinflusst.

## **Variation Natriumhydroxid-Konzentration neben 10 mmol/L Natriumacetat**

## Probenvorbereitung:

-

## Amperometrische Detektion:

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil

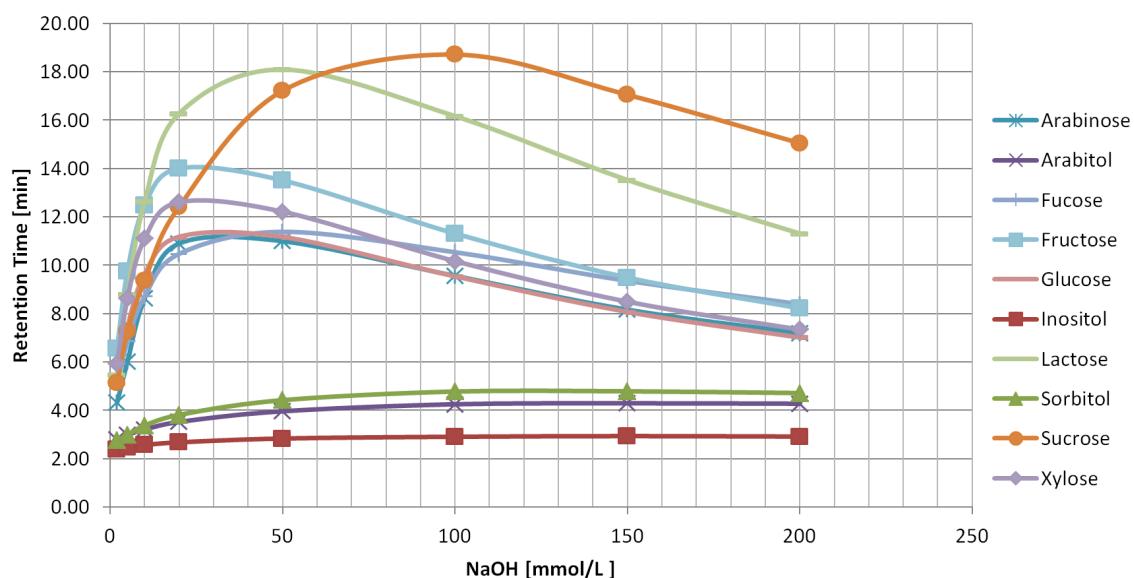
	<b>Dauer [ms]</b>	<b>Dauer total [ms]</b>	<b>Potential [V]</b>
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:* 0.5 mL/min

Temperatur: 30 °C

*Eluent:* 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 mmol/L Natriumhydroxid, 10 mmol/L Natriumacetat



Die Variation der Natriumhydroxid-Konzentration beeinflusst den pH und somit die Ladung der Zucker in der Pufferlösung. Zu beobachten sind stark unterschiedliche Retentionszeiten in Abhängigkeit des Natriumhydroxid- zu Natriumacetat-Verhältnisses.

Sucrose und Lactose aber auch die Fucose und Xylose beispielsweise tauschen die Elutionsreihenfolge.

## 5.5 Bestimmung der Hauptzuckeranteile in Apfelsaft

*Probenvorbereitung:* Verdünnung 1:2000

*Amperometrische Detektion:* Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

*Potentialprofil:*

	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

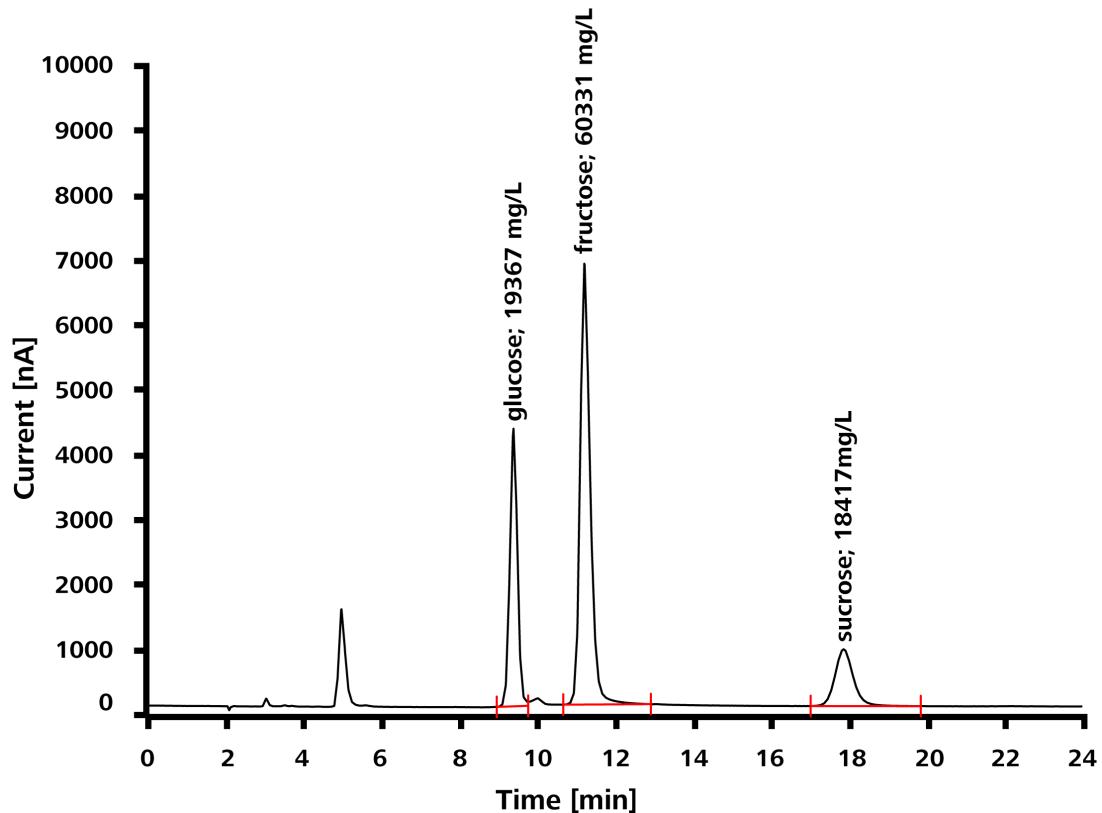
*Säule:* Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:* 0.5 mL/min

*Temperatur:* 30 °C

*Loop:* 20 µL

*Eluent:* 100 mmol/L Natriumhydroxid, 10 mmol/L Natriumacetat



## **5.6 Luftpartikel-Analyse von Tracern wie Levoglucosan von Holzfeuern**

*Probenvorbereitung:* wässrige Filterextraktion

*Amperometrische Detektion:* Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil:

	<b>Dauer [ms]</b>	<b>Dauer total [ms]</b>	<b>Potential [V]</b>
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

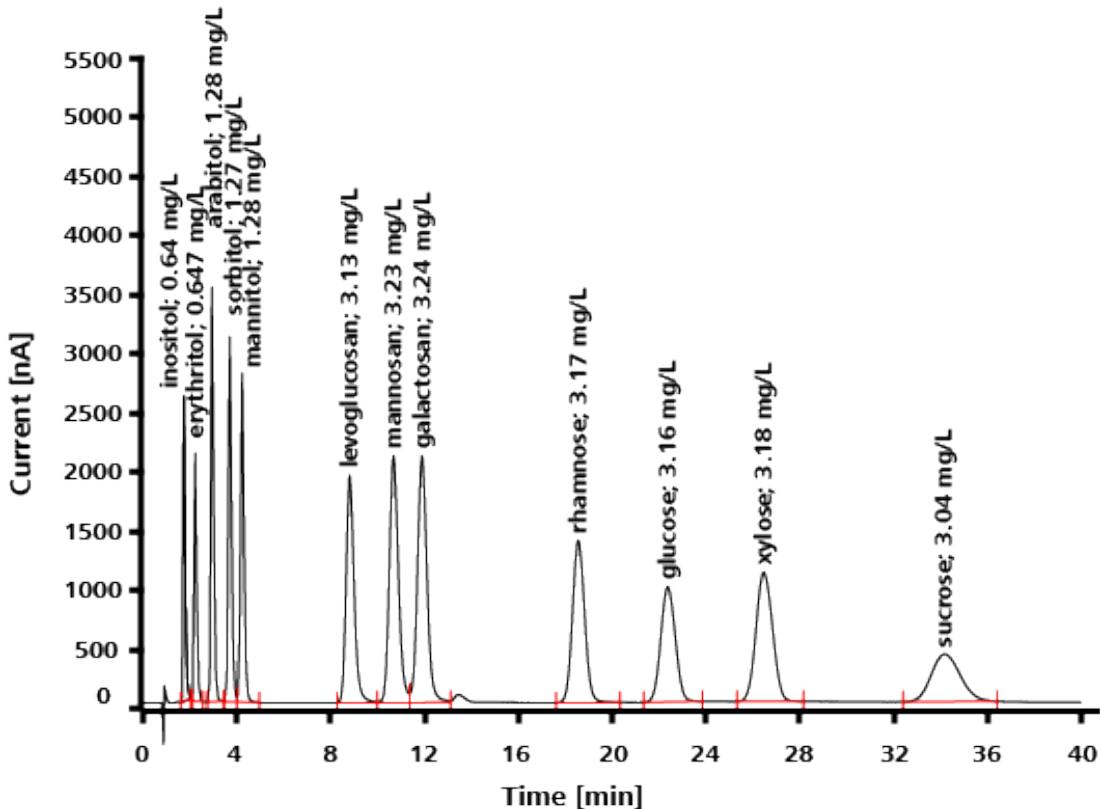
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:* 1.0 mL/min

Temperatur: 45 °C

*Loop:* 100 µL

*Eluent:* 10 mmol/L Natriumhydroxid



## 5.7 Kosmetikproduktanalyse

*Probenvorbereitung:* Extraktion in die wässrige Phase

*Amperometrische Detektion:* Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

*Potentialprofil:*

	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

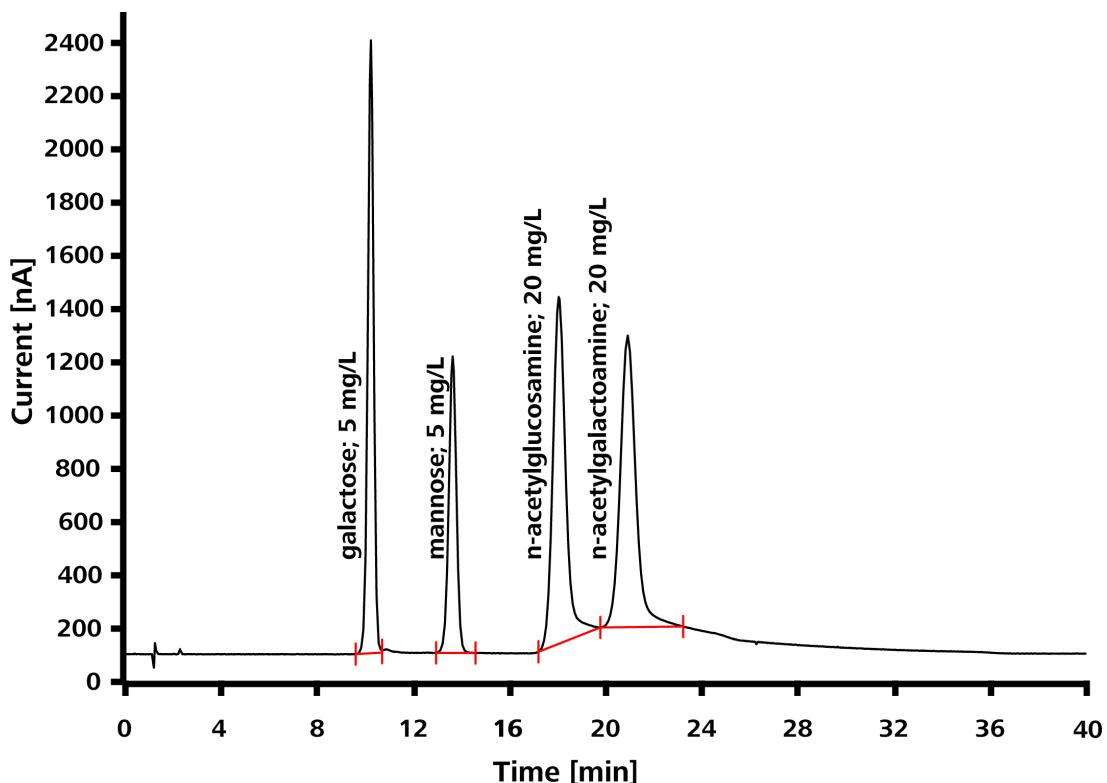
*Säule:* Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*Flussrate:* 0.7 mL/min

*Temperatur:* 35 °C

*Loop:* 20 µL

*Eluent:* 2 mmol/L Natriumhydroxid, 5 mmol/L Natriumacetat





## **5.8 Bestimmung von Lactose in lactosefreier Milch**

Probenvorbereitung: Inline-Dialyse, Verdünnung 1:100

Die Probe wurde mit 100 mg/L Lactose aufgestockt.

## Amperometrische Detektion:

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil:

	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

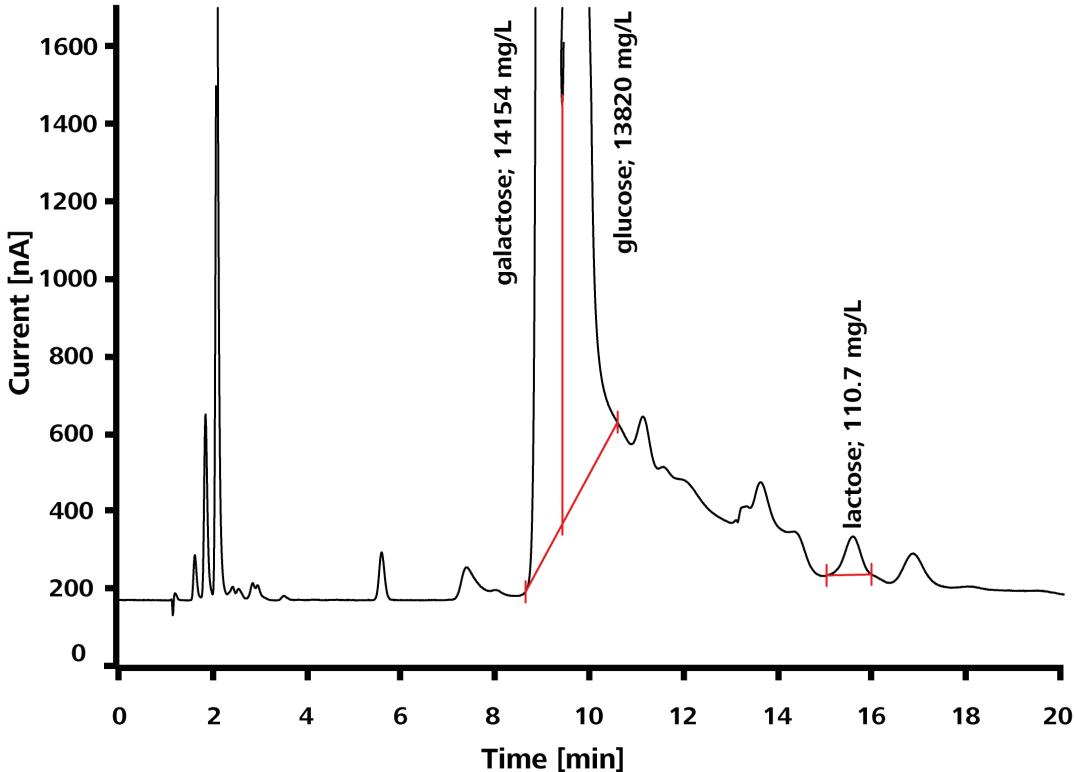
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

Flussrate: 0.8 mL/min

Temperatur: 40 °C

*Loop:* 20 µL

*Eluent:* 5 mmol/L Natriumhydroxid, 2 mmol/L Natriumacetat



## 5.9 Multikomponentenanalyse

Probenvorbereitung:

-

Amperometrische Detektion:

Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

Potentialprofil:

	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

Säule:

Metrosep Carb 2 - 250/4.0

Flussrate:

0.6 mL/min

Temperatur:

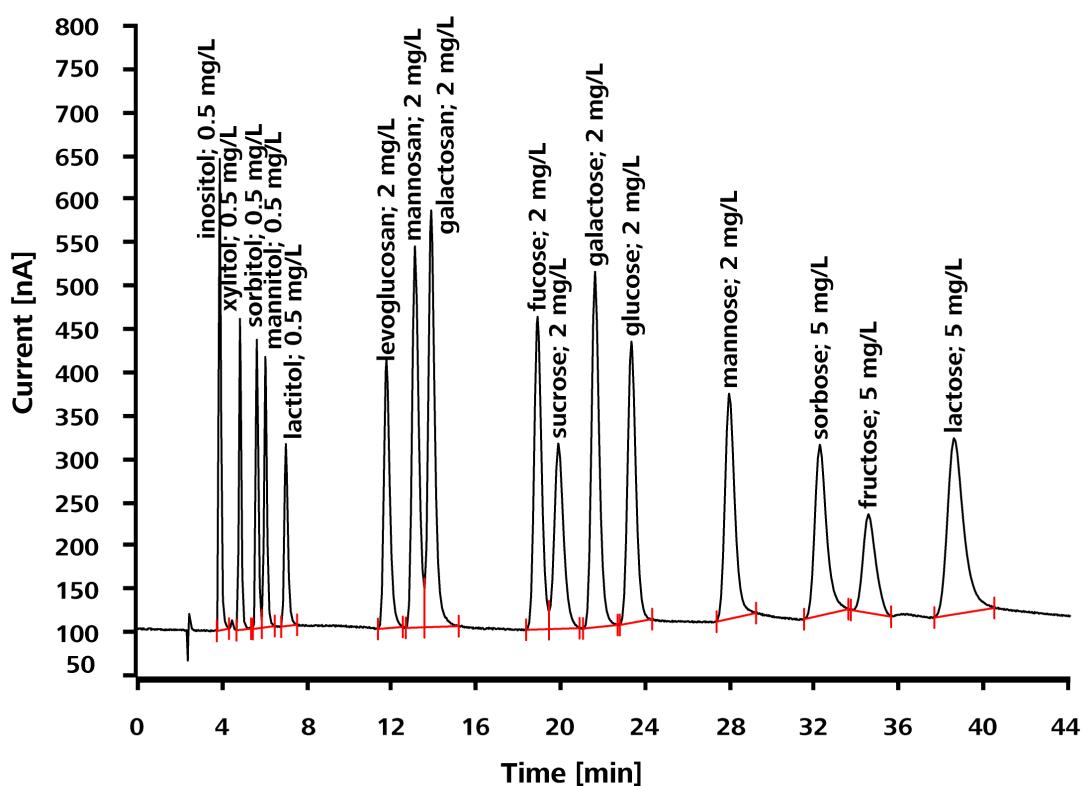
40 °C

Loop:

20 µL

Eluent:

5 mmol/L Natriumhydroxid, 2 mmol/L Natriumacetat





## **5.10 Joghurt**

**Probenvorbereitung:** 0.5 g Joghurt mit Reinstwasser auf 100 g ergänzt, gerührt und anschließend Inline-Dialyse und Inline-Verdünnung 1:50

*Amperometrische Detektion:* Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd

## Potentialprofil:

	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

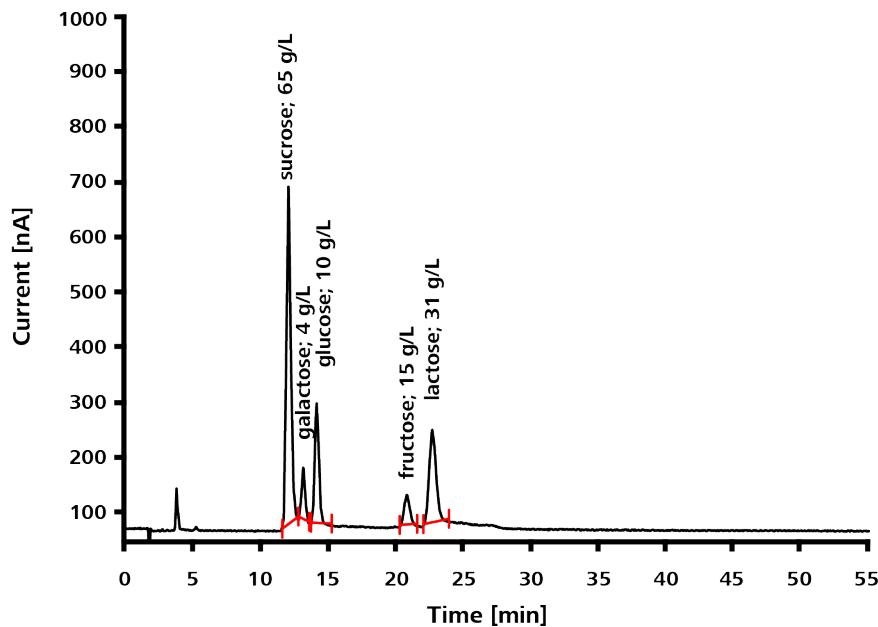
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/2.0

*Flussrate:* 0.13 mL/min

Temperatur: 40 °C

*Loop:* 5 µL

*Eluent:* 5 mmol/L Natriumhydroxid, 2 mmol/L Natriumacetat



## 5.11 Meerwasseranalyse mittels UV-Detektion

*Probenvorbereitung:* Inline-Ultrafiltration

*Detektion:* UV/VIS-Detektion bei  $218 \pm 5 \text{ nm}$

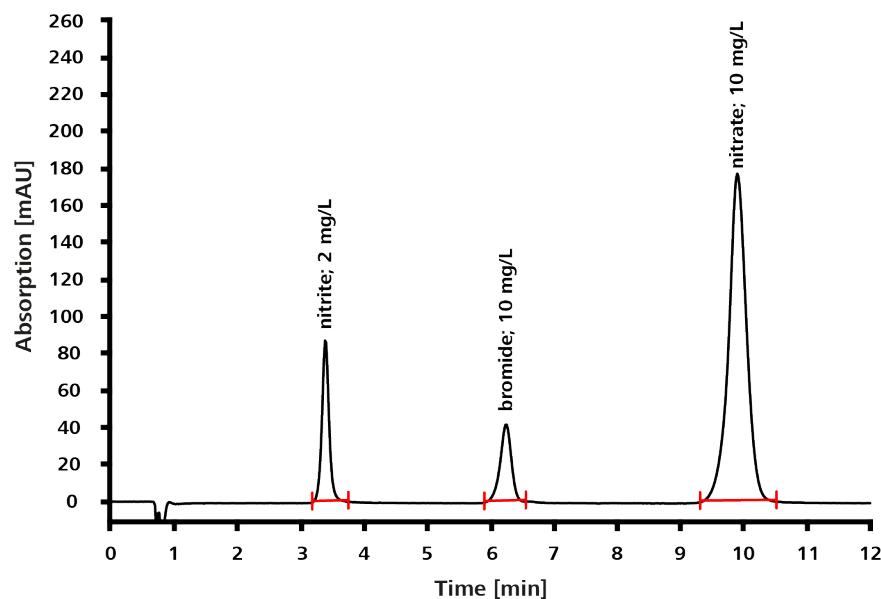
*Säule:* Metrosep Carb 2 - 100/2.0

*Flussrate:* 0.375 mL/min

*Temperatur:* 30 °C

*Loop:* 20 µL

*Eluent:* 10 g/L NaCl



## 5.12 Bestimmung von Chrom-Spezies

*Probenvorbereitung:* Proben im Eluenten und Zusatz von 20 µmol/L EDTA, Inkubationszeit von 60 min bei 60 °C

*Detektion:* ICP-MS, Modus Kollisionszelle (He) Agilent ICP-MS 7500ce

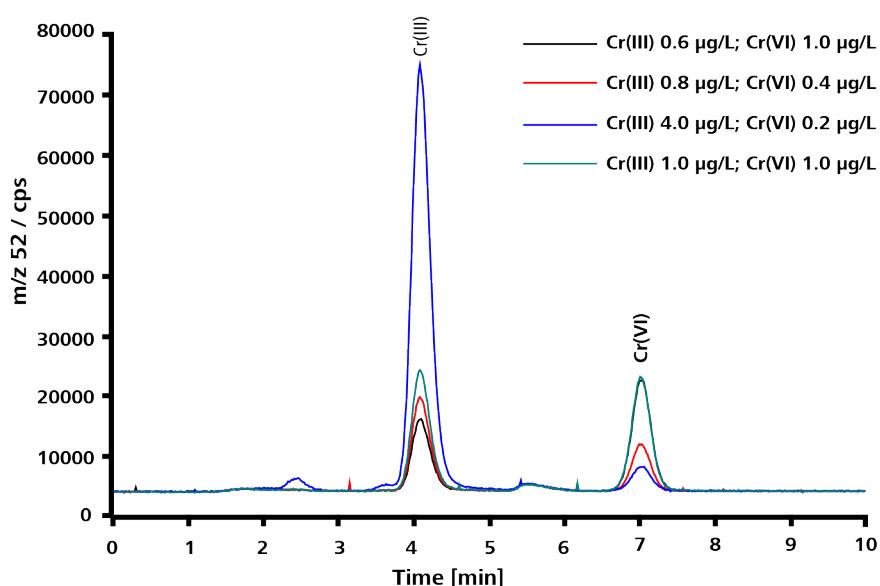
Säule: Metrosep Carb 2 - 100/2.0

*Flussrate:* 0.2 mL/min

Temperatur: 20 °C

*Loop:* 20 µL

*Fluent:* 100 m



Die Chromatogramme zeigen unterschiedliche Mischlösungsverhältnisse der Cr(III) und Cr(VI) Spezies in µg/L.

## **5.13 Verwendung der Metrosep $\text{CO}_3^{2-}$ Trap 1 – 100/4.0**

Die Metrosep CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> Trap 1 - 100/4.0 (6.1015.300) dient zur Eliminierung von Carbonatverunreinigungen aus Hydroxid-Eluenten. Carbonatkontaminationen in niedrig-konzentrierten Hydroxid-Eluenten verstärken die Elution und verkürzen somit die Retentionszeiten.

Die Verwendung dieser Trap-Säule führt durch die Entfernung von Carbonat zu stabilen Retentionszeiten.

Typischerweise wird diese Trap-Säule bei Eluentkonzentrationen von 5 bis 40 mmol/L Hydroxid-Eluent eingesetzt.

Die Säule wird zwischen Hochdruckpumpe und Injektionsventil in den Eluentenstrom eingesetzt.

## **5.14 Verwendung der Metrosep BO<sub>3</sub><sup>3-</sup> Trap 1 – 100/4.0**

Die Metrosep BO<sub>3</sub><sup>3-</sup> Trap 1 - 100/4.0 (6.1015.200) dient zur Eliminierung von Boratspuren aus Hydroxid-Eluenten. Boratkontaminationen können zur Verschlechterung von Peaksymmetrien beitragen.

Die Verwendung dieser Trap-Säule führt durch die Entfernung von Borat zu schärferen Peaks, beispielsweise bei Sorbitol.

Die Säule wird zwischen Hochdruckpumpe und Injektionsventil in den Eluentenstrom eingesetzt.



## **6 Problembehandlung**

## **6.1 Regeneration**



VORSICHT

Die Säule nicht präventiv regenerieren!

Jede Regeneration bedeutet Stress für die Trennsäule und verkürzt ihre Lebensdauer siehe "Regenerieren von Trennsäulen", Seite 6.

### *Problem*

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

## *Behebung*

## **Trennsäule regenerieren**

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

## 1 Trennsäule vom IC-System trennen

Den Ausgang der Trennsäule vom Eingang des Detektors trennen.

## 2 Trennsäule regenerieren

Je nach Art der Verunreinigung muss die Trennsäule unterschiedlich regeneriert werden:

Tabelle 6 Organische Verunreinigungen

	4 mm	2 mm
<b>Lösung</b>	100 mL Standardeluent in 50 % Acetonitril	25 mL Standardeluent in 50 % Acetonitril
<b>Flussrichtung</b>	in Flussrichtung	in Flussrichtung
<b>Flussrate</b>	0.5 mL/min	0.13 mL/min

**Dauer** z. B. für 6.1090.420: ca. 3 h z.B. 6.01090.220: ca. 3 h

Tabelle 7 Anorganische Verunreinigungen

	4 mm	2 mm
<b>Lösung</b>	100 mmol/L Natriumhydroxid und 500 mmol/L Natriumacetat	100 mmol/L Natriumhydroxid und 500 mmol/L Natriumacetat
<b>Flussrichtung</b>	in Flussrichtung	in Flussrichtung
<b>Flussrate</b>	0.5 mL/min	0.13 mL/min
<b>Dauer</b>	z. B. 6.1090.430: mindestens 7 h	z.B. 6.01090.230: mindestens 7 h

### **3 Trennsäule spülen**

Die Trennsäule mit Standardeluent spülen. (z. B. 6.1090.430 mindestens 7 h).

## **6.2 Abnehmende Auflösung / Peakformen**

<b>Problem</b>	Die Auflösung der Peaks verschlechtert sich oder die Peakformen sind asymmetrisch.						
<b>Ursachen und Vermeidung</b>	<table border="1"> <thead> <tr> <th><b>Ursachen</b></th><th><b>Vermeidung / Behebung</b></th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Die Trennsäule wurde überladen</td><td> <p>Die Trennsäule kann z. B. durch hohe Salzgehalte in der Probenmatrix überladen werden.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Probe verdünnen.</li> <li>■ Weniger Probe injizieren.</li> </ul> </td></tr> <tr> <td>Carbonat reichert sich auf der Säule an</td><td> <p>Das Carbonat wie folgt aus der Säule spülen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Lösung:</b> 300 mmol/L Natriumhydroxid-Eluenten</li> <li>■ <b>Flussrate:</b> 6.1090.4x0: 1 mL/min 6.01090.2x0: 0.25 mL/min</li> <li>■ <b>Dauer:</b> 14 h</li> </ul> </td></tr> </tbody> </table>	<b>Ursachen</b>	<b>Vermeidung / Behebung</b>	Die Trennsäule wurde überladen	<p>Die Trennsäule kann z. B. durch hohe Salzgehalte in der Probenmatrix überladen werden.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Probe verdünnen.</li> <li>■ Weniger Probe injizieren.</li> </ul>	Carbonat reichert sich auf der Säule an	<p>Das Carbonat wie folgt aus der Säule spülen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Lösung:</b> 300 mmol/L Natriumhydroxid-Eluenten</li> <li>■ <b>Flussrate:</b> 6.1090.4x0: 1 mL/min 6.01090.2x0: 0.25 mL/min</li> <li>■ <b>Dauer:</b> 14 h</li> </ul>
<b>Ursachen</b>	<b>Vermeidung / Behebung</b>						
Die Trennsäule wurde überladen	<p>Die Trennsäule kann z. B. durch hohe Salzgehalte in der Probenmatrix überladen werden.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Probe verdünnen.</li> <li>■ Weniger Probe injizieren.</li> </ul>						
Carbonat reichert sich auf der Säule an	<p>Das Carbonat wie folgt aus der Säule spülen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ <b>Lösung:</b> 300 mmol/L Natriumhydroxid-Eluenten</li> <li>■ <b>Flussrate:</b> 6.1090.4x0: 1 mL/min 6.01090.2x0: 0.25 mL/min</li> <li>■ <b>Dauer:</b> 14 h</li> </ul>						



<b>Ursachen</b>	<b>Vermeidung / Behebung</b>
Im IC-System besteht Totvolumen	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Überprüfen, ob alle Kapillaren einen Durchmesser von <math>\leq 0.25</math> mm (6.1831.010) besitzen. Falls nicht, die Kapillaren durch kleinere Kapillaren ersetzen.</li> <li>▪ Verwenden Sie für 2.0 mm Säulen Kapillaren mit einem Durchmesser von 0.18 mm (6.01806.000).</li> <li>▪ Überprüfen, ob alle Kapillaren korrekt installiert wurden. Im Multi Media Guide IC Maintenance wird die Installation Schritt für Schritt gezeigt.</li> </ul>

## 6.3 Instabile Retentionszeiten

### Problem

Die Retentionszeiten sind instabil.

### Ursachen und Vermeidung

<b>Ursachen</b>	<b>Vermeidung / Behebung</b>
Carbonat im Eluenten	<p>Natriumhydroxid-Eluenten und konzentrierte Stocklösungen sollen möglichst wenig mit Luft in Kontakt kommen. Sie nehmen aus der Luft Kohlendioxid auf, welches in der alkalischen Lösung als Carbonat vorliegt. Carbonat ist im Vergleich zu Hydroxid ein stark treibendes Eluenten und verkürzt somit Retentionszeiten.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Die Eluentenflasche und die Flasche mit der Stocklösung immer gut verschliessen.</li> <li>▪ Immer einen CO<sub>2</sub>-Adsorber verwenden.</li> </ul>
Luftblasen im Eluenten	<p>Der Fluss des Eluenten wird durch Luftblasen instabil. Ein instabiler Fluss zeigt sich u. a. am Rückdruck. Der Rückdruck sollte innerhalb von <math>\pm 0.1</math> MPa stabil bleiben.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Die Hochdruckpumpe entlüften.</li> <li>▪ Den Eluent-Degasser einsetzen.</li> </ul>

## 6.4 Unbekannte Peaks

*Problem* Das Chromatogramm enthält breitere, unbekannte Peaks.

<b>Ursachen und Vermeidung</b>	<b>Ursachen</b>	<b>Vermeidung / Behebung</b>
	Spät eluierende Analyten	<p>Etwas breitere unbekannte Peaks können durch spät eluierende Probenkomponenten entstehen. Diese stammen in diesen Fällen aus der vorhergehenden Injektion.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Chromatogrammdauer verlängern.</li> </ul>

## **6.5 Steigender Rückdruck**

*Problem* Der Rückdruck steigt an.

<b>Ursachen und Vermeidung</b>	<b>Ursachen</b>	<b>Vermeidung / Behebung</b>
	Partikel auf der Vorsäule	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Vorsäule ersetzen.</li> </ul>
	Partikel auf der Trennsäule	<p>Die Trennsäule gegen die Flussrichtung spülen.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Den Säulenauslass in ein Becherglas halten.</li> <li>■ Die Trennsäule während ca. 1 h spülen.</li> <li>■ Die Trennsäule in Flussrichtung wieder einbauen.</li> </ul>
	Partikel in der Probe	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Probenvorbereitung, z. B. Partikel entfernen durch Inline-Ultrafiltration.</li> </ul>



## 7 Literatur

Wir empfehlen folgende Literatur zur Vertiefung:

- Application Note P-54 Anhydrosugars besides sugaralcohols and sugars on Metrosep Carb 2 - 150/4.0
- Application Note P-55 Lactose in lactose-free milk applying Metrosep Carb 2 - 150/4.0
- Metrosep Carb 2 Broschüre (8.107.5002)
- Application Note P-60 Ethylene and propylene glycol applying pulsed amperometric detection
- Application Note P-61 Sugar analysis in honey according to the EU regulation applying pulsed amperometric detection
- Application Note P-62 Sugars and sugar alcohols in an apple drink applying pulsed amperometric detection
- Application Note P-63 Mannitol, rhamnose, lactulose, and lactose in blood serum applying pulsed amperometric detection (PAD)
- Application Note P-64 Separation of sugars and sugar acids applying a low-pressure gradient
- Application Note P-65 Sugar and sugar alcohols including saccharose and cellobiose
- Application Note P-67 Sorbitol and sucrose in soap applying pulsed amperometric detection
- Application Note U-71 Nitrite, bromide and nitrate in artificial seawater applying UV/VIS detection
- Application Report Metrohm Info 2/2015, Are you made of sugar? MI-2015-2-AP-1
- Kappes, S. and Zierfels, G. Are You Made of Sugar? Chromatography Today, Jun 3, 2016, pp 20–2

# Index

**A**

Aufbewahrung ..... 3

**B**

Basislinie

Konditionieren ..... 19

Bestellnummer ..... 1

**E**

Eluent ..... 9

Equilibrierung ..... 19

**F**

Flussrate ..... 2

**I**

IC-Säule

siehe "Trennsäule" ..... 15

Installation

Trennsäule ..... 15

Vorsäule ..... 12

**K**

Konditionieren ..... 19

**S**

Säule

siehe "Trennsäule" ..... 15

Spezifikation ..... 2

Spülen

Trennsäule ..... 17

Vorsäule ..... 14

**T**

Trennsäule

Installation ..... 15

Spülen ..... 17

**V**

Vorsäule

Installation ..... 12

Spülen ..... 14