

# 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  
www.metrohm.com

# **Säulenhandbuch**

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

**Handbuch**

Technische Dokumentation  
Metrohm AG  
CH-9100 Herisau  
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.

[illegible][illegible]

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







Die Säule in Standardeluent bei Raumtemperatur lagern.

Für Säulen mit Vorsäule unter Standardbedingungen

Bestellnummer	Typischer Druck
6.1090.410	9 MPa (±2 MPa)
6.1090.420	9 MPa (±2 MPa)
6.1090.430	10 MPa (±2 MPa)
6.01090.210	5.5 MPa (±2 MPa)
6.01090.220	5.5 MPa (±2 MPa)
6.01090.230	8.0 MPa (±2 MPa)

intelligente Säule mit Chip, sogenannte iColumn aus PEEK

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

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)



	Normalfall ist das Adsorberrohr mit Molekularsieb und für Natriumhydroxid-Eluenten und Carbonat-Eluenten mit Natronkalk – als schwacher CO <sub>2</sub> -Adsorber – befüllt.
<i>Entgasen des Eluenten</i>	Um Blasenbildung zu verhindern, empfehlen wir, die hergestellten Eluenten vor ihrer Verwendung im IC-System zu entgasen. Legen Sie dafür für ca. zehn Minuten mit einer Wasserstrahlpumpe oder einer Ölpumpe ein Vakuum an. Verwenden Sie ein Ultraschallbad, oder arbeiten Sie mit dem Eluent-Degasser.
<i>Filter</i>	<p>Wenn Probleme mit IC-Systemen auftreten, so stehen sie meistens im Zusammenhang mit Partikeln. Diese können aus folgenden Quellen eingeschleppt werden:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ durch Bakterienwachstum</li> <li>▪ durch nicht filtrierte Eluenten</li> <li>▪ aus der Probe</li> <li>▪ durch die Spüllösung und/oder Regenerierlösung</li> </ul> <p>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.</p>
<i>Filtrieren des Eluenten</i>	Alle Eluenten müssen unmittelbar vor ihrer Verwendung mikrofiltriert (0.45 µm) werden.
<i>Partikel</i>	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).
<i>Probenvorbereitungskartuschen</i>	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.
<i>Pulsationsdämpfer</i>	Wir empfehlen, einen Pulsationsdämpfer (6.2620.150) zu verwenden. Vor allem die Polymethacrylat-Säulen und Polyvinylalkohol-Säulen müssen vor



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 MΩ·cm aufweisen und partikelfrei sein. Wir empfehlen deshalb, das Wasser durch ein 0.45-µm-Filter zu filtrieren und mit UV zu behandeln. Moderne Reinstwasseranlagen für den Laborbedarf garantieren diese Wasserqualität (Typ I).



## 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 Standardeluent 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 begeben.
- 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*

NaOH in Gewichts-[%]	4.0	10.0	20.0	30.0	40.0	50.0
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

Eluent Kon- zentration [mmol/L]	30 % (w/w) NaOH-Lösung		50 % (w/w) NaOH-Lösung	
	[mL]	[g]	[mL]	[g]
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



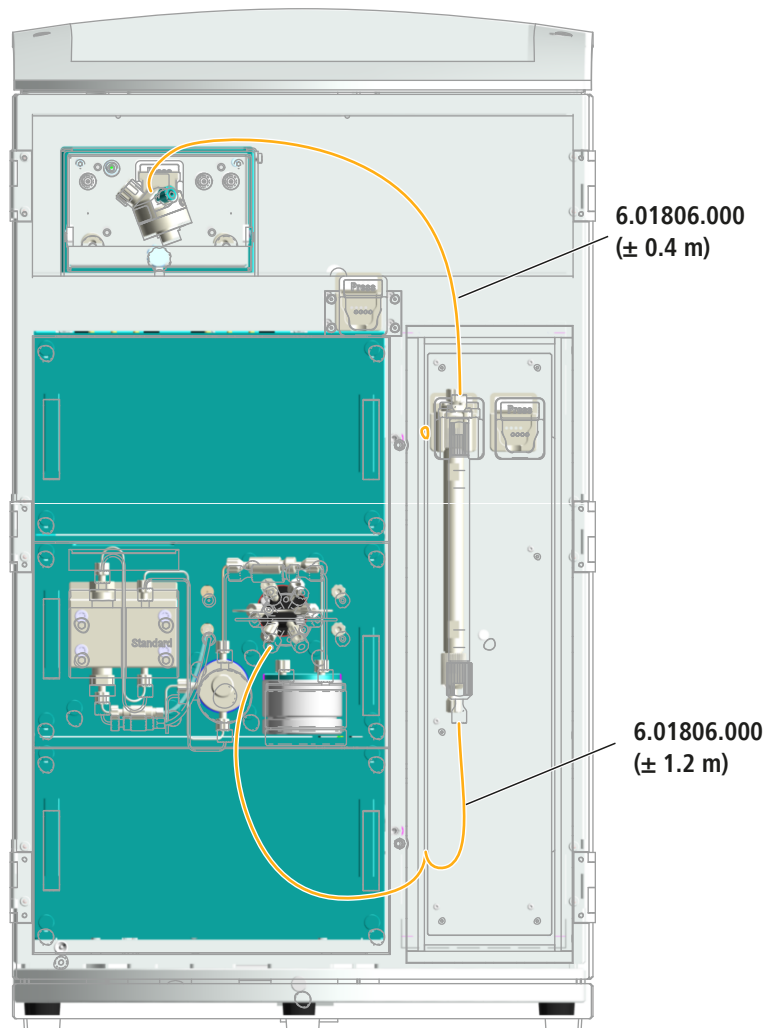
### HINWEIS

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.

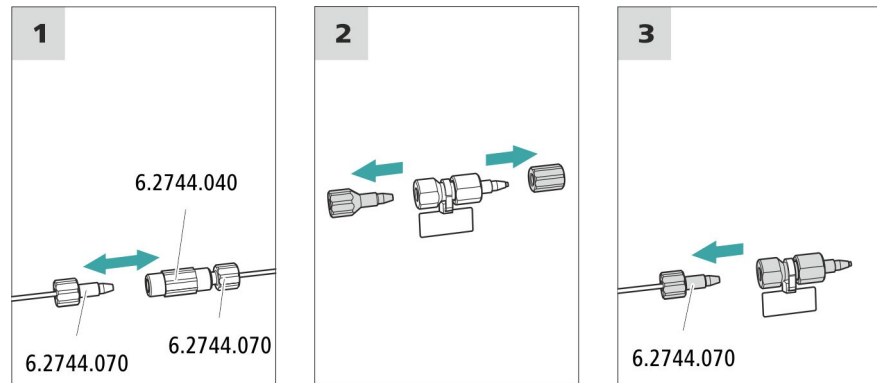
## Zubehör

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 ionenchromatographischen 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.



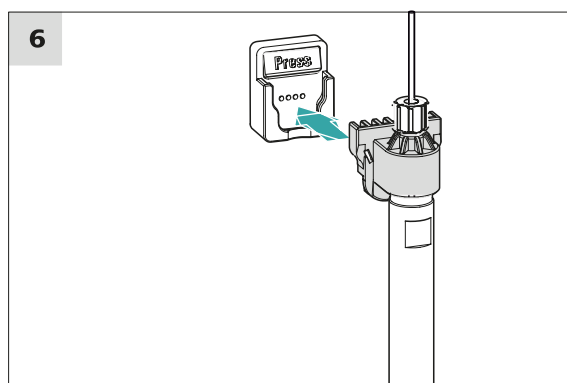
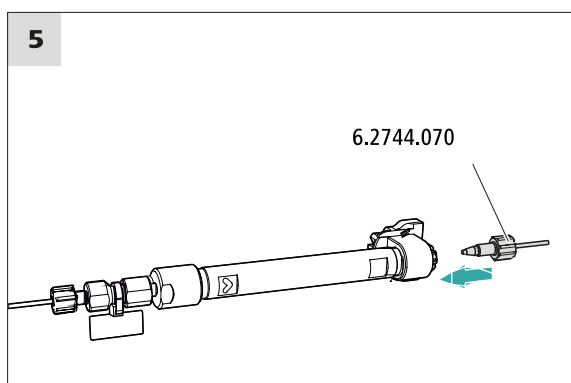
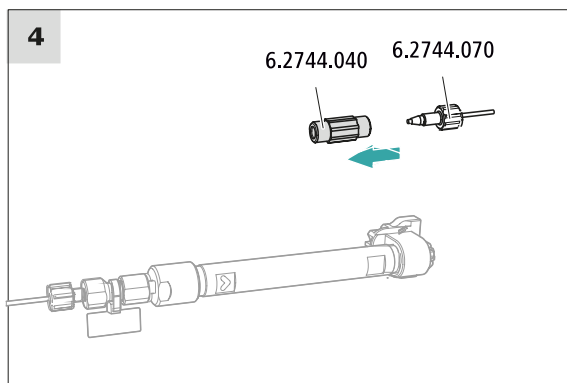
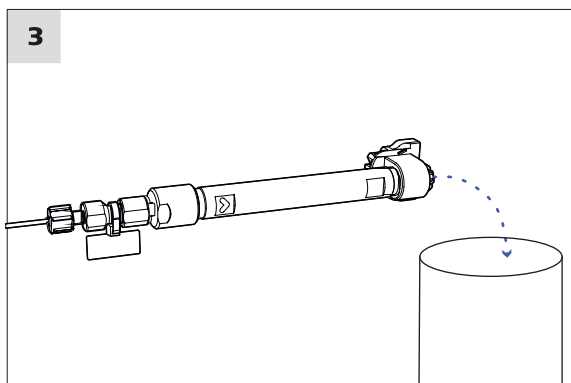
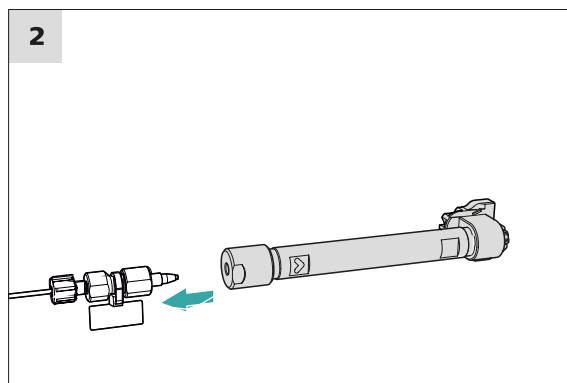
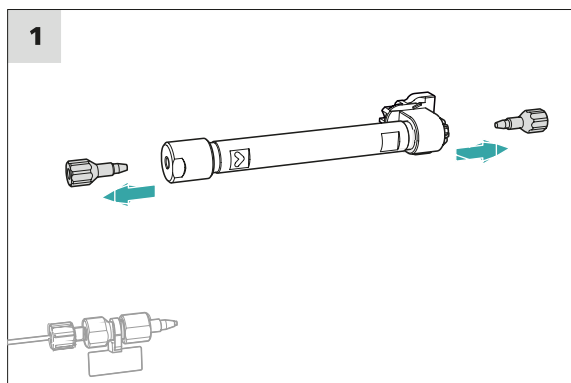
### VORSICHT

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.



- 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 Säuleneinlasskapillare mit einer kurzen Druckschraube (6.2744.070) am Eingang der Trennsäule befestigen.

### 3 Trennsäule spülen

- Ein Becherglas unter den Ausgang der Trennsäule stellen.
- In MagIC Net die manuelle Bedienung starten und die Hochdruckpumpe auswählen: **Manuell ► Manuelle Bedienung ► Pumpe**
  - **Fluss:** schrittweise auf die im Säulemerkblatt empfohlene Flussrate erhöhen.
  - **Ein**
- Die Trennsäule ca. 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).



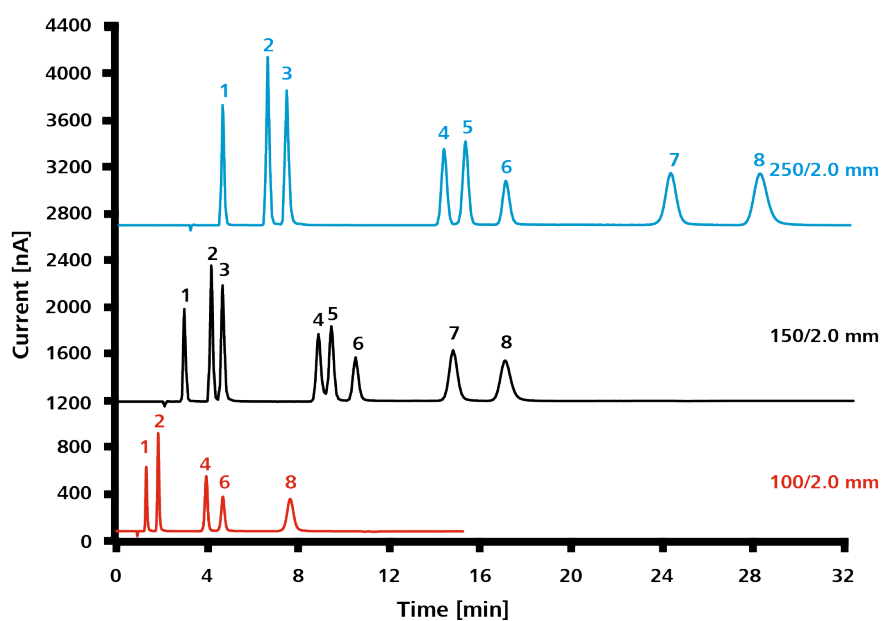
- ### 3 Equilibrierung starten

- ## 4 System konditionieren

Das Gerät ist nun bereit für Messungen von Proben.



Carb 2		100/4.0	150/4.0	250/4.0
Flussrate [mL/min]		0.8	0.5	0.5
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



Carb 2		100/2.0	150/2.0	250/2.0
Flussrate [mL/min]		0.2	0.13	0.13
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 Messmodus: PAD; Arbeitselektrode: Au, 3 mm; Referenzelektrode: Pd  
Detektion:

Potentialprofil

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

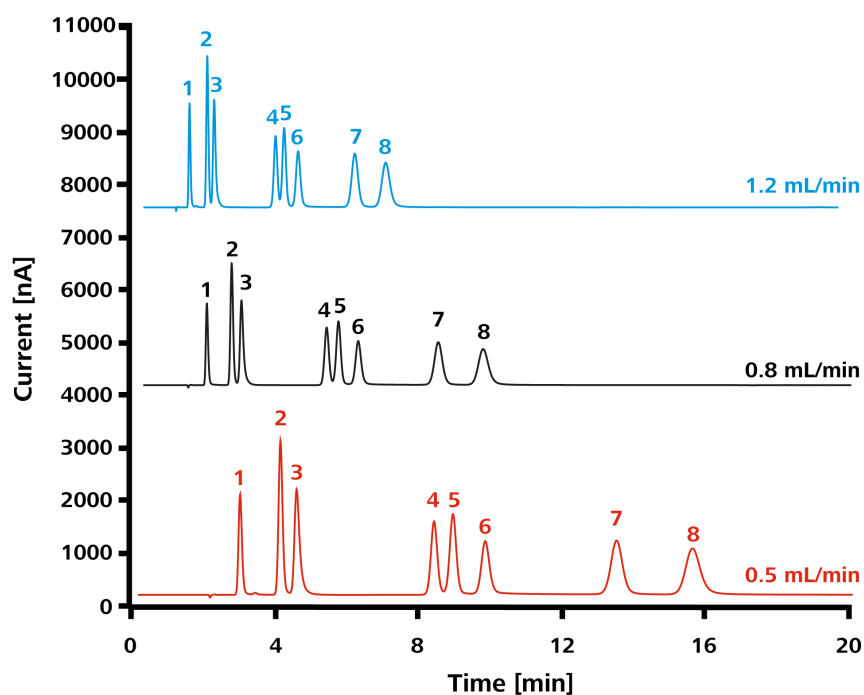
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

Flussrate: 0.5, 0.8, 1.2 mL/min

Temperatur: 30 °C

Loop: 20  $\mu$ L

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



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

—

Amperometrische  
Detektion:

Potentialprofil

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

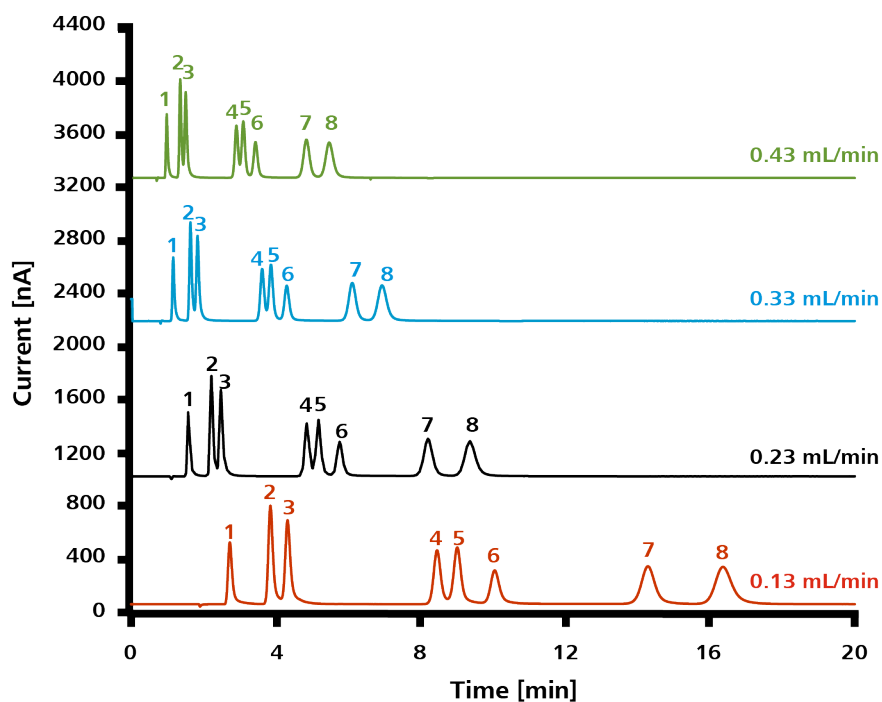
Metrosep Carb 2 - 150/2.0

0.13, 0.23, 0.33, 0.43 mL/min

30 °C

5  $\mu$ L

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

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

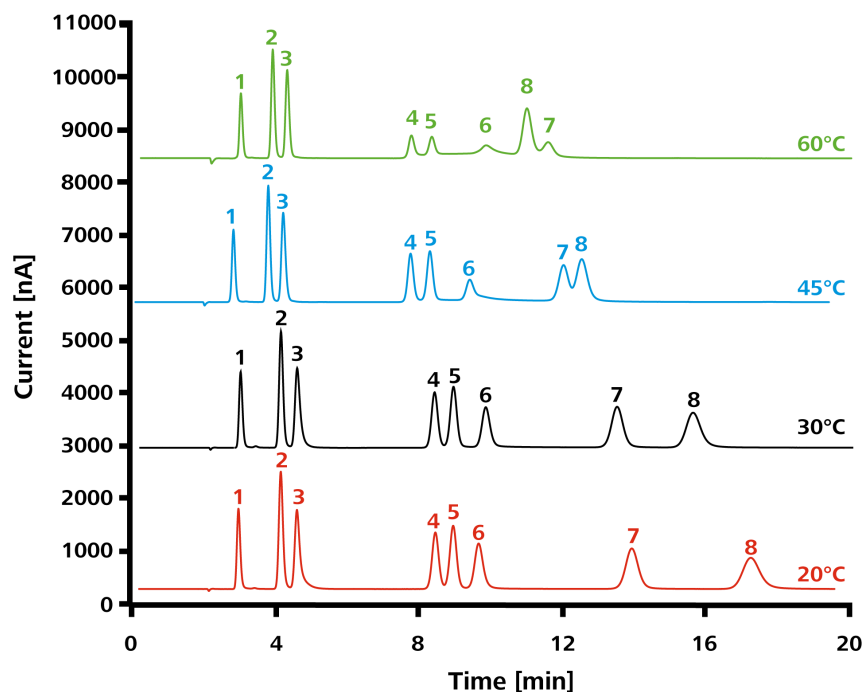
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

Flussrate: 0.5 mL/min

Temperatur: 20, 30, 45, 60 °C

20  $\mu$ L

100 mmol/L Natriumhydroxid, 10 mmol/L Natriumacetat



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

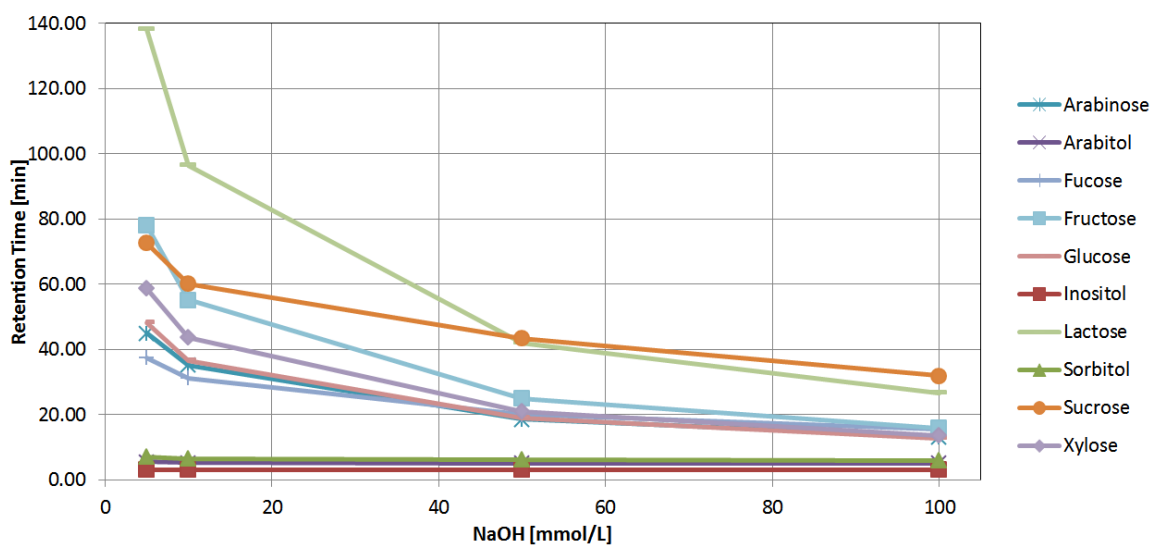
	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

Flussrate: 0.5 mL/min

Temperatur: 30 °C

*Eluent:* 5, 10, 50, 100 mmol/L Natriumhydroxid, 0 mmol/L Natriumacetat



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

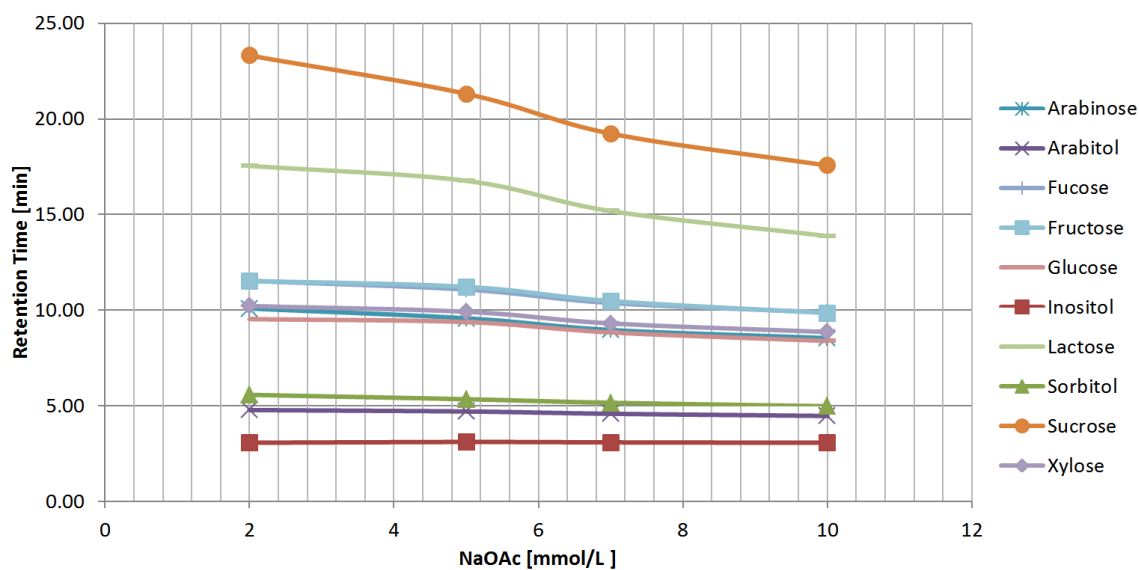
	Dauer [ms]	Dauer total [ms]	Potential [V]
1	300	300	0.05
2	50	350	0.55
3	200	550	-0.10

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 Natriumacetat-Konzentration 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

	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:

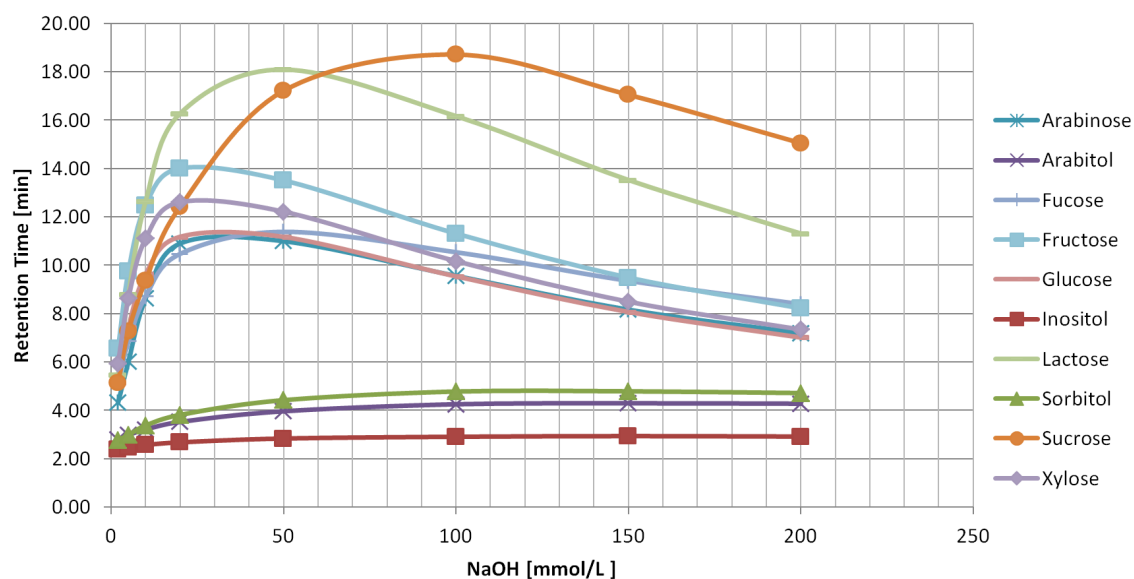
0.5 mL/min

Temperatur:

30 °C

*Eluent:*

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

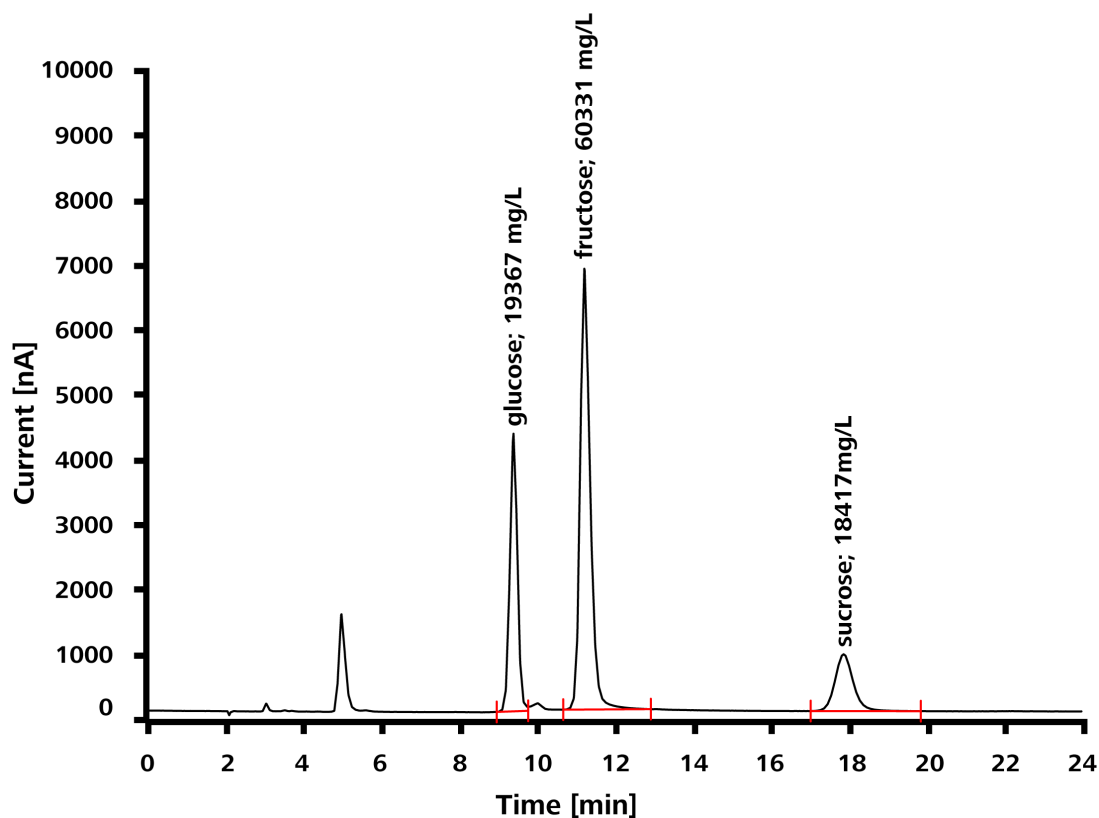
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

Flussrate: 0.5 mL/min

Temperatur: 30 °C

Loop: 20 µL

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





## 5.7 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

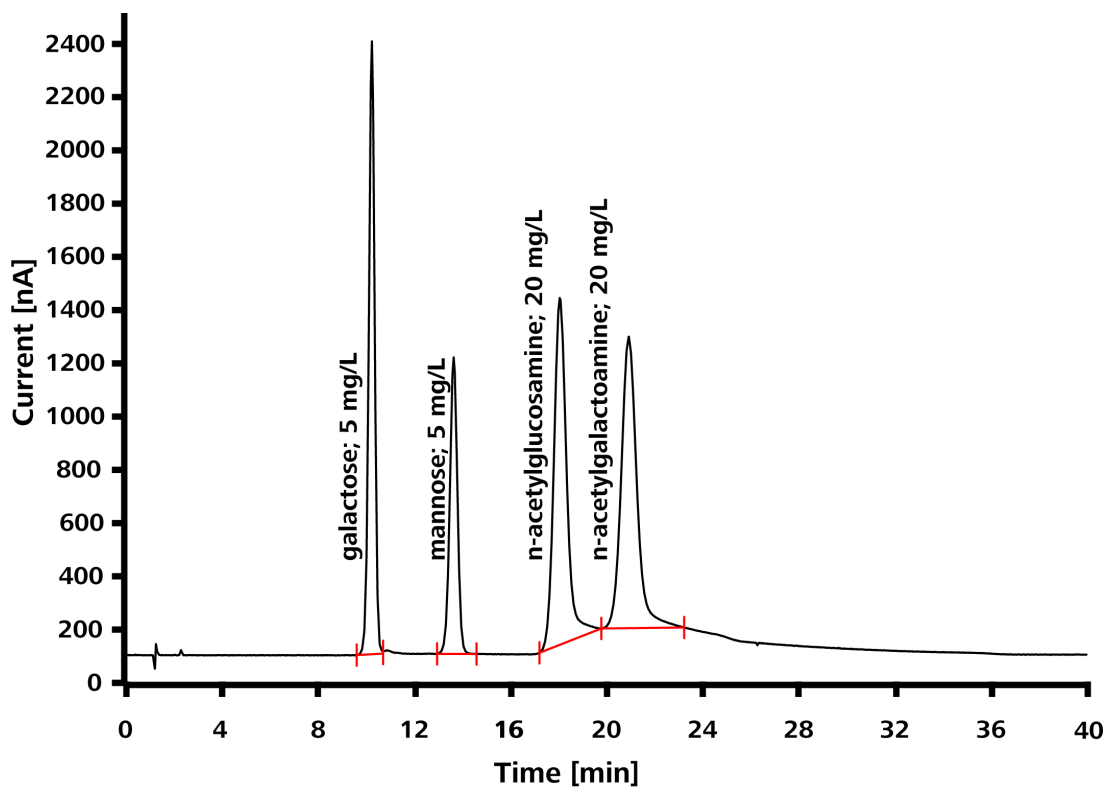
*Säule:* Metrosep Carb 2 - 150/4.0

*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

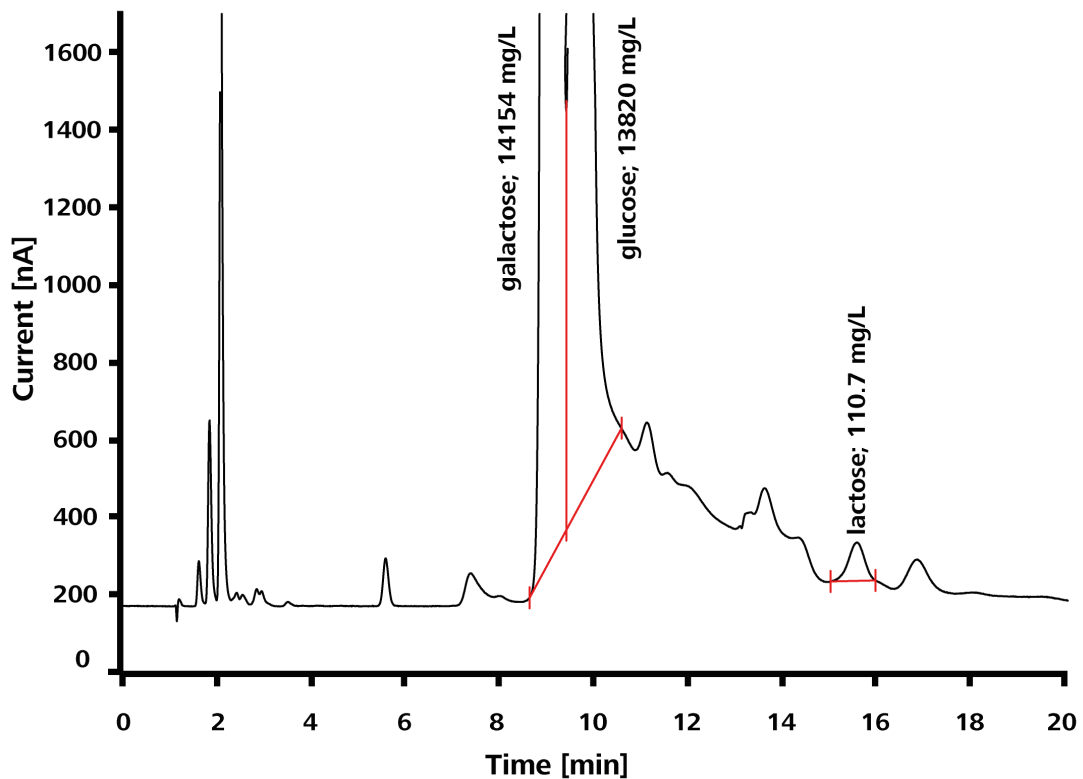
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/4.0

Flussrate: 0.8 mL/min

Temperatur: 40 °C

Loop: 20  $\mu$ L

*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

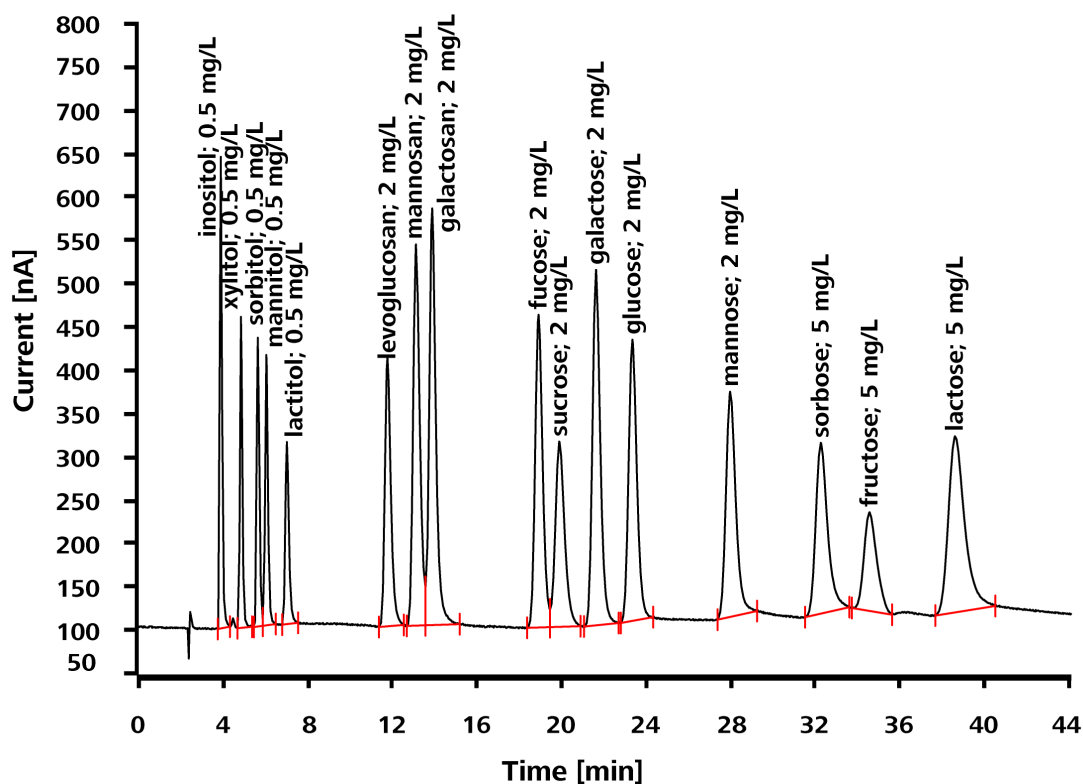
Säule: Metrosep Carb 2 - 250/4.0

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

Potentialprofil:

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

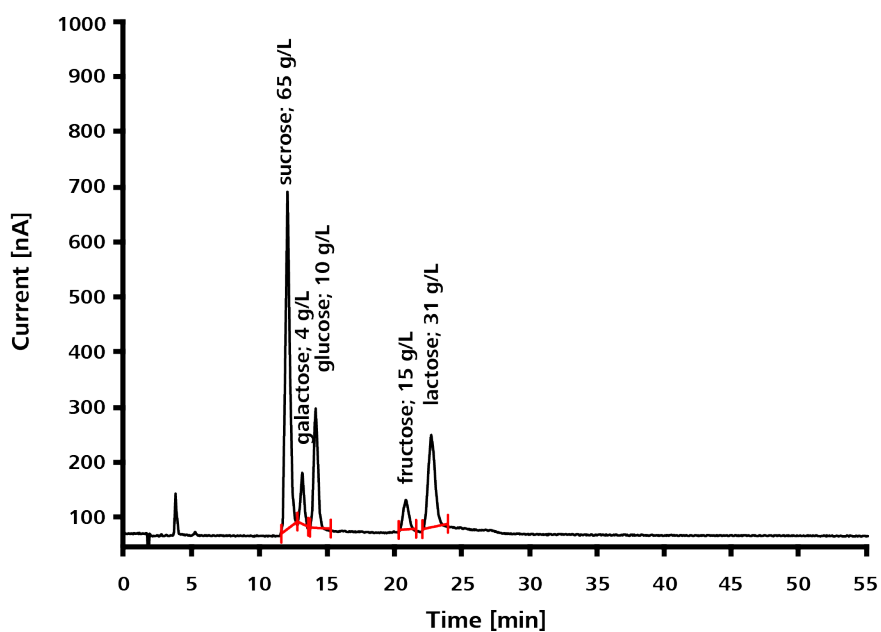
Säule: Metrosep Carb 2 - 150/2.0

Flussrate: 0.13 mL/min

Temperatur: 40 °C

Loop: 5  $\mu$ L

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





## 5.11 Meerwasseranalyse mittels UV-Detektion

*Probenvorbereitung:* Inline-Ultrafiltration

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

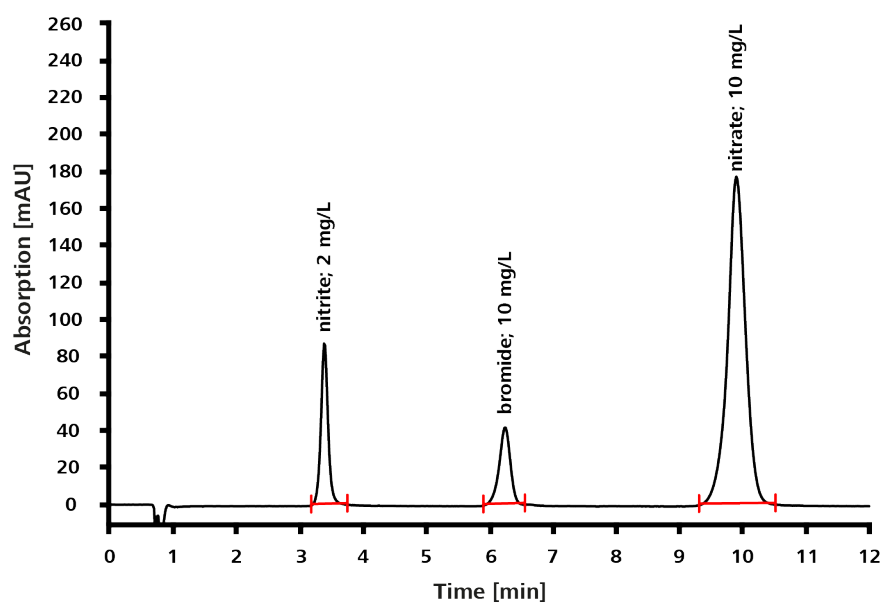
*Säule:* Metrosep Carb 2 - 100/2.0

*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

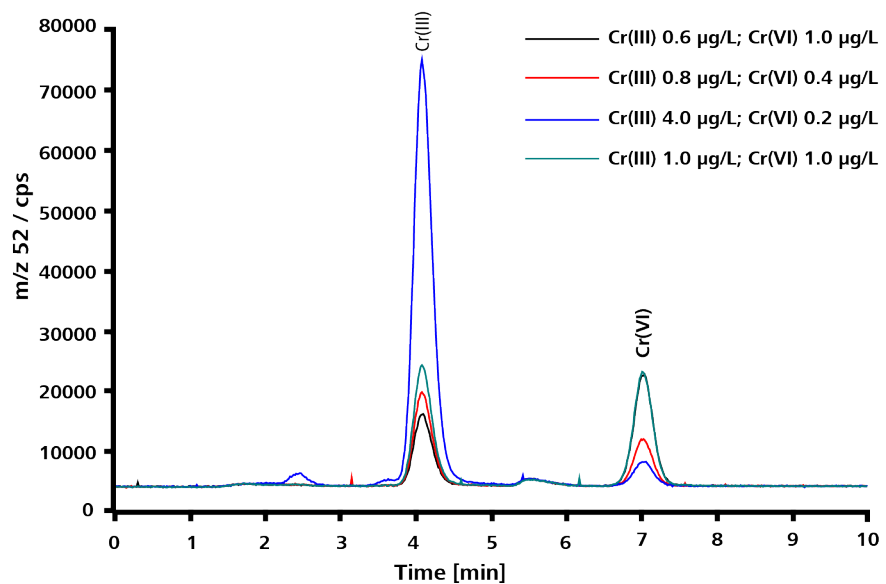
Säule: Metrosep Carb 2 - 100/2.0

Flussrate: 0.2 mL/min

Temperatur: 20 °C

Loop: 20  $\mu$ L

*Eluent:* 100 mmol/L Ammoniumnitrat, pH = 9



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  $\text{CO}_3^{2-}$  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 $\text{BO}_3^{3-}$ Trap 1 – 100/4.0

Die Metrosep  $\text{BO}_3^{3-}$  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
Lösung	100 mL Standardeluent in 50 % Acetonitril	25 mL Standardeluent in 50 % Acetonitril
Flussrichtung	in Flussrichtung	in Flussrichtung
Flussrate	0.5 mL/min	0.13 mL/min

*Tabelle 7 Anorganische Verunreinigungen*

### 3 Trennsäule spülen

## 6.2 Abnehmende Auflösung / Peakformen

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

Ursachen	Vermeidung / Behebung
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>

Ursachen	Vermeidung / Behebung
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

Ursachen	Vermeidung / Behebung
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 Elution 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>







# 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