

Ionenchromatographie (IC) - Bestimmung von Anionen in Wasser

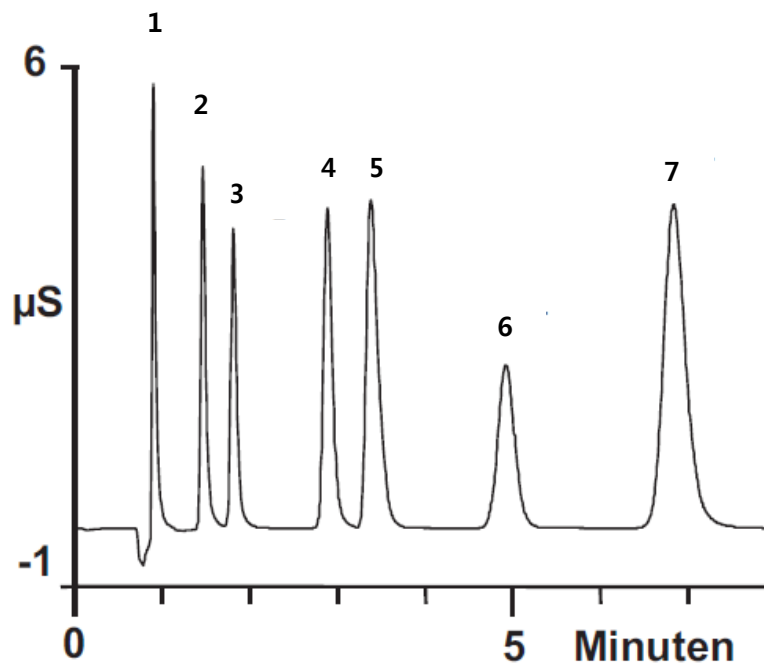


Abbildung 1 - Chromatogramm einer Trinkwasserprobe aus der Schweiz ^[4]

Inhaltsverzeichnis

1 Einführung

2 Der Ionenaustauschprozess

3 Retentionsparameter und das Chromatogramm

4 Das Gerät: Ionenchromatograph Dionex DX-120

5 Aufgabe

6 Bericht

Assistent:	Ceren Yilmaz	G 122	Tel. 044 633 45 46,	yilmaz@inorg.chem.ethz.ch
Professor:	Detlef Günther	G 113	Tel. 044 632 46 87,	guenther@inorg.chem.ethz.ch

1. Einführung

Chromatographie ist die allgemeine Bezeichnung für physikalisch-chemische Trennverfahren für Substanzgemische, die auf der wiederholten Verteilung eines Stoffes zwischen einer **mobilen** und einer **stationären Phase** beruhen. Abhängig von den Aggregatzuständen dieser Phasen gibt es verschiedene chromatographische Techniken:

stationäre Phase	mobile Phase	
	flüssig	gasförmig
	fest	LSC
flüssig	LLC	GLC

Abbildung 2 – Einteilung chromatographischer Methoden in Abhängigkeit der Aggregatzustände der mobilen und stationären Phase ^[1]

Während die Ionenchromatographie ihre Anfänge bereits Mitte des 19. Jahrhunderts fand, wurde sie als analytische Methode erst 1975 von Small, Stevens und Baumann eingeführt. Heutzutage ist die routinemässige Analyse wässriger Systeme (z. B. in der Trinkwasser-, Umwelt- und Ultraspurenanalytik) vor allem für anionisch vorliegende Elemente das Haupteinsatzgebiet der Ionenchromatographie.

Die Ionenchromatographie (IC) ist ein Oberbegriff für drei verschiedene Methoden: die Ionenaustausch- (IC), Ionenpaar- (IPC) und Ionenausschlusschromatographie (IEC = Ion Exchange Chromatography). Gegenüber alternativen Methoden sind die wichtigsten Vorteile der Ionenchromatographie vor allem ihre Schnelligkeit, Empfindlichkeit, Selektivität und Simultanität.

2. Der Ionenaustauschprozess

Die Ionenaustauschchromatographie (IC) beruht auf einer stöchiometrisch verlaufenden chemischen Reaktion zwischen Ionen einer festen (stationären) Phase und einer mobilen Phase. Die stationäre Phase trägt funktionelle Gruppen (Anionen- oder Kationentauscher) und kann Ionen mittels elektrostatischer Kräfte fixieren. Die zu fixierenden Ionen bewegen sich in der mobilen Phase, auch Eluent (E^-) genannt. Der Ionenaustausch zwischen den beiden Phasen liegt in einem Gleichgewichtszustand, der von der Affinität der beteiligten Ionen zu den funktionellen Gruppen der festen Phase (HSAB-Theorie) abhängt.

Die Wahl eines geeigneten Eluenten ist in der Ionenaustauschchromatographie essentiell, um Voraussetzungen für eine gute Trennung zu schaffen. Wichtige Parameter sind die Wahl des Ionenaustauschers, die Ionenstärke der mobilen Phase, des pH-Wertes und der Art der Gegenionen. Die Ionenstärke der mobilen Phase beeinflusst das Konkurrenzverhalten von Eluent- und Analyt-Ionen um die funktionellen Gruppen (z.B. zu hohe Retentionszeit \rightarrow Erhöhung der Ionenstärke \rightarrow schnellere Elution). Mit der Wahl des pH-Wertes der mobilen Phase wird das Gleichgewicht zwischen Analytionen in stationärer und mobiler Phase verändert (Erhöhen des pH-Wertes \rightarrow Retentionszeit schwacher Säuren an Anionentauscher nimmt zu).

Unter der Annahme, dass die Ionenstärke der mobilen Phase gleich bleibt, gilt die folgende Reihenfolge für die Affinität zur stationären Phase:

Anionentauscher: $F^- < OH^- < Cl^- < CN^- < Br^- < NO_3^- < HSO_4^- < I^-$

Kationentauscher: $H^+ < Na^+ < NH_4^+ < K^+ < Cs^+ < Ag^+$

Höherwertig geladene Ionen werden stärker zurückgehalten als einfach geladene.

Aufbau des Anionentauschers

Die Anionentauscher einer Trennsäule bestehen aus sphärischen, organischen Harz – Polymerpartikeln, die eine hohe pH-Stabilität vorweisen. Ankergruppen an den Polymeroberflächen dienen als Abstandhalter (Spacer) zwischen dem Polymer und den funktionellen Gruppen, welche chemisch an den Ankergruppen fixiert sind. Die Gesamtzahl der funktionellen Gruppen, welche in der Anionenaustausch-Chromatographie meistens auf quartären Ammoniumionen bestehen, ist ein wichtiges Charakteristikum der Ionentauscher und wird als Austauschkapazität bezeichnet. Kommerzielle Packungsmaterialien haben eine relativ niedrige Austauschkapazität zwischen 50 – 100 μMol pro Trennsäule. In einer Kationensäule besteht die stationäre Phase meistens aus Sulfonsäuregruppen.

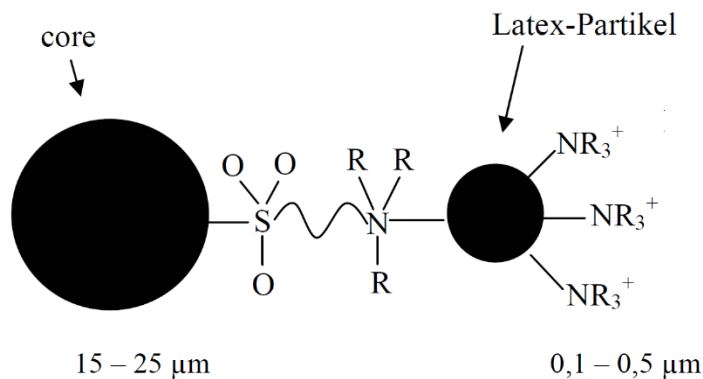


Abbildung 3 – Schematischer Aufbau eines pelliculären Anionenaustauscherharzes ^[2]

In der Ionenchromatographie werden heute zwei unterschiedlich aufgebaute Arten von stationären Phasen verwendet. Die oberflächenfunktionalisierten (a) und die pellicularen (b) Ionenaustauscher. Bei der ersten Art sind die funktionellen Gruppen direkt an der Oberfläche oder in den Poren des Polymerpartikels lokalisiert. Im Gegensatz dazu sind bei pellicularen Packungsmaterialien oberflächenfunktionalisierte Partikel an grössere Kernteilchen (Latexteilchen) gebunden. Das Packungsmaterial soll einen möglichst schnellen Austauschprozess und eine hohe Effizienz erlauben.

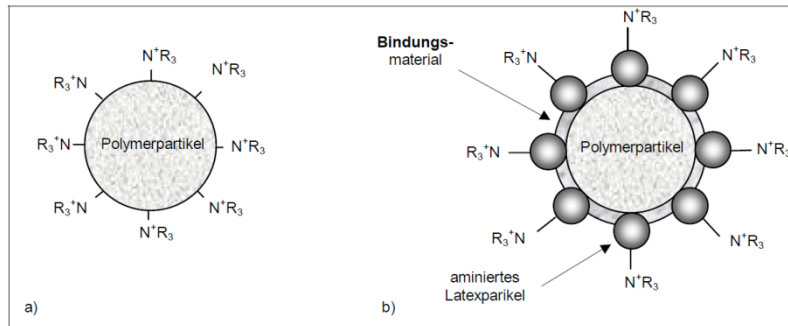


Abbildung 4 - Darstellung der zwei verwendeten Arten stationärer Phasen
a) oberflächenfunktionalisierte oder b) pellikulare Ionentauscher ^[1]

Austauschprozess

In der Nähe der funktionellen Gruppen NR_3^+ der stationären Phase befindet sich das entsprechende Gegenion E^- aus der mobilen Phase (auch Laufmittel oder Eluent genannt), somit ist die Gruppe nach aussen elektrisch neutral.

Wird eine Probe, welche die Anionen A^- und B^- enthält, auf die Säule gebracht, so verdrängen diese Anionen kurzzeitig die Eluentionen E^- und werden an den fixierten Ladungen zurückgehalten, bevor sie wieder durch Eluentionen E^- ausgetauscht werden. Es ergeben sich folgende reversible Gleichgewichtsprozesse:

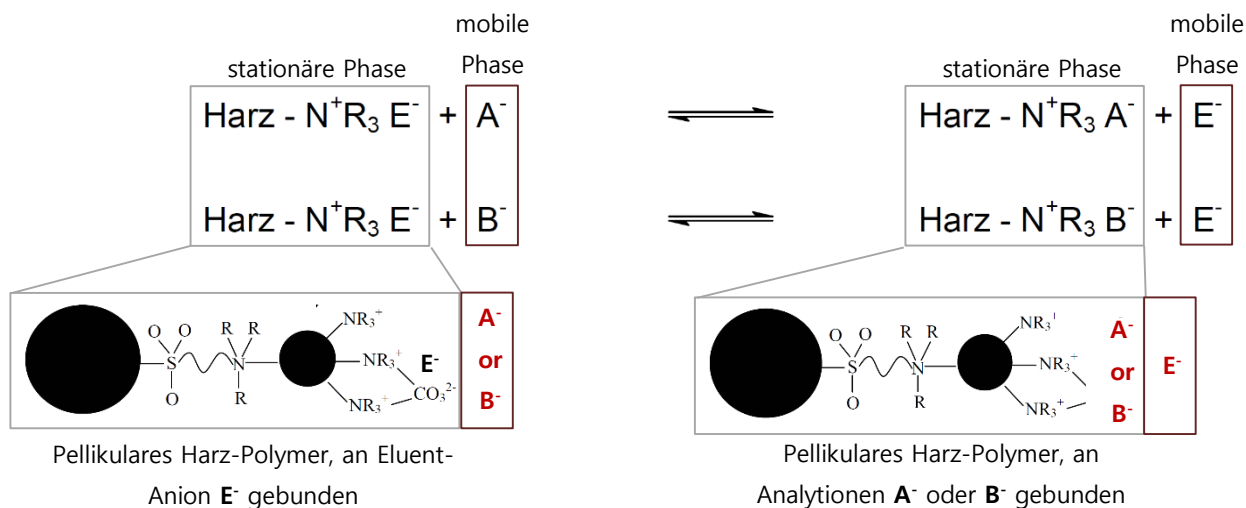


Abbildung 5 – Austauschprozess zwischen mobiler und stationärer Phase in einer Anionensäule

3. Retentionsparameter und das Chromatogramm

Die den Gleichgewichtsprozess charakterisierende Konstante wird als Verteilungskoeffizient D bezeichnet. Der **Verteilungskoeffizient** D_A (für das Anion A^-) ist definiert als das Verhältnis der Konzentration eines Stoffes A in der stationären $[A^-]_s$ und der mobilen $[A^-]_m$ Phase:

$$D_A = \frac{[A^-]_s}{[A^-]_m}$$

Stoffe mit einem hohen Verteilungskoeffizienten D werden stärker gebunden als solche mit einem kleinen D und benötigen folglich auch länger, um die Säule zu passieren. Der Verteilungskoeffizient D ist proportional zur Ionenladung ($K(A^{3-}) > K(A^{2-}) > K(A^-)$) und umgekehrt proportional zur Ionengröße in solvatisiertem Zustand.

Unter der **Nettoretentionszeit** t_s versteht man die Zeit, welche eine Substanz länger auf der Säule bleibt als eine nicht wechselwirkende Substanz. Als **Totzeit oder Durchflusszeit** t_m definiert man die Zeit, die eine nicht mit der Säule wechselwirkende Verbindung zum Durchlaufen der Trennsäule sowie sämtlicher Schläuche zwischen Injektionsventil und Detektor benötigt. Die Totzeit hängt direkt von der Fließgeschwindigkeit ab. Die Verweilzeit einer bestimmten Substanz in der Säule wird **Bruttoretentionszeit** t_{ms} genannt und berechnet sich aus der Totzeit und der Retentionszeit:

$$t_{ms} = t_m + t_s$$

Das Peakmaximum dieser Substanz wird bei der Zeit t_{ms} erscheinen.

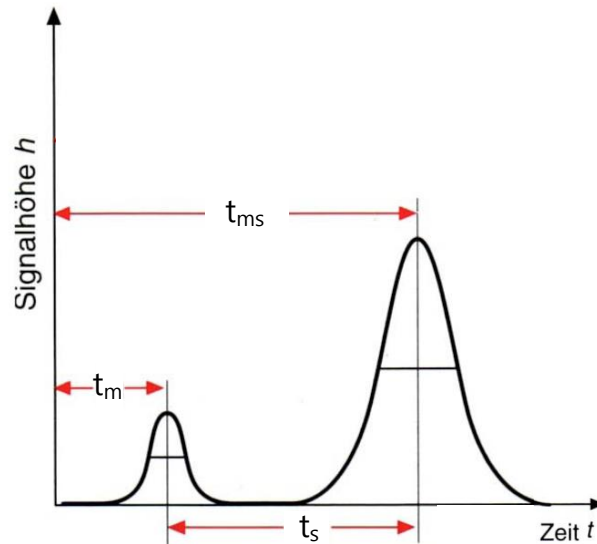


Abbildung 6 - Elutionschromatogramm einer ionenchromatographischen Trennung ^[3]

Da die Bruttoretentionszeit t_{ms} von chromatographischen Bedingungen abhängt und daher nicht als Vergleichsparameter zwischen verschiedenen chromatographischen Systemen geeignet ist, wird der sogenannte dimensionslose **Retentionsfaktor k'** eingeführt. k' sagt aus, um wie viel länger der Transport eines Analyten durch die Säule dauert verglichen zur mobilen Phase. Das heisst k' ist ein Mass dafür, wie viel länger sich die Analytionen an/in der stationären Phase aufhalten im Vergleich zu den Elutionen E^- . Deswegen ist k' abhängig vom Verteilungskoeffizienten D und dem Phasenverhältnis $\beta = V_s/V_m$.

$$k' = D \cdot \frac{V_s}{V_m} = \frac{t_s}{t_m} \quad \left\{ \begin{array}{l} k' < 1: \text{rasche Elution} \\ k' > 20: \text{sehr lange Elutionszeiten} \\ 1 < k' < 5: \text{optimale Trennung} \end{array} \right.$$

Grosse Werte für k' bedeuten zwar eine gute Trennung, aber auch eine lange Verweilzeit auf der Trennstrecke. Dies führt zu Peakverbreiterung und geringer Nachweisempfindlichkeit. Kleine Werte für k' deuten auf eine schlechte Trennung hin,

da die Substanz dann nahe der Totzeit eluiert. Ein idealer Kapazitätsfaktor liegt daher zwischen 2 und 5.

Der **Selektivitätskoeffizient oder relative Trennfaktor α** beschreibt die relative Retention zweier Peaks zueinander und damit das Mass der Trennung dieser Substanzen. Substanzen werden nur dann ausreichend gut getrennt, wenn sich auch ihre Nettoretentionszeiten t_s hinreichend unterscheiden. Der Trennfaktor kann auch aus dem Verhältnis der beiden Verteilungskoeffizienten berechnet werden:

$$\alpha = \frac{t_{s_2}}{t_{s_1}} = \frac{t_{ms_2} - t_m}{t_{ms_1} - t_m} = \frac{D_2}{D_1}$$

Ist $\alpha = 1$ (Koelution), so haben die Substanzen die gleiche Retentionszeit und werden nicht getrennt. Bei $\alpha = 1.5$ ist die Trennung für eine quantitative Bestimmungen ausreichend. Generell gilt jedoch, dass bei einem grösseren α eine bessere Trennung erreicht wird.

Die **Auflösung R** ist ein Mass für die Güte der Trennung der Probenkomponenten in einzelne Signale. Die Auflösung zwischen zwei benachbarten Peaks ist als Quotient aus dem Abstand der beiden Peakmaxima und dem arithmetischen Mittel aus den beiden dazugehörigen Basispeakbreiten w definiert:

$$R = \frac{|t_{ms_1} - t_{ms_2}|}{\frac{w_1 + w_2}{2}} = \frac{2\Delta t_{ms}}{w_1 + w_2}$$

$R = 1$, entspricht einer Überlappung von etwa 2 % der Peakflächen. Ein R von besser als 1.5 (Überlappung ~ 0.1 %) ist für eine quantitative Analyse mehr als akzeptabel.

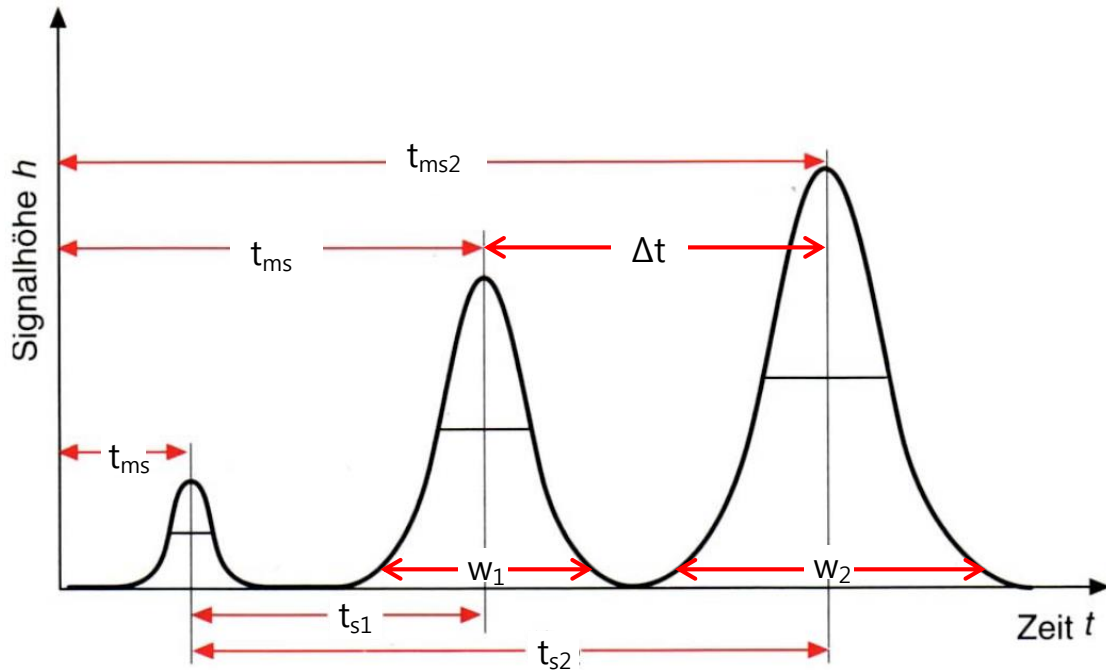


Abbildung 7 - Chromatogramm mit den wichtigsten Kenngrößen ^[3]

Die chromatographische Trennung wird in Form eines **Chromatogrammes** dargestellt. Dieses zeigt die Aufzeichnung eines Detektorsignales als Funktion der Zeit. Das Detektorsignal soll proportional zur Konzentration eines Analyten nach der Trennsäule sein. Da Unregelmässigkeiten, Kanalbildungen oder Diffusionsprozesse in der Säule auftreten können, passieren einige Teilchen die stationäre Phase langsamer oder schneller als zu erwarten wäre. Das Chromatogramm besteht deshalb aus **gaussförmigen Peaks** und nicht aus unendlich schmalen Signalen (Bandenverbreiterung). Diese Verbreiterung wird durch die **Van-Deemter-Gleichung** beschrieben, die von verschiedenen Fluss- und kinetischen Parametern abhängt. Entscheidend sind hierbei die **Eddy-Diffusion** (auch Streu- oder Wirbeldiffusion) und die longitudinale Diffusion.

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u$$

A, B und C sind Grössen, welche die Beiträge der Eddy-Diffusion (A-Term), der longitudinalen Diffusion (B-Term) und des Stofftransportes (Massentransporteffekte, C-Term) zur Peakverbreiterung beschreiben, während u die Lineargeschwindigkeit durch die Säule ist.

Die **Eddy-Diffusion (A)** entsteht aufgrund der nicht-geradlinig verlaufenden Wege unterschiedlicher Länge einzelner Partikel durch die Säule. Die Partikel umströmen die Teilchen des Trägermaterials, welche unterschiedliche Formen und Grössen besitzen, und stehen dabei unter Einfluss der Wirbelströmungen, die hinter den Teilchen des Trägers auftreten.

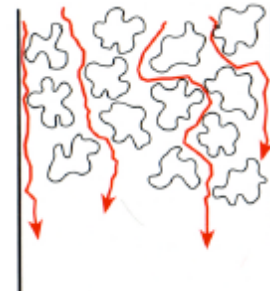


Abbildung 8 – Darstellung der Eddy-Diffusion ^[3]

Die **longitudinale Diffusion** ist die zufällige Diffusion in alle Raumrichtungen. Nur die Diffusion in oder gegen die Strömungsrichtung führt zu einer Peakverbreiterung. Die Diffusion **B** ist umgekehrt proportional zur Strömungsgeschwindigkeit u und ist von der Viskosität und Temperatur der mobilen Phase abhängig. Die roten Punkte in Abb. 9 stellen Moleküle dar, die sich auf Grund der Longitudinaldiffusion nicht auf derselben Höhe befinden.

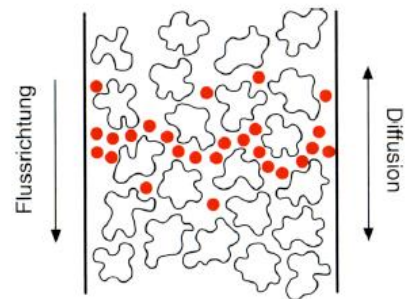


Abbildung 9 – Darstellung der longitudinalen Diffusion ^[3]

4. Ionenchromatograph Dionex DX-120

Der Ionenchromatograph besteht aus einer Pumpe, welche die mobile Phase durch das gesamte chromatographische System befördert. Die zu analysierende Probe wird mit einem Schleifen-Injektor in das System eingeführt. Die analytische Trennsäule ist der wichtigste Bestandteil eines Chromatographen. Ein Suppressorsystem verringert chemisch die Grundleitfähigkeit des Eluenten. Ein Leitfähigkeitsdetektor detektiert die Leitfähigkeit einzelner Fraktionen (je 1.0 μL). Die Chromatogramme können am PC mit Hilfe der Peak-Net Software nach Peakfläche und Peakhöhe ausgewertet werden.

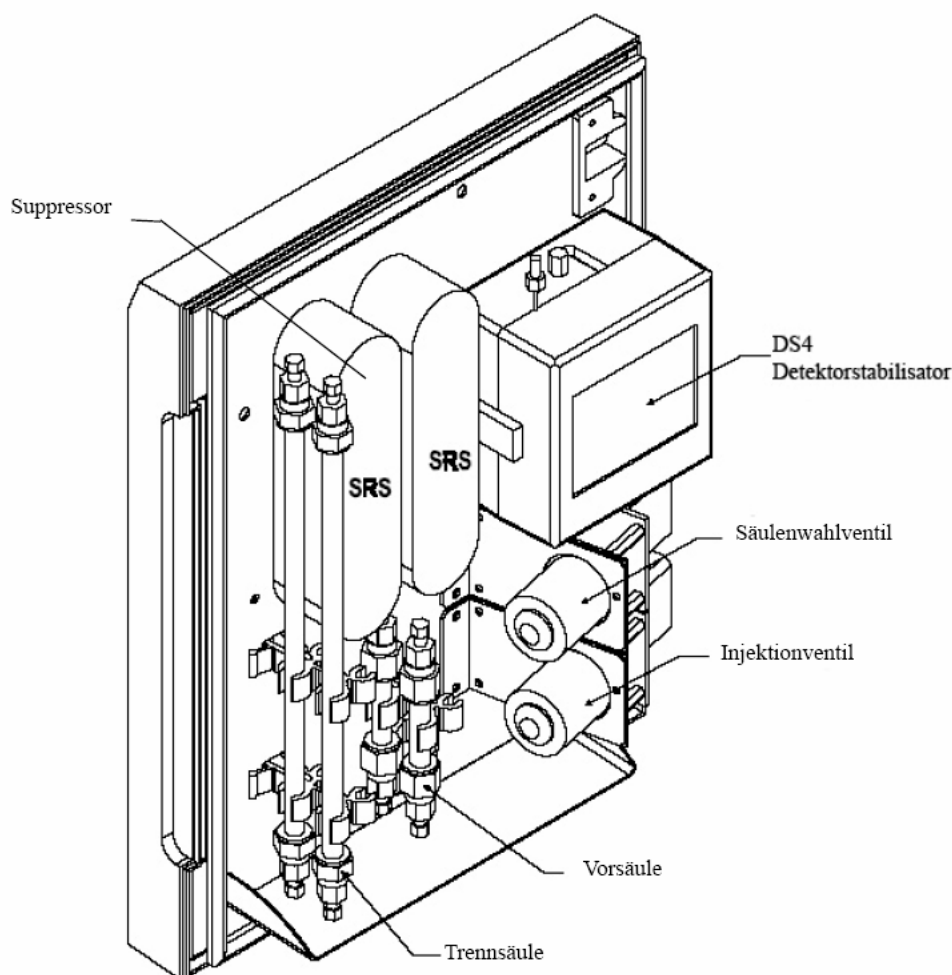


Abbildung 10 - Schematischer Aufbau des Ionenchromatograph Dionex DX-120 ^[4]

Eluent

Ein Gemisch aus Natriumcarbonat (Na_2CO_3) und Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) in einem bestimmten Verhältnis eignet sich für die Trennung der geläufigen anorganischen Anionen. Wichtig ist, dass die Affinität des Eluentsalzes zur stationären Phase mit der der Analytanionen vergleichbar ist. Wie in den vorhergehenden Kapiteln besprochen bestimmt die Ionenstärke die Elutionskraft des Eluenten, also das Ausmass der Verdrängung der Analytionen. Sie hängt einerseits vom pH-Wert ab, der sich durch das Mischungsverhältnis einstellen lässt, andererseits von der Ionenkonzentration.

Pumpe

In der Regel werden Ein- oder Zweikolbenpumpen eingesetzt. Die für den Detektor notwendige Pulsfreiheit wird bei der Einkolbenpumpe durch mechanische Pulsdämpfer und bei der Zweikolbenpumpe durch eine aufwendige elektronische Steuerung gewährleistet.

Schleifen-Injektor

Es handelt sich um ein Dreiwege-Ventil, zwei Ausgänge sind über eine Probenschleife miteinander verbunden. Die Probenschleife wird bei atmosphärischem Druck gefüllt (Load Position). Nach dem Umschalten des Ventils wird die Probe in der Schleife durch die mobile Phase zum Trennsystem transportiert (Inject Position).

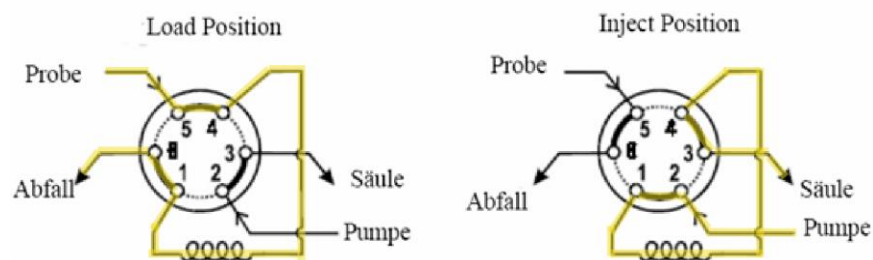


Abbildung 11 - Darstellung der beiden Positionen des Schleifen-Injektors ^[4]

Vorsäule

Die Vorsäule schützt die eigentliche Trennsäule vor Kontaminationen durch die Probe. Es ist einfacher, eine Vorsäule zu ersetzen oder zu reinigen als die Trennsäule. Der Nachteil besteht darin, dass sich die Retentionszeiten um ca. 20 % erhöhen.

Trennsäule

Die Wahl der geeigneten stationären Phase ist für die Qualität der Analyse von entscheidender Bedeutung. In unserem Fall, zur Analyse von Nitrat, wird ein Anionenaustauscher verwendet (Säulenbezeichnung: AS 14, 4 mm).

Mikromembransuppressor

Der Dionex SRS Self-Regenerating Supressor dient der Reduktion der Grundleitfähigkeit (Eigenleitfähigkeit des Eluenten) auf einen minimalen Wert um die Detektierbarkeit der Analytionen zu erhöhen. Das Ziel ist also eine Erhöhung des Signal / Untergrund Verhältnisses.

Abbildung 12 zeigt den schematischen Aufbau eines Mikromembransuppressors. Er besteht aus einem zweiteiligen flachen Gehäuse, in welchem stark sulfonierte Ionenaustausch-Gaze und hauchdünne Ionenaustausch-Membranen in abwechselnder Reihenfolge übereinander liegend angeordnet sind, sowie zwei Elektroden. Die Ionenaustausch-Gaze fungiert als Eluens- und Regenerens-Kanal und ist nur im Zentrum durchlässig. Der Eluens fließt durch den sich in der Mitte befindenden Eluens-Kanal, während das Regeneriermittel im Gegenstromprinzip durch die beiden anliegenden Regenerens-Kanäle geleitet wird. Die Ionenaustausch-Kapazität der Gaze ist direkt proportional zur Kapazität des Supressors. Die Kapazität entspricht der austauschbaren Kationen-Konzentration pro Zeiteinheit.

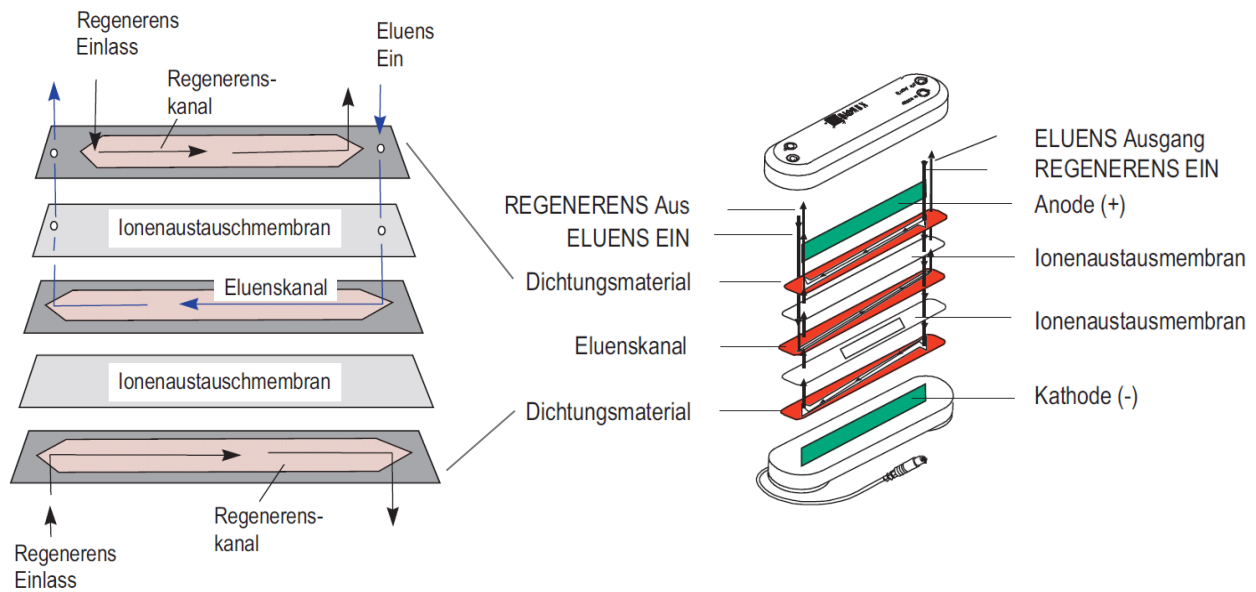


Abbildung 12 – Aufbau eines Mikromembransuppressors [5]

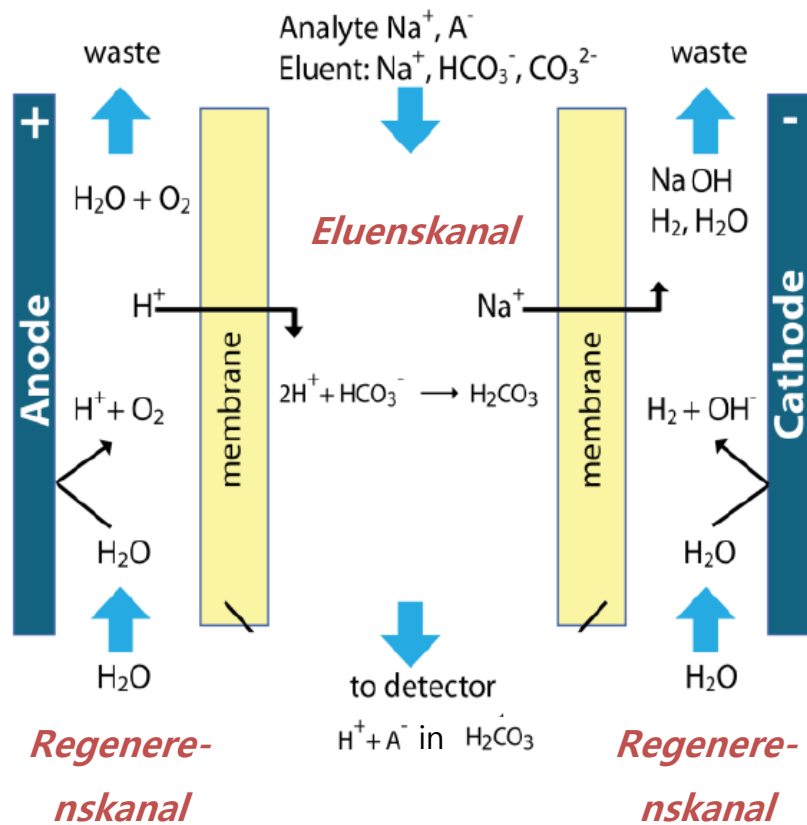
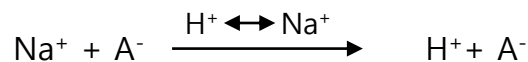


Abbildung 13 – Schematischer Aufbau und Funktionsweise eines Suppressors

Zwei Elektroden, jede neben einer Kationenaustausch-Membran angebracht, hydrolysieren Wasser zu H^+ - und OH^- -Ionen. H^+ -Ionen diffundieren von der Anode durch die Membran. Gleichzeitig eluieren die Analyt-Anionen A^- von der Säule mit den Eluent-Anionen HCO_3^- und CO_3^{2-} und Na^+ als Gegenionen durch den Eluentskanal. Die Na^+ -Ionen wandern durch die Membran zur Kathodenkammer, wo sie als Gegenion des OH^- dienen und werden somit im Eluentskanal durch H^+ ersetzt. Der Eluent wird auf diesem Weg neutralisiert, Wasser und CO_2 entstehen als Nebenprodukte.



Da auch die Gegenionen Na^+ der Analyt-Anionen A^- im Suppressor gegen H^+ ausgetauscht werden, lässt sich folgende Gleichung formulieren:



Statt des ursprünglich in der Probe vorhandenen Na^+ und A^- wird nun die wesentlich höhere Äquivalentleitfähigkeit von H^+ und A^- gemessen und dies zusätzlich noch auf einer geringen Hintergrundleitfähigkeit. Abb. 14 zeigt, wie das Signal / Untergrund-Verhältnis erheblich verbessert wird durch das Einbauen eines Suppressors zwischen dem Ausgang der Trennsäule und dem Leitfähigkeitsdetektor.

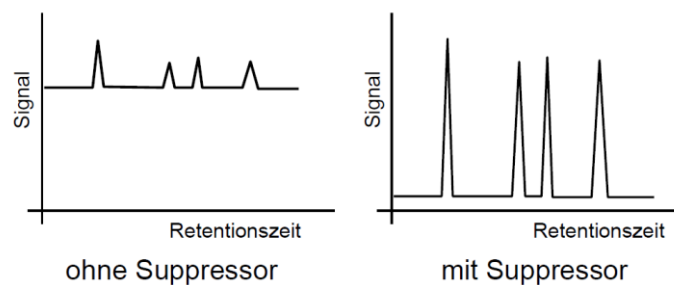


Abbildung 14 - Signal im Detektor mit und ohne Suppressor

Detektor

In der Ionenchromatographie finden häufig Leitfähigkeitsdetektoren Anwendung. Daneben werden auch UV/VIS, amperometrische- und Fluoreszenz-Detektoren verwendet. Der Ionenchromatograph DX-120 besitzt ein Durchflussleitfähigkeitszelle mit einem Temperatursensor. Das aktive Volumen beträgt $1.0\ \mu\text{L}$. Die Temperatur beeinflusst direkt die Leitfähigkeit einer Lösung. Um eine höhere Stabilität der Basislinie und eine bessere Reproduzierbarkeit der Analyse zu erreichen, wird daher ein Detektorstabilisator eingesetzt. Dieser ist mit einer Heizung ausgerüstet.

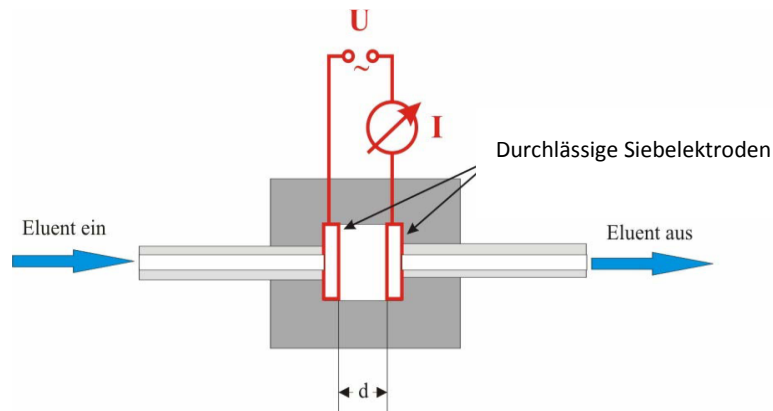


Abbildung 15 – Schematischer Aufbau eines Leitfähigkeitsdetektors

Änderungen in der **Selektivität** und **Effizienz** einer Anionentrennsäule erreicht man durch Variation der stationären Phase (funktionale Gruppe, Vernetzungsgrad und Partikelgröße) oder durch unterschiedliche Eluentzusammensetzungen und -konzentrationen. Die **Nachweisgrenzen** für anorganische Anionen und Kationen betragen in der Ionenchromatographie mit Leitfähigkeitsdetektion etwa **100 ppb**.

6. Aufgabe

In diesem Praktikumsversuch soll mit Hilfe der Ionenchromatographie der Nitratgehalt von Trink- oder Mineralwasser bestimmt werden. Dafür ist **Leitungswasser in einer gereinigten PET-Flasche** von zuhause **mitzubringen**. Als Eluent dient eine Lösung aus 3.5 mM Na_2CO_3 und 1.0 mM NaHCO_3 in milli-Q Wasser. Die Kalibrationsgerade wird mit LiNO_3 in milli-Q Wasser hergestellt. Es ist darauf zu achten einen sinnvollen Kalibrationsbereich zu wählen. Welche Kriterien sollte der Kalibrationsbereich erfüllen? Hinweise auf den Nitratgehalt in eurer Wohngemeinde findet Ihr unter: <http://www.nitrat.ch> oder <http://www.wasserqualitaet.ch>. Zusätzlich wird ein Blank aus milli-Q Wasser hergverwendet. Sämtliche Geräteparameter (Fluss, Druck etc.) müssen dokumentiert werden. Die Probe sollte dreimal gemessen werden, die Kalibrationslösungen nur einmal. Die Messresultate werden mit der Peak-Net Software ausgewertet.

7. Bericht

Der Bericht sollte eine kurze 1) theoretische Einführung zur Ionenchromatographie enthalten. Der 2) experimentelle Teil sollte alle entsprechenden Angaben enthalten: Herstellung der Kalibrationsstandards, Geräteparameter, Kalibration, Messwerte, sowie Gerätehersteller, Infos über die verwendeten Chemikalien. Die 3) Resultate müssen übersichtlich mit Fehlern dargestellt werden, wobei klar erkennbar sein muss, wie die Fehler ermittelt wurden. Rechnungen und verwendete Zahlenwerte sollen aufgeführt und erklärt werden. Am Ende sollten die Ergebnisse mit den Fehlern kurz 4) diskutiert werden. Der Bericht muss eine Woche nach dem Praktikumstag der Assistentin per Mail zugesendet werden. Die Berichte werden innerhalb einer Woche korrigiert, mit einer provisorischen Note bewertet und können im HCI G122 abgeholt werden. Nach eventuell notwendigen Verbesserungen muss der Bericht erneut abgegeben werden, um die für das Testat erforderliche definitive Benotung und Unterschrift der Assistentin zu erhalten.

Anforderungen

- Lesen (und Verstehen) der Theorie vor Praktikumsbeginn
- Pünktliches Erscheinen
- Einhalten der Laborordnung
- Fristgerechtes Abgeben und – falls notwendig – Korrigieren des Berichtes

Referenzen

- [1] C. Eith, M. Kolb, A. Subert, K. H. Viehweger, "Praktikum der Ionenchromatographie; Eine Einführung", KHV, 2000
- [2] http://amor.cms.hu-berlin.de/~genslerm/files/anIII_praktikum/IC2005.pdf
- [3] http://www.analytik.ethz.ch/praktika/phys_anal/EinfuehrungChromatographie.pdf
- [4] <http://www.dionex.com/en-us/webdocs/4520-31183-03.pdf>
- [5] Grundlagen der Ionenchromatographie, ThermoScientific

Literatur

- Eith C., Kolb M., Seubert A., Viehweger K.H. "Praktikum der Ionenchromatographie - Eine Einführung", KHV, 2000