



Przegląd wybranych aplikacji z zakresu chromatografii jonowej (cz. II)

Rajmund Michalski*

Wprowadzenie

Firma Dionex po wielu latach samodzielnej egzystencji i dominacji na rynku chromatografii jonowej od kilku lat jest częścią światowego giganta – firmy Thermo Fischer Scientific. Ale sięgnijmy do początków, kiedy to chromatografia jonowymienna była zasadniczo metodą preparatywną, ponieważ oznaczanie jonów obecnych w próbce na tle fazy ruchomej sprawiało poważne trudności. Kluczowym problemem koniecznym do rozwiązania, aby powstała chromatografia jonowa we współczesnej formie było wykorzystanie odpowiednich wypełnień w kolumnach analitycznych oraz opracowanie metody obniżania przewodnictwa eluentu, tak, aby możliwe było oznaczanie rozdzielonych jonów z wykorzystaniem detektora konduktometrycznego.

Początkowo do obniżania przewodnictwa eluentu (supresji) stosowano drugą kolumnę (kolumnę tłumienia) umiejscowioną za kolumną analityczną, a przed detektorem konduktometrycznym. W wyniku zachodzących w niej reakcji, jony eluentu tworzyły produkty o niskim przewodnictwie, takie jak H_2O , gdy stosowano eluenty w postaci

wodnych roztworów wodorotlenków lub H_2CO_3 jeżeli używano eluentów węglanowych. W połowie lat 70-tych XX wieku metoda była już dopracowana na tyle, że firma Dow Chemicals sprzedała licencję na supresję konduktometryczną firmie Durrum Instruments, która wkrótce dla potrzeb komercyjnych zmieniła nazwę na Dionex. We wrześniu 1975 ta ostatnia zdecydowała się przedstawić pierwszy komercyjny chromatograf jonowy (Dionex, Model 10) podczas zjazdu Amerykańskiego Towarzystwa Chemicznego. Rok 1975 oficjalnie uważany jest za rok narodzin chromatografii jonowej. Na przełomie lat 70-tych i 80-tych ubiegłego wieku Gjerde i wsp. [1] po raz pierwszy zastosowali układ do chromatografii jonowej pozbawiony kolumny tłumienia oraz eluenty o bardzo niskich przewodnictwach. Krótco po tych publikacjach nastąpiła szybka komercjalizacja chromatografii jonowej bez tłumienia przewodnictwa przez firmę Wescan Company, a nieco później Waters, Shimadzu, Methrom i inne.

Zalety chromatografii jonowej takie jak możliwość jednoczesnego oznaczania kilkunastu jonów w czasie około 15 mi-

nut, niskie granice oznaczalności oraz automatyzacja oznaczania spowodowały, że chromatografia jonowa już w połowie lat 80-tych stała się ona metodą referencyjną, a zakres jej zastosowań obejmował nie tylko próbki ciekłe, ale i stałe [2], gazowe [3] czy analizę specjacyjną [4].

Aplikacje firmy Dionex (Thermo Fischer Scientific) w zakresie chromatografii jonowej

Informacje na temat aplikacji firmy Dionex (Thermo Fischer Scientific) w zakresie chromatografii jonowej znajdują się na stronie domowej firmy (www.dionex.com) w zakładce „Dokumenty”. Pierwsza część dotyczy aplikacji z wykorzystaniem kolumn z serii Acclaim® Trinity P1, które w połączeniu z innowacyjnym detektorem CAD (Charge Aerosol Detector) znajdują zastosowania w badaniach: środowiskowych, biologicznych, farmaceutycznych, próbek żywności i napojów, oraz produktów chemicznych i naturalnych.

W zakresie zastosowań środowiskowych kolumny Acclaim® Trinity P1 znalazły zastosowania (w nawiasie podano liczbę oferowanych aplikacji) do: oznaczania amin (10), badania

materiałów wybuchowych (8), kwasów perfluorokarboksylo- wych (2), pestycydów i herbicydów (6), fenoli (4), środków powierzchniowoczynnych (1) oraz innych zastosowań (22). Badania biologiczne dotyczą: oczyszczania protein (5), proteomiki (9), oznaczania aminokwasów (2) oraz innych (18). W zakresie zastosowań farmaceutycznych kolumny Acclaim® Trinity P1 znalazły zastosowania do: analiz antybiotyków (2), kontroli jakości leków (24), badania suplementów diety (1), badania leków wydawanych bez recepty (23), środków higieny osobistej (18), kwasów organicznych (2) oraz innych analitów (11). Jeszcze większa liczba zastosowań tych kolumn dotyczy analiz próbek żywności i napojów. W szczególności dotyczą one: badania dodatków do żywności (17), oznaczania aminokwasów (3), bezpieczeństwa żywności (15), badania produktów naturalnych (28), kwasów organicznych (8), witamin (21) i innych (14). W zakresie badania produktów chemicznych oferta ta dotyczy: badań polimerów (1), preparatów do powlekania (3), środków powierzchniowoczynnych (33) i innych produktów chemicznych (53). Ponadto kolumny

Tabela 1. Przykłady zastosowań kolumn Acclaim® Trinity P1

	Nazwa metodyki
Zastosowania środowiskowe	Porównanie charakterystyk kolumn RP serii Acclaim do oznaczania lotnych amin
	Oznaczanie lotnych amin zgodnie z normą OSHA Method 60
	Badania materiałów wybuchowych zgodnie z normą EPA Method 8330A
	Oznaczanie kwasów perfluorokarboksylowych (PFOA) i perfluorosulfonowych (PFOS) w wodzie z kranu
	Oznaczanie herbicydów metodą LCMS z wykorzystaniem kolumny Acclaim 120 C18
	Oznaczanie nitrofenoli
	Oznaczanie azodikarbaminianów na kolumnie Acclaim Mixed-Mode WAX-1
	Oznaczanie chlorowców kwasów na kolumnie Acclaim Trinity P1
	Oznaczanie diizocyjanianów zgodnie z normą OSHA Method 42
	Badania jakości mydeł do rąk
Zastosowania biologiczne	Oznaczanie antybiotyków w żywności dla zwierząt
	Kwasy perfluorokarboksylowe z detekcją konduktometryczną
	Rozdzielanie białek z wykorzystaniem kolumny Acclaim 300 C18
	Analiza fosfopeptydów
Zastosowania farmaceutyczne	Rozdzielanie wybranych aminokwasów na kolumnie Acclaim Mixed-Mode WAX-1
	Oznaczanie siarczanu etoksylaurynowego z wykorzystaniem kolumny Acclaim Mixed-Mode HILIC-1
	Fosfolipidy i trójglicerydy w jajkach
	Oznaczanie spektynomocyny i linkomocyny z detekcją elektrochemiczną
	Oznaczanie alkaloidów w gorzkich pomarańczach na kolumnie Acclaim 120 C18
	Rozdzielanie katechoamin i serotyny
	Badania leków zawierających benzodiazepinę
	Jednoczesna analiza podstawowych leków i ich przeciwjonów
	Analiza środków zapobiegających przeziębieniom
	Bromki i kwasy organiczne w syropach przeciwkaszlowych
	Jednoczesne rozdzielanie cetryzyny i chlorków w tabletkach Zyrtec
	Alternatywne rozpuszczalniki do analizy kationowych środków powierzchniowo-czynnych
	Oznaczanie benzoalkaliów środkach dezynfekujących w spray'u
	Klotrimazolum w maściach przeciwołdciśkowych
Hydrokortizon w kremach do skóry	
Oznaczanie sorbitolu w płynach do czyszczenia jamy ustnej	
Rozdzielanie estrogenów i progestogenów z wykorzystaniem kolumny Acclaim Phenyl-1 Column	
Rozdzielanie soli nikotynowych na kolumnie Acclaim Trinity P1 Column	
Zastosowania żywność i napoje	Analiza dodatków do żywności i napojów gazowanych
	Antyoksydanty w olejach jadalnych
	Barwniki w płatkach śniadaniowych
	Składniki sztucznej wanilii
	Glutaminiany w piwie
	Rozdzielanie wybranych aminokwasów na kolumnie Acclaim Mixed-Mode WAX-1 w trybie HILIC
	Przyśpieszona analiza antyoksydantów na kolumnie Acclaim PolarAdvantage II RSLC
	Wykrywanie zakazanych barwników w papryce
	Oznaczanie karbaminianów w ziemniakach
	Oznaczanie barwników sudanowych na kolumnie Acclaim 120 C18
	Antyoksydanty w czarnej porzeczce
	Porównanie profili katechin w czarnych i zielonych herbatach
	Kwasy organiczne w soku pomarańczowym
	Oznaczanie kwasów organicznych w białym winie
	Kwasy Ω-tłuszczowe w tłuszczu z kurczaków
	Oznaczanie węglowodanów w napojach dla sportowców
	Oznaczanie trójfunkcyjnych epoksy monomerów
	Zastosowania chemiczne
Oznaczanie cetylopirydyny w płynach do czyszczenia jamy ustnej	
Siarczan laurynowy oraz cocoamidopropylobetaina w szamponach	
Rozdzielanie alkilowych amin czwartorzędowych	
Analiza detergentów do prania	
Analiza szamponów	
	Analiza soli sodowej siarczanu laurynowego

te znajdują zastosowania do badania jakości produktów naturalnych (24).

W tabeli 1 podano wybrane metodyki oparte o wykorzystaniu kolumn firmy Dionex serii Acclaim® Trinity P1.

Kolejną obszerną grupą aplikacji firmy Dionex są zarówno stare, jak i nowe noty aplikacyjne, podzielone w następujący sposób:

1. Aplikacje środowiskowe, w tym dotyczące: analizy wody (53), badań zanieczyszczeń powietrza (24) i zastosowań w zakresie bezpieczeństwa i ochrony (2).

2. Nauki o życiu, podzielone na podgrupy dotyczące zastosowań chromatografii jonowej i HPLC; nano, kapilarnej i mikro HPLC (14).

3. Aplikacje z zakresu farmacji i biofarmacji, podzielone na podgrupy dotyczące chromatografii jonowej i HPLC; nano, kapilarnej i mikro HPLC oraz ekstrakcji (62).

4. Aplikacje z zakresu badania żywności i napojów, podzielone na podgrupy dotyczące chromatografii jonowej i HPLC; ekstrakcji i specjalnych metod detekcji (86).

5. Aplikacje z zakresu badań chemicznych, podzielone na podgrupy dotyczące chromatografii jonowej i HPLC oraz ekstrakcji (49).

6. Aplikacje dotyczące zastosowań chromatografii w przemyśle elektronicznym (18).

7. Aplikacje z zakresu zastosowań chromatografii w energetyce (15).

8. Aplikacje ogólne (6).

Przykłady takich aplikacji podano w tabeli 2.

Jeszcze innym sposobem podziału i jednocześnie naj-



Tabela 2. Wybrane metodyki firmy Dionex z zakresu badań środowiskowych, biologicznych, medycznych, żywności oraz zastosowań w przemyśle chemicznym, elektronicznym i energetycznym

Nazwa metodyki – zastosowania środowiskowe	
AN 1066	Oznaczenie śladowych ilości materiałów wybuchowych w wodzie
AN 271	Oznaczenie gazu musztardowego i etanoloamin
AN 236	Oznaczenie jodu i jodków w wodzie morskiej i tabletkach z dodatkiem jodu
AN 191	Oznaczenie fenoli w wodach do spożycia i w wodach butelkowanych
AN 178	Zmodyfikowana metodyka oznaczania śladowych ilości chloranów(VII) z wykorzystaniem dwuwymiarowej chromatografii jonowej
AN 79	Oznaczenia uranu i toru w próbkach o złożonej matrycy
AN 261	Czuła metodyka oznaczania mikrocytyn w wodach
AN 172	Oznaczenie azydków w roztworach wodnych
AN 138	Oznaczenie tiosiarczanów w ściekach rafineryjnych
AN 2	Oznaczenie azotanów(V) i siarczanów(VI) w powietrzu gromadzonych na filtrach
AU 177	Szybsza i bardziej czuła metodyka oznaczania <i>N</i> -metylokarbaminianów w wodach
AN 328	Ekstrakcja materiałów wybuchowych z wykorzystaniem ASE
Nazwa metodyki – zastosowania w naukach o życiu	
AN 202	Zastosowanie metody HPAE-PAD do oznaczania fosforanu 6-mannozy
AN 127	Analiza monoklonalnych przeciwciał
AN 99	Mapowanie peptydów z wykorzystaniem RP-HPLC
CAN 108	Zastosowanie techniki łączonej IC-MS w metabolomice
AU 183	Analiza peptydów po rozkładzie enzymatycznym. Badania porównawcze
Nazwa metodyki i nauki medyczne	
AN 228	Oznaczenie katecholamin w ludzkim osoczu
AN 126	Oznaczenie hemoglobiny metodą kationowymiennej chromatografii jonowej
AN 36	Oznaczenie szczawianów w moczu
AB 130	Szybkie oznaczenie dopaminy i serotoniny metodą HPLC-ECD
AB 129	Jednoczesne oznaczenie noradrenaliny, dopaminy i serotoniny w wykorzystaniem mikrodializy i systemu HPLC-ECD
Nazwa metodyki – farmacja i biofarmacja	
AN 1082	Bezpośrednia analiza wieloskładnikowej szczepionki Adjuvants metodą HPLC z detektorem CAD (Charged Aerosol Detection)
AN 1022	Oznaczenie worikonazolu i substancji pokrewnych zawierających jony fluorowe
AN 283	Oznaczenie itrakonazoli i substancji pokrewnych metodą UHPLC-MS
AN 257	Badania skałdników aktywnych w lekach przeciwgruźliczych
AN 234	Jednoczesne oznaczenie peptydów i octanów metodą HPLC z detekcją UV
AN 132	Badania antybiotyków niezawierających siarki metodą IPAD
AB 113	Szybkie rozdzielanie dwunastu czynnych składników w kremach przeciwsłonecznych
Nazwa metodyki – żywność i napoje	
AN 43130	Oznaczenie rtęci w produktach zielonych metodą IC-ICP
AN 1063	Analizy metabolitów wtórnych w ziołach, przyprawach i napojach
AN 1046	Oznaczenie związków fenyloowych w wodzie z kranu oraz napojach z zielonej herbaty
AN 295	Oznaczenie kwasu fitynowego w soi oraz w nasionach czarnego sezamu
AN 280	Węglowodany w kawie: Porównanie metody AOAC 995.13 z ukłtrazszybką chromatografia jonową
AN: 270	Oznaczenie hydroksymetylofurfuralu w miodzie i w biomasie
AN 231	Oznaczenie melaminy w mleku
AN 182	Oznaczenie amin biogennych w napojach alkoholowych
AN 82	Analiza soku owocowego zafałszowanego pożywką z cukru z buraków
CAN 115	Oczyszczanie i analiza aflatoksyn i ochratoksyny A w ziołach i przyprawach
AU 153	Szybkie oznaczenie fosforanów i cytrynianów w napojach gazowanych
AB 134	Oznaczenie antocyjanów w ekstraktach z borówki
AB 104	Oznaczenie 32 niskocząsteczkowych kwasów organicznych w biomasie metodą IC-MS
Nazwa metodyki - chemia	
AN 1055	Oznaczenie wirginiamycyny, erytromycyny i penicyliny w suszu owocowym
AN 282	Szybka i czuła metodyka oznaczania węglowodanów w biopaliwie
AN 225	Szybka metoda szacowania zawartości monosacharydów w odpadach kukurydziennych
AN 204	Ulepszone metody oznaczania inhibitorów korozji w chłodziwach silnikowych
AN 175	Oznaczenie siarczanów i chlorków w etanolu
AN 145	Oznaczenie dodatków kwasowych w kąpielach miedzianych
AN 78	Oznaczenie śladów anionów w stężonym kwasie solnym
AU 158	Oznaczenie manganu w solankach
Nazwa metodyki – produkty elektroniczne i energetyka	
AN 1053	Oznaczenie manganu w elektrolitach baterii litowych
AN 152	Oznaczenie sodu na poziomie ppb w obecności wysokich stężeń etanoloaminy w ściekach z elektrowni
AU 109	Badania składu inhibitorów korozji
AN 1058	Oznaczenie kwasu poliakrylowego w odpadach z elektrowni jądrowej
AN 250	Oznaczenie śladowych zawartości niklu i cynku w wodach z elektrowni konwencjonalnych
AN 146	Oznaczenie śladowych zawartości anionów w wodach o wysokiej czystości
AU 191	Oznaczenie śladowych stężeń fluoroków, chlorków i siarczanów w wodach o wysokiej zawartości litu

Tabela 3. Wybrane metodyki oparte na wykorzystaniu kolumn kapilarnych

Nazwa metodyki
Analiza wody do spożycia w czasie poniżej 5 minut
Oznaczanie kationów w ściekach komunalnych z wykorzystaniem kolumny IonPac CS12A
Jednoczesne rozdzielanie 22 anionów
Oznaczanie anionów nieorganicznych i organicznych kwasów w kawie bezkofeinowej
Oznaczanie anionów nieorganicznych i organicznych kwasów w napojach gazowanych
Elucja gradientowa w badaniach cukrów w kawie
Ważne alkohole cukrowe, oraz mono-i dwucukry w błonniku
Rozdzielanie piperazyny w związków pokrewnych z wykorzystaniem kolumny IonPac CS19
Oznaczanie przeciwjonów w tabletkach wapniowych
Oznaczanie przeciwjonów w tabletkach zawierających naproxen sodu
Oznaczanie anionowych zanieczyszczeń w kwasie borowym
Rozdzielanie nieorganicznych anionów z wykorzystaniem kolumny IonPac AS15
Rozdzielanie nieorganicznych kationów z wykorzystaniem kolumny IonPac CS12A
Nieorganiczne kationy w napojach energetycznych dla sportowców
Jednoczesne rozdzielanie organicznych kwasów I noeorganicznych anionów z wykorzystaniem kolumny kapilarnej IonSwift MAX-100

większym działem są wszystkie aplikacje firmy Dionex (wymienione już powyżej), podzielone na: noty aplikacyjne, zaktualizowane noty aplikacyjne oraz krótkie notatki (w sumie 358 pozycji). Na stronie tej znajdują się ponadto noty aplikacyjne przygotowane nie przez firmę, lecz użytkowników chromatografii jonowej (18) oraz aplikacje dotyczące chromatografii jonowej z wykorzystaniem kolumn kapilarnych, podzielone na podgrupy związane z próbkami biofarmaceutycznymi, chemicznymi, środowiskowymi, żywności i napojów, farmaceutycznymi oraz z przemysłu energetycznego (127 aplikacji). Przykłady zastosowań kapilarnej chromatografii jonowej

oferowane przez firmę Dionex podano w tabeli 3.

Podsumowanie

Jak wynika z danych zawartych w tabelach 1-3, a przede wszystkim z informacji zamieszczonych na stronie domowej firmy Dionex zakres aplikacji szeroko rozumianej chromatografii jonowej z roku na rok poszerza się. Wiele z tych metodyk jest przygotowanych pod konkretnego odbiorcę lub problem. Jak wspomniano powyżej firma Dionex - twórca współczesnej chromatografii jonowej, jest obecnie częścią firmy Thermo Fischer Scientific. Niewątpliwie największe osiągnięcia tej firmy dotyczą szerokiej ofert kolumn analitycznych, czy rozwiązań

takich jak kapilarna i dwuwymiarowa chromatografia jonowa. Celem tego dwuczęściowego artykułu nie jest ocena ofert jednej czy drugiej firmy, tym bardziej, że nie tylko one oferują sprzęt i akcesoria z zakresu chromatografii jonowej. Celem jest wyłącznie pokazanie wszechstronności tej niezwyklej metody separacyjnej i analitycznej i możliwości jakie stwarza ona dla jej użytkowników, świadomych jej zalet i ograniczeń [5-7]. Informacje zawarte w niniejszym artykule to jedynie wierzchołek góry lodowej mający na celu zachęcenie użytkowników chromatografii jonowej do poszukiwań nowych zastosowań tej wciąż nie w pełni docenianej metody analitycznej.

Literatura

[1] Gjerde D.T., Fritz J.S., Schmuckler G.: *Anion Chromatography with Low-Conductivity Eluents*, J. Chromatogr. A, 1979, 186, 509-519.
 [2] Michalski R., *Analiza próbek stałych techniką chromatografii jonowej, czy to możliwe?*, LAB, 4, (2012), 26-30.
 [3] Michalski R., *Oznaczanie gazowych zanieczyszczeń powietrza metodą chromatografii jonowej*, LAB, 2, (2007), 16-18.
 [4] Michalski R., *Wykorzystanie chromatografii jonowej w analityce specjacyjnej nieorganicznych jonów*, LAB, 4, (2006), 6-10.
 [5] Michalski R., *Analitik jest najważniejszy - czyli o czym użytkownik chromatografu jonowego powinien zawsze pamiętać - część 1*, LAB, 2, 2011, 10-14.
 [6] Michalski R., *Analitik jest najważniejszy - czyli o czym użytkownik chromatografu jonowego powinien zawsze pamiętać - część 2*, LAB, 3, 2011, 8-11.
 [7] Michalski R., *Analitik jest najważniejszy - czyli o czym użytkownik chromatografu jonowego powinien zawsze pamiętać - część 3*, LAB, 4, 2011, 15-18.

* Rajmund Michalski, Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska PAN, Zabrze; michalski@ipis.zabrze.pl