

Analityk jest najważniejszy

O czym użytkownik chromatografu jonowego powinien zawsze pamiętać (cz. II)

Rajmund Michalski*

Chromatografia jonowa jest obecnie najważniejszą instrumentalną metodą oznaczania jonów przede wszystkim w wodach i ściekach. Chromatograf jonowy to wydatek o wartości zazwyczaj kilkaset tysięcy złotych, ale doświadczony analityk obsługujący tak wyrafinowany sprzęt to inwestycja bezcenna.

W dwóch częściach niniejszego artykułu opisano najważniejsze zasady prawidłowej pracy z chromatografem jonowych, takie jak dobór właściwej metody przygotowania próbki do analizy; wybór kolumny i eluentu oraz sposobu detekcji; wpływ temperatury czy stężenia eluentu na jakość otrzymywanych wyników; zasady przechowywania kolumn oraz metody rozwiązywania problemów podczas użytkowania chromatografu jonowego.

Optymalizacja rozdzielania, czyli co zrobić kiedy dysponujemy tylko jedną kolumną analityczną

Optymalizacja procesu rozdzielania to dobór najbardziej odpowiedniej dla danej próbki warunków analitycznych, czyli: kolumny analitycznej, rodzaju i stężenia eluentu, jego pH i natężenia przepływu, a także rodzaju detektora i parametrów jego pracy. Niestety często nawet te możliwości są ograniczone, np. gdy laboratorium dysponuje tylko jedną kolumną analityczną i wyłącznie detektorem konduktometrycznym. W takim przypadku pole manewru ograniczone jest do zmian stężenia eluentu i/lub natężenia jego przepływu.

Zakres stężeń poszczególnych jonów w analizowanych próbkach nie powinien przekraczać kilkudziesięciu – kilkuset (w przypadku głównych jonów) mg/dm^3 i zależy od rodzaju stosowanej kolumny

analitycznej. Optymalne dla danej kolumny warunki analityczne takie jak: rodzaj, stężenie i natężenie przepływu eluentu wraz z przykładowym chromatogramem są zazwyczaj podane w materiałach dostarczonych przez producenta kolumny. W określonych przypadkach (np. gdy stężenie jednego z jonów znacznie przekracza stężenia eluowanych w zbliżonym czasie retencji innych jonów) należy przeprowadzić optymalizację procesu rozdzielania. Dotyczy to przede wszystkim par takich jonów jak: $\text{BrO}_3^-/\text{Cl}^-$; $\text{Cl}^-/\text{NO}_2^-$ czy $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$. Związane jest to ze zmianą stężenia eluentu, jego pH, natężeniem przepływu, a czasami konieczna jest zmiana kolumny rozdzielającej na dedykowaną do danego rodzaju oznaczeń, lub zmiana rodzaju eluentu.

Dobór właściwych warunków rozdzielania (rodzaju wypełnienia kolumny; rodzaju, stężenia i natężenia przepływu

eluentu, rodzaju supresji i detekcji) uzależniony jest od wielu czynników (m.in. od rodzaju oznaczanych jonów, ich trwałości i stężeń oraz wartości pH próbki). Niektórzy producenci aparatury do chromatografii jonowej oferują pomoc w optymalizacji procesów rozdzielania, w postaci programów komputerowych (np. „Virtual Column” firmy Dionex).

Programy takie są pomocne w optymalnym doborze składu fazy ruchomej i warunków rozdzielania, a także doboru pH eluentu, stężenia modyfikatorów oraz siły jonowej eluentu. Możliwy jest też komputerowy dobór rodzaju i wymiarów kolumny, wielkości cząstek wypełnienia i przepływu fazy ruchomej w celu uzyskania optymalnego dla danych warunków rozdzielania analitów.

Ponad 20-letnie doświadczenia i kontakty z pracownikami laboratoriów rutynowo

wykonywujących analizy wód i ścieków z wykorzystaniem chromatografii jonowej przekonują mnie, że w laboratoriach tych najczęściej wykorzystuje się standardowe warunki analityczne i rekomendowane przez producentów kolumny.

Najpopularniejszym eluentami stosowanym w chromatografii jonowej z tłumieniem przewodnictwa do rozdzielania i oznaczania nieorganicznych anionów są wodne roztwory węglanów i wodorowęglanów sodu. Są to elenty tanie i bezpieczne w użytkowaniu. Niemniej nawet niewielki błąd w odważeniu odpowiedniej odważki Na_2CO_3 lub NaHCO_3 może skutkować istotnymi zmianami w czasach retencji poszczególnych jonów. Przykłady wpływu stężenia eluentu na czasy retencji jonów przedstawiono na rysunku 2.

Z powyższego rysunku wynika, że w zależności od zawartości węglanu i/lub wo-

Szanowni Państwo,

od wydania książki „Chromatografia jonowa. Podstawy i zastosowania” (Michalski R., WN-T, Warszawa, 2005) minęło już 5 lat i jej nakład został wyczerpany. W styczniu 2011 r. pojawiła się nowa – znacznie poszerzona i uzupełniona w stosunku do pierwszego wydania książka „Podstawy chromatografii jonowej” wydana przez Wydawnictwa Śląskiej Wyższej Szkoły Zarządzania im. gen. J. Ziętka w Katowicach. Książkę można nabyć w Wydawnictwach SWSZ w Katowicach przy ul. Francuskiej 12 lub zamówić ją drogą e-mailową u kierownika Działu Wydawnictw – mgr. Kamila Ligienzy tel. 32 255 14 49 lub 32 255 34 17 wew. 111, k.ligienza@swsz.katowice.pl

z poważaniem
Rajmund Michalski, autor

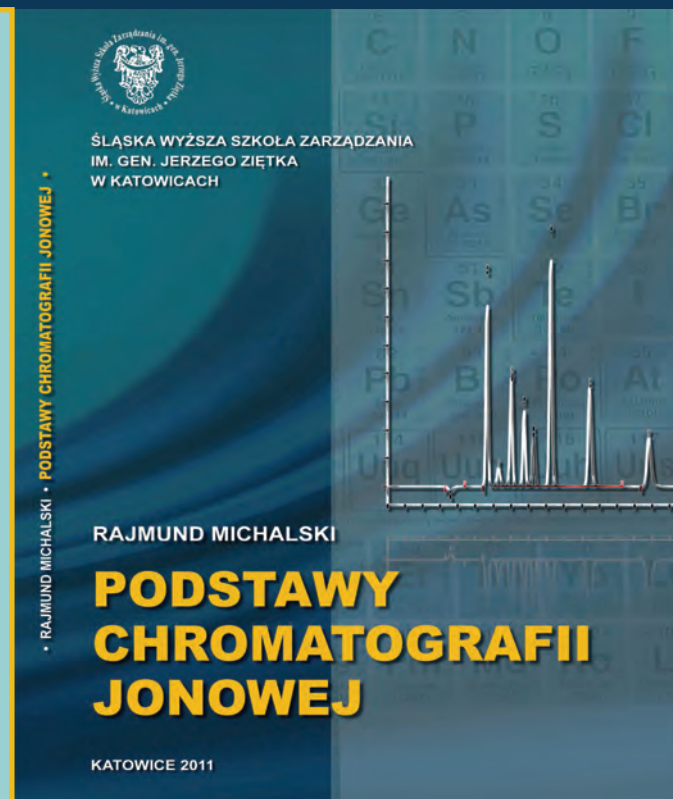
SPIS TREŚCI

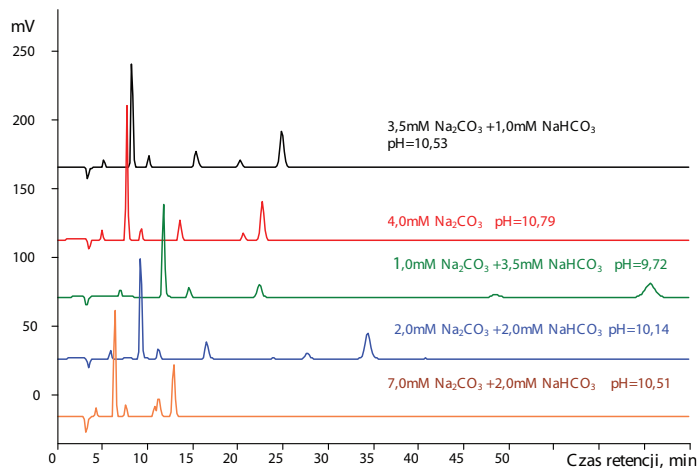
I OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA CHROMATOGRAFII JONOWEJ

1. Wprowadzenie
- 1.1. Podział metod chromatograficznych
- 1.2. Podstawowe parametry opisujące procesy chromatograficzne
- 1.3. Terminy i definicje
- 1.2. Historia i rozwój chromatografii jonowej
2. Wymieniacze jonowe
- 2.1. Wymieniacze anionowe
- 2.1.1. Wymieniacze na bazie kopolimerów organicznych
- 2.1.2. Wymieniacze polimetakrylanowe i poliwinylowe
- 2.1.3. Wymieniacze anionowe w postaci aglomeratu
- 2.1.4. Wymieniacze anionowe na bazie krzemionki
- 2.1.5. Inne wymieniacze stosowane do rozdzielania anionów
- 2.2. Wymieniacze kationowe
- 2.2.1. Wymieniacze kationowe na bazie organicznych polimerów
- 2.2.1.1. Kopolimery styrenowo-diwinylbenzenowe (PS/DVB)
- 2.2.1.2. Kopolimery etylenodiwinylbenzeno/diwinylbenzenowe (EVB/DVB)
- 2.2.2. Wymieniacze kationowe w postaci aglomeratu
- 2.2.3. Inne wymieniacze kationowe
3. Eluenty
- 3.1. Eluenty do rozdzielania anionów
- 3.2. Eluenty do rozdzielania kationów
4. Supresory
5. Detektory
- 5.1. Detekcja konduktometryczna
- 5.2. Detekcja fotometryczna
- 5.3. Detekcja amperometryczna i potencjometryczna
- 5.4. Detekcja fluorescencyjna
- 5.5. Detekcja chemiluminescencyjna
- 5.6. Techniki łączone: IC-ICP-MS, IC-ICP-OES oraz IC-MS
- 5.7. Inne rodzaje detekcji
6. Elektroforeza kapilarna

II ZASTOSOWANIA CHROMATOGRAFII JONOWEJ

1. Oznaczanie jonów w wodach
- 1.1. Wprowadzenie
- 1.2. Wykorzystanie chromatografii jonowej w analizie specyacyjnej
- 1.2.1. Oznaczanie nieorganicznych jonów azotu i siarki
- 1.2.2. Oznaczanie ubocznych nieorganicznych produktów dezynfekcji wód
- 1.2.2.1. Metody bezpośrednie oznaczania jonów BrO_3^-
- 1.2.2.2. Metody pośrednie oznaczania jonów BrO_3^-
- 1.2.3. Techniki łączone stosowane do oznaczania jonów chloru, bromu i jodu
- 1.2.4. Oznaczanie jonów metali
- 1.2.4.1. Oznaczanie jonów Cr(III)/Cr(VI)
- 1.3. Przegląd norm i metodyk, w których wykorzystuje się chromatografię jonową do badań jakości wód i ścieków
- 1.4. Wykaz norm PN-ISO do oznaczania jonów w wodach i ściekach z wykorzystaniem chromatografii jonowej
2. Badania zanieczyszczeń powietrza
- 2.1. Wprowadzenie
- 2.2. Przegląd norm i metodyk, w których wykorzystuje się chromatografię jonową do badań jakości powietrza
- 2.2.1. Wybrane metodyki oznaczania gazowych zanieczyszczeń powietrza
- 2.2.2. Normy ISO oznaczania HCl i SO_2 w powietrzu
3. Badania próbek żywności
- 3.1. Wprowadzenie
- 3.2. Przegląd metodyk, w których wykorzystuje się chromatografię jonową do badań żywności
4. Inne analizy wykonywane za pomocą chromatografii jonowej
5. Przygotowanie próbek do analizy
6. Wybrane aspekty metodyczne oznaczania jonów z wykorzystaniem chromatografii jonowej
7. Walidacja metodyki analitycznej
- 7.1. Założenia do walidacji metodyki oznaczania głównych nieorganicznych anionów w wodach
- 7.2. Walidacja metodyki oznaczania jonów: F^- , Cl^- , NO_2^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} w wodach metodą chromatografii jonowej
8. Najważniejsze problemy analityczne związane z użytkowaniem chromatografu jonowego oraz metody ich rozwiązywania
9. Podsumowanie
10. Wykaz stosowanych skrótów
11. Literatura

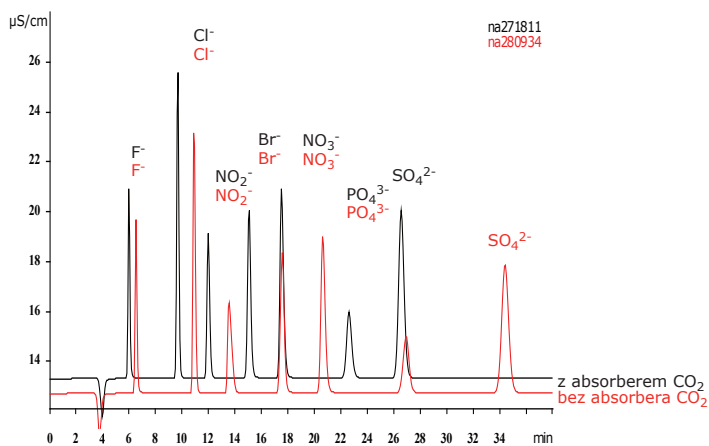




Rys. 2. Chromatogramy rozdzielania próbek wzorcowej nr.1 z wykorzystaniem kolumny Metrohm A Supp 5 i eluentów Na₂CO₃/NaHCO₃ o różnych stężeniach

dorowęglanu w eluencie oraz ich wzajemnym stosunku - czasy retencji rozdzielanych nieorganicznych anionów są silnie zróżnicowane. I tak dla eluentu 3,5 mM Na₂CO₃ + 1,0 mM NaHCO₃ o pH=10,53 całkowity czas wymywania wynosi około 25 minut, a piki poszczególnych anionów są dobrze rozdzielone i wykształcone. Zmiana eluentu na 4,0 mM Na₂CO₃ skraca całkowity czas rozdzielania, ale różnice w czasach retencji jonów PO₄³⁻ i SO₄²⁻ są na tyle niewielkie, że w przypadku próbki o dużej zawartości jednego (lub obydwu) tych jonów mogą one nie być dobrze rozdzielone. Interesujące zmiany dotyczą eluentu o składzie 1,0 mM Na₂CO₃ + 3,5 mM NaHCO₃ (pH=9,72). Jony SO₄²⁻ są wymywane dopiero po ponad 70 minutach i są oczywiście bardzo dobrze rozdzielone wobec poprzedzających je jonów PO₄³⁻. Pytanie tylko czy tak długie czasy retencji są uzasadnione ekonomicznie, szczególnie podczas rutynowych analiz? Sytuacja ta i analogiczna dla eluentu

o składzie 2,0 mM Na₂CO₃ + 2,0 mM NaHCO₃ stanowi potwierdzenie, że nawet relatywnie niewielkie zmiany eluentu mogą istotnie zmieniać czasy retencji. Może to być bardzo korzystne dla specyficznych rodzajów oznaczeń i matryc próbek. Przykładowo, jeżeli analizujemy próbki o bardzo dużej zawartości np. jonów SO₄²⁻ i śladowej zawartości jonów np. NO₃⁻ - dysponując np. kolumną Metrohm A Supp 5 i eluentem o składzie 2,0 mM Na₂CO₃ + 2,0 mM NaHCO₃ możliwe jest jednoczesne rozdzielanie i oznaczanie tych i innych jonów bez specjalnego przygotowania próbki np. w skomplikowanych procesach usuwania nadmiaru jonów dominujących; zateżnienia jonów występujących na niskich poziomach stężeń lub rozcieńczania próbki. Ostatni chromatogram przedstawiony na rysunku 2 to chromatogram uzyskany dla eluentu o składzie 7,0 mM Na₂CO₃ + 2,0 mM NaHCO₃, który to eluent okazał się być zbyt mocny, aby właściwie jednocześnie rozdzielać



Rys. 3. Wpływ absorbera CO₂ na czasy retencji głównych nieorganicznych anionów.

Warunki analityczne:

Kolumna - Metrohm Metrosep Supp 5

Eluent - 3,2 mM Na₂CO₃ + 1,0 mM NaHCO₃

Objętość nastrzyku - 25 µl

Detekcja - konduktometryczna z tłumieniem przewodnictwa

Absorber - Metrohm MCS

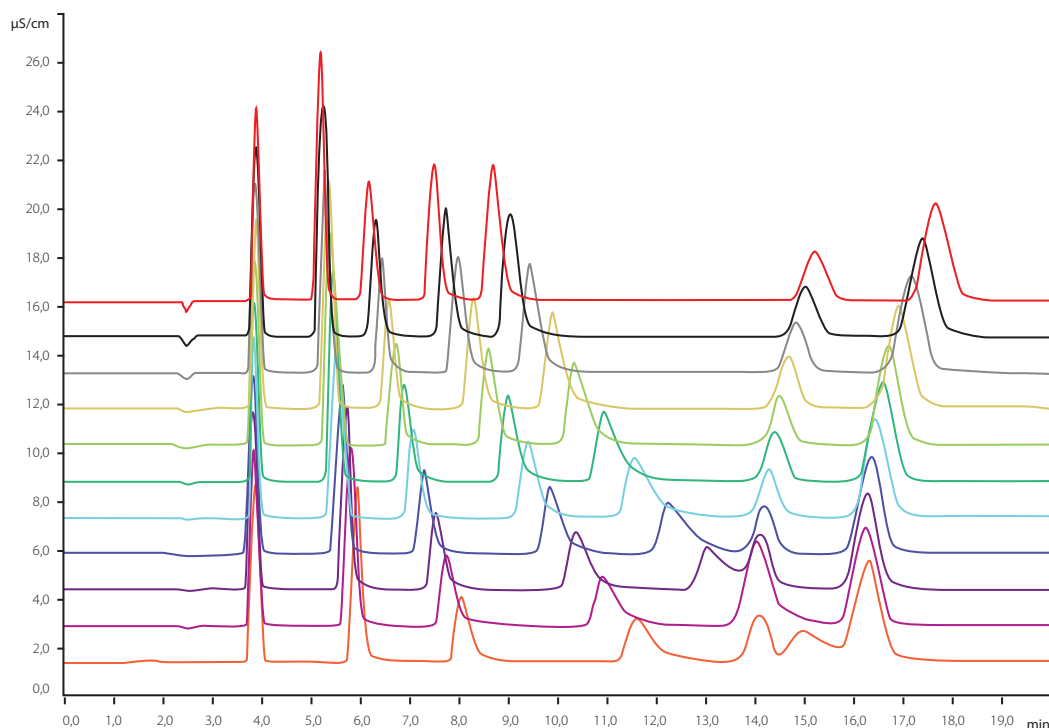
i oznaczać wszystkie główne nieorganiczne aniony. Porównując ten chromatogram z chromatogramem uzyskanym dla eluentu o dwukrotnie mniejszym stężeniu wyraźnie widać jak bardzo skład eluentu wpływa na czasy retencji rozdzielanych jonów, nawet jeżeli ich pH jest takie samo. Zaleca się odgazowywanie eluentów, co zapobiega deformacji linii podstawowej i niestabilnej pracy systemu. Proces ten przeprowadzana się zazwyczaj poprzez przepuszczenie strumienia gazu obojętnego (np. helu) przez roztwór eluentu przez kilkanaście minut. Można to wykonać również za pomocą pompki wodnej, pompy próżniowej albo łązni ultradźwiękowej. Nowoczesne chromatografy jonowe posiadają degazery wbudowane w przyrządzie. Na rysunku 3 przedstawiono chromatogramy rozdzielania anionów z i bez użycia absorbera CO₂.

Brak absorbera CO₂ powoduje w powyższym wypadku wzrost czasów retencji wszystkich jonów, a dla jonów SO₄²⁻ różnica ta wynosi ponad 8 minut.

Wpływ temperatury na jakość oznaczania w chromatografii jonowej nie jest tak istotny jak w innych metodach chromatograficznych, aczkolwiek może być znaczący. Nowoczesne chromatografy jonowe wyposażone są w termostaty nie tylko detektora konduktometrycznego, ale również kolumn.

Wpływ temperatury na jakość rozdzielania jest uzależniony od rodzaju wypełnienia kolumny. Ogólnie można stwierdzić, że wzrost temperatury powoduje przyspieszenie wymywania jonów jednowartościowych i wydłużenie czasów retencji jonów wielowartościowych, tak jak przedstawiono to na rysunku 4.

W niektórych wypadkach np. kolumny Metrohm Metrosep



Rys. 4. Wpływ temperatury na szybkość wymywania głównych nieorganicznych anionów. Warunki rozdzielania: Kolumna anionowymienna - Metrohm A Metrosep Sup 5
Eluent - 3,5 mM Na_2CO_3 + 3,0 mM NaHCO_3 ,
Natężenie przepływu eluentu - 0,7 ml/min,
Detekcja - konduktometryczna z tłumieniem przewodnictwa

7 wraz ze zmianą temperatury może dojść do zmiany kolejności wymywania anionów, szczególnie jonów NO_3^- i PO_4^{3-} .

Analiza jakościowa i ilościowa, czyli co i ile mamy w próbce

Po optymalizacji procesu rozdzielania kolejnym ważnym etapem analizy jest sporządzenie roztworów wzorcowych do kalibracji przyrządu. Obecnie dostępnych jest na rynku wiele gotowych mieszanin wzorców odpowiednich jonów. Zakupując takie mieszaniny musimy pamiętać, że nie mamy możliwości wpływu na wzajemne stosunki stężeń oznaczanych jonów, w związku z czym w wielu przypadkach wygodniej i bezpieczniej jest stosować wzorce poje-

dynczych jonów.

Stężenia poszczególnych jonów w roztworach do kalibracji powinno mieścić się w połowie spodziewanego zakresu ich stężeń w analizowanych próbkach. Ponadto zakres ich stężeń nie powinien przekraczać 3 rzędów wielkości, czyli lepiej przygotować dwie krzywe kalibracyjne np. w zakresie 0,5-5,0 mg/dm³ oraz 5,0-50,0 mg/dm³, niż jedną serię w zakresie od 0,5 do 50,0 mg/dm³, ponieważ zależność uzyskiwanych sygnałów od stężenia jonów analitu może nie być liniowa w tak szerokim zakresie stężeń.

Analiza jakościowa i ilościowa z zastosowaniem chromatografii jonowej oparta jest na tych samych zasadach, jakie obowiązują w innych metodach chromatograficznych.

Analiza jakościowa odbywa się na podstawie porównania czasów retencji jonów analitu w próbce wzorcowej i próbce badanej uzyskanych w identycznych warunkach chromatografowania. W jednakowych warunkach analitycznych chromatografowana substancja może mieć znacznie zróżnicowane czasy retencji, co może być związane m.in. ze zużyciem kolumny oraz pH i rodzajem matrycy analizowanej próbki.

Analiza ilościowa przeprowadzana jest na podstawie pomiaru wysokości lub pola powierzchni pików. Pamiętać należy, że wielkości pików różnych substancji o tych samych stężeniach są zwykle różne, co spowodowane jest ich różną wykrywalnością przez dany detektor.

Podstawowe sposoby chromatograficznej analizy ilościowej są następujące: sposób kalibracji bezwzględnej (tzw. metoda wzorca zewnętrznego), sposób normalizacji wewnętrznej, sposób z wzorcem wewnętrznym oraz jego odmiana, w której wzorcem jest substancja oznaczana (sposób z dodatkiem substancji oznaczanej).

Sposób przeprowadzenia kalibracji zależy od następujących czynników: rodzaju przyrządu pomiarowego, ilości próbek, wymaganej dokładności oznaczenia, składu matrycy próbki oraz możliwości zmiany składu próbki w trakcie procesu analitycznego.

Dokończenie w następnym numerze LAB.