

Velkommen til



Syvende laboratoriemesse på trapperne

I dagene 2.-5. september 2002 danner Bella Center for syvende gang rammen om Scanlab, en teknisk fagmesse og konference for laboratorie- og måleudstyr samt processtyring.

Med udgangspunkt i behovet for viden, udvikling og investering i laboratoriesektoren lover arrangørerne en professionel messe med internationale dimensioner og faglig gennemslagskraft.

Sideløbende med Scanlab 2002 vil også en ny teknisk messe, Pharmatech 2002, løbe af stablen. Den henvender sig til medicinalindustrien, den medicotekniske branche, helsekostindustrien samt producenter af medicinsk udstyr.

I anledning af Scanlab-messen har vi i dette nr. af Dansk Kemi tema om analytisk kemi. På de følgende sider kan man derfor læse artikler om den sidste nye udvikling inden for sampling og prøveforberedelse, nanoteknikker og meget mere. Hovedparten af artiklerne er skrevet i forbindelse med Det 7. Danske Symposium i Analytisk Kemi, DanSAK7, som afholdes den 20.-21. august.

Yderligere information om Scanlab-messen og det fulde konferenceprogram kan fås hos Bo Rasmussen, udstillingschef i Bella Center, på tlf. 32 47 21 34 eller e-mail: bo.rasmussen@bellacenter.dk

Ionchromatografi

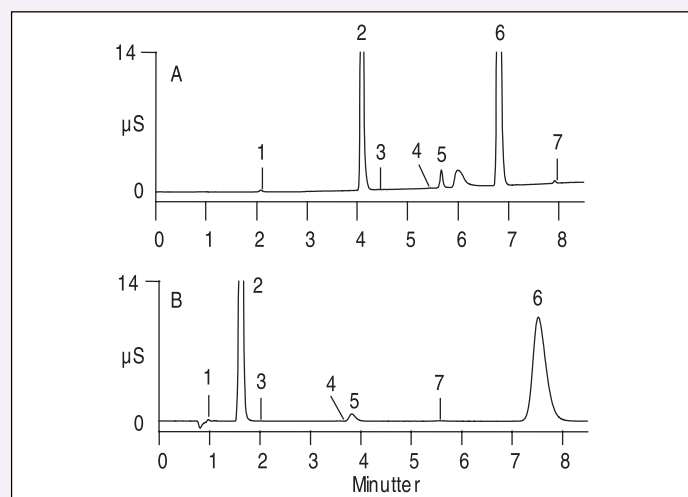
Ionchromatografi er et stærkt værktøj til kvalitativ og kvantitativ analyse af an- og kationiske species. Det kan bl.a. udnyttes ved bestemmelsen af ioner i miljø- og fødevarerprøver

Af Joachim Weiss, Dionex GmbH, Tyskland, joachim.weiss@dionex.de

Artiklen er baseret på et indlæg på konferencen: »Second Annual Executive Seminars in Analytical Chemistry«, 9.-10. april 2002 på Marriott Hotel i København.

Bestemmelse af ioner i miljø- og fødevarerprøver er et klassisk analytisk problem, der kan løses på forskellige måder. Konventionelle vådkemiske metoder såsom titrering, fotometri, gravimetri, turbidometri og kolorimetri er alle arbejdsintensive, tager lang tid og er lejlighedsvis problemfyldte. I modsætning til dette er ionchromatografi (IC) hurtig, følsom, selektiv og giver samtidig detektion. Da antallet af analyser, pga. miljøet og stigende omkostninger ved fødevarer af høj kvalitet, er steget mærkbart, er den nødvendige analysetid blevet et vigtigt aspekt af analysemetoden.

Efter introduktionen af meget effektive ionbytningskolonner er det lykkedes at reducere den nødvendige analysetid drastisk. I dag kan uorganiske kat- og anionprofiler derfor opnås på under 10 minutter, en brøkdel af den tid, der før var nødvendig med de traditionelle vådkemiske metoder. Med højfølsom undertrykt ledningsevnedetektion [1] kan ioner detekteres i $\mu\text{g/L}$ -koncentrationer uden opkoncentrering. Dvs. man kan analysere prøver fra komplekse matricer ved at fortynde disse, så koncentrationen af matrixkomponenter gøres mindre. De ionchromatografiske metoders selektivitet ved analyse af uorganiske og organiske anioner

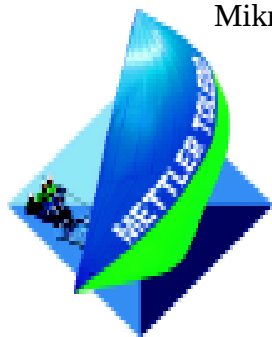


Figur 1. Analyse af anioner i vandværkssvand. - Separationskolonner: (A) IonPac AS4A-SC, (B) IonPac AS17; eluenter: (A) 1.7 mmol/L NaHCO_3 + 1.8 mmol/L Na_2CO_3 , (B) 1 mmol/L KOH isokratisk for 1.5 min, så lineært til 20 mmol/L på 3.5 min, så til 40 mmol/L på 2 min; flowhastigheder: 2 mL/min; detektion: undertrykt ledningsevne; 25 μL vandværkssvand injiceret ufortyndet; solutkoncentrationer: (A) 0.06 mg/L fluorid (1), 24.1 mg/L chlorid (2), 0.01 mg/L nitrit (3), 0.02 mg/L bromid (4), 1.48 mg/L nitrat (5), 31.4 mg/L sulfat (6) og 0.29 mg/L orthophosphat (7), (B) 0.05 mg/L fluorid (1), 21.5 mg/L chlorid (2), 0.015 mg/L nitrit (3), 0.03 mg/L bromid (4), 1.41 mg/L nitrat (5), 29.7 mg/L sulfat (6) og 0.48 mg/L orthophosphat (7).

Besøg Mettler-Toledo på Scanlab

Følgende produkter præsenteres:

Mikro-, analyse- og præcisionsvægte, titrering, pH, ledningsevne, laboratorieroboter og synteseudstyr, densitet og refraktometri, termoanalyse, industrivægte, procesudstyr (ilt, pH, ledningsevne), lodder og service



Ny Inpro 6900
proces sensor til
måling af opløst
ilt. Nu med 3-A
certifikat

Konference Indlæg

Mettler-Toledo præsenterer 10 spændende indlæg på
Scanlab 2002

- Packed column supercritical fluid chromatography for rapid analysis and purification in drug discovery and development
- Fully automated high accuracy powder dispensing for compound banking and organic synthesis application
- Recalibration, recertification and validation of pure water conductivity systems to fulfill the requirements of the FDA (USP645)
- CRF21 Part 11 godkendt software til laboratorie instrumenter i praksis
- "Sample work up and processing in drug discovery"
Præsentation af den "automatiserede skilletragt"
- High frequency dynamic mechanical analysis (DMA)-
example; thermal analysis of toners
- Kvalitetskrav og kvalitetsspecifikke løsninger til
vejeopgaver i den pharmaceutiske produktion
- Validering af vægte i henhold til CRF21 Part 11
- Mindste vejning i henhold til FDA's regulativer

Konkurrence
På stand H-117
deltag og vind
biografbiletter



Mettler-Toledo
har fået hedeslag.
Halv pris på DL50
Rondolino titrator
incl. prøveskifter
og software



Ny ALLEXis "automatiseret
skilletragt" til væske/
væskeekstraktioner



Ny DL39 Stromboli Karl Fischer
titrator med prøveskifter



Nye PL-S vægte
Kvalitet til gode priser

METTLER TOLEDO

Ring, mail eller fax for nærmere information
Tlf. 43270800 - info.mtdk@mt.com - Fax. 43270828

sikres ved at vælge en passende ionbytterkolonne. I modsætning til de silicabaserede kolonner, der sædvanligvis bruges ved konventionel omvendtfase-chromatografi, bruges der oftest resiner som f.eks. polystyren/divinylbenzencopolymerer. Disse materials store pH-stabilitet tillader brug af stærke syrer og baser som eluenter, hvilket er forudsætningen for metodens anvendelighed over et bredt område. Samtidig er de fleste organiske polymerer kompatible med organiske opløsningsmidler som methanol og acetonitril, der kan bruges til at fjerne organiske forureninger. Polymerbaserede kolonner udviser derfor lav følsomhed over for komplekse matricer som vand og fødevarer, og prøveforberedelsen kan ofte reduceres til en simpel fortynding med deioniseret vand efterfulgt af en filtrering.

Betydningen af ionchromatografi i miljøanalyse

Miljøanalyse er et af de vigtigste anvendelsesområder for ionchromatografi. Hovedanvendelsesområdet inden for analytisk miljøkemi er kvalitativ og kvantitativ analyse af an- og kationer i al slags vand. I figur 1 ses separation af anioner i postevand vha. to forskellige stationære faser. Chromatogram A viser separation, på en konventionel latexeret anionbytter stationær fase, vha. en carbonat/bicarbonatelucent. De tre vigtigste komponenter kan adskilles på under 8 minutter. På den anden side er kvantiteringen af fluoridioner problematisk, da disse kommer med dødvoluminet. En mærkbart bedre resolution mellem fluorid og dødvoluminet opnås med en 5- μ m IonPac AS14A stationær fase vha. carbonat/bicarbonatelucent i et andet forhold. Chromatogram B fås vha. en hydroxidselektiv anionbytter med en KOH-koncentrationsgradient som eluent. Den signifikant højere følsomhed skyldes den markant lavere baggrundsledningsevne, samt at gradienten fokuserer de chromatografiske toppe (de bliver skarpere) i modsætning til de isokratiske systemer. Følsomhedsforbedringen er af stor betydning ved analyse af orthophosphat, der uden problemer kan kvantiteres på sporstofniveau. Den store resolution mellem fluorid og dødvoluminet under disse chromato-

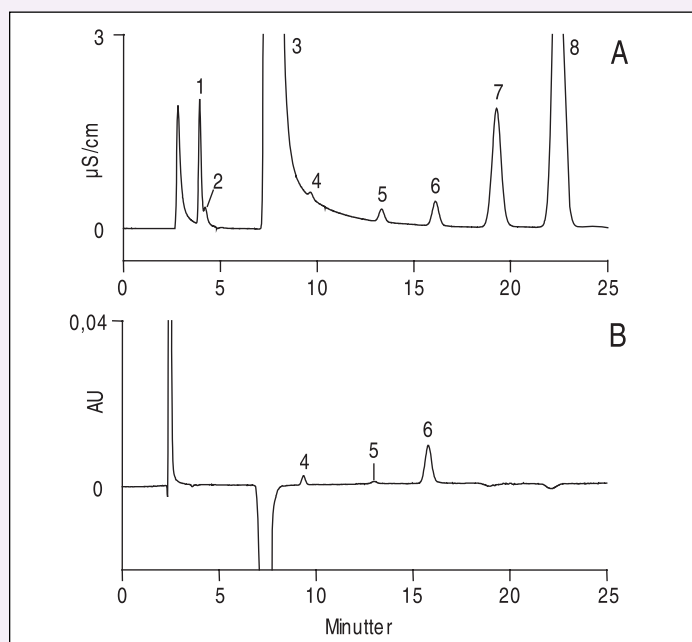
grafiske betingelser gør det muligt at kvantitere fluorid - selv i husholdningsspildevand - med en genfindning på ca. 100%.

UV- og ledningsevnedetektion i serie

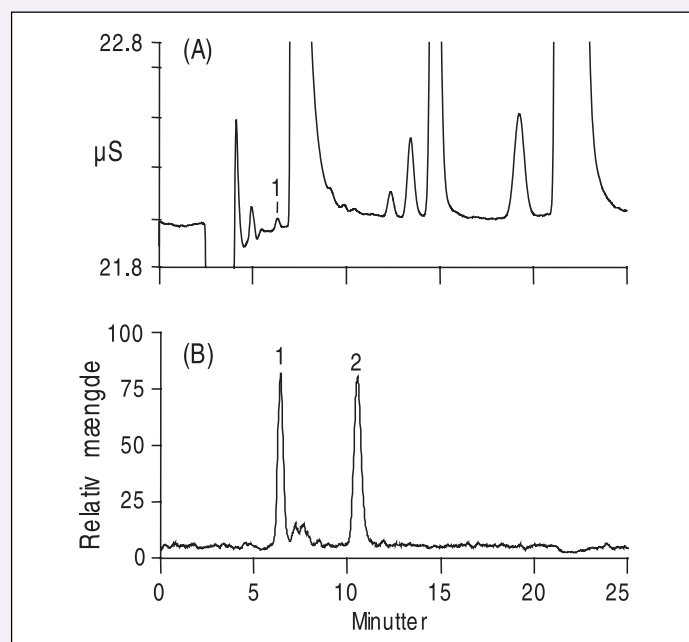
Højkapacitetsanionbyttere er vigtige ved analyse af spildevand. Figur 2 demonstrerer dette på spildevand, der indeholder store mængder chlorid. Selv om de vigtigste komponenter detekteres vha. undertrykt ledningsevne (chromatogram A), er UV-detektion væsentligt mere selektiv for nitrit, nitrat og bromid (chromatogram B). Med højkapacitetsanionbyttere med undertrykt ledningsevnedetektion kombineret med UV-detektion kan der analyseres koncentrationsforskelle mellem chlorid og nitrat på op til 100.000:1. Detektionsmetoderne bruges normalt i serie for at få mest mulig information pr. injektion, hvorved der spares tid (og penge). Ionbyttere med lavere kapacitet bliver overbelastede, hvis der analyseres for begge ioner på én gang.

Sporstofniveaubestemmelse af bromationer

En meget krævende brug er sporstofniveaubestemmelse af bromationer i drikkevand. Bromationer opstår som biprodukt når drikkevand desinficeres vha. ozon, og de mistænkes for at være carcinogene, selv ved lave μ g/L-niveauer [2]. WHO, USAs EPA og EU overvejer grænseværdier for bromat i drikkevand på mellem 10 μ g/L og 25 μ g/L [3,4]. Ionchromatografi gør det muligt at foretage kvantitativ sporstofniveauanalyse af bromationer vha. flere forskellige teknikker. Den nyeste af disse (Wagner et al. [5]) er baseret på derivatisering efter kolonnen med *o*-dianisidin med efterfølgende fotometrisk detektion ved 450 nm. Metoden kan kombineres med EPA-metode 300.1 (Part B) [5], der beskriver separation af bromat, bromid, chlorid og chlorit. Ifølge forfatteren er detektionsgrænsen for bromat ca. 0.5 μ g/L. Alternativt kan man anvende masse-selektiv detektion ved at forbinde ionchromatografen med et massespektrometer, f.eks. en quadrupol MS vha. et elektrospay interface (ESI) [6]. Med selektiv ionmonitoring



Figur 2. Anionanalyse i spildevand med samtidig ledningsevne- og UV-detektion. – Separationskolonne: IonPac AS9-HC; eluent: 9 mmol/L Na_2CO_3 ; flowhastighed: 1 mL/min; detektion: (A) undertrykt ledningsevne, (B) UV (214 nm); 25 μ L injiceret; solutkoncentrationer: 1.14 mg/L fluorid (1), acetat (2), 2 g/L chlorid (3), 0.14 mg/L nitrit (4), 0.82 mg/L bromid (5), 1.5 mg/L nitrat (6), 21.1 mg/L orthophosphat (7) og 30.3 mg/L sulfat (8).



Figur 3. Bestemmelse af bromid i drikkevand vha. IC-MS. – Separationskolonne: IonPac AS9-HC (2-mm); eluent: 9 mmol/L Na_2CO_3 ; flowhastighed: 0.25 mL/min; 50 μ L injiceret; detektion: (A) undertrykt ledningsevne, (B) Negativ ESI-MS, SIM, $m/z = 127$, source: 10 V, ESI probe: 275°C, -2.5 kV, Boxcar smoothing, 15 punkter; solutkoncentrationer: 22 μ g/L bromat (1), dichloreddikesyre (ikke kvantiteret, 2).

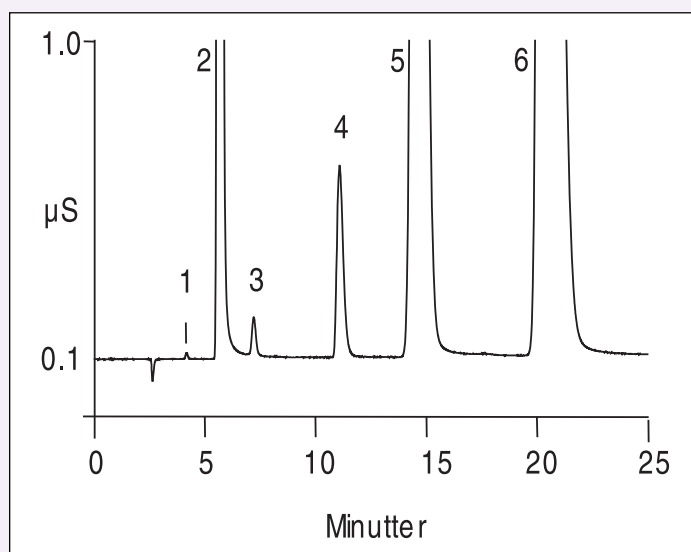
(SIM, Selective Ion Monitoring) kan bromat ($m/z = 127$) detekteres med høj følsomhed og specificitet (figur 3).

Bestemmelse af de fem haloeddikesyrer

Et andet vigtigt anvendelsesområde for masseselektiv detektion ved IC er bestemmelsen af de fem haloeddikesyrer (mono-, di-, trichloredikesyre og mono- og dibromeddikesyre), der også er desinfektionsbiprodukter i drikkevand specificeret efter U.S. EPA-Metode 552.1 og 552.2 med GC-ECD (ECD, Electron Capture Detection). Alternativt [7] kan haloeddikesyrerne separeres vha. IC [8] med en hydroxidselektiv anionbytter med meget hydrofile ionbytteregenskaber. Som mobil fase anvendes en hydroxidgradient. En 2 mm diameter kolonne forbindes, så eluenten passerer et membranbaseret suppressorsystem (ASRS, eksternt vand setup), der konverterer hydroxid-eluenten til vand, før den ledes ind i ESI-interfacet. Methanol (90%) tilsættes efter kolonnen for at forøge følsomheden. Under disse betingelser kan haloeddikesyrerne uden problemer detekteres på 1- $\mu\text{g/L}$ -niveau.

Kationanalyser

Ved kationanalyse giver moderne 5- μm svagt sure kationbyttermaterialer samtidig analyse af alkali- og jordalkalimetaller på mindre end 5 minutter. Men forholdet mellem natrium- og ammoniumioner i miljøprøver er ofte større end 1000:1, hvilket er et problem, da ionernes toppe eluerer tæt ved hinanden. Derfor er der udviklet højkapacitets kationbyttermaterialer, så der kan analyseres sporstofmængder af ammoniumioner, selvom der er alkali- og jordalkalimetaller til stede i store mængder (figur. 4). Da højkapacitets kationbyttermaterialer kræver eluenter med stor ionstyrke, er det imperativt at anvende et suppressor-system til at undertrykke baggrundsledningsevnen. Mikropore kationbytterkolonner i størrelsen 100 mm x 2 mm i.d. er udviklet mhp. sammenkobling med ESI-MS. Anvendelse af masseselektiv detektion inden for kationanalyse inkluderer screening for uorganiske kationer og analyse af polære, hydrofile aminer. Positiv identifikation af analytter og den større følsomhed ift. undertrykt ledningsevnedetektion pga. større signalstabilitet og elimination af ioniseringssuppression er de væsentligste fordele ved IC-MS-kationanalyse.



Figur 4. Uorganiske kationer i drikkevand med højkapacitets kationbytter. – Separationskolonne: IonPac CS16; eluent: 30 mmol/L MSA; flowhastighed: 1 mL/min; detektion: undertrykt ledningsevne; 25 μL injiceret; solutkoncentrationer: 2 $\mu\text{g/L}$ Li^+ (1), 19.7 mg/L Na^+ (2), 65 $\mu\text{g/L}$ NH_4^+ (3), 0.9 mg/L K^+ (4), 7.2 mg/L Mg^{++} (5) og 18.5 mg/L Ca^{++} (6).

Ionchromatografis betydning for analyse af føde- og drikkevarer

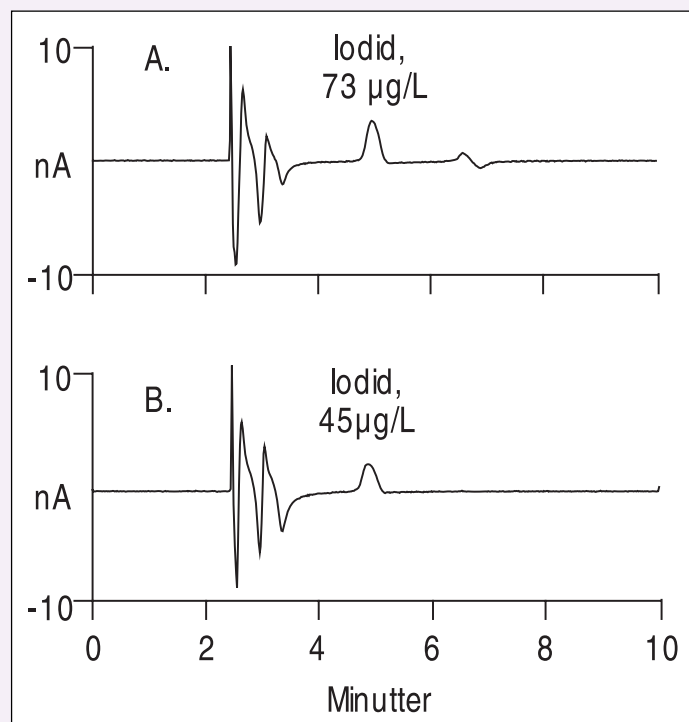
Det er føde- og drikkevareindustriens opgave at levere velsmagende og sunde produkter med veldefineret næringsværdi og lagerkvalitet til kunderne. Fremstillings- og monitoringsprocesserne er delvist automatiseret, dvs. det kun er nødvendigt med nogle få, enkle kvalitetstests. I nogle tilfælde er det dog påkrævet at udføre dyre analyser mhp. kvalitets-sikring. Her tillader ionchromatografi, selv i komplekse matricer, hurtig og præcis bestemmelse af både uorganiske og organiske anioner. IC-analyser kræver kun minimal prøveforberedelse. Prøverne ekstraheres i udstrakt grad med deioniseret vand og membranfiltreres (0.45 μm) før de injiceres direkte i det chromatografiske system. brugen af IC omfatter alkali-jordalkalimetaller, overgangsmetaller, organiske syrer, aminer, carbohydrater, alkoholer og aminosyrer.

Analyse af mælk og babymad

Iodidionmonitoring i mælk og babymad er et vigtigt anvendelsesområde [9], da for meget iodid kan føre til skjoldbruskkirtelrelaterede sygdomme. For at forlænge kolonnernes levetid anbefales det at fjerne mælkeproteiner fra prøverne før den chromatografiske analyse. Det kan gøres ved fældning med salpetersyre med efterfølgende filtrering og dernæst en fastfaseekstraktionskolonne. Iodidseparationen udføres vha. anionbytningschromatografi på en hydroxidselektiv stationær fase og en salpetersyreeluent. For at opnå tilstrækkelig præcision bruges DC-amperometri med en Af-arbejdselektrode. Figur 5 viser en separation af iodidioner i mælke- og sojabaseret babymad. Detektionsgrænsen for iodidioner er ca. 3 $\mu\text{g/L}$. Den relative standardafvigelse på toparealet er 3% for seks på hinanden følgende injektioner.

Emulsionsstabilisatorer

IC kan også bruges til at separere ioner med højere molekyl-



Figur 5. Separation af iodid i babymad. – Separationskolonne: IonPac AS11; eluent: 5 mmol/L HNO_3 ; flowhastighed: 1.5 mL/min; detektion: DC amperometri på en Ag-arbejdselektrode; oxidationspotentiale: 0.05 V; prøver: (A) mælkebaseret babymad, (B) sojabaseret babymad.

THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA

THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA

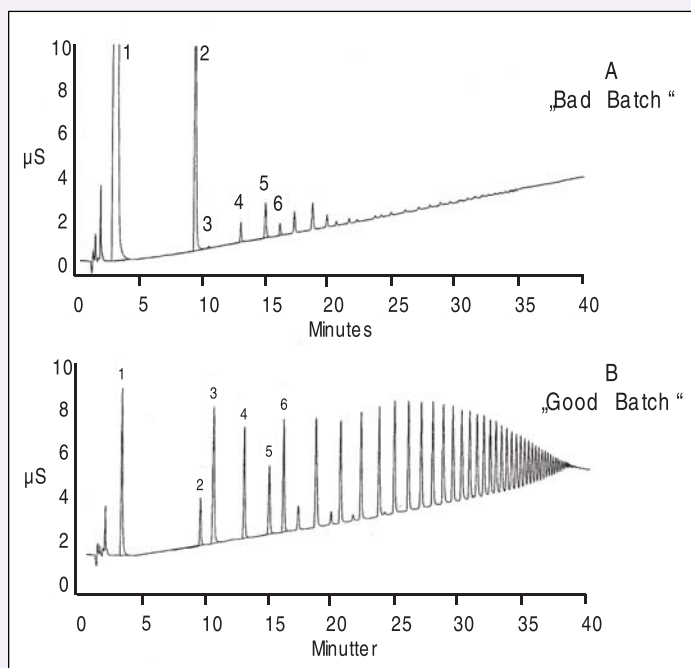
THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA



- THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA
- THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA
- THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA
- THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA
- THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA
- THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA

THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA

THE UNIVERSITY OF SOUTH ALABAMA



Figur 6. Separation af polyphosphat i oste produkter. – Separationskolonner: IonPac AS11 (2-mm); eluent: NaOH koncentrations-gradient; flowhastighed: 0.3 mL/min; detektion: undertrykt ledningsevne; 10 µL injiceret; toppe: (1) PO_4^{3-} , (2) $P_2O_7^{4-}$, (3) $P_3O_9^{3-}$, (4) $P_3O_{10}^{5-}$, (5) $P_4O_{12}^{4-}$ og (6) $P_4O_{13}^{6-}$.

masse såsom polyphosphater. De anvendes f.eks. i ost som emulsionsstabilisatorer. Kommercielle polyphosphater er blandinger af kondenserede phosphater, der varierer i kædelængde. Variationen kan karakteriseres ved separation på en hydroxidselektiv anionbytterkolonne i mikroporeform vha. en hydroxidkoncentrationsgradient med undertrykt ledningsevnedetektion [10]. I figur 6 ses chromatogrammerne for to forskellige oste produkter. De viser en forskellig grad af hydrolyse af polyphosphaten under fremstillingsprocessen, som kan optimeres vha. IC.

Sulfitdetektion i alkoholholdige drikkevarer

DC-amperometri bruges også til detektion af sulfit i alkoholholdige drikkevarer som vin og øl. Sulfit oxideres let på en Pt-arbejdselektrode ved 0.6 V. Når sulfit separeres ved ionekslusionschromatografi, kan glycerol og ethanol bestemmes i samme arbejdsgang. Separation af det relativt komplekse spektrum af organiske syrer i vin og frugtjuice er derimod en udfordring. Desuden er der store koncentrationsforskelle for f.eks. citron- og isocitronsyre i appelsinjuice, hvilket gør isokratisk eluering på ionbytterkolonner meget svær, idet toppenes renhed (peak purity) ikke er sikret. Selv på konventionelle anionbytterkolonner, designet mhp. gradienteluering med en hydroxideluent, opnås ikke tilstrækkelig resolution mellem de tidligt eluerende monocarboxylsyrer. Dette problem kan kun løses ved at anvende højkapacitetsanionbyttere. 100% solventkompatibilitet tillader brug af methanol ved optimering af selektiviteten, særlig ved separation af vinsyre fra mineralsyrer, der eluerer meget tæt på vinsyren. Den eneste ulempe ved sådanne separationer er de relativt lange analysetider på omkring 40 minutter.

Analyse af kulhydrater i juice

Derudover anvendes IC ved analyse af kulhydrater i juice [11], alkoholholdige drikkevarer [12], honning [11,13] og kunstige sødemidler. I stærkt basiske medier danner kulhydrater anioner, der kan separeres på højkapacitetsanionbyttere

med en hydroxideluent. Som detektion anvendes pulsamperometri på en Au-arbejdselektrode. Da sukkeralkoholer og mono-, di- og oligosaccharider udviser meget forskellig retention, er selektiviteten af de respektive separationskolonner optimeret til at give optimal resolution for de forskellige grupper af kulhydrater. Anionbytningschromatografi er med succes blevet brugt til at afsløre forfalskning af frugtjuice med invertsukker og glucosesirup. I begge tilfælde udviser oligosaccharidsammensætningen forskellige mønstre. Det er derfor muligt at detektere tilsætning af mindre end 1% sukker ved at kvantitere oligosacchariderne [14].

Konklusion

Ionchromatografi er et stærkt værktøj til kvalitativ og kvantitativ analyse af an- og kationiske species. Takket være meget effektive separationsmaterialer er det ved direkte injektion muligt at detektere stoffer i det lave µg/L-koncentrationsområde. Metodens store følsomhed tillader fortynding af prøver fra komplicerede matricer, så interferens fra matrixkomponenter minimeres. Analyse for alskens ioner inden for miljøområdet af vand-, jord- og luftprøver såvel som drikke- og fødevarer er to meget vigtige anvendelsesområder for ionchromatografi.

Artiklen er indsendt på opfordring af og oversat af redaktionen for Dansk Kemi.

Referencer

1. J. Weiss, *Ionenchromatographie*. 3rd ed. Wiley-VCH Weinheim 2001.
2. Y. Kurokawa; Y. Maekawa, M. Takahashi, and Y. Hayashi, *Environ. Health Perspect.* 87 (1990) 309.
3. World Health Organization: guidelines for drinking water quality. WHO Geneva 1993.
4. Commission of the European Communities: Proposal for a council directive concerning the quality of water intended for human consumption. Brussels 1994.
5. H.P. Wagner, B.V. Pepich, D.P. Hautman, and D.J. Munch, *J. Chromatogr. A* 850 (1999) 119.
6. M. Nowak and A. Seubert, *Anal. Chim. Acta* 359 (1998) 193.
7. N.K. Kristiansen, K.T. Aune, M. Foeshaug, G. Becher, and E. Lundanes, *Water Res.* 30 (1996) 2155.
8. C. Sarzanini, M.C. Bruzzoniti, and E. Mentasti, *J. Chromatogr. A* 850 (1999) 197.
9. F. Gaucheron, Y. le Graet, M. Piot, and E. Boyaval, *Lait* 76 (1996) 433.
10. E. Baluyot and C.G. Hartford, *J. Chromatogr.* 739 (1996) 217.
11. B. Baumgärtner, Diploma Thesis, Fachhochschule Fresenius, Wiesbaden 1989.
12. H. Klein and R. Leubolt, *J. Chromatogr.* 640 (1993) 259.
13. K.W. Swallow and N.H. Low, *J. Agric. Food Chem.* 38 (1988) 1828.
14. A. Trotzer, H.-J. Hofsommer, and K. Rubach, *Flüssiges Obst* 1 (1991) 13.