

## Jonska hromatografija: principi i primena

Dr Ljubiša Ignjatović  
Fakultet za fizičku hemiju, Beograd



## Sadržaj

### Šta je hromatografija?

- O istoriji i fizičkoj hemiji hromatografije

### Gde se hromatografija “dešava”?

- Od jonske izmene do jonskih parova

### Koji detektori mogu da se koriste?

- Od voltametrije do konduktometrije

### Šta je jonska hromatografija sa supresijom?

- Od visoke do niske osnovne provodljivosti

### Hromatografija

- Od početnika do eksperta

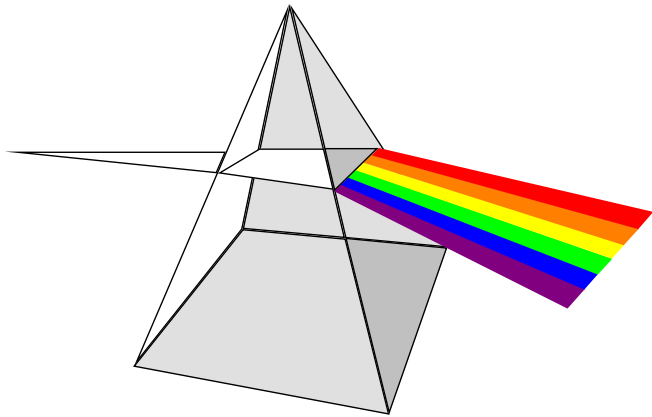


Istorija: M. Cvet, 1903. godine

Razdvajanje obojenih pigmenata biljnih ekstrakata na koloni od  $\text{CaCO}_3$

## Definicija

«Analitička metoda gde se smeša supstanci koje se javljaju samo u jednoj boji razdvajaju na način da različite boje postaju vidljive. Metoda se koristi za razdvajanje hemijskih supstanci koje su hemijski vrlo slične i teško razdvojive»



Grčki

*chroma* = boja

*graphein* = pisati

## •HROMATOGRAFIJA

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

Hromatografija obuhvata više različitih grupa metoda koje omogućavaju razdvajanje, izolovanje, indentifikaciju i određivanje komponenti u smeši. Komponente smeše se razdvajaju na osnovu različitih koeficijenata raspodele između POKRETNE (mobilne) i NEPOKRETNE (stacionarne)faze

Pokretna faza može biti: gas ili tečnost,  
a nepokretna: tečnost na nekom čvrstom nosaču, adsorpcioni sloj na površini čvrste faze ili jonoizmenjivač.

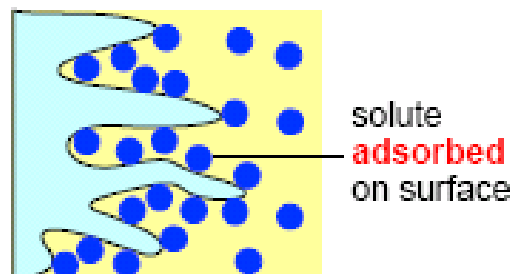
# •KLASIFIKACIJA HROMATOGRAFSKIH METODA

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

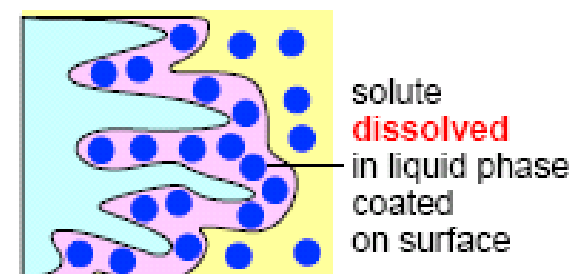
- Podela hromatografskih metoda se može izvršiti na više načina:
- Opšta klasifikacija ili klasifikacija prema načinu smeštanja stacionarne faze:
  - PLANARNA (Tankoslojna (TLC), Papirna (PC), Elektrohromatografija)
  - NA KOLONI (Gasna (GC), Tečna (LC))
- Prema fizičkoj prirodi mobilne i stacionarne faze:
  - Tečno - tečno
  - Tečno - čvrsto
  - Gas - tečno
  - Gas - čvrsto
  - Tečna hromatografija
  - Gasna hromatografija

## Prema fizičko-hemijskom procesu na granici faza:

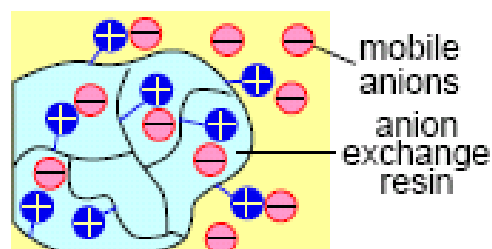
- Adsorpciona (adsorpcija)
- Particiona (rastvaranje)
- Jonoizmenjivačka (jonska izmena)
- Ekskluziona (isključivanja na osnovu veličine molekula)
- Afinitetna (stvaranje kompleksa)



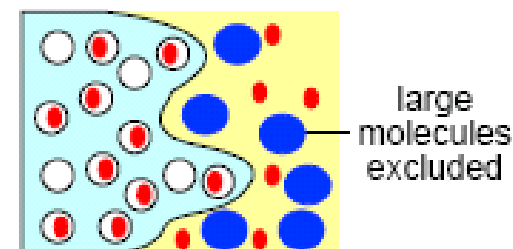
Adsorption Chromatography



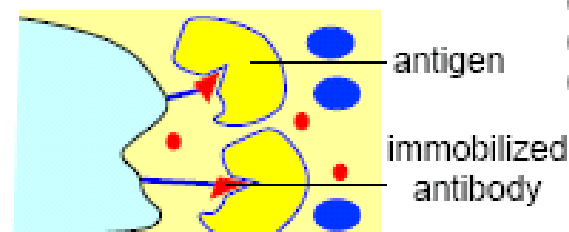
Partition Chromatography



Ion-Exchange Chromatography



Molecular Exclusion Chromatography  
Gel Permeation Chromatography  
Gel-Filtration Chromatography  
Gel Chromatography



Affinity Chromatography

- **Prema načinu pomeranja faza:**

- Eluirajuća
- Frontalna
- Istiskujuća

- **Prema cilju:**

- Analitička (kvalitativna i kvantitativna)
- Preparativna (izdvajanje čiste supstance u većoj količini)

- **Tečna hromatografija** je varijanta hromatografije čija je pokretna faza tečna, a nepokretna faza može biti granulovana čvrsta faza ili tečnost nanešena na granule čvrstog nosača (nerastvorna u tečnosti koja predstavlja mobilnu fazu).
- Za razliku od gasne hromatografije koja zahteva da uzorak bude u stanju gasa ili pare, tj. da su temperature daleko iznad sobne, tečna hromatografija se izvodi uglavnom u oblasti sobne temperature, tj. mogu se analizirati i termički nestabilne supstance (npr. organske supstance biološkog porekla i značaja).



# • VISOKOPERFORMANSNA TEČNA HROMATOGRAFIJA

- Tečna hromatografija pod visokim pritiskom (high pressure liquid chromatography) ili tečna hromatografija visoke efikasnosti (high performance liquid chromatography - HPLC) je tečno-hromatografska tehnika u kojoj se tečnost kroz kolonu proteruje pod pritiskom do 400 bara, pa i većim.
- Analize sa različitim parovima pokretna/nepokretna faza se izvode jednim jedinstvenim uređajem koji omogućuje kontinualnu promenu hemijskog sastava pokretne faze u cilju poboljšanja separacije, priključivanje raznih tipova detektora i pumpi, automatsko upravljanje postupkom od uzimanja uzorka do registracije hromatograma i obrade podataka.

## • TIPOVI HPLC

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

Četiri osnovna tipa HPLC su sledeća:

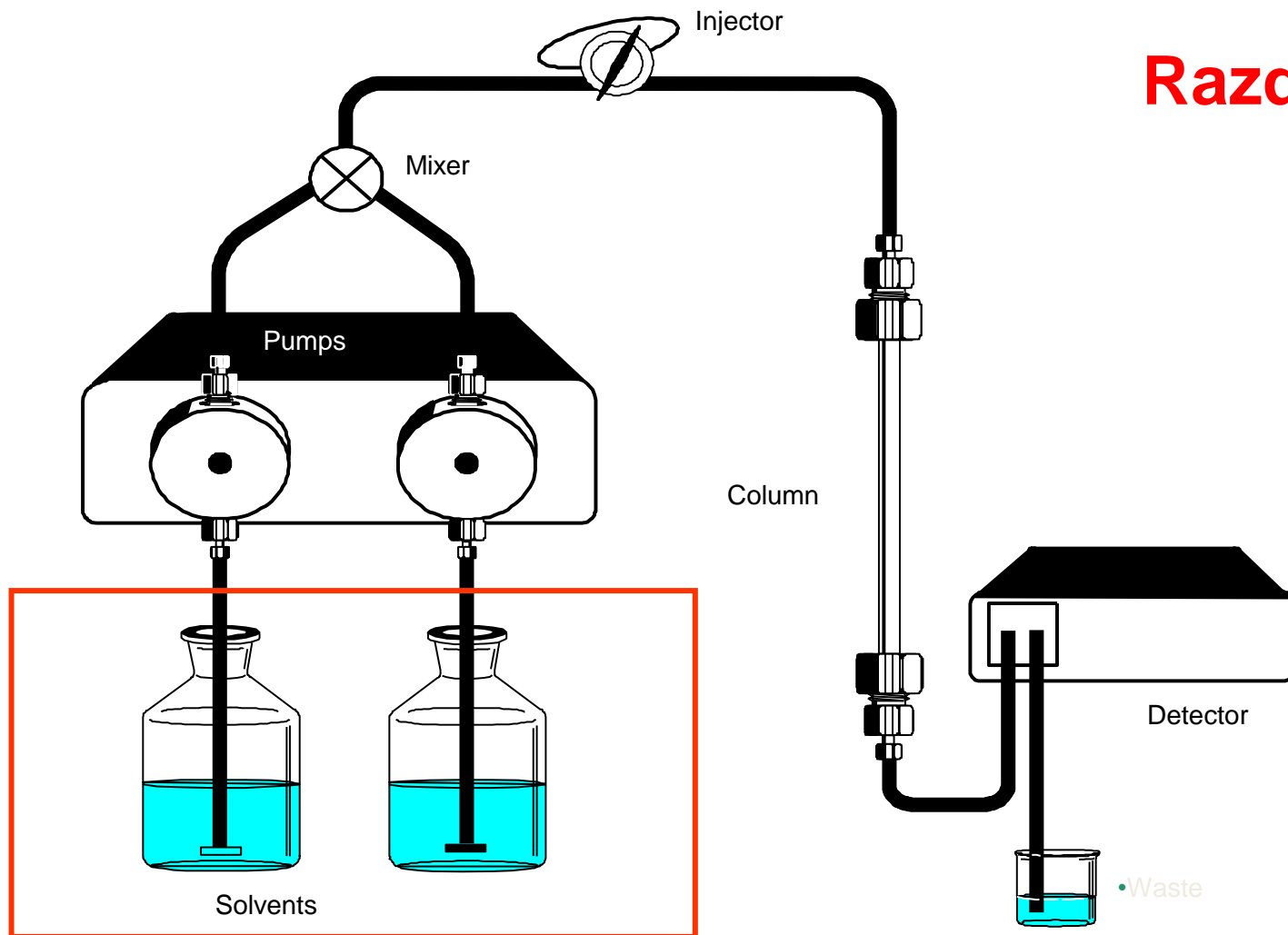
- Hromatografija pomoću jonskih izmenjivača
- Tečno-čvrsta (adsorpciona) hromatografija
- Tečno-tečna hromatografija
- Hromatografija istiskivanja (isključenja) po veličini (SEC, GPC)

Ovi tipovi reprezentuju četiri posebna mehanizma interakcije molekula uzorka sa stacionarnom fazom. Razlike između ovih tipova hromatografije leže u osnovi u različitim kolonama koje se koriste.

- Uređaj za visokoperformansnu tečnu hromatografiju sastoji se iz:
  - rezervoara za mobilnu fazu, pumpe, injektora, kolone, detektora, termostata za kolonu i detektor, uređaja za registrovanje i obradu podataka.
- Protok tečne faze kroz kolonu, koja je termostatirana obezbeđuje pumpa koja proizvodi visoki pritisak. Tečna faza, nakon injektiranja uzorka, po izlasku iz kolone, protiče kroz odgovarajući osetljivi detektor čiji je odziv srazmeran koncentraciji supstance. Odziv detektora se prevodi u odgovarajući naponski signal koji se automatski beleži.

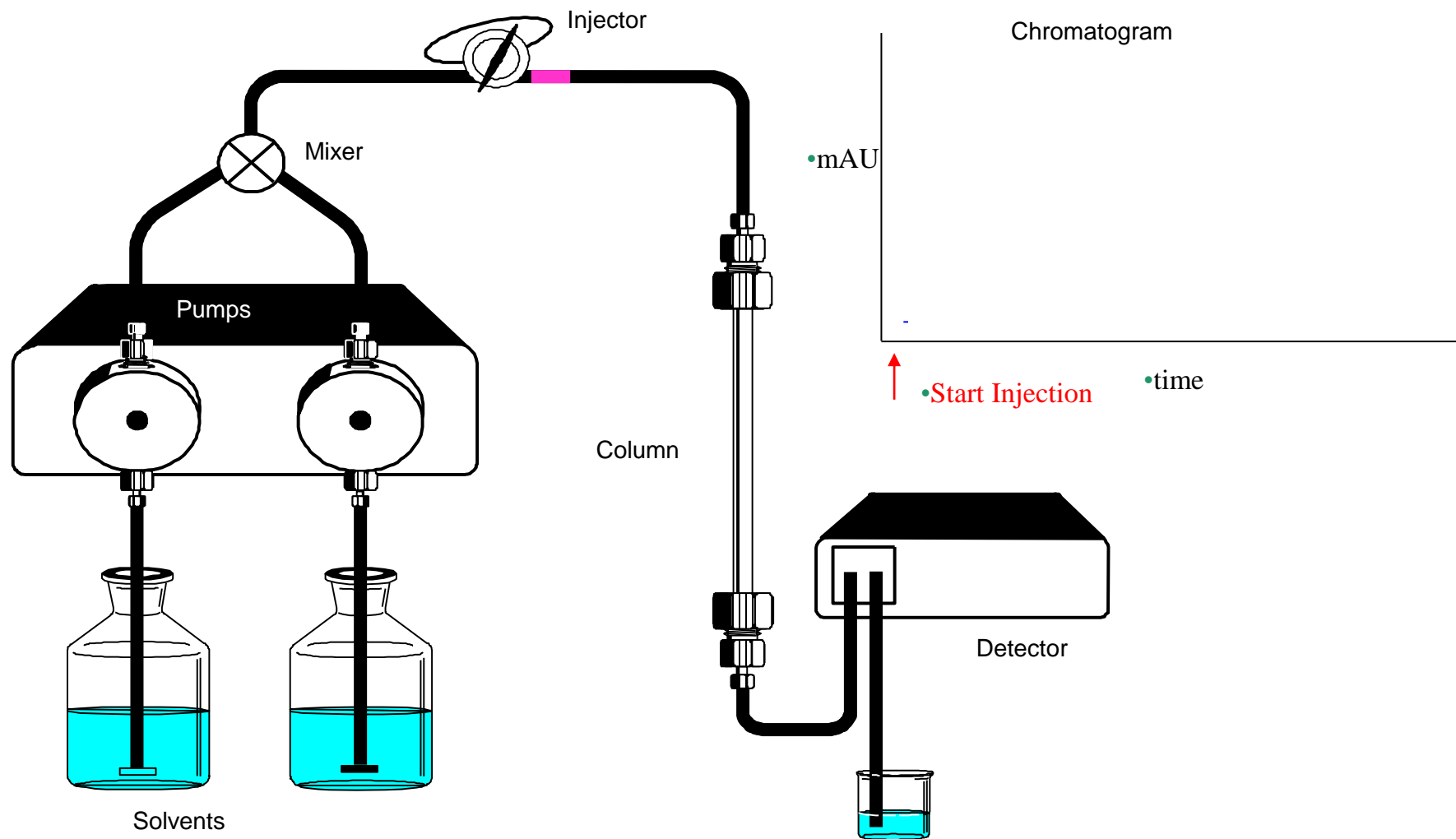


# Razdvajanje



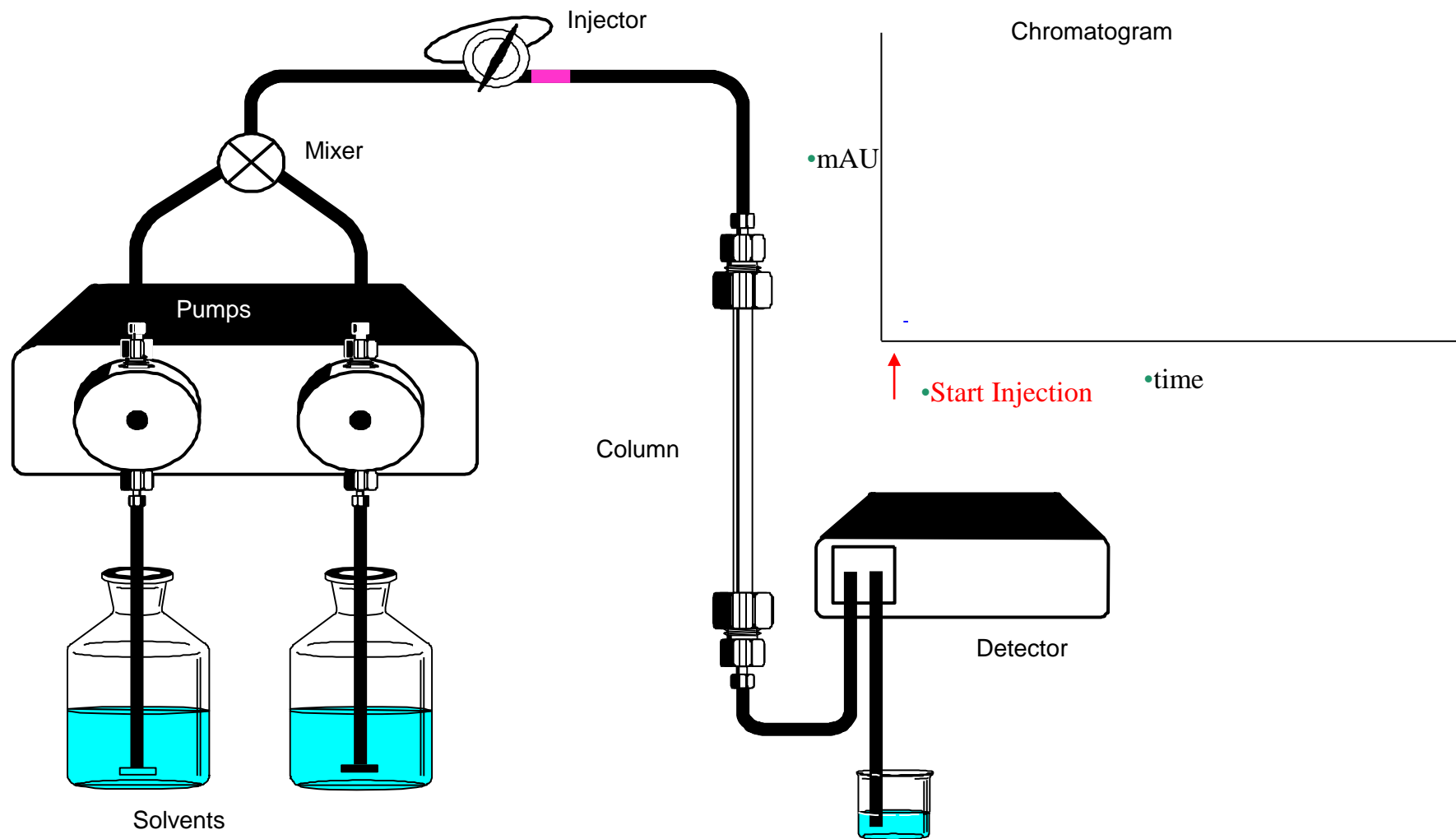
# Razdvajanje

IC IC IC IC



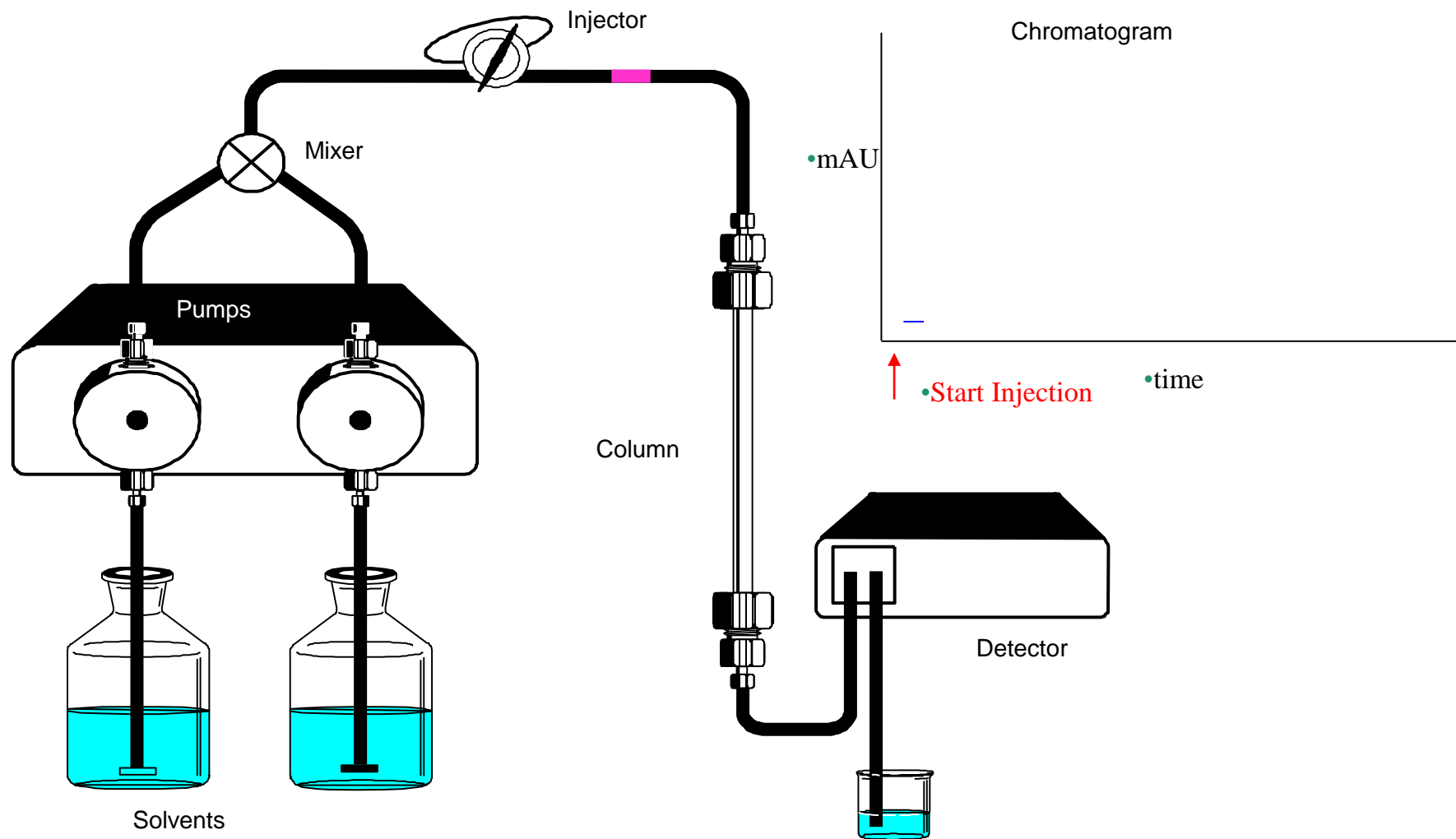
# Razdvajanje

IC IC IC IC



# Razdvajanje

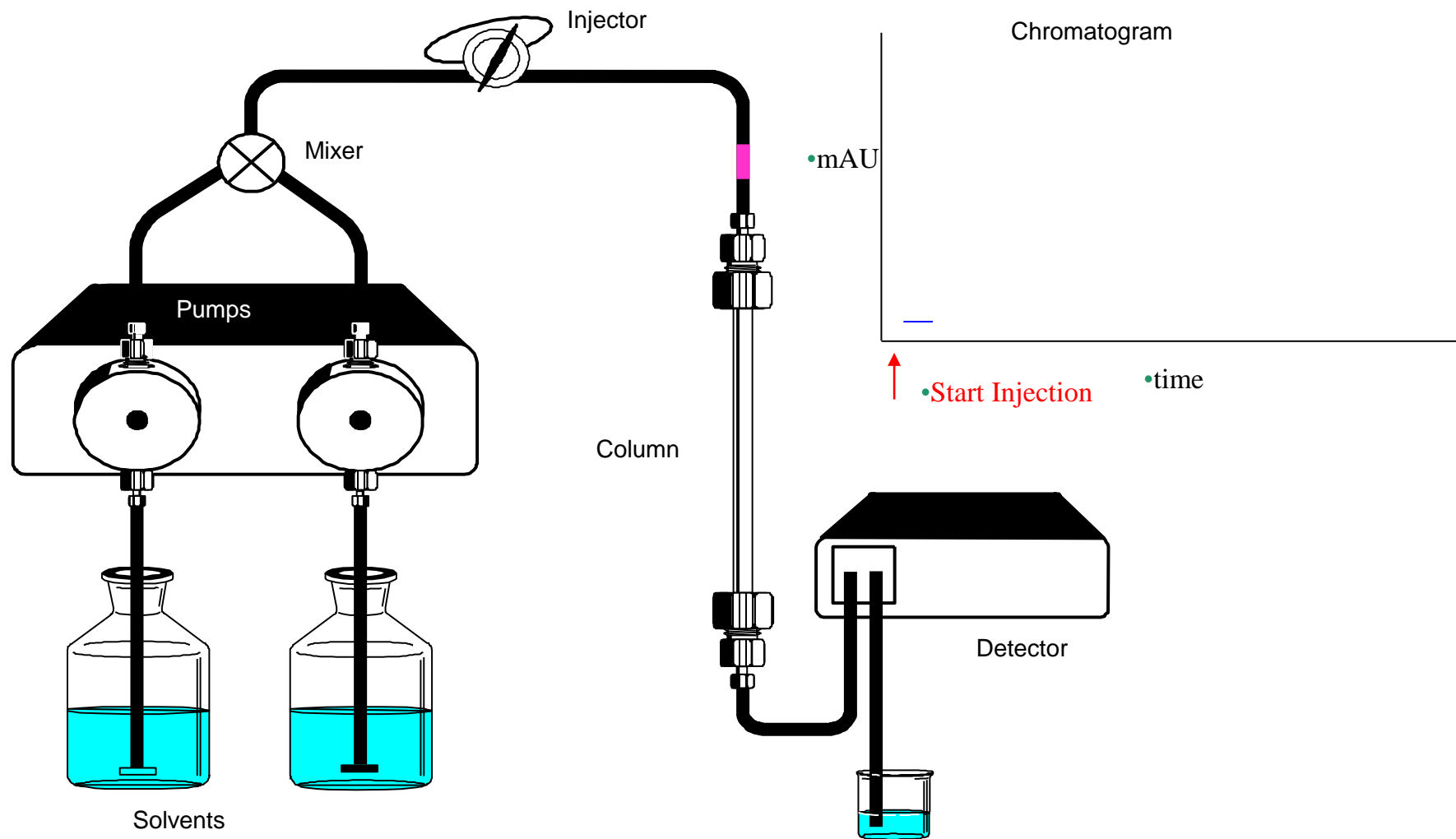
IC IC IC IC





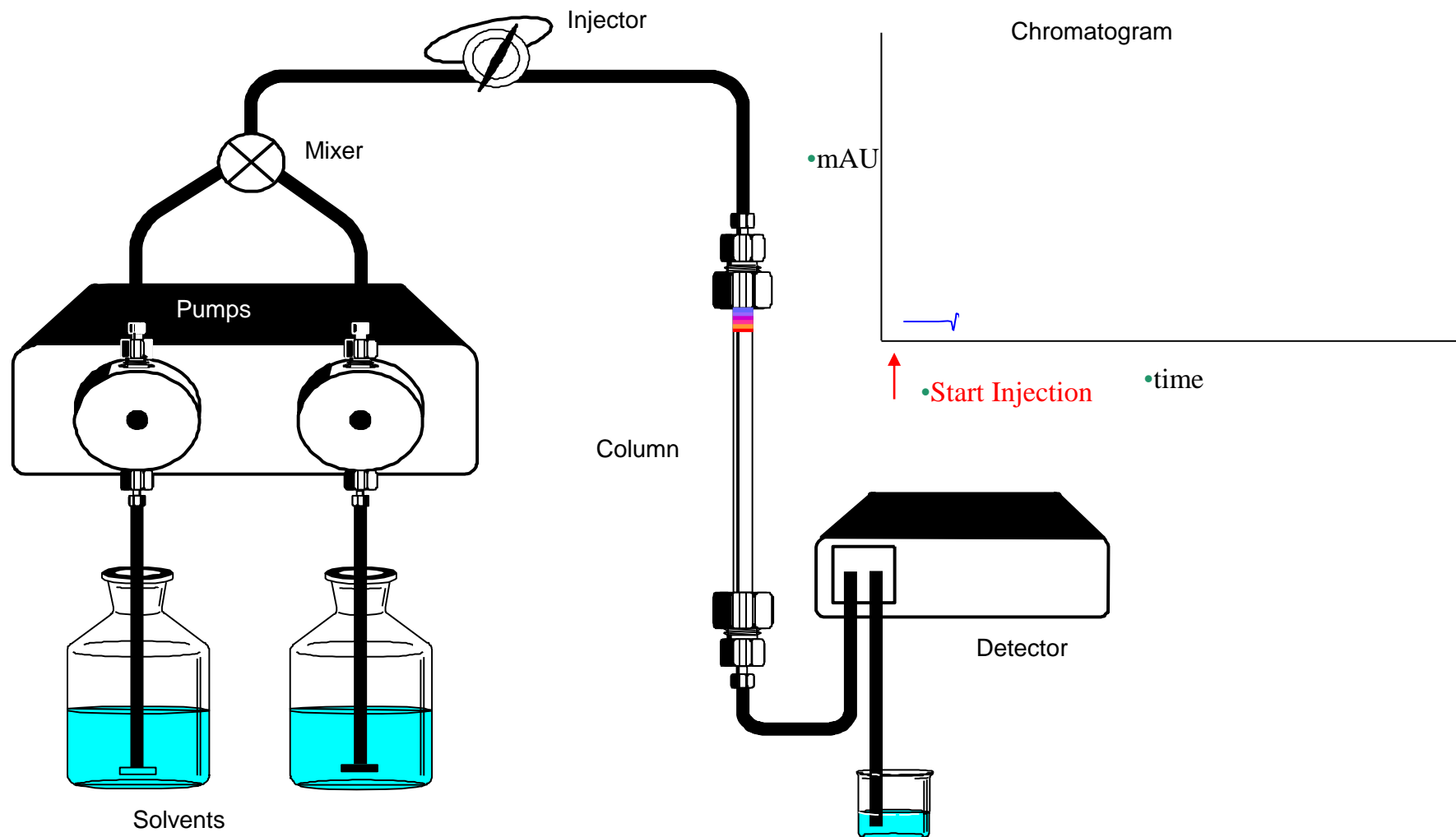
# Razdvajanje

IC IC IC IC



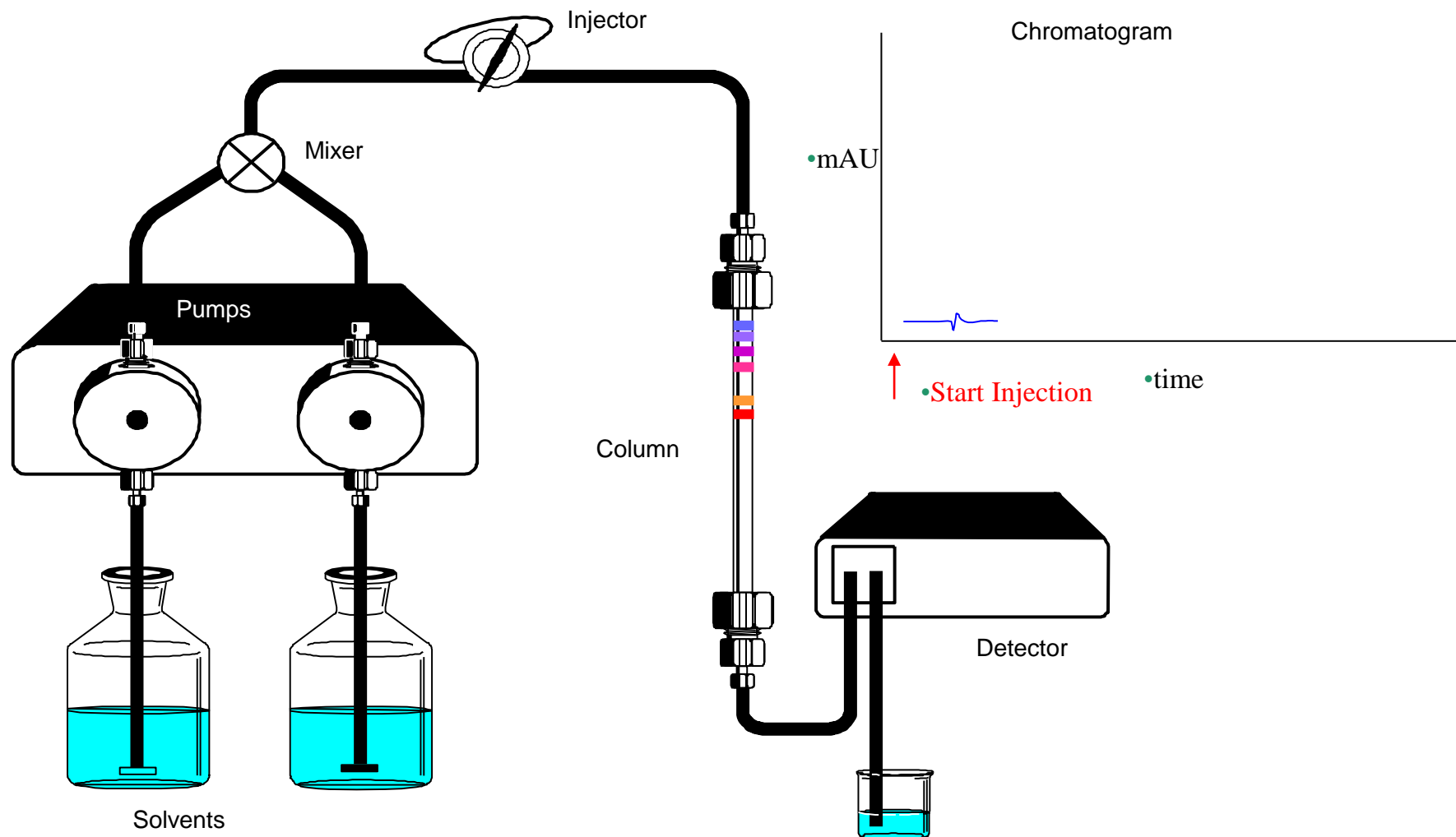
# Razdvajanje

IC IC IC IC



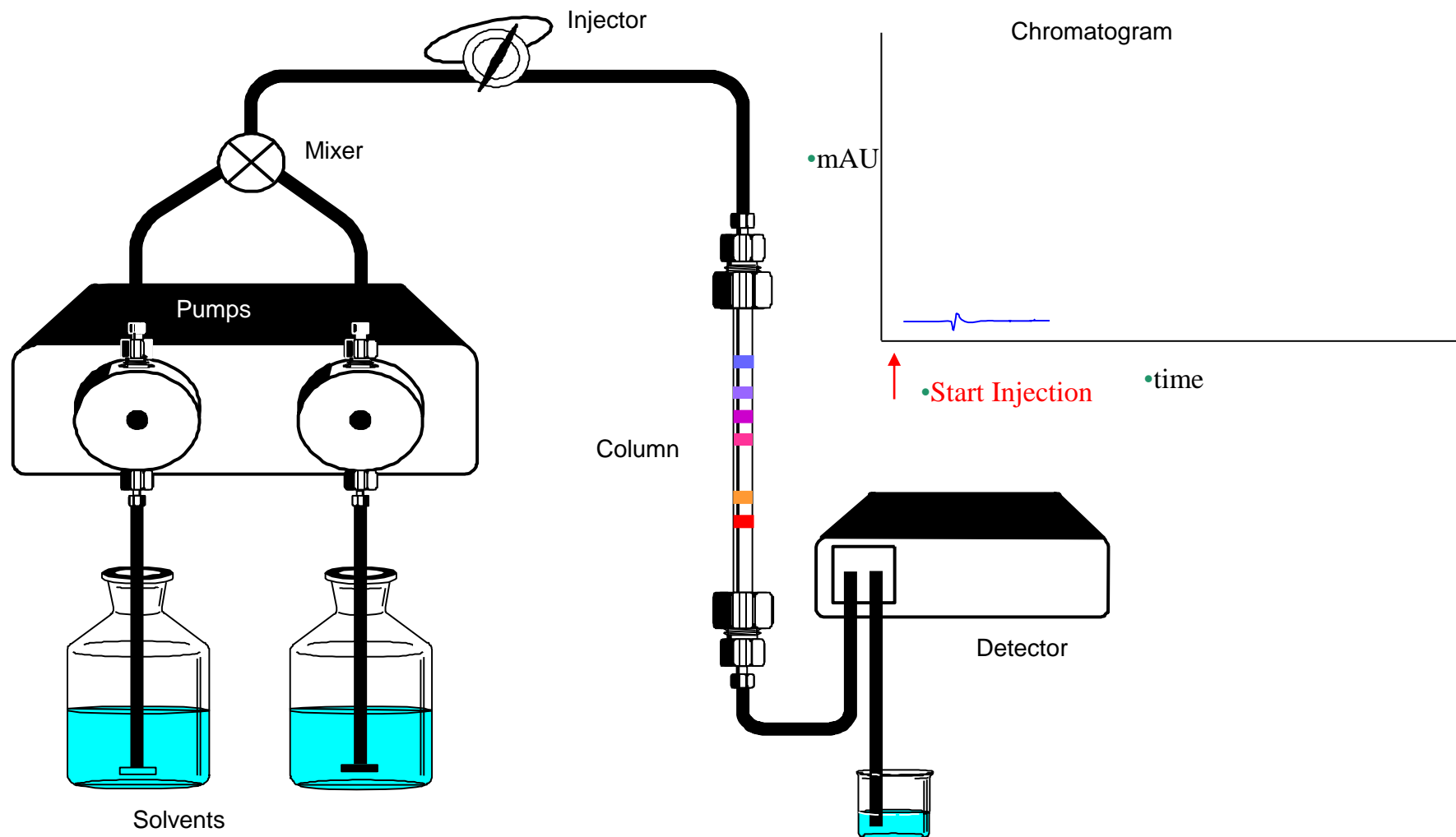
# Razdvajanje

IC IC IC IC



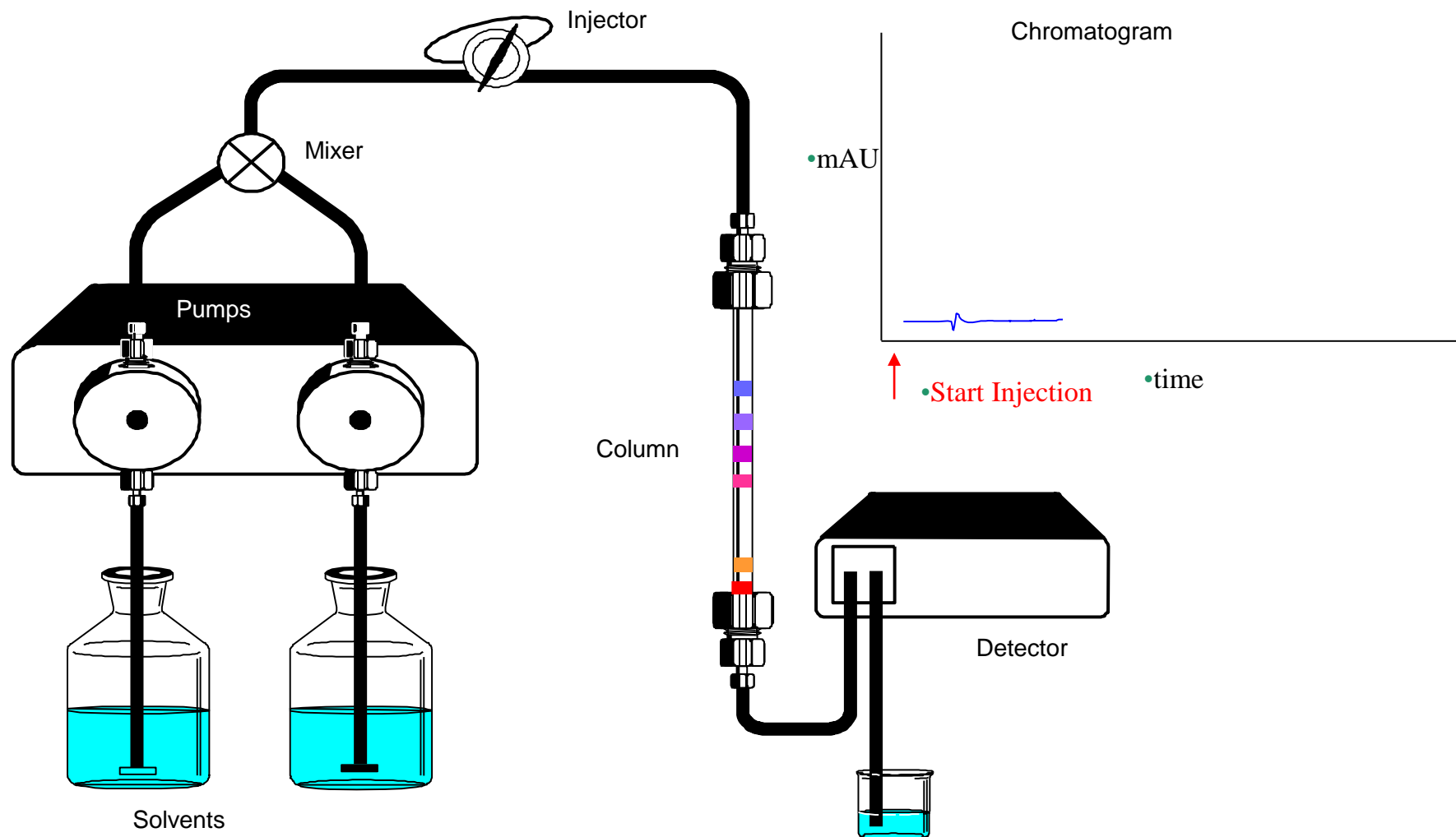
# Razdvajanje

IC IC IC IC



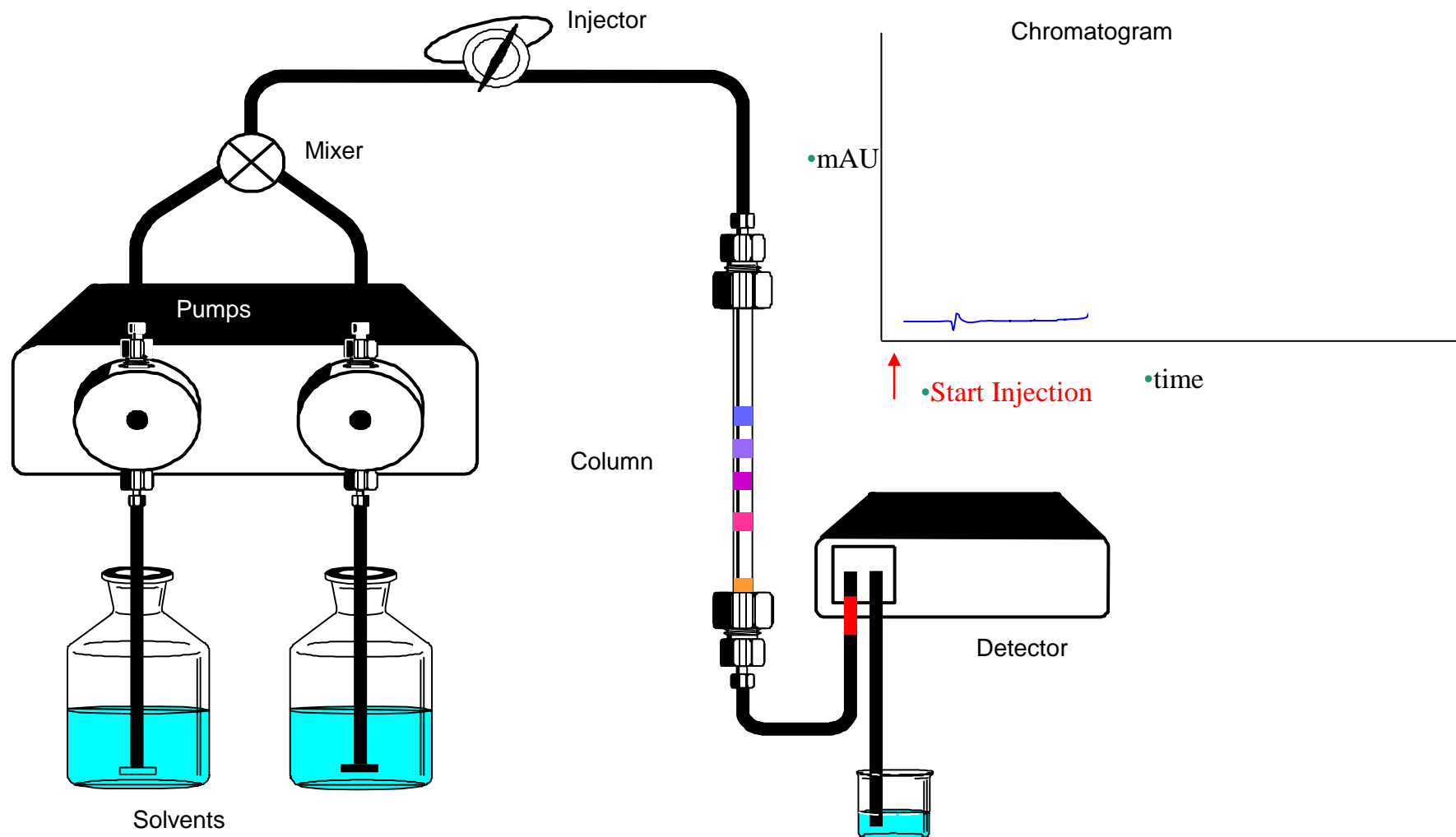
# Razdvajanje

IC IC IC IC



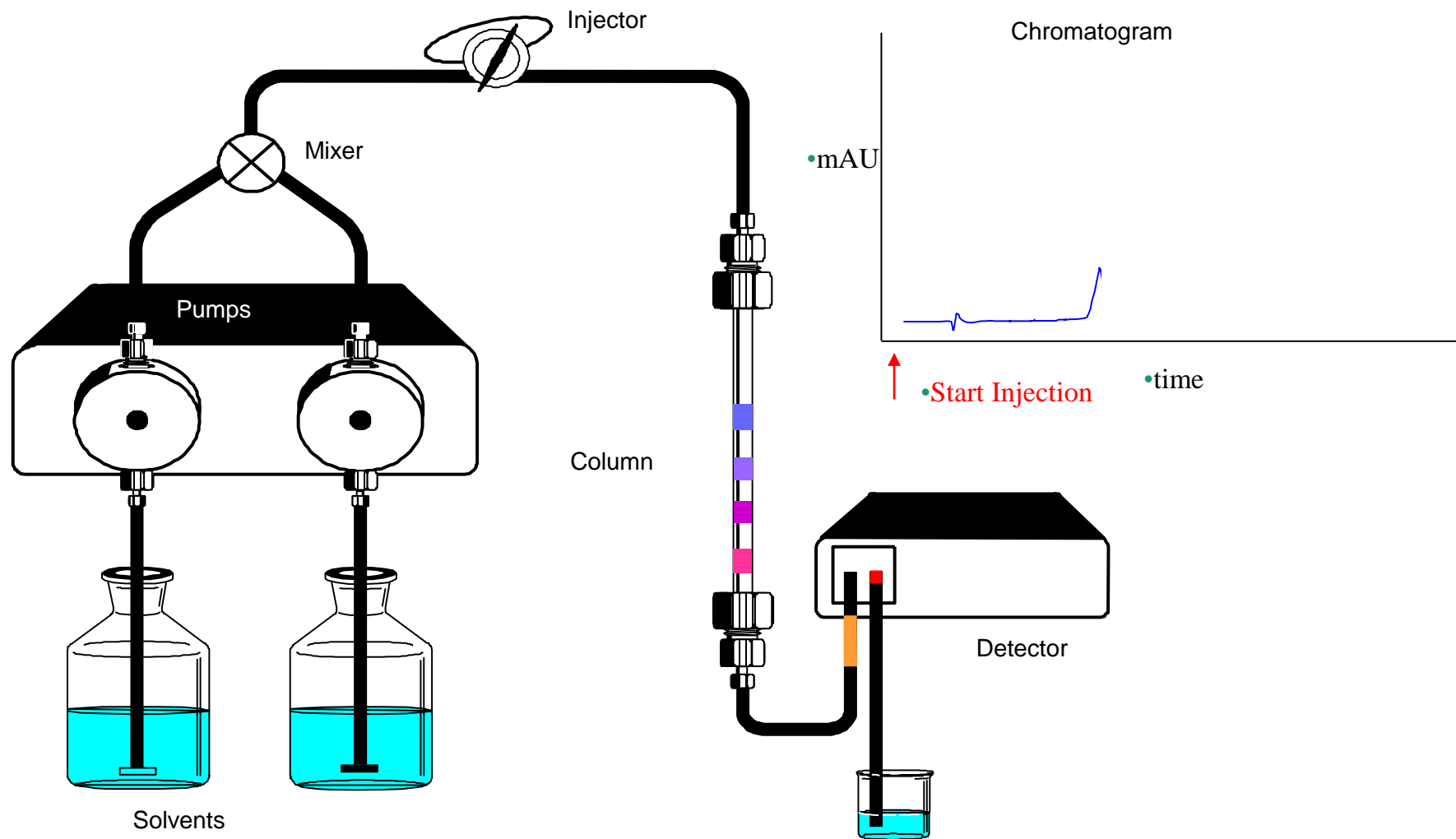
# Razdvajanje

IC IC IC IC



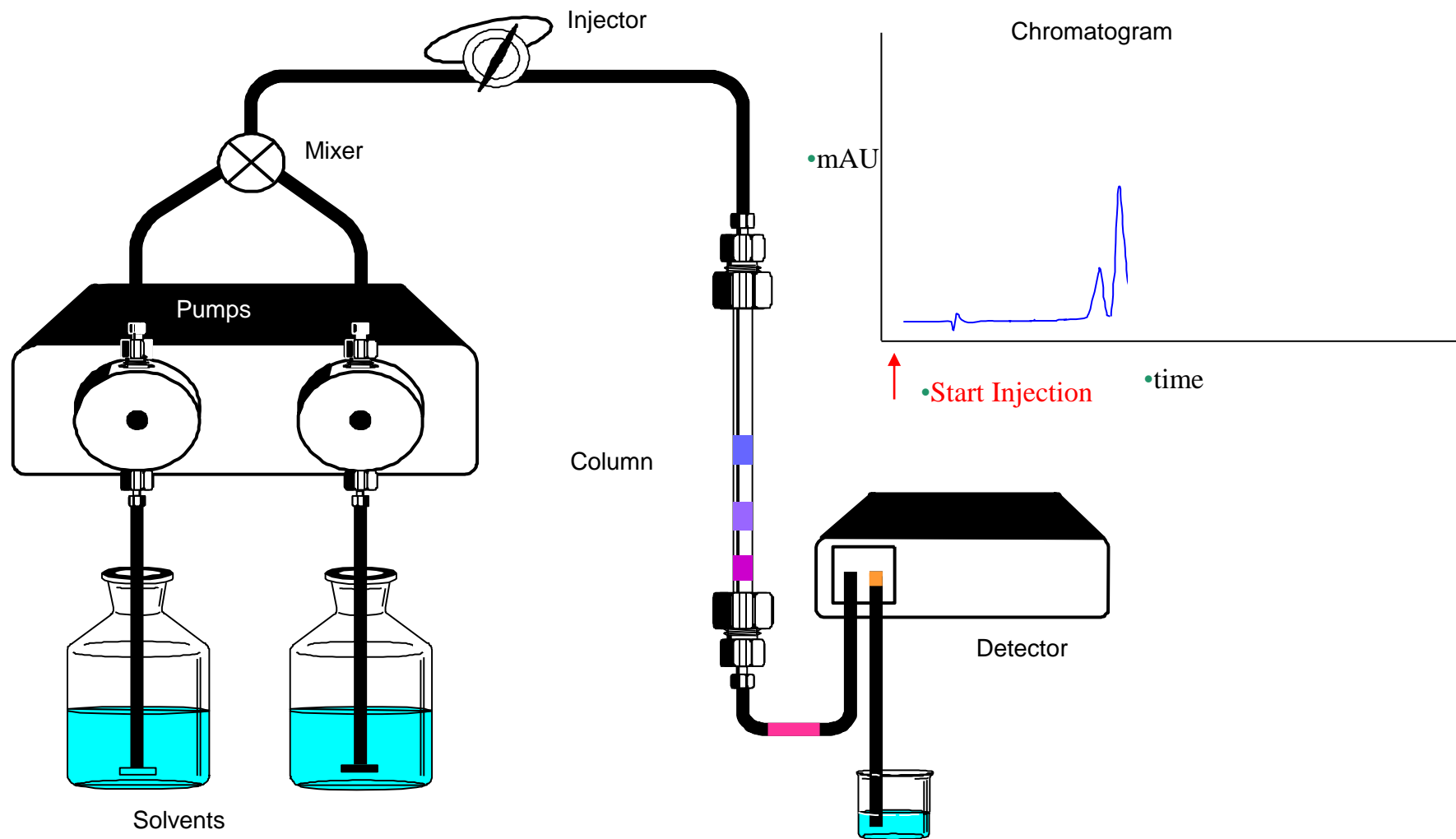
# Razdvajanje

IC IC IC IC



# Razdvajanje

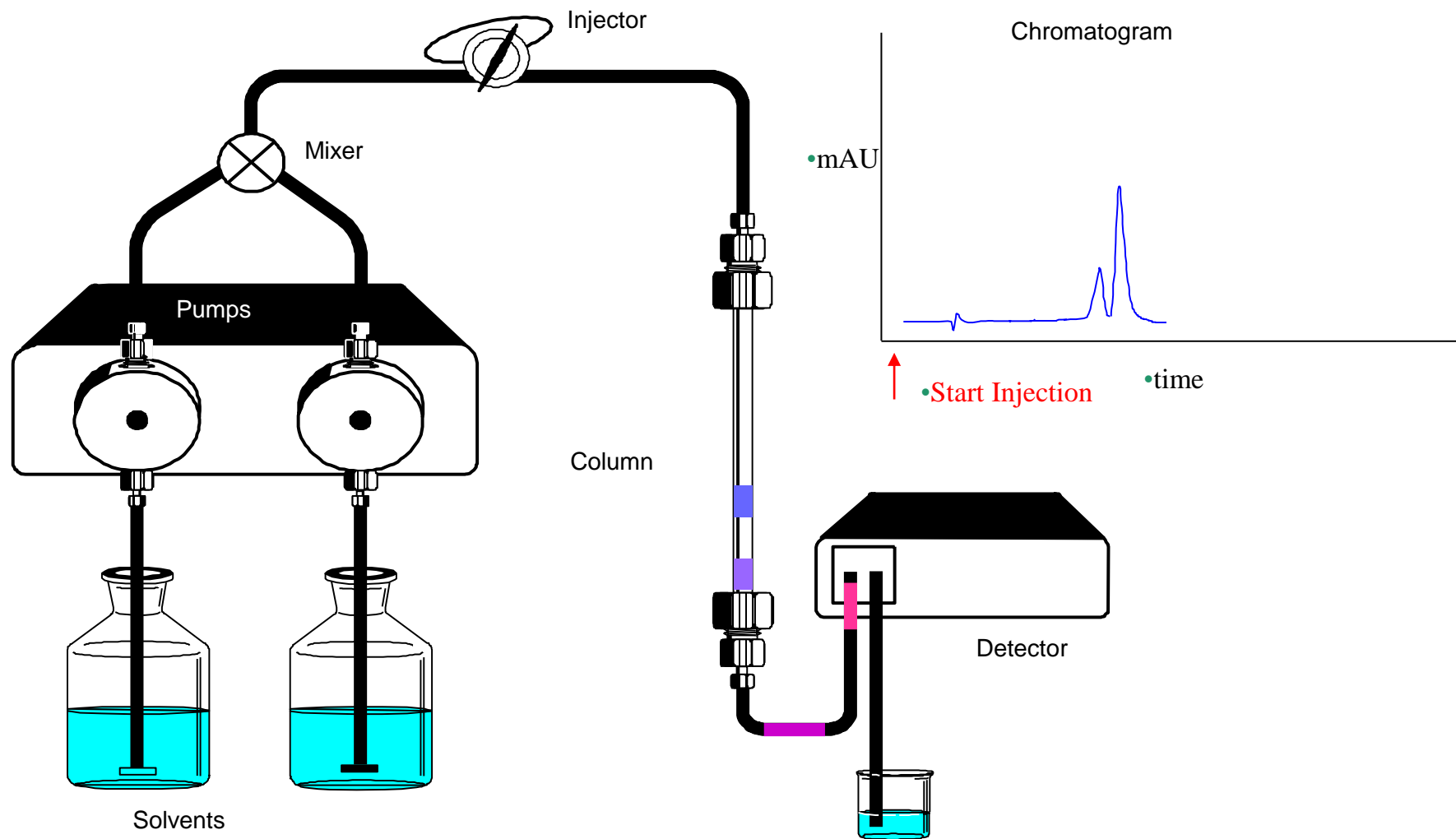
IC IC IC IC





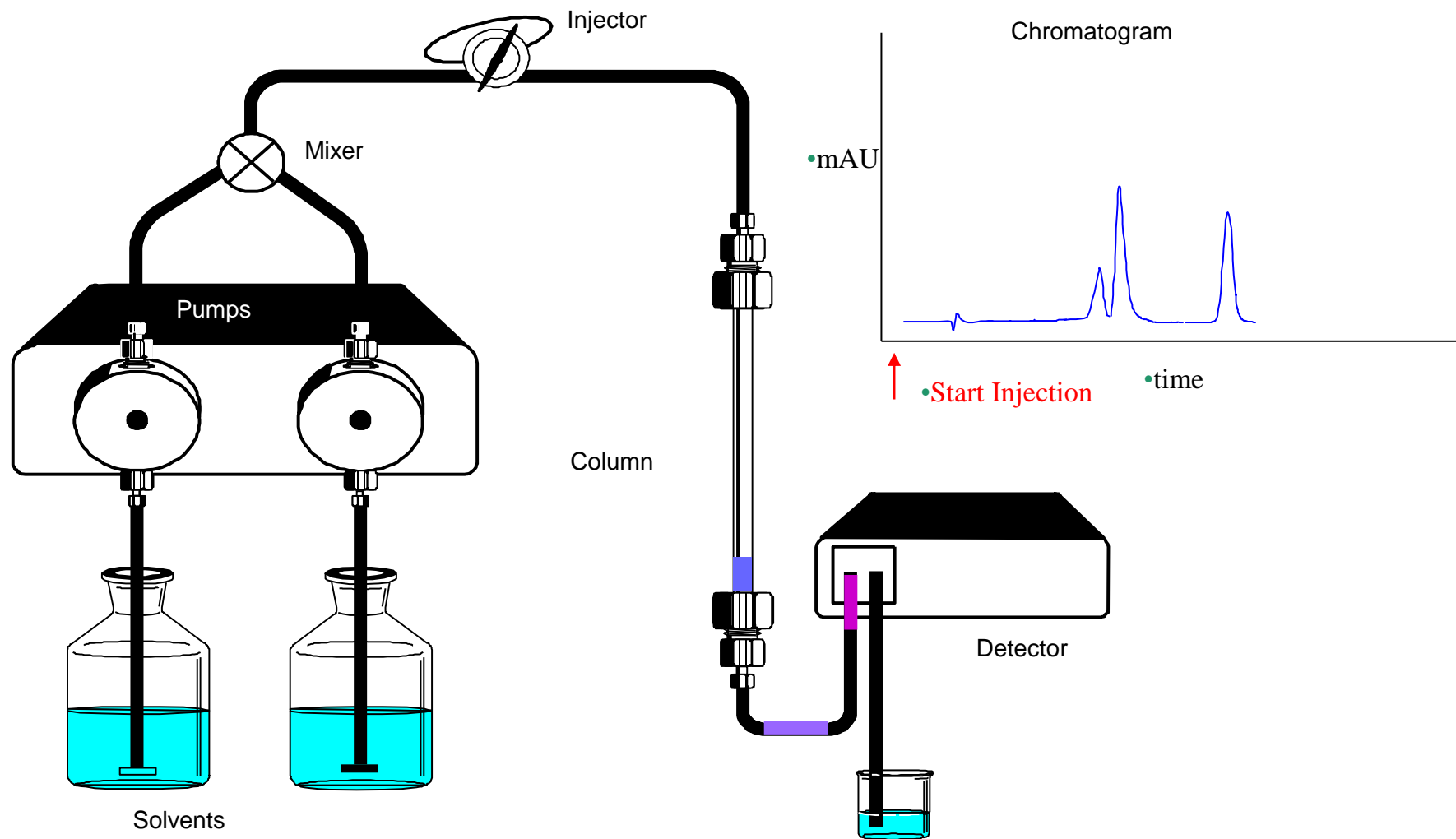
# Razdvajanje

IC IC IC IC



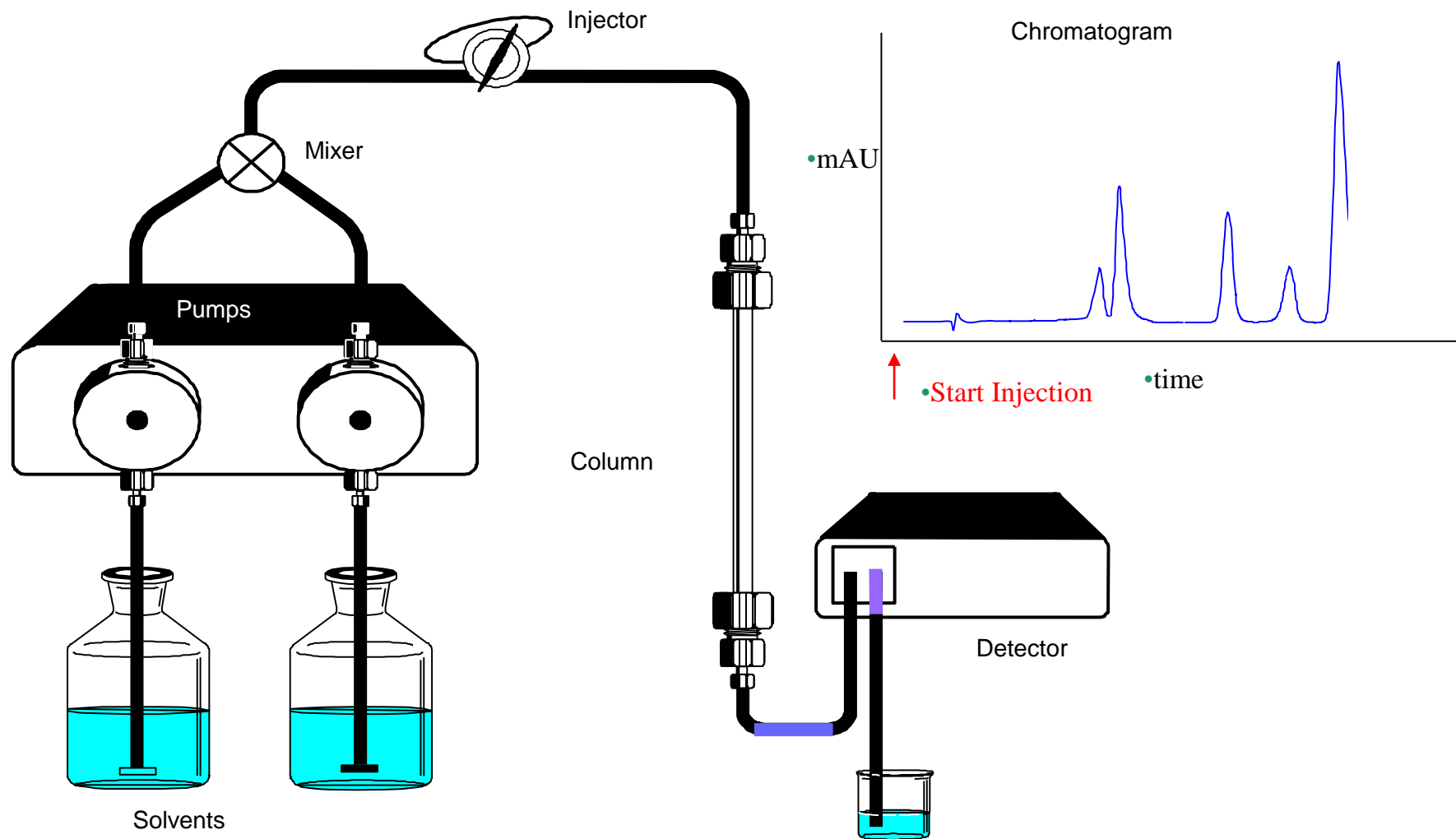
# Razdvajanje

IC IC IC IC



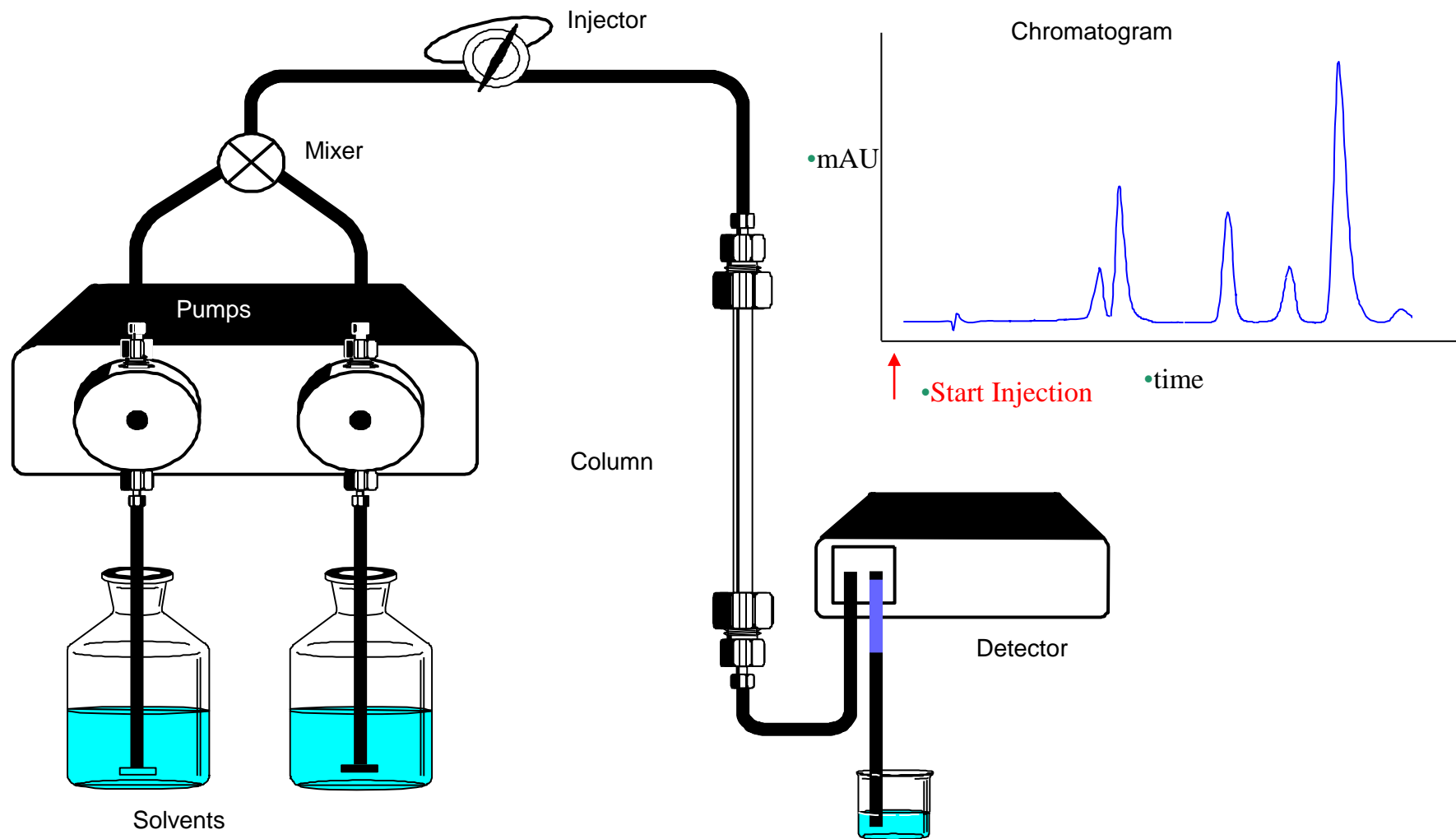
# Razdvajanje

IC IC IC IC



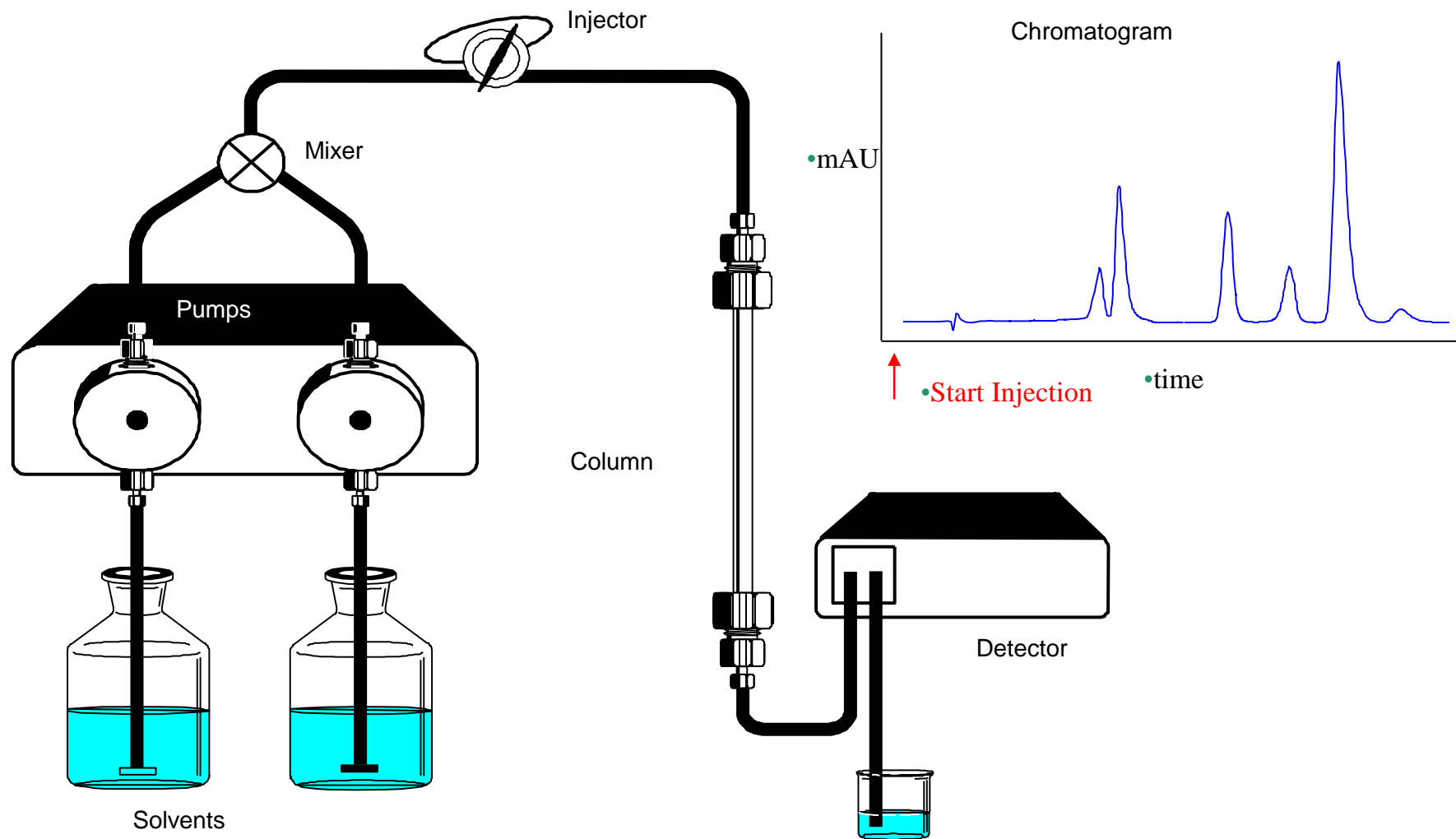
# Razdvajanje

IC IC IC IC



# Razdvajanje

IC IC IC IC

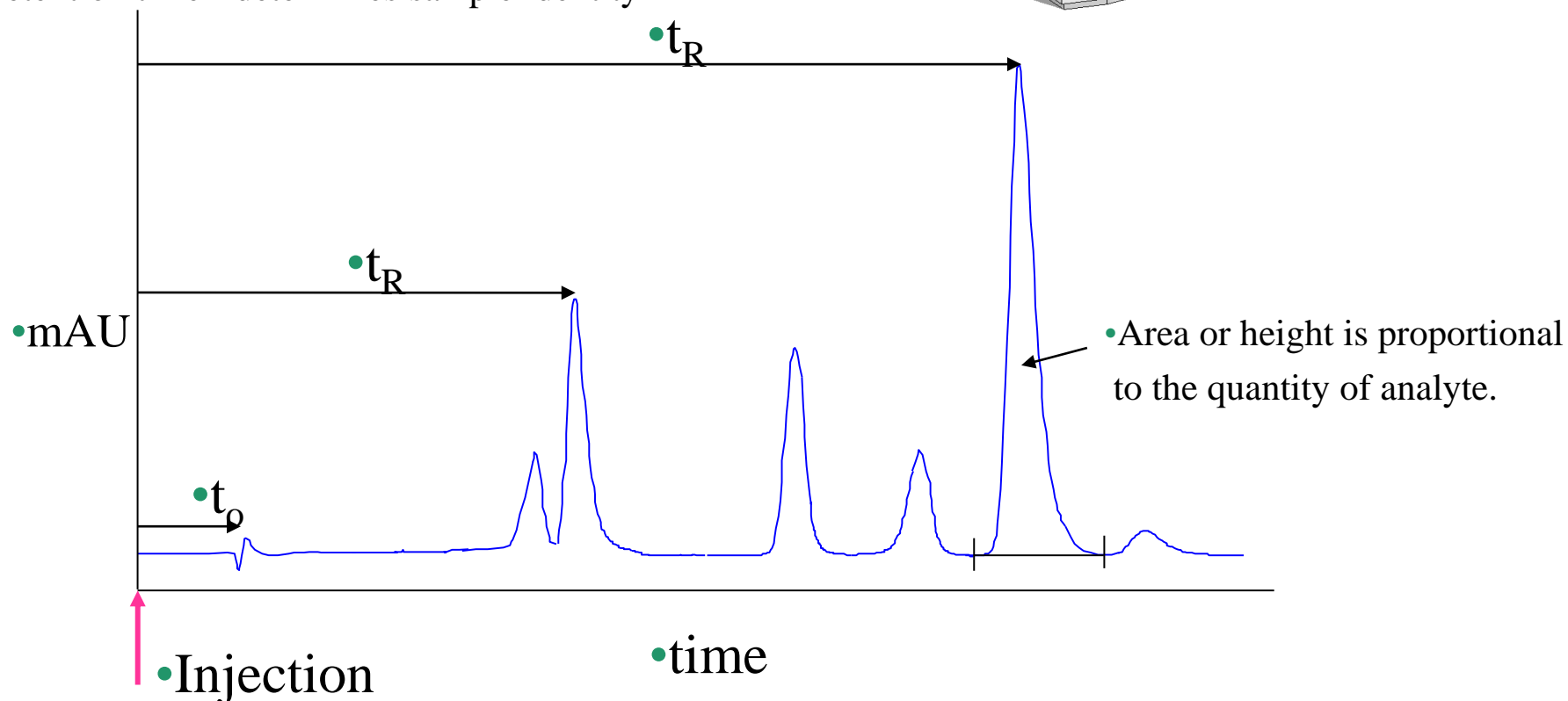
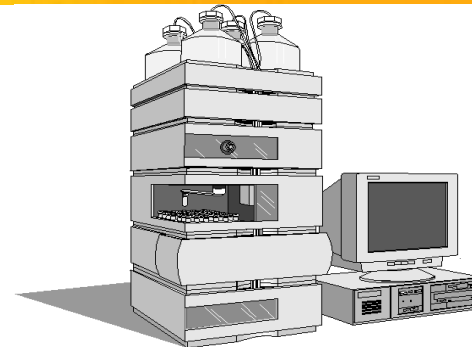


# CHROMATOGRAM

IC IC IC IC

## IDENTIFIKACIJA SUPSTANCI

- $t_o$  - elution time of unretained peak
- $t_R$  - retention time - determines sample identity



## Istorija

1850	Gline kao izmenjivači za $Mg^{2+}$ , $Ca^{2+}$ i $NH_4^+$		Thomson, Way
1935	Sulfonovani i aminovani polimeri		Adams, Holms
1942	Sulfonovane polistiren/divinilbenzen smole (Manhattan projekt)		d'Alelio
1947	Aminovane PS/DVB smole kao jonski izmenjivači	LC	McBurney
1953	Jon ekskluziona hromatografija		Wheaton, Baumann
1957	Jonski izmenjivači sa velikom poroznošću		Corte, Meyer et al.
1959	Teorijske osnove		Helferich
1967-70	Pelikularni jonoizmenjivački materijali		Horvath, Kirkland
1975	Jonoizmenjivačka hromatografija sa konduktometrijskom detekcijom i supresijom		Small, Stevens, Baumann
1979	Konduktometrijska detekcija sa elektronskom supresijom	HPLC	Gjerde, Fritz, Schmuckler
1976-80	Jon-par hromatografija		Waters, Bidlingmeier, et. al

## Polarnosti

### Hromatografske metode

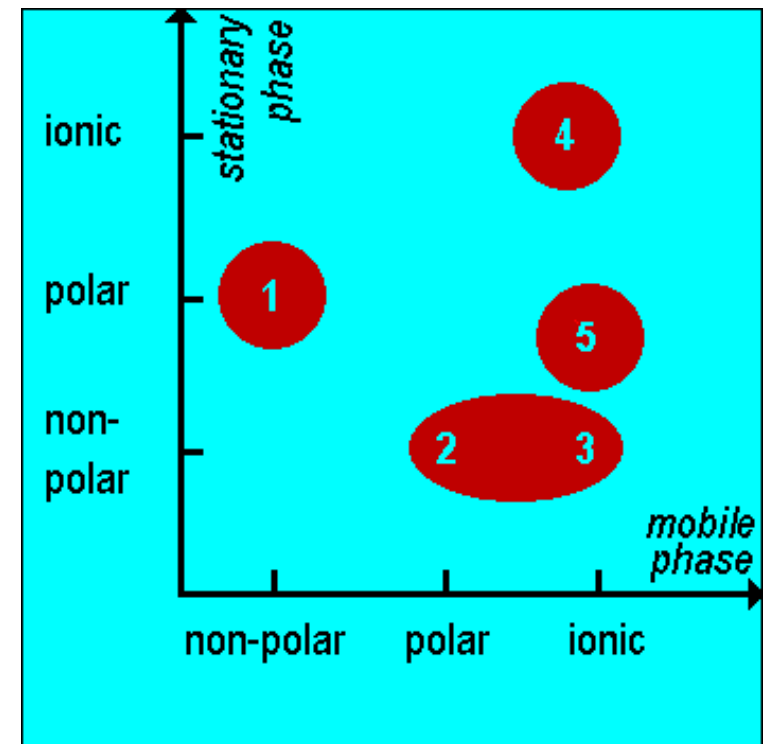
Na osnovu polarnosti stacionarnih i mobilnih faza razlikuju se sledeće metode:

#### Grupa 1 – tradicionalna TLC + HPLC

1. normalno fazna hromatografija
2. reverzno fazna hromatografija

#### Grupa 2 – Jonska hromatografija

4. jonoizmenjivačka hromatografija
3. jon-par hromatografija
5. jon-ekskluziona hromatografija





## Tradicionalne metode

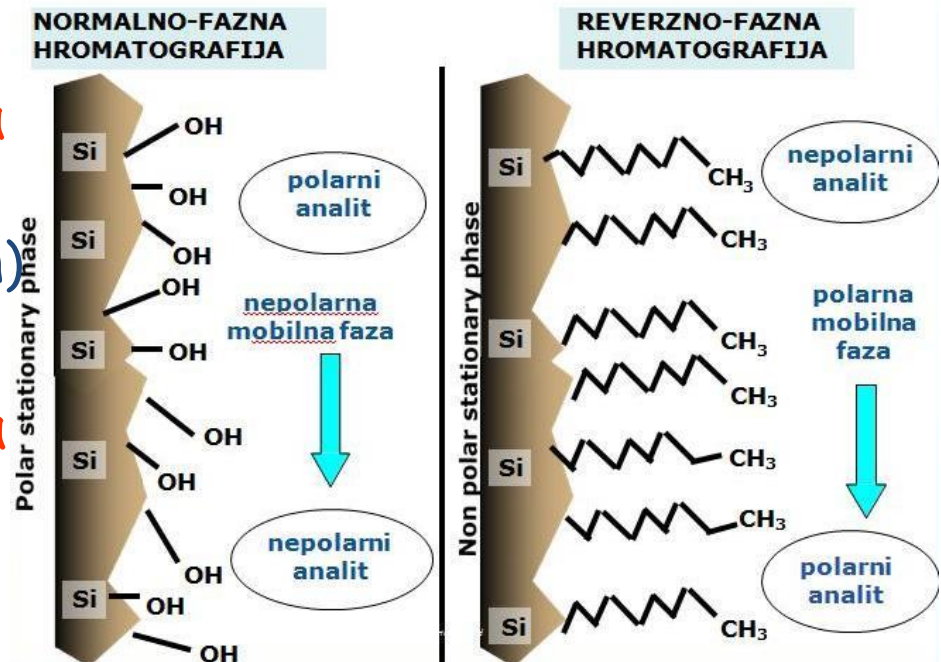
### Grupa 1 - tradicionalna TLC + HPLC

#### 1. Normalno fazna hromatografija

stacionarna f. = polarna (npr.  $\text{SiO}_2$ )  
mobilna f. = nepolarna (npr. n-heksan)

#### 2. Reverzno fazna hromatografija

stacionarna f. = nepolarna (npr.  $\text{C}_{18}$ )  
mobilna f. = polarna  
(npr. acetonitril ili metanol/voda)

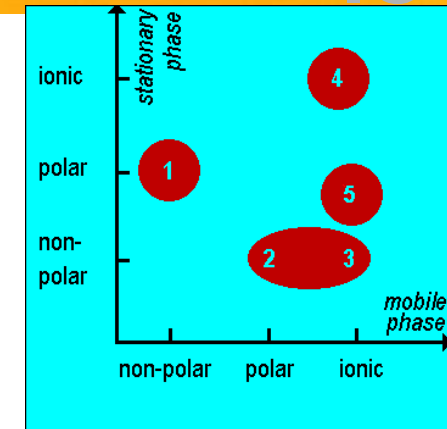


# Hromatografija

## IC metode

### Grupa 2 - IC

#### 4. Jonoizmenjivačka hromatografija



Katjoni i anjoni formiraju slabe jonske veze sa stacionarnom fazom.

**Katjoni:** Stacionarna faza = polarna (npr.  $R-SO_3^-$ ) -  
Mobilna faza = polarna (npr.  $HNO_3$  aq.)

**Anjoni:** Stacionarna faza = polarna (npr.  $R-NR_3^+$ ) -  
Mobilna faza = polarna (npr.  $Na_2CO_3$  aq.)

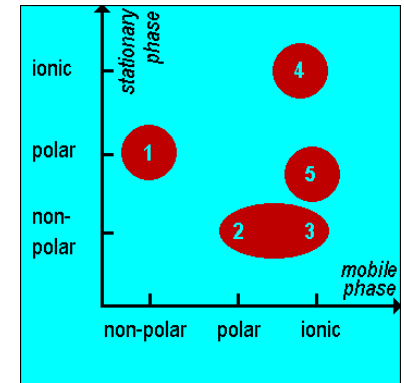
# Hromatografija

IC IC IC IC

## IC metode

### Grupa 2 - IC

#### 3. Jon-par hromatografija



Katjoni i anjoni reaguju sa dodatim lipofilnim kontrajonom stvarajući nejonski molekul. Rezultujući nepolarni molekul se onda odvaja u RP-modu.

Stacionarna faza = nepolarna (npr.  $C_{18}$ )

mobilna faza = polarna (npr. acetonitril ili metanol/voda)

# Hromatografija

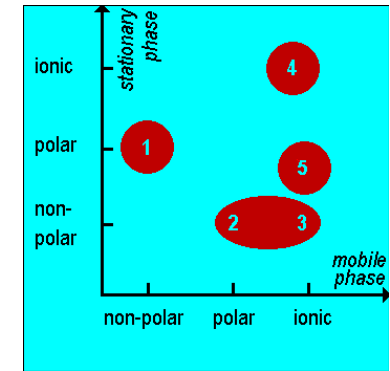
## IC metode

### Grupa 2 - IC

#### 5. Jon ekskluziona hromatografija

Dodavanjem  $H^+$ -jona stacionarna faza se transformiše u nejonsku, ali polarnu Donanovu membranu. Samo nedisosovani molekuli mogu da uđu u ovu membranu. Ako disosuju oni se istiskuju iz stacionarne faze. Razdvajanje komponenti vrši se na osnovu razlike konstanti disocijacija ispitivanih molekula.

- mobilna faza. = polarna (npr.  $H_2SO_4$  aq.)



## Zaključak

### Definicija

Jonska hromatografija obuhvata sve hromatografske metode koje razdvajaju jonske substance i substance koje lako disosuju. Ove metode su jon-par hromatografija (3), jonoizmenjivačka hromatografija (4) i jon ekskluziona hromatografija (5).

Analit i mobilna faza su u početku uvek polarne i/ili jonske. Jonska izmena je najvažniji mehanizam razdvajanja u jonskoj hromatografiji.

## HPLC i IC

### Tečno-čvrsta hromatografija

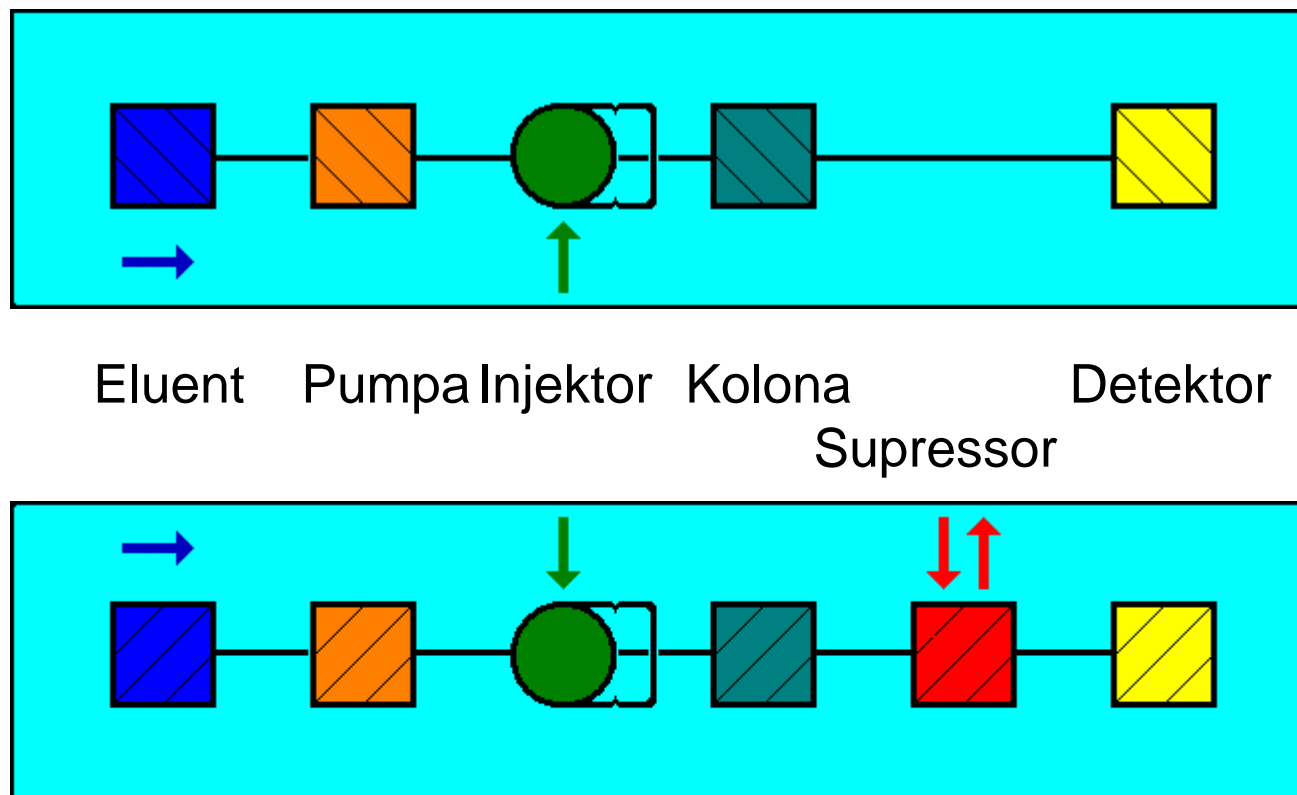
Od uvođenja visokoperformansne ili tečne hromatografije pod visokim pritiskom (HPLC) krajem šezdesetih godina prošlog veka, tečna hromatografija postaje jedna od najznačajnijih i najprimenjivanijih metoda savremene instrumentalne analize.

Jonska hromatografija je jedan „aliquot“ u HPLC-familiji.

[mobilna faza = tečnost; stacionarna faza = čvrsta]



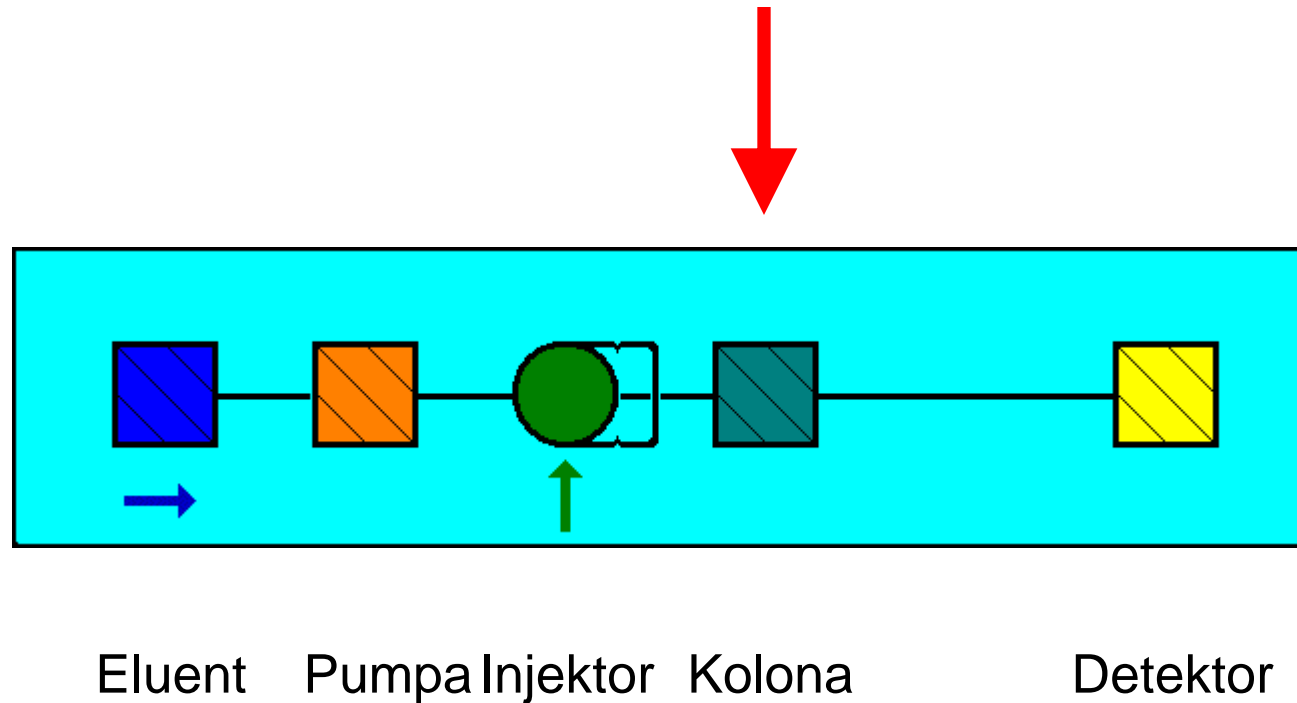
## Blok šema



# Hromatografija

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

Gde se “dešava”?

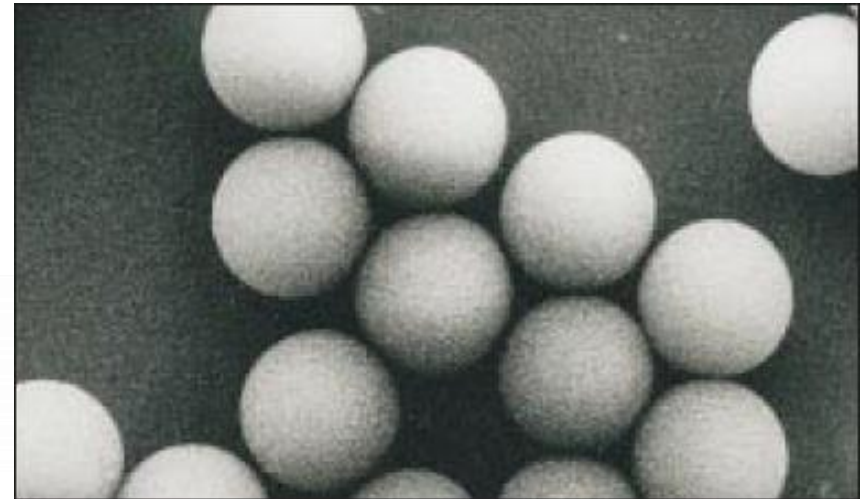
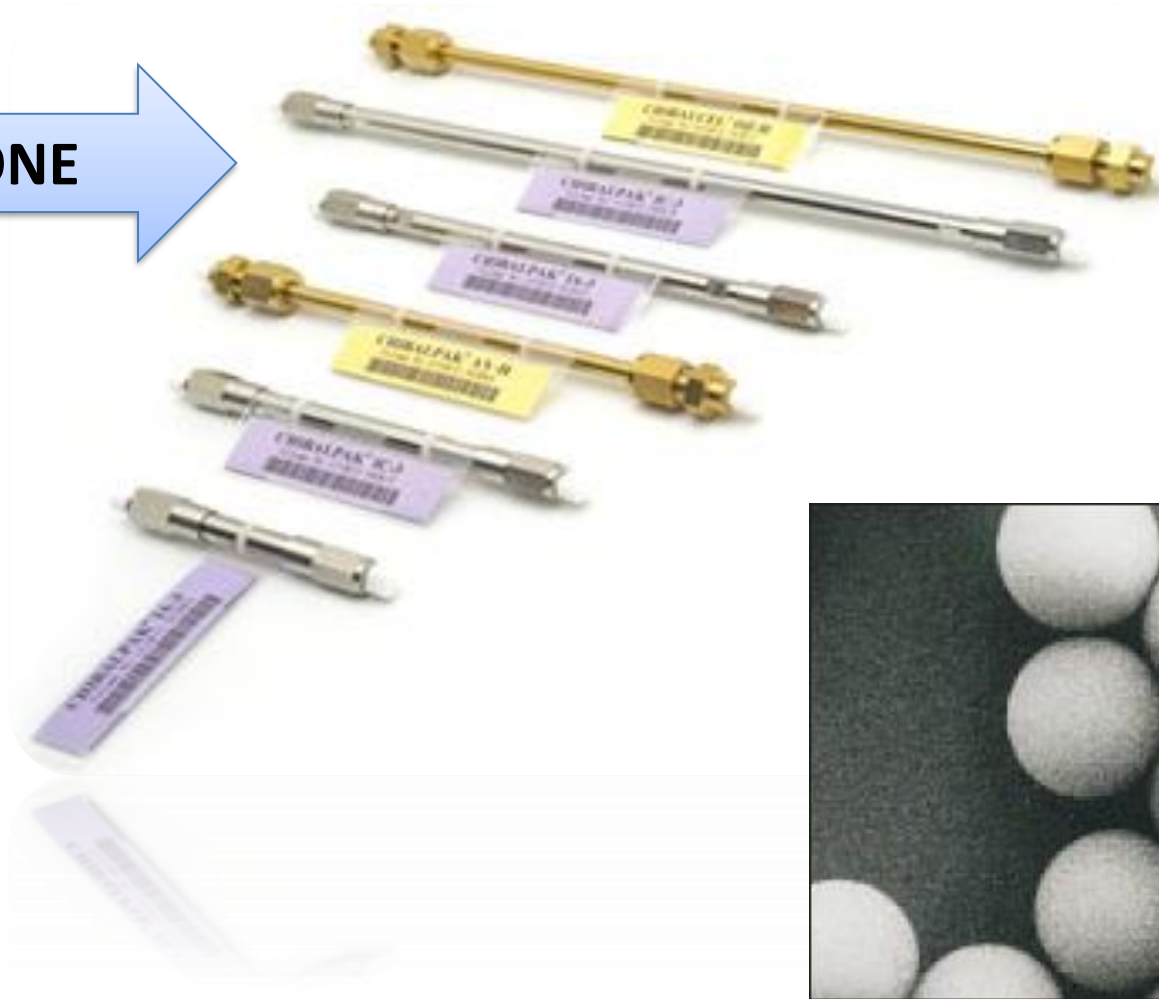




# Hromatografija

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

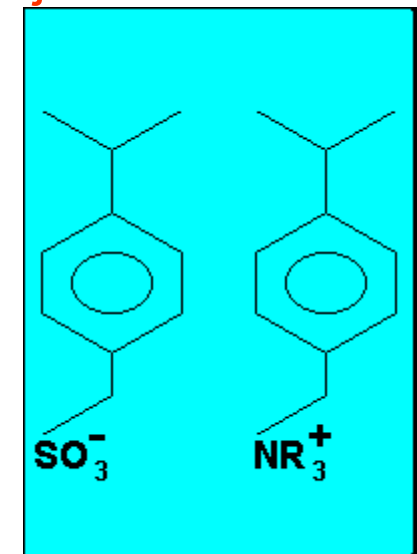
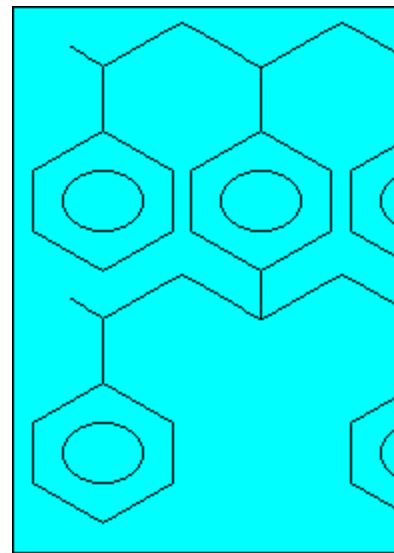
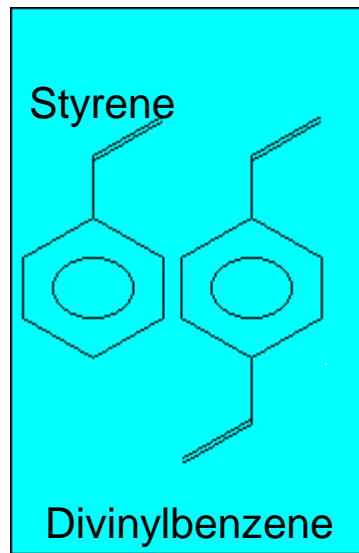
## • KOLONE



## Jonska izmena

### stacionarna faza

- Katjonima je potreban katjonski izmenjivač; anjonima je potreban anjonski izmenjivač
- Kakva je građa stacionarne faze?



Katjonski  
izmenjivač

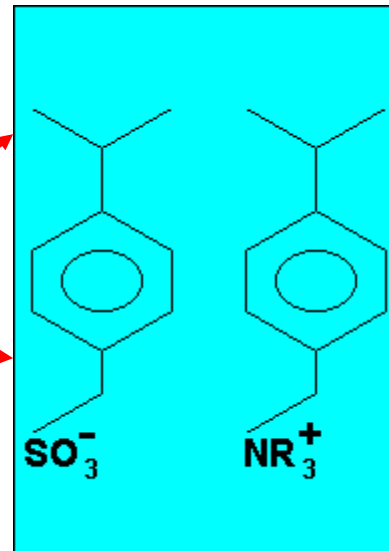
Anjonski  
izmenjivač

Stiren-divinilbenzen polimer

## Jonska izmena

### Sastav stacionarne faze

- substrat / smola nosač
- odvajajuća grupa
- grupa koja nosi separaciona svojstva i kapacitet



### Substrati

- Polistiren/divinilbenzen
- Polimetakrilat
- Polialkohol
- Hidoksietilmetakrilat (HEMA)
- Silikat

## Anjonski izmenjivači

- kvaternerne amonijum grupe
- alkil amini
- hidroxi-alkilamini
- alkil amini sa akrilatnim tipom vezivanja

## Katjonski izmenjivači

- sulfonati
- karboksilati

### Odvajanje

- alkil lanac

## Jonska izmena

### Mobilne faze

- mobilna faza i rastvara i nosi uzorak
- mobilna faza je obično vodeni rastvor

#### anjoni (I)

- Ftalna kiselina
- Salicilna kislina
- p-hidroksibenzojeva kis.
- Benzojeva
- Boratna kiselina
- Borat/Glukonat
- Kalijum hidroksid

...

#### anjoni (II)

- Karbonat/bikarbonat
- Kalijum hidroksid
- Borat

#### katjoni (I)

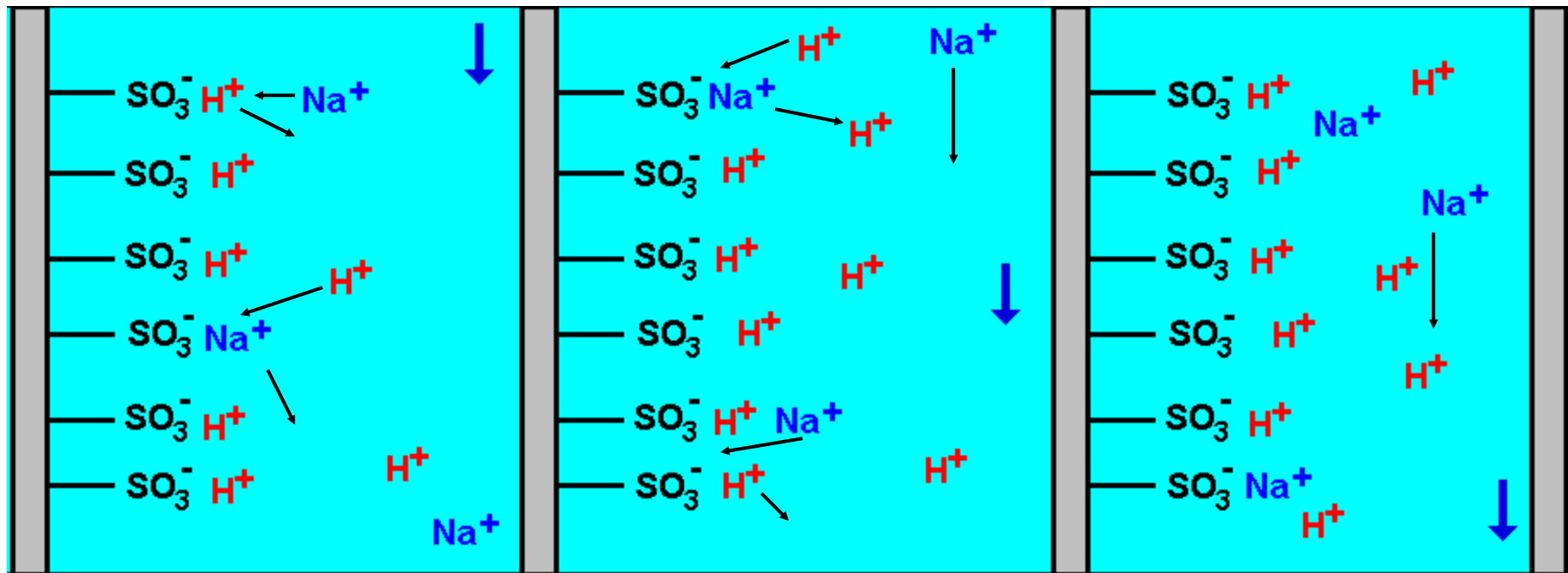
- Azotna kiselina
- Vinska kiselina
- Vinska/dipikolinska kiselina
- Vinska/limunska kiselina
- Natrijum-dihidrogenfosfat
- oksalna kiselina/etilen diamin/acetone

...

## Jonska izmena

### Mehanizam razdvajanja katjona

Stacionarna i mobilna faza su zajedničke za analit



## Jonska izmena

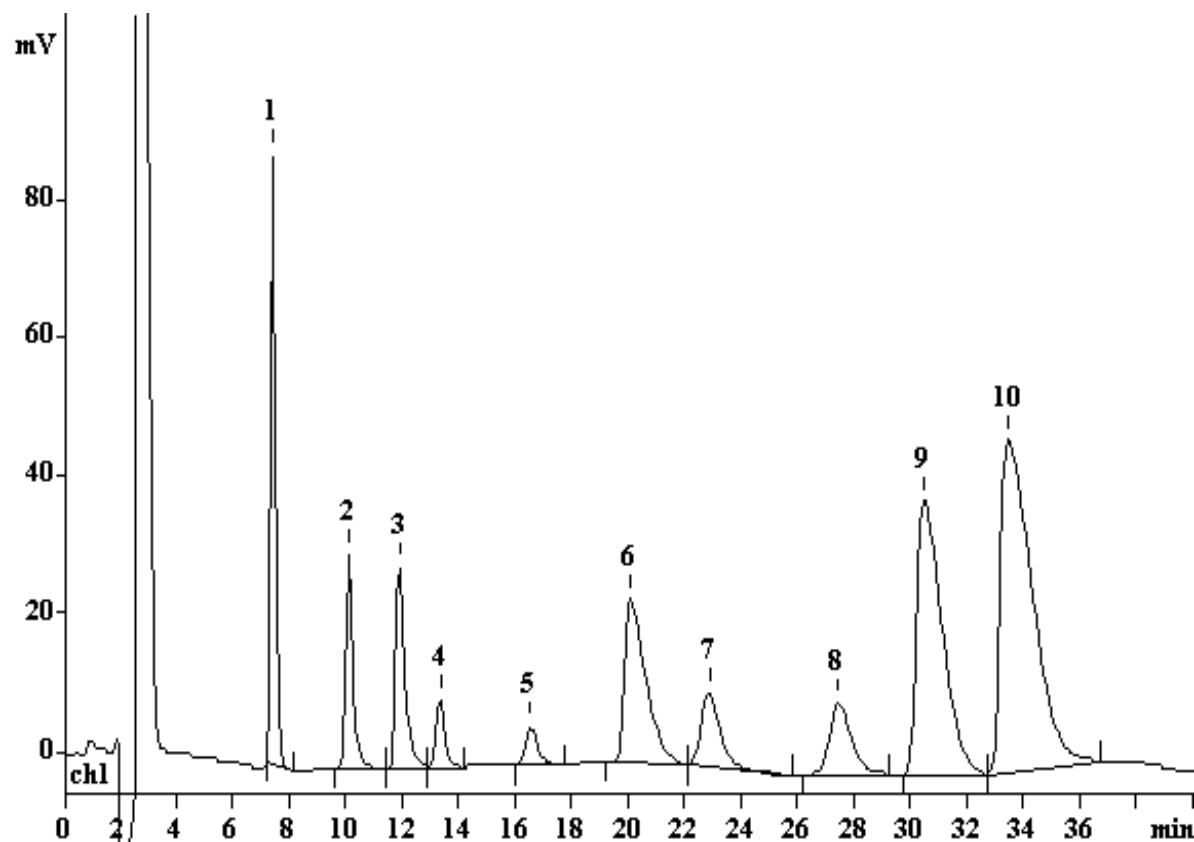
### Katjoni

C2 – 250

Vinska-/dipikolinska kiselina/  
etar; 4/0.45/0.05 mmol/L

1	Litijum	0.5
2	Natrijum	1.0
3	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1.0
4	MES	1.0
5	DEA	1.0
6	Kalijum	4.8
7	TEA	5.0
8	MDEA	4.8
9	Kalcijum	5.0
10	Magnezijum	4.0

ppm



## Jonska izmena

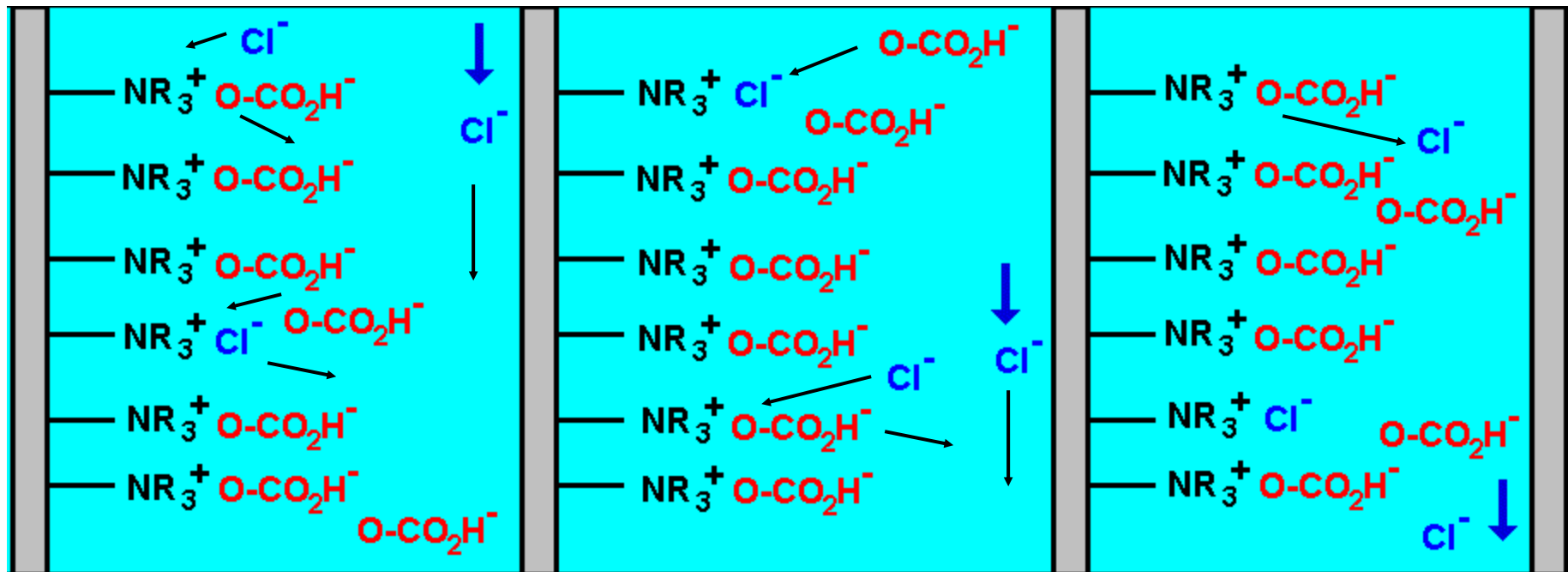
Katjoni

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Ku														

## Jonska izmena

### Mehanizam razdvajanja anjona

Stacionarna i mobilna faza zajedničke za analit





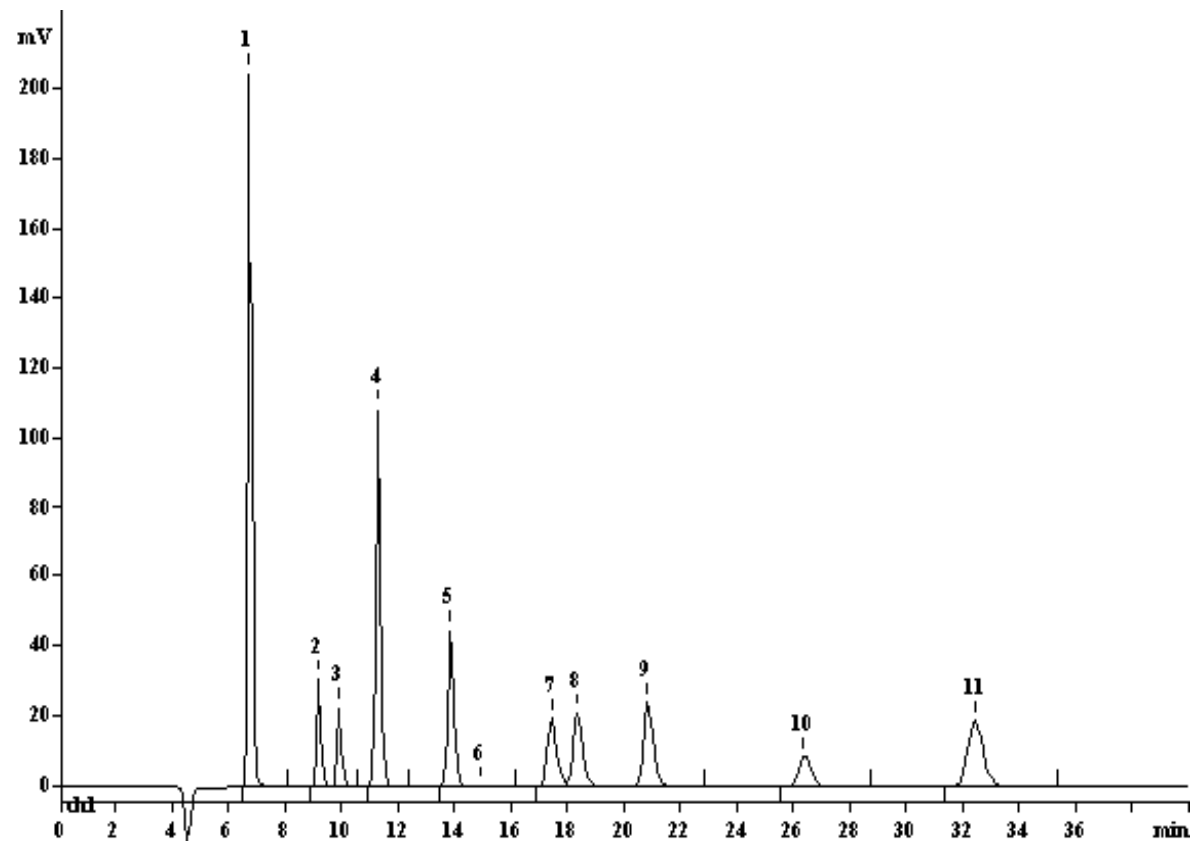
## Jonska izmena

### Anjoni

A Supp 5 – 250

NaHCO<sub>3</sub>/Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 1/3.2 mmol/L

1	Fluorid	5.0
2	Hlorit	5.0
3	Bromat	5.0
4	Hlorid	5.0
5	Nitrit	5.0
7	Hlorat	5.0
8	Bromid	5.0
9	Nitrat	5.0
10	Fosfat	5.0
11	Sulfat	5.0 ppm



## Jonska izmena

### Anjoni

I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII			I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Ku														

## Jonska izmena

### Katjoni

- Katjoni interaguju sa baznim grupama na stacionarnoj fazi. Zbog različite jačine vezivanja (konstante ravnoteže jonske izmene) oni će, ranije ili kasnije, biti eluirani pomoću nadolazećih protona iz eluenta.

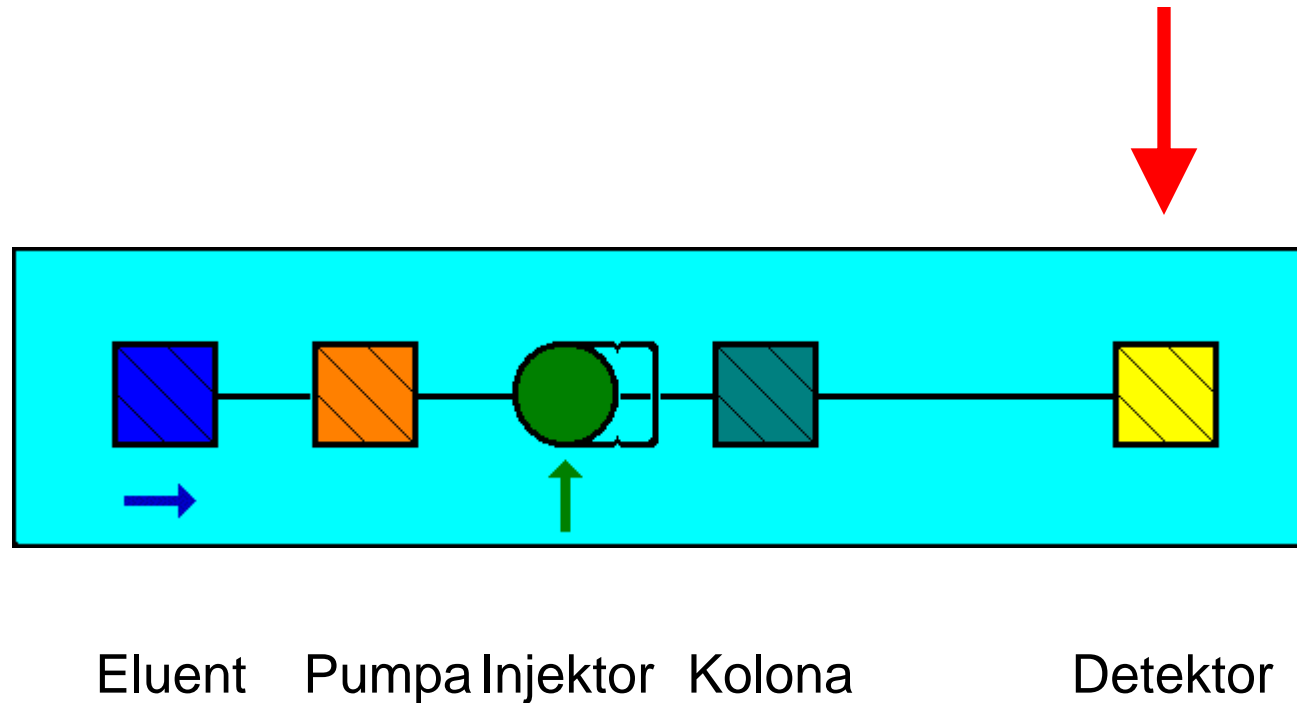
### Anjoni

- Anjoni interaguju sa kiselim grupama na stacionarnoj fazi. Zbog različite jačine vezivanja (konstante ravnoteže jonske izmene) oni će, ranije ili kasnije, biti eluirani pomoću nadolazećih karbonatnih ili hidroksilnih jona iz eluenta.

### Razdvajanje

- Različite ravnotežne konstante jonske izmene ispitivanih **katjona** ili **anjona** dovode do različitih retencionih vremena što znači do razdvajanja substancija koje su «hemijski vrlo slične».

## Detekcija



## Detekcija

### Tipovi detekcije

- **Konduktivitetni detektor**
- Amperometrijski detektor
- **UV/VIS detektor**
- Maseno spektrometrijski detektor



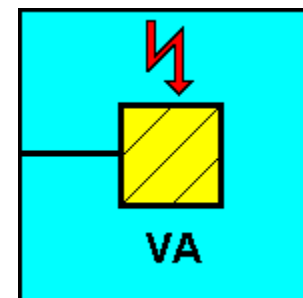
## Elektrohemijska (VA)

### Merni princip

Između elektroda u troelektrodnoj ćeliji, koja se sastoji od referentne, radne i pomoćne elektrode, dovodi se određeni napon (razlika potencijala). Ako neka oksidizabilna ili reducibilna supstanca prolazi kroz ćeliju doći će do procesa elektrohemijske oksidacije ili redukcije. Meri se struja koja odgovara koncentraciji supstance koja se oksiduje ili redukuje.

Jednostavno priključivanje (na kraju) bilo kojeg IC- ili HPLC-sistema

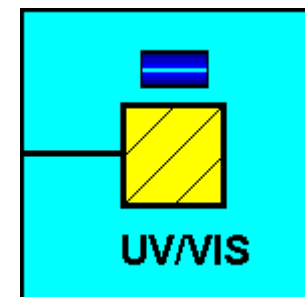
- Veliki izbor elektrodnih materijala (staklasti ugljenik, karbonska pasta, Ag, Au, Pt, itd.)
- Visoko osetjiva
- Veoma selektivna
- Destruktivna metoda



## UV/VIS

### Karakteristike

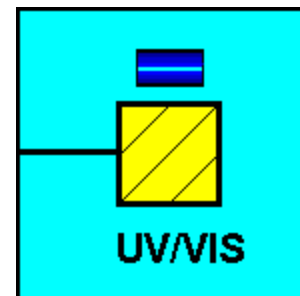
- Osetljiva za jone koji apsorbuju UV/VIS svetlost, npr. **nitriti, nitrati, tiosulfati**
- Skoro bez interferencija od strane nehromoforskih jona, npr. hlorida, sulfata
- Eluent mora da bude UV/VIS-transparentan
- Ograničene mogućnosti za korišćenje organskih modifikatora
- Uglavnom nedestruktivna metoda



## Indirektna UV/VIS

### Karakteristike

- UV/VIS-apsorbujući eluent, npr. ftalna kiselina
- Anjoni koji se detektuju ne apsorbuju primenjenu monohromatsku svetlost
- Detektor mora da bude vrlo osetljiv jer se merenje vrši sa veoma malim intenzitetom svetlosti
- Osetljivost je manja nego kod konduktometrijske detekcije

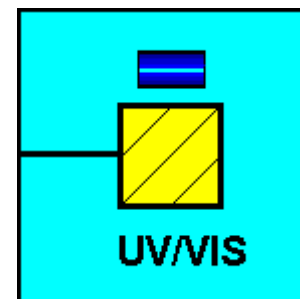




## UV/VIS sa poslekolonskom reakcijom (pcr)

### Karakteristike

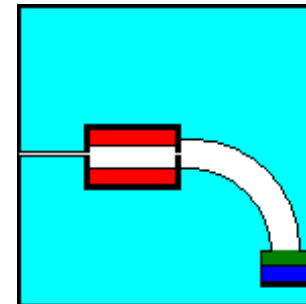
- Selektivna određivanja
- Duže traje (uključuje hemijsku reakciju)
- Složeniji instrumentalni sistem
- Dodatno širenje pikova
- Koristi se kao poslednja alternativa



## IC/MS

### Karakteristike

- Kvalitativna i kvantitativna analiza
- Elementalna analiza
- Određivanje fragmenata molekula



## Conductivity

What is conductometry?

**Conductometry** is the measurement of **conductivity** – a **conductometric** detector measures the electrical **conductivity** of ions in a solution. This is done by applying an electrical field between two electrodes. The ions migrate in this field. The anions migrate to the anode and the cations to the cathode. The electrical resistance of the solution is measured. The **conductivity** is the reciprocal of the resistance. Alternating current is used in order to avoid substance changes and the formation of diffusion boundary layers at the electrodes.

$$\kappa = \frac{1}{R} * K_c$$

**R** = resistance [ $\Omega$ ]

**K<sub>c</sub>** = cell constant [1/cm]

**$\kappa$**  = specific conductivity [1/  $\Omega$  or S]

## Conductivity

What is specific conductivity?

The specific conductivity  $\kappa$  of an eluting ion depends on the concentration  $c$  of the individual ions  $i$ , the charge  $Z_i$ , and the equivalent conductivity  $\Lambda_i$ . The equivalent conductivity  $\Lambda_i$  is a concentration-dependent quantity. The values listed can be applied for concentrations below 0.001 mol/L.  $Z_i$  is the charge of the respective ion.

$$\kappa = \sum (\Lambda_i * z_i * c_i)$$

$\Lambda_i$  = equivalent conductivity [S\*cm<sup>2</sup>/mol]

$Z_i$  = charge [ ]

$c_i$  = concentration [mol/L]

$\kappa$  = specific conductivity [1/  $\Omega$  or S]

$\Sigma$  = sum of all ions – anions and cations

## Conductivity

Values for equivalent conductivity

Anions		Cations	
OH <sup>-</sup>	198	H <sup>+</sup>	350
F <sup>-</sup>	54	Li <sup>+</sup>	39
Cl <sup>-</sup>	76	Na <sup>+</sup>	50
Br <sup>-</sup>	78	K <sup>+</sup>	74
I <sup>-</sup>	77	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	73
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	72	½Mg <sup>2+</sup>	53
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	71	½Ca <sup>2+</sup>	60
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	45	Sr <sup>2+</sup>	59
½CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	72	½Ba <sup>2+</sup>	64
½SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	80	½Zn <sup>2+</sup>	53
½Phthalate	38	½Cu <sup>2+</sup>	55

[c] < 0.001 mol/L;  $\Lambda_{\infty}$  = equivalent conductivity [S\*cm<sup>2</sup>/mol]

## Conductivity

What influences the measured value?

• the concentration  $\Rightarrow \Rightarrow \Rightarrow$  which is the actual result

• the equivalent conductivity of the respective ions

• the charge of the respective ions

• the cell constant  $\Rightarrow \Rightarrow \Rightarrow$  which are constant

• the temperature  $\Rightarrow \Rightarrow \Rightarrow$  which should be constant

$$\kappa = \frac{1}{R} * K_c$$

$$\kappa = \sum (\Lambda_i * z_i * c_i)$$

$$\kappa_{El.} = c_{El.}^+ * \Lambda_{El.}^+ + c_{El.}^- * \Lambda_{El.}^-$$

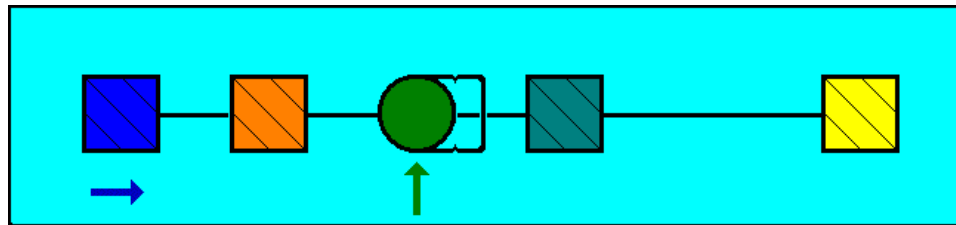
$$\Lambda \approx T \approx 2 \text{ \%/}^\circ\text{C}$$

# Chemical suppression

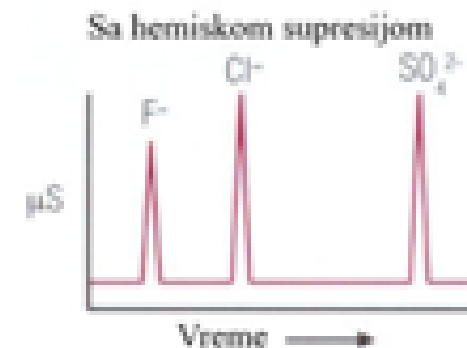
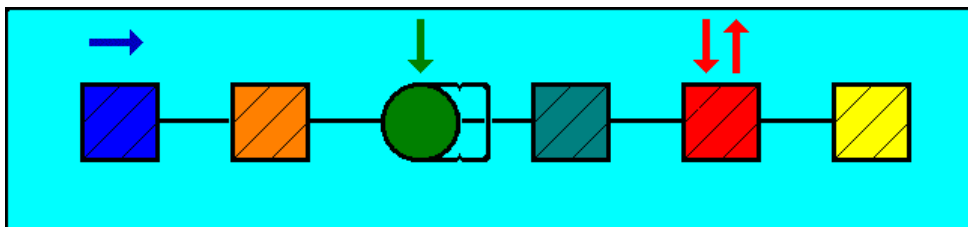
IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

With or without?

Ion chromatography without suppression



Ion chromatography with suppression



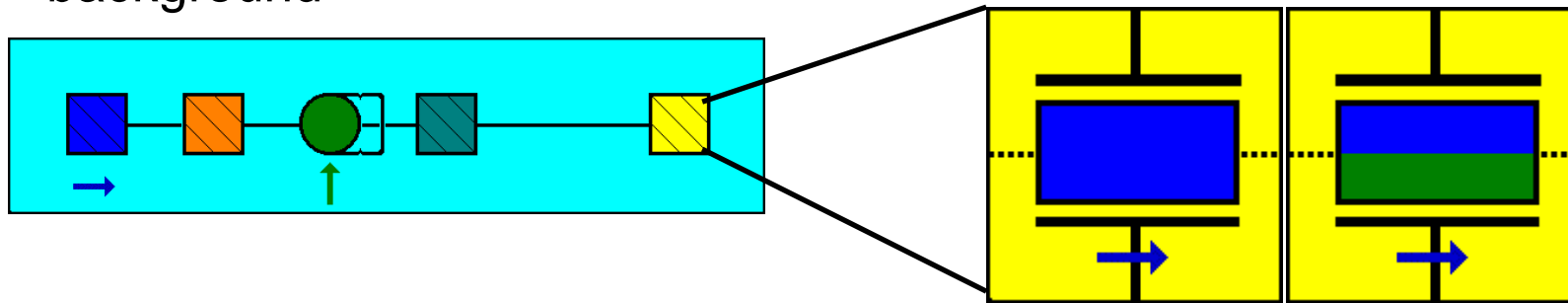
# Chemical suppression

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

## Without

### Characteristics

- Background conductivity = **eluent**
- Conductivity in a peak = **eluent** plus **sample**
- Measured value = difference between **eluent** plus **sample** and background



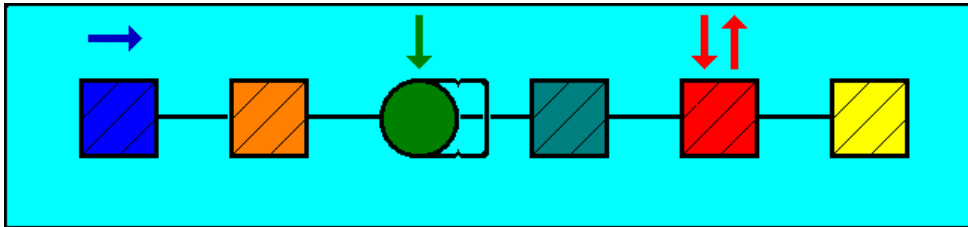
$$K_{Det.} = K_{Peak} - K_{El.}$$



# Chemical suppression

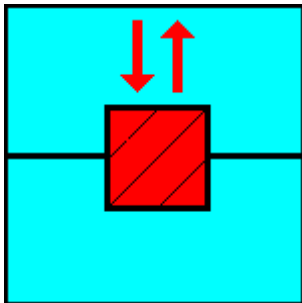
With

## Ion chromatography with chemical suppression



Suppression reduces the background conductivity.

Suppression changes the counter ions in the sample.



In **cation** chromatography an **anion exchanger** is used  
– all anions are replaced by  $\text{OH}^-$   
in **anion** chromatography a **cation exchanger** is used  
– all cations are replaced by  $\text{H}^+$

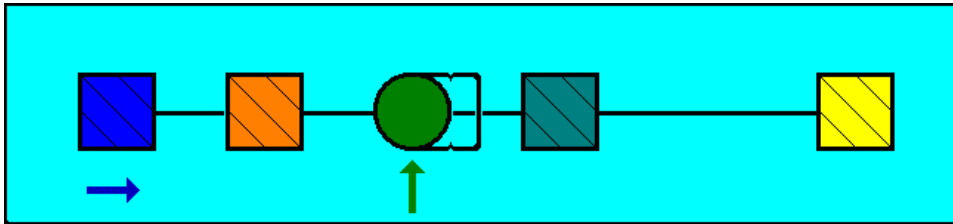
By this reaction an eluent with high conductivity is transferred to water (+  $\text{CO}_2 \uparrow$ ) which is of low conductivity.

# Chemical suppression

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

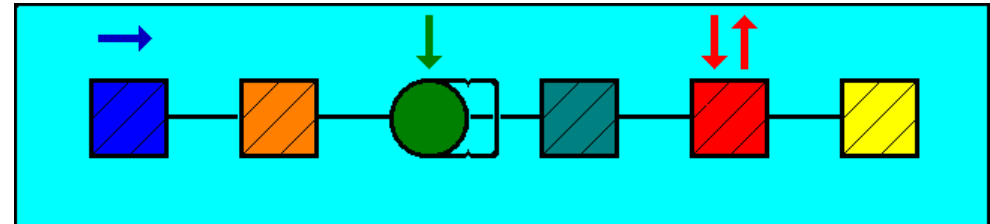
## Comparison

### IC without suppression



- high background conductivity
- anions with low sensitivity
- cations with high sensitivity
- high linearity in calibration
- low cost set up
- freedom of choice for eluents

### IC with suppression

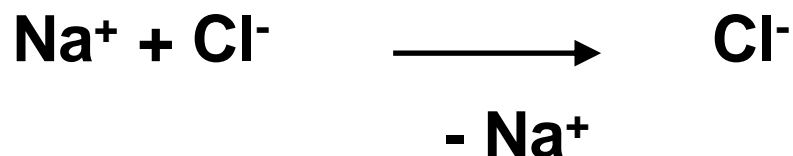
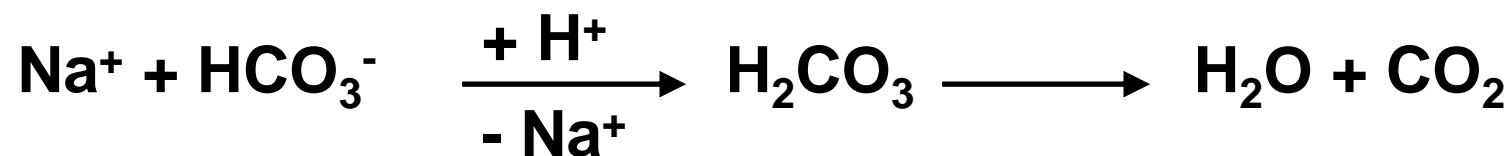


- low background conductivity
- anions with high sensitivity
- (detection limits 2-4 x lower)
- cations with high sensitivity
- non linear calibration
- more expensive set up
- eluents must react to H<sub>2</sub>O

## Theory and system setup of IC

### Suppressed or non suppressed IC?

### Suppressed conductivity

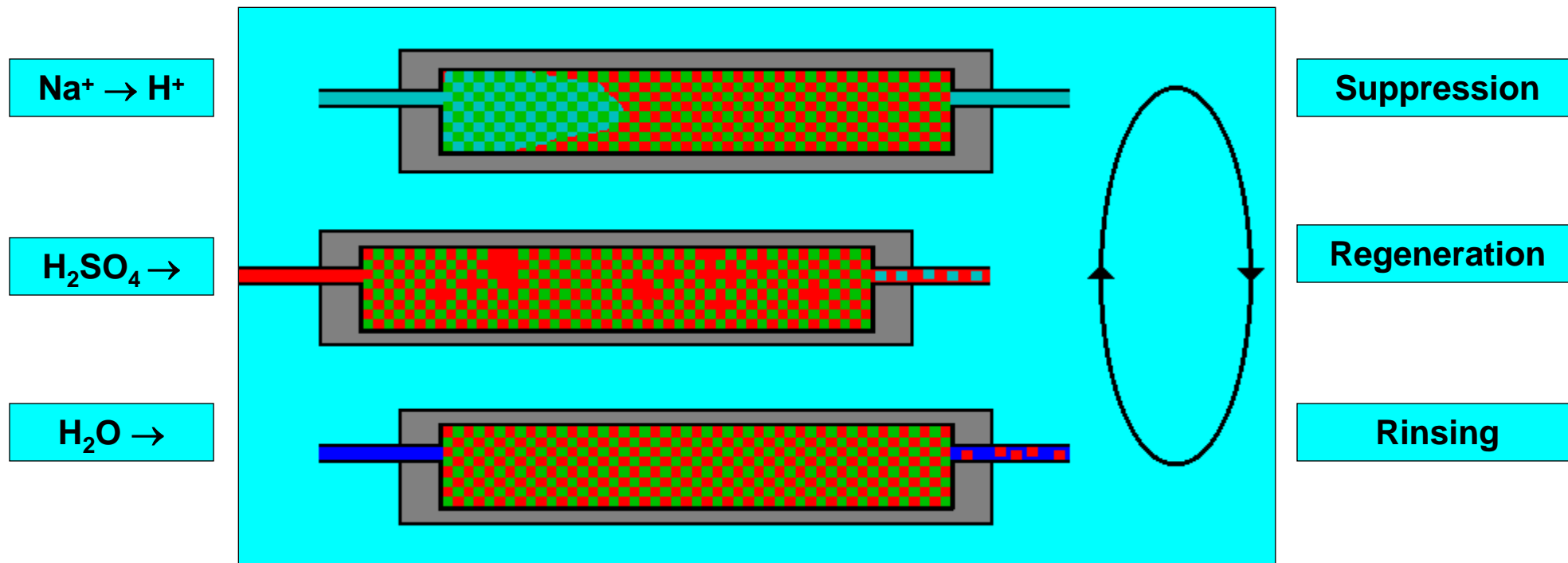


By this reaction an eluent with high conductivity is transferred to water (+ CO<sub>2</sub>↑) which is of low conductivity.

# Suppressors

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

## Metrohm Suppressor Module «MSM»

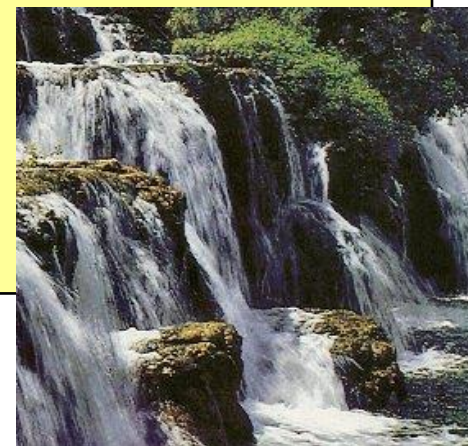


«Metrohm Suppressor Module» for **anions**  
«Packed bed suppressor»



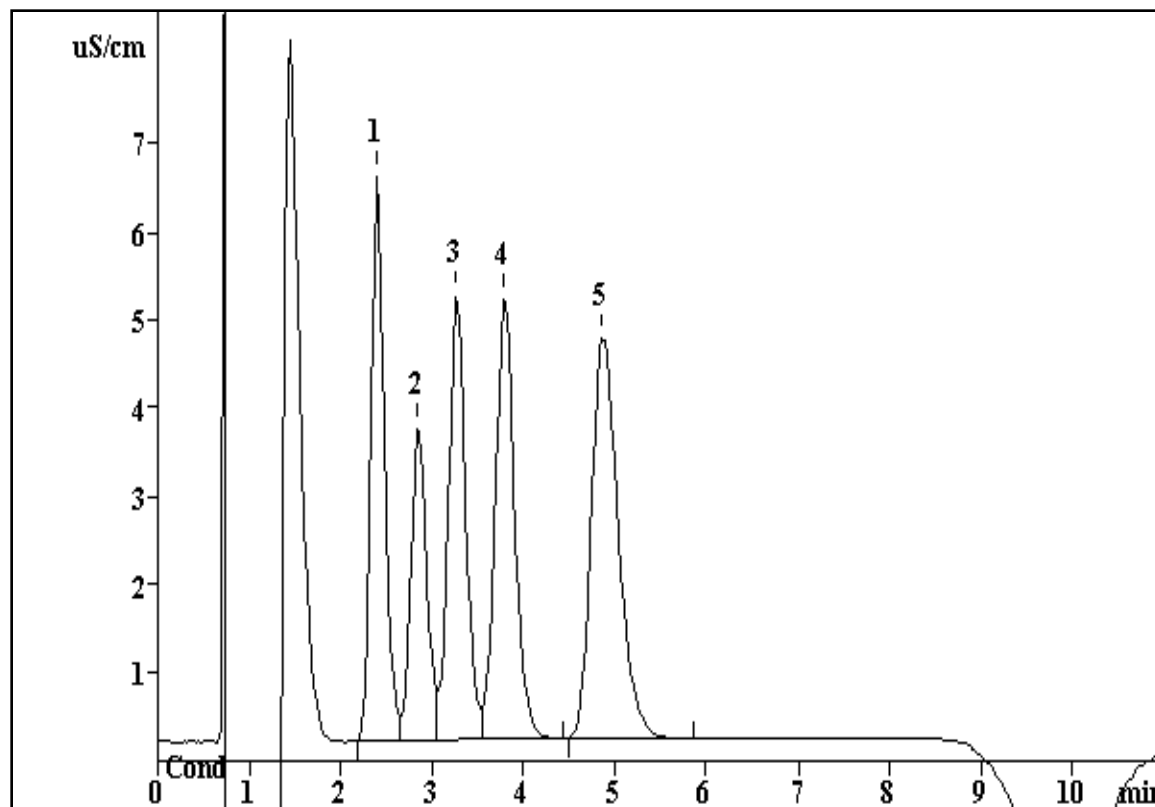
- **Applications for anions and cations analysis**

- a. Tap, process, waste, enviromental, ultra pure water
- b. Food
- c. Beverages
- d. Pharmaceuticals



# Non suppressed anions

- Standard anions



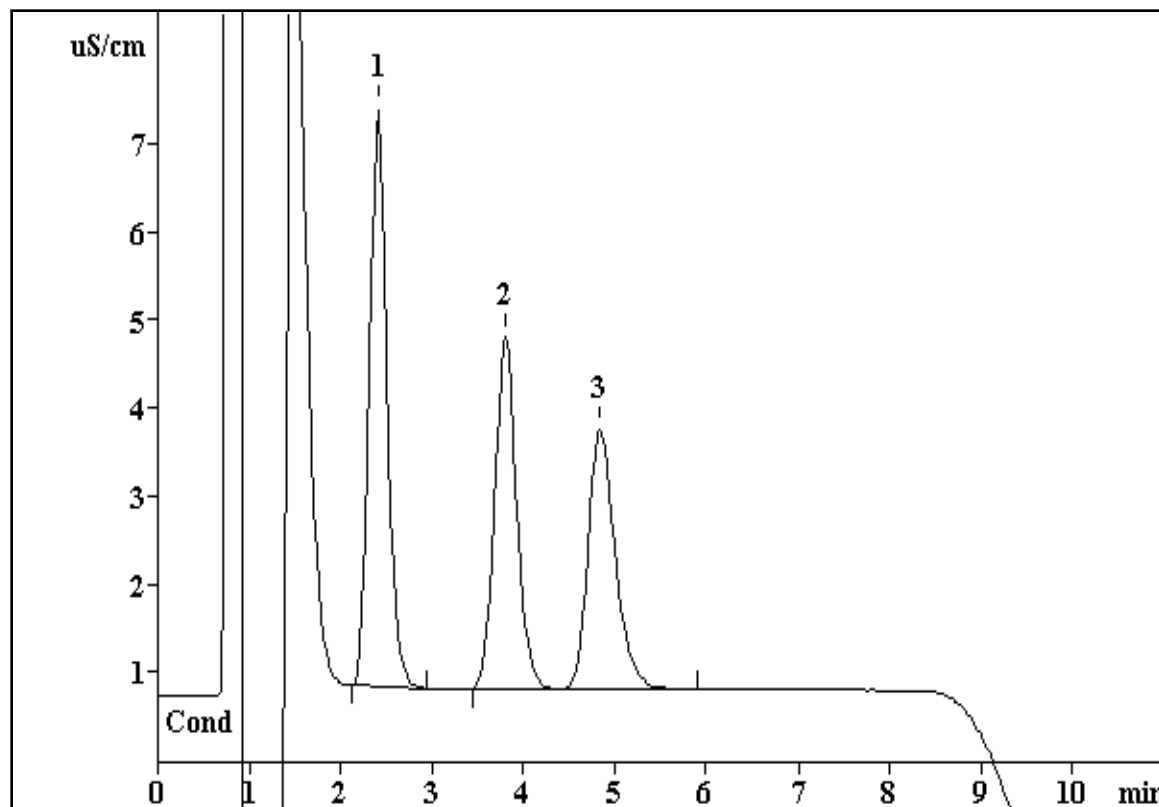
Metrosep Dual 1 – 70		
No	Ion	ppm
1	Chloride	5.00
2	Nitrite	5.00
3	Bromide	10.00
4	Nitrate	10.00
5	Sulfate	10.00
6	System	-

Phthalic acid/acetonitrile: 8.0/2.0 mmol/L/% (TRIS pH = 4.0)

# Non suppressed anions

IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC

## • Tap water

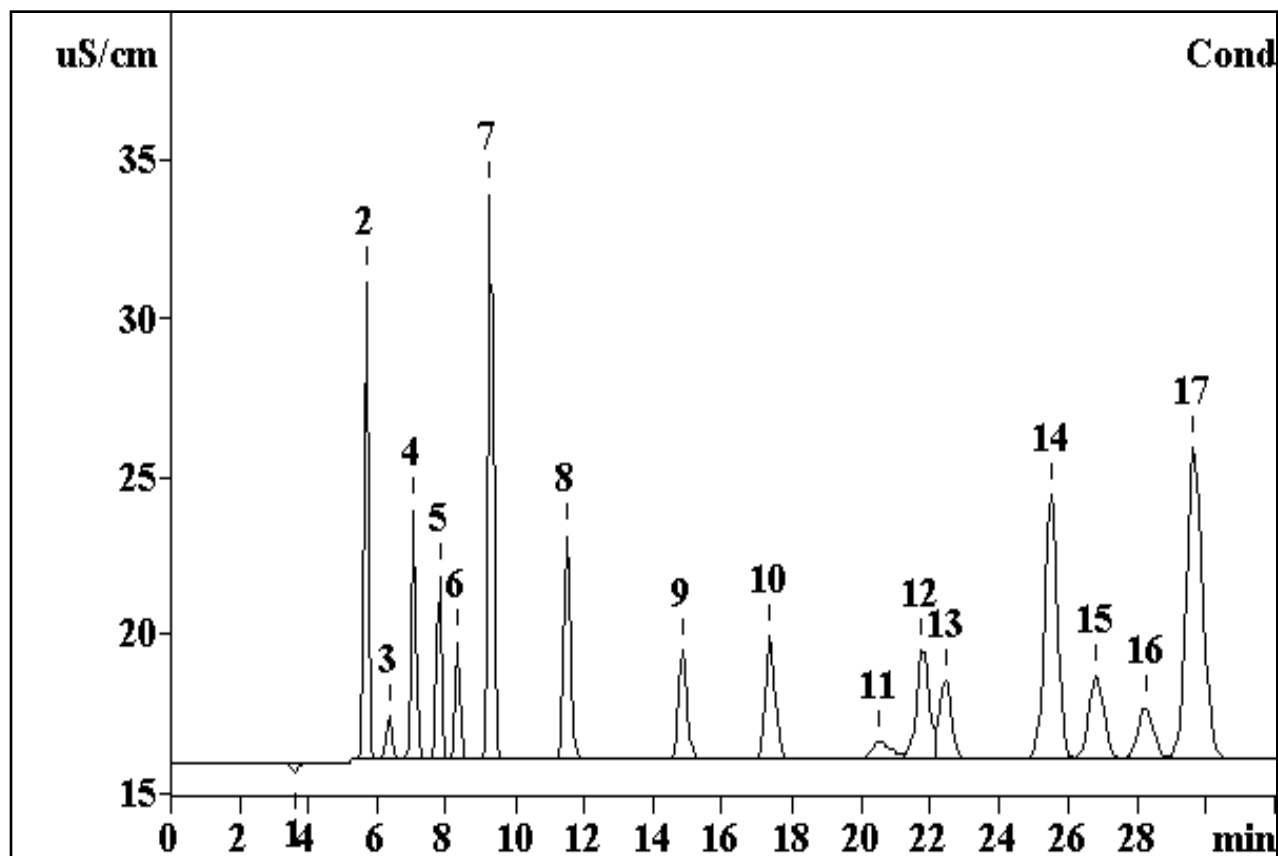


Metrosep Dual 1 – 70		
No	Ion	ppm
1	Chloride	6.65
2	Nitrate	8.94
3	Sulfate	6.56

Phthalic acid/acetonitrile: 8.0/2.0 mmol/L/% (TRIS pH = 4.0)

# Suppressed anions

## •Standard



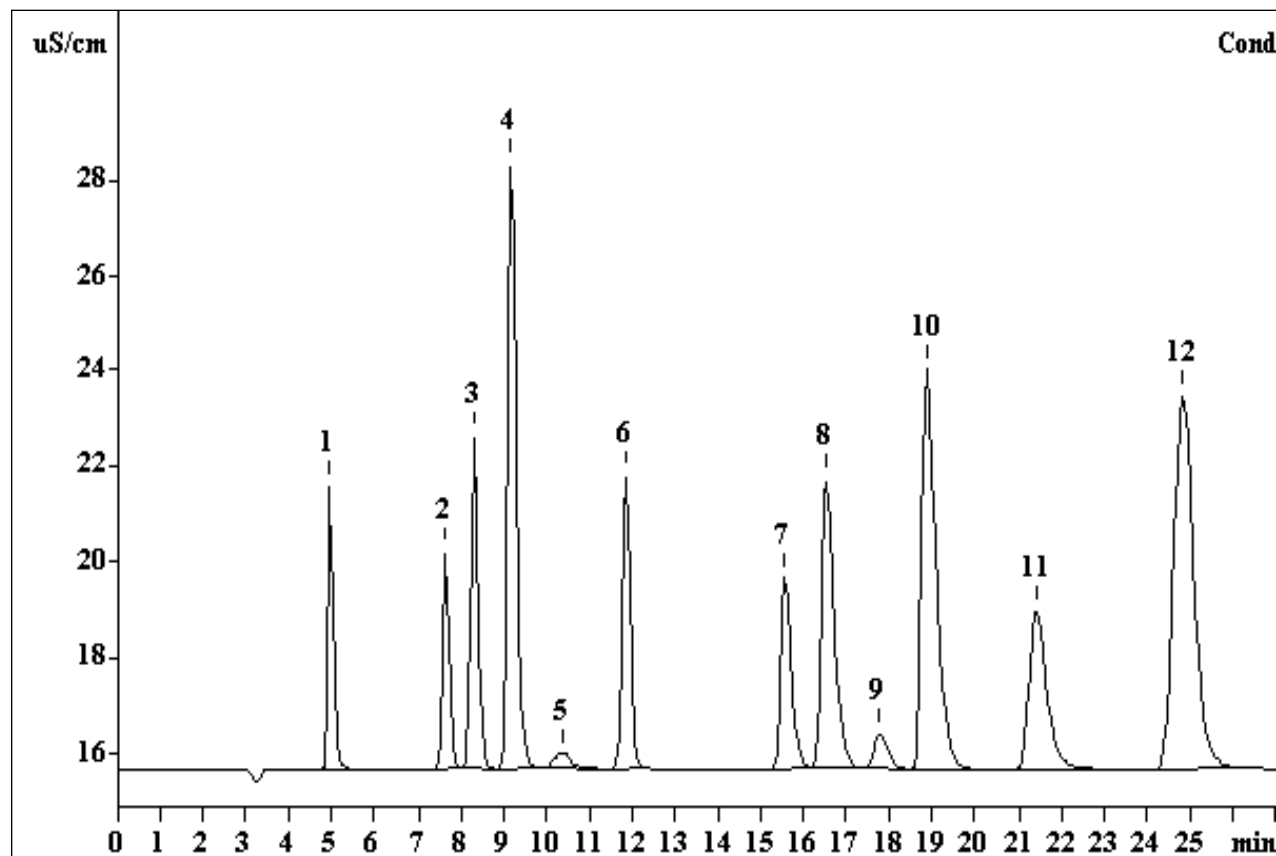
A Supp 5 – 250;  $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 1.0/3.2 mmol/L

No	Ion	ppm
2	Fluoride	5.00
3	Acetate	1.00
4	Formate	4.00
5	Chlorite	3.00
6	Bromate	2.00
7	Chloride	10.00
8	Nitrite	5.00
9	Bromide	3.00
10	Nitrate	4.00
11	Benzoate	1.00
12	Phosphate	5.00
13	Selenite	3.00
14	Sulfate	10.00
15	Succinate	4.00
16	Arsenate	3.00
17	Oxalate	15.00



# Suppressed anions

## • Oxohalides, EPA 300.1



$\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 3.6 mmol/L; 45 °C

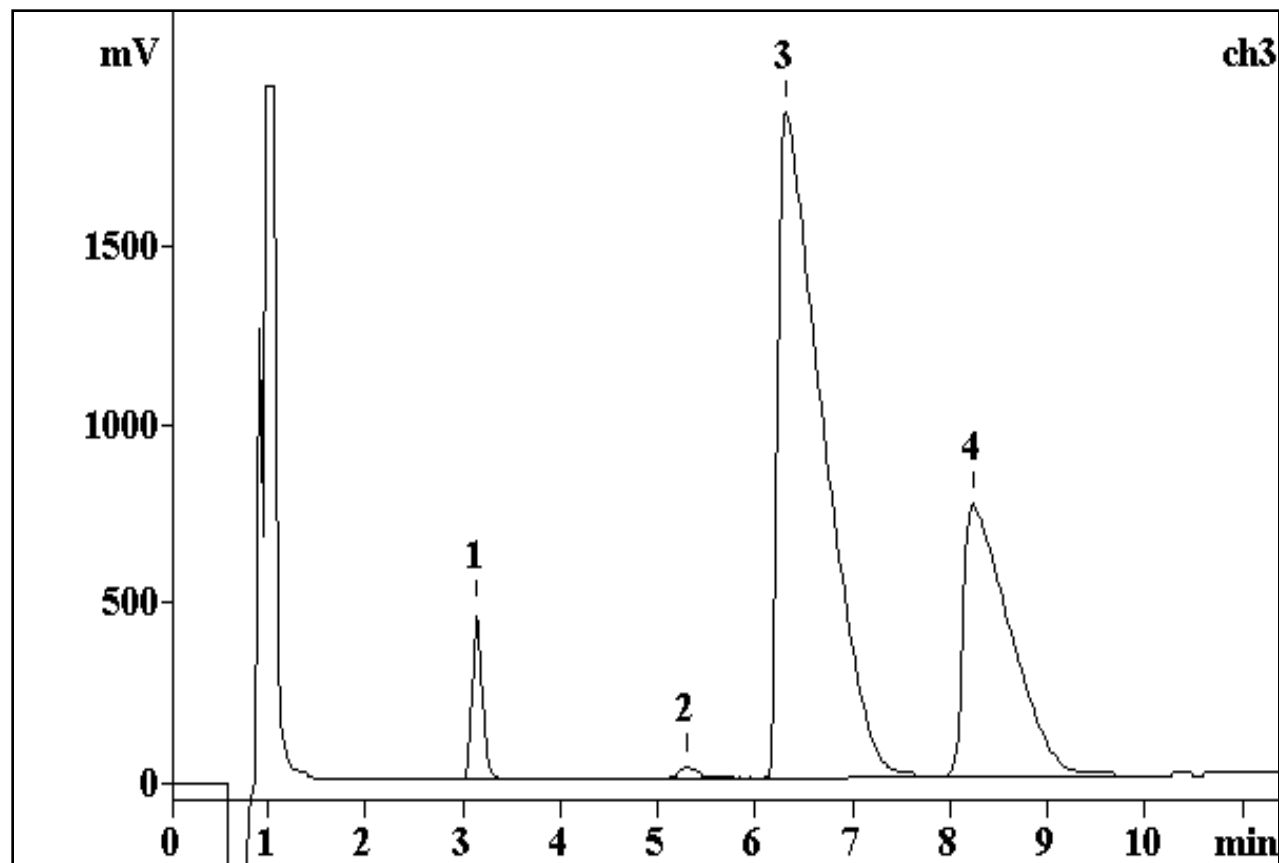
A Supp 7 – 250

Tap water + spiked

	Ion	[ppm]
1	Fluoride	2.08
2	Chlorite	10.00
3	Bromate	20.00
4	Chloride	7.17
5	Carbonate	n.q.
6	Nitrite	10.00
7	Bromide	10.00
8	Chlorate	20.00
9	DCA	5.00
10	Nitrate	16.76
11	Phosphate	20.42
12	Sulfate	20.30

# Cations

## •Tap water

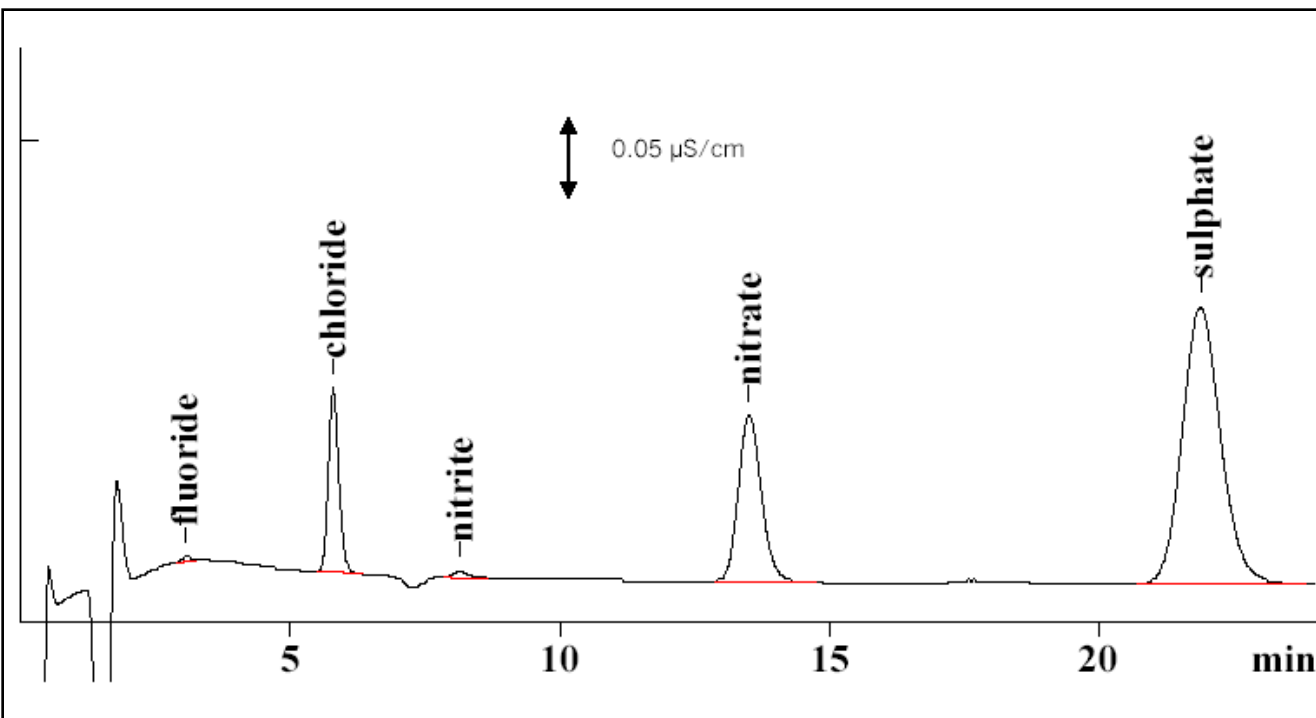


Tartaric acid/dipicolinic acid: 4/0.75 mmol/L

Metrosep C 2 – 100		
No	Ion	ppm
1	Sodium	4.78
2	Potassium	1.45
3	Calcium	92.97
4	Magnesium	19.46

# Suppressed Anions

## •Rain water

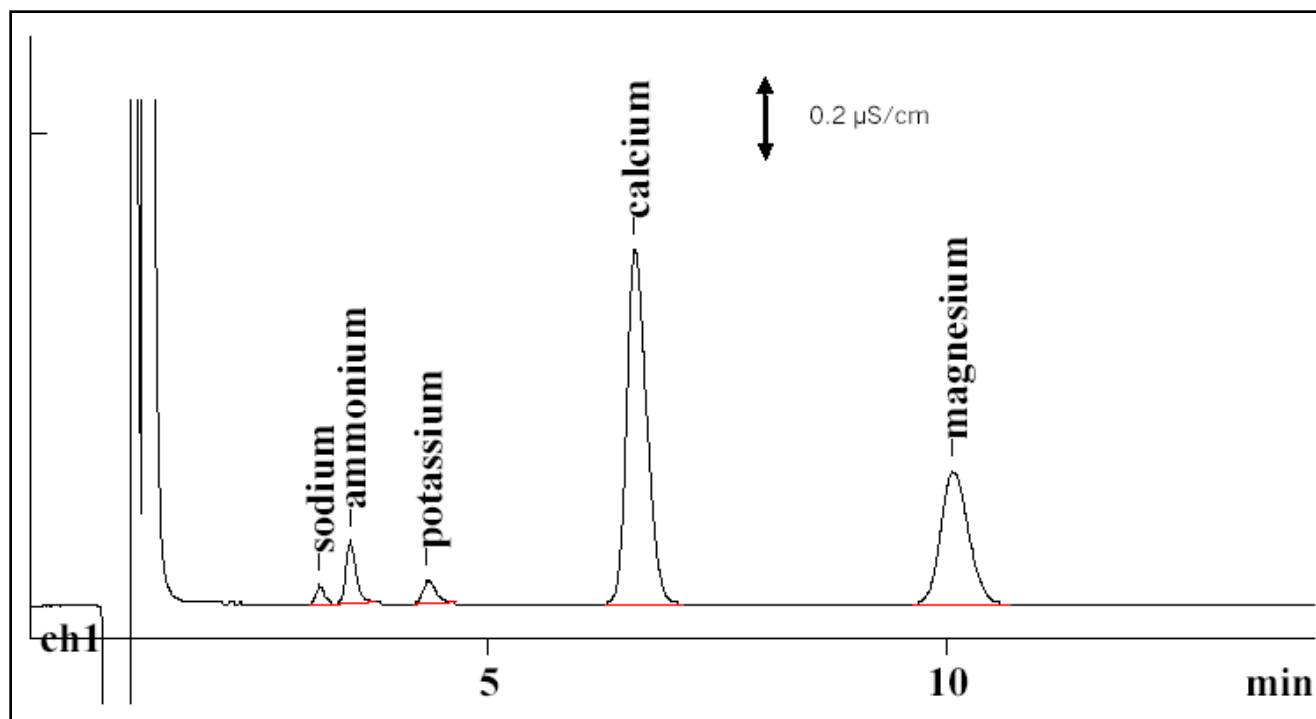


$\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ : 2.0/1.3 mmol/L

Anion Dual 2		
	Ion	[ppb]
1	Fluoride	4
2	Chloride	174
3	Nitrite	35
4	Nitrate	674
5	Sulfate	1422

# Cations

## •Rain water

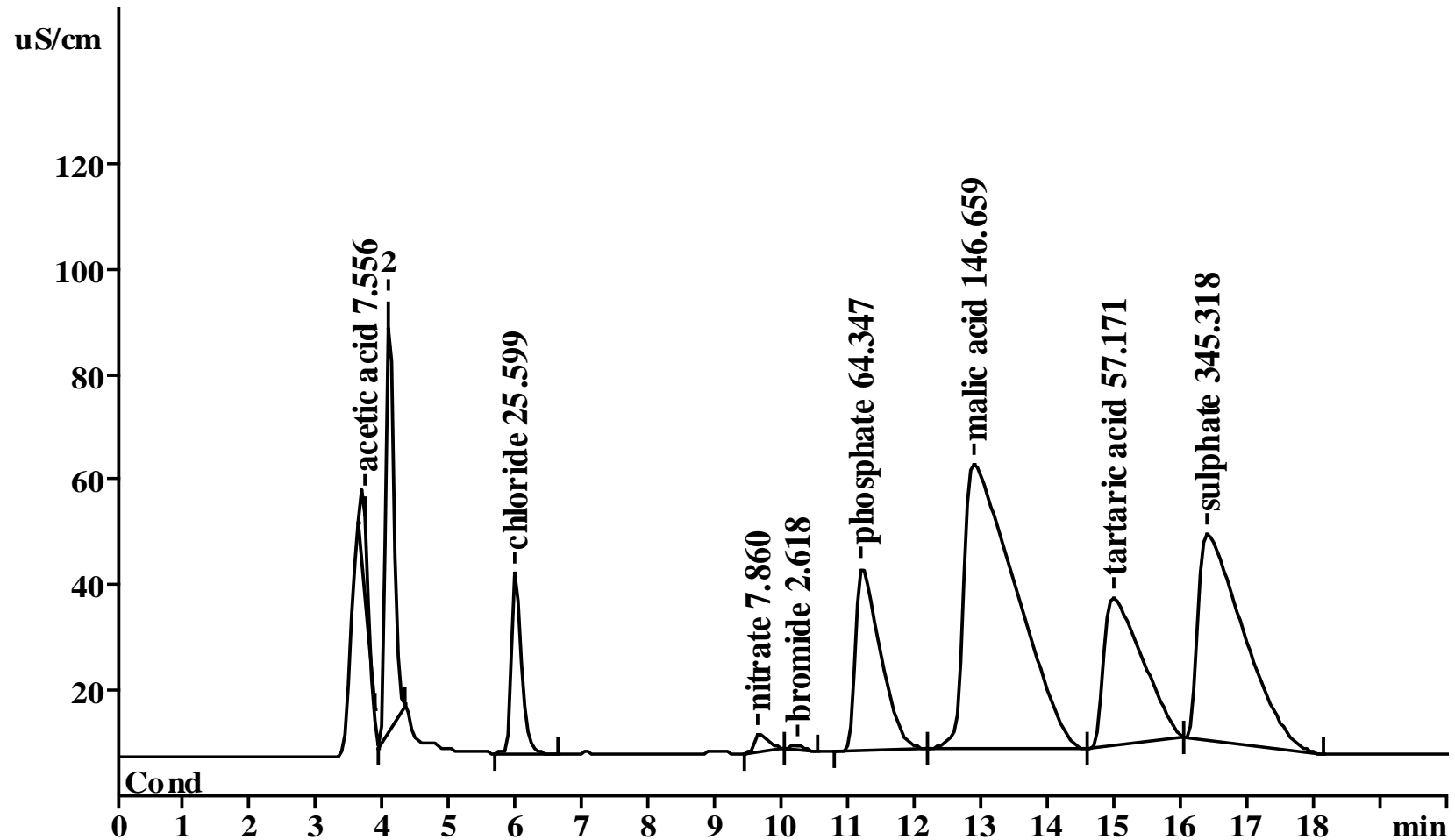


Cation 1 -2		
No	Ion	[ppm]
1	Sodium	0.07
2	Ammonium	0.26
3	Potassium	0.32
4	Calcium	4.18
5	Magnesium	1.04

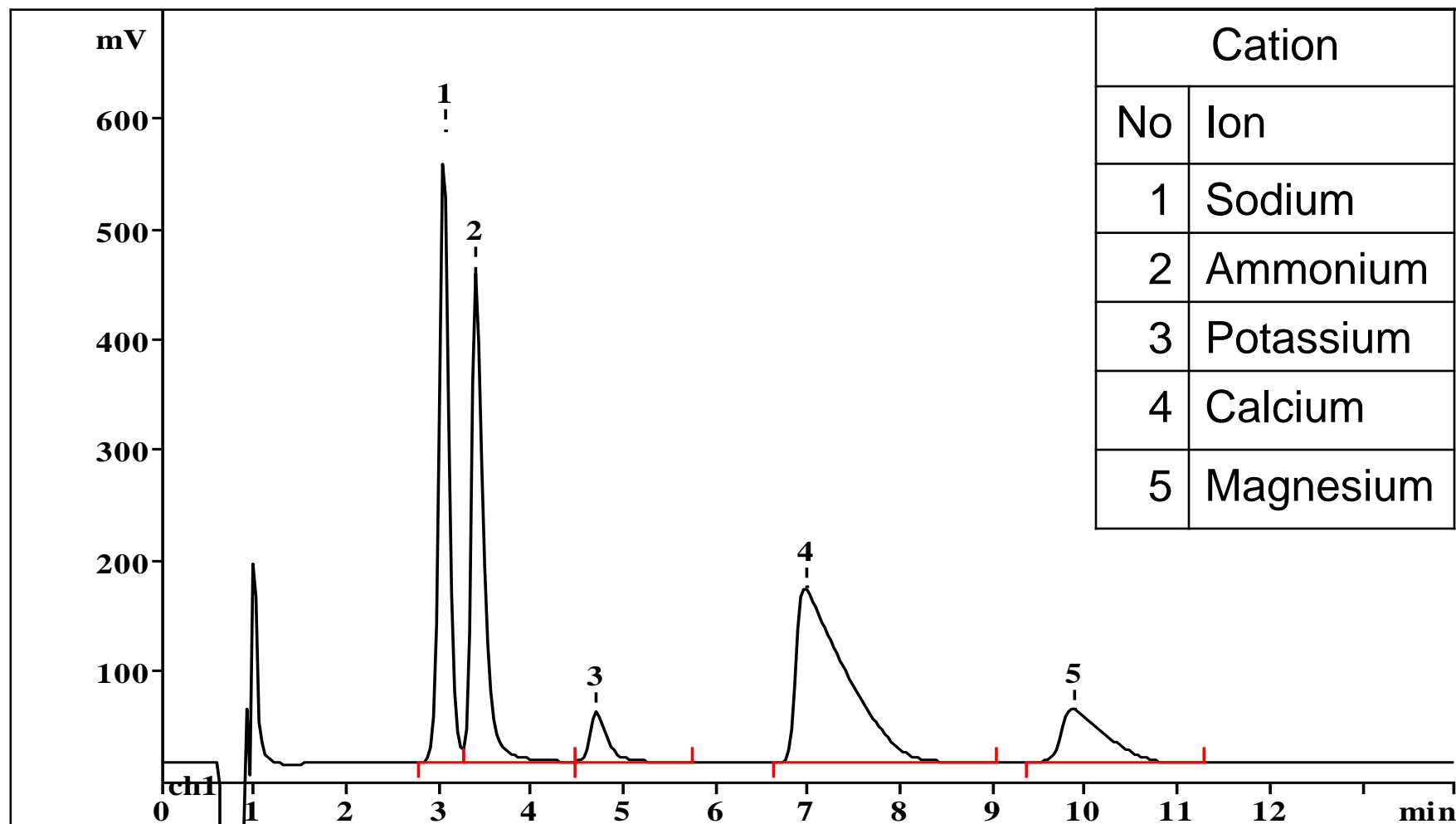
Tartaric acid/dipicolinic acid: 4.0/1.0 mmol/L

# Food analysis

- Chromatogram of grape nectar



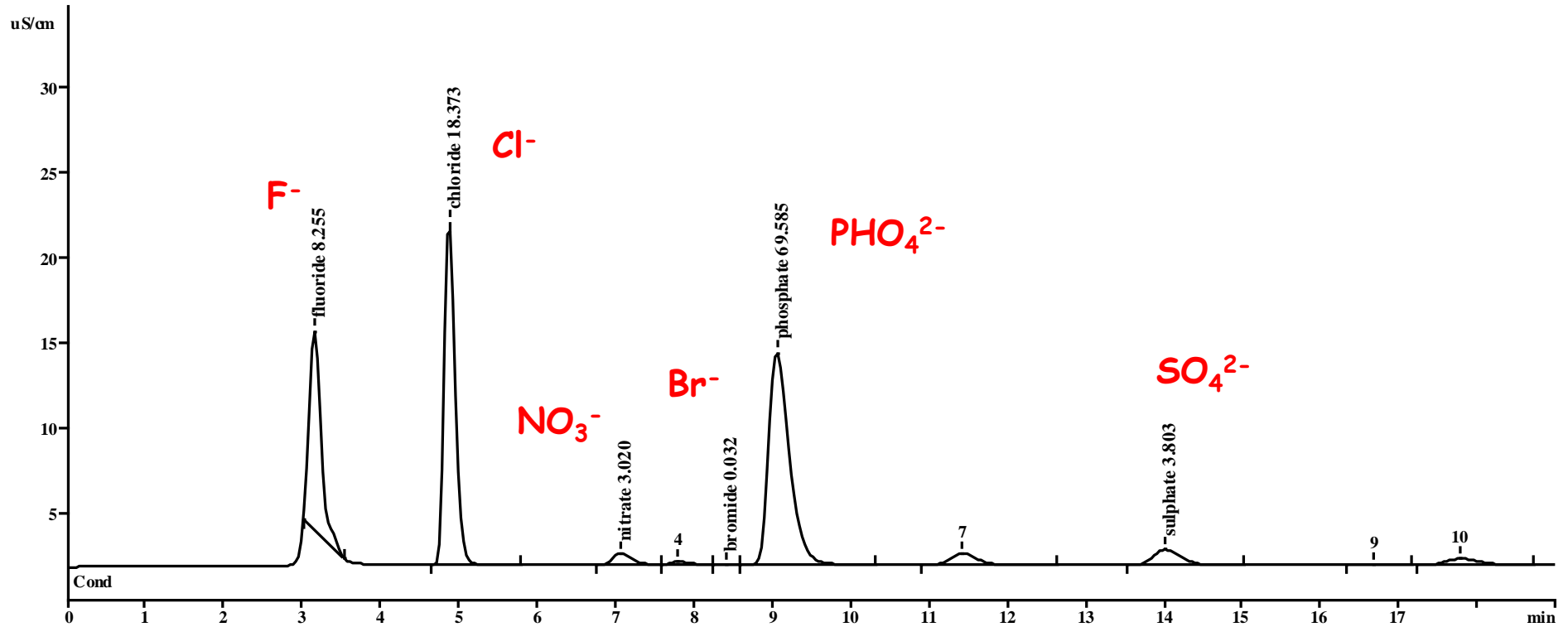
## Chromatogram of cations in cheese



# Food analysis

## Ohmeljena sladovina

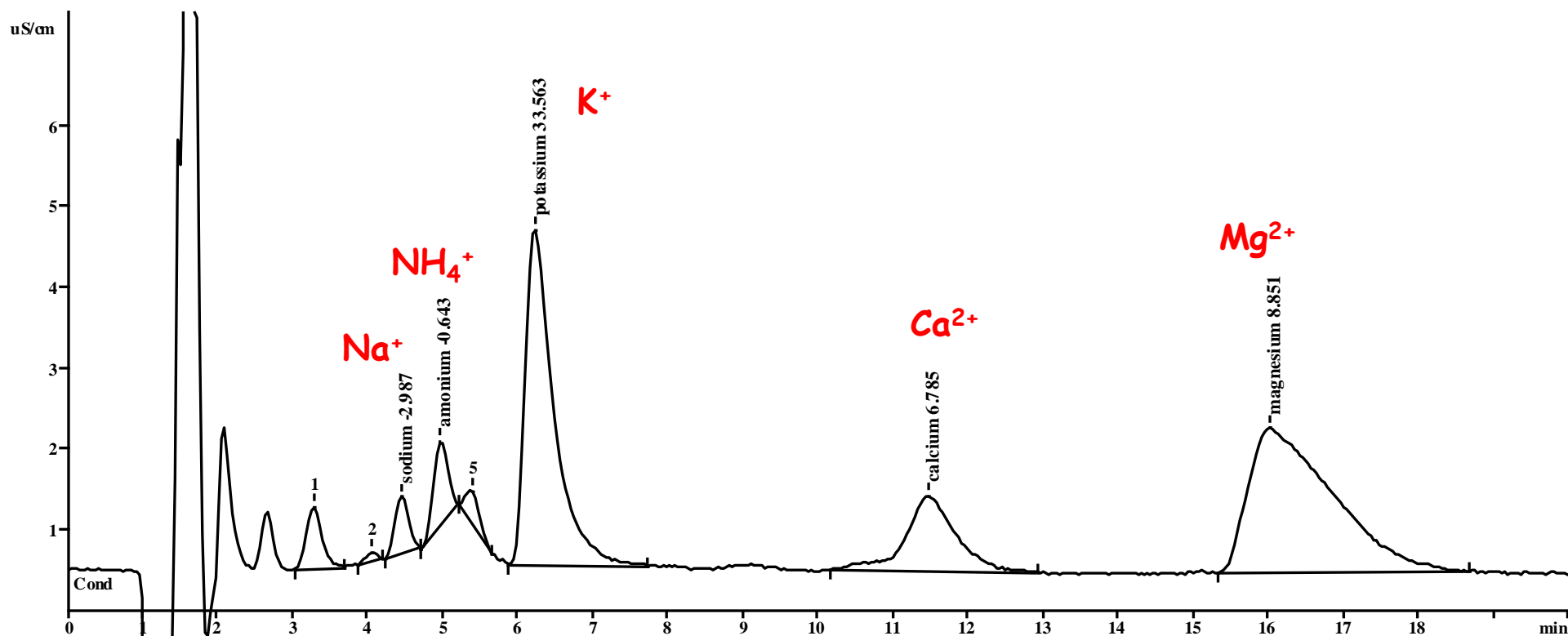
IC IC IC IC



# Food analysis

IC IC IC IC

## Pasterizovano pivo





# Food analysis



## Milk (in powder)

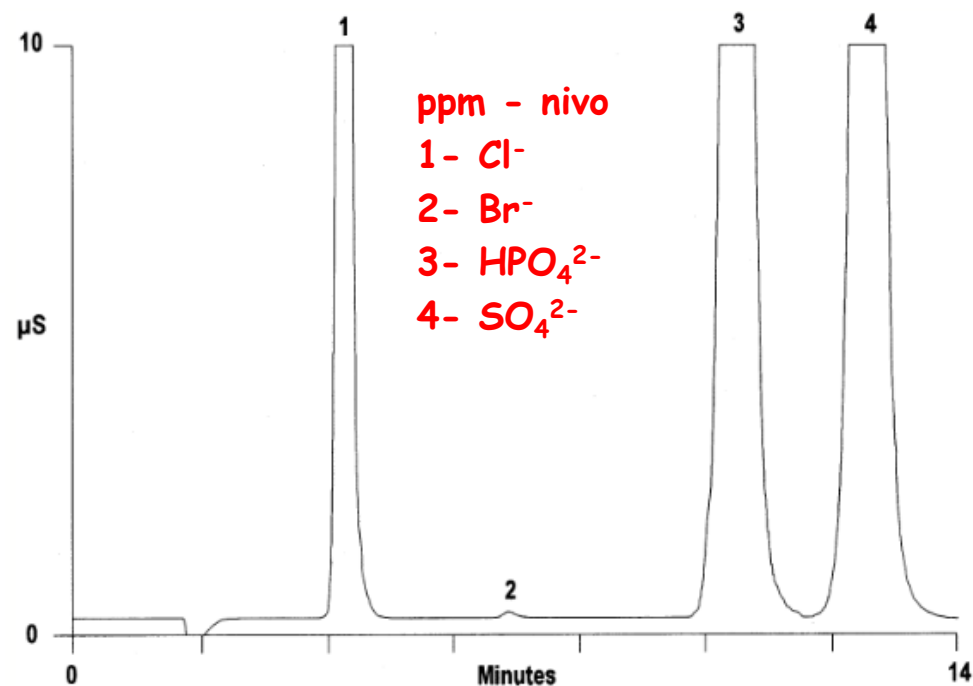
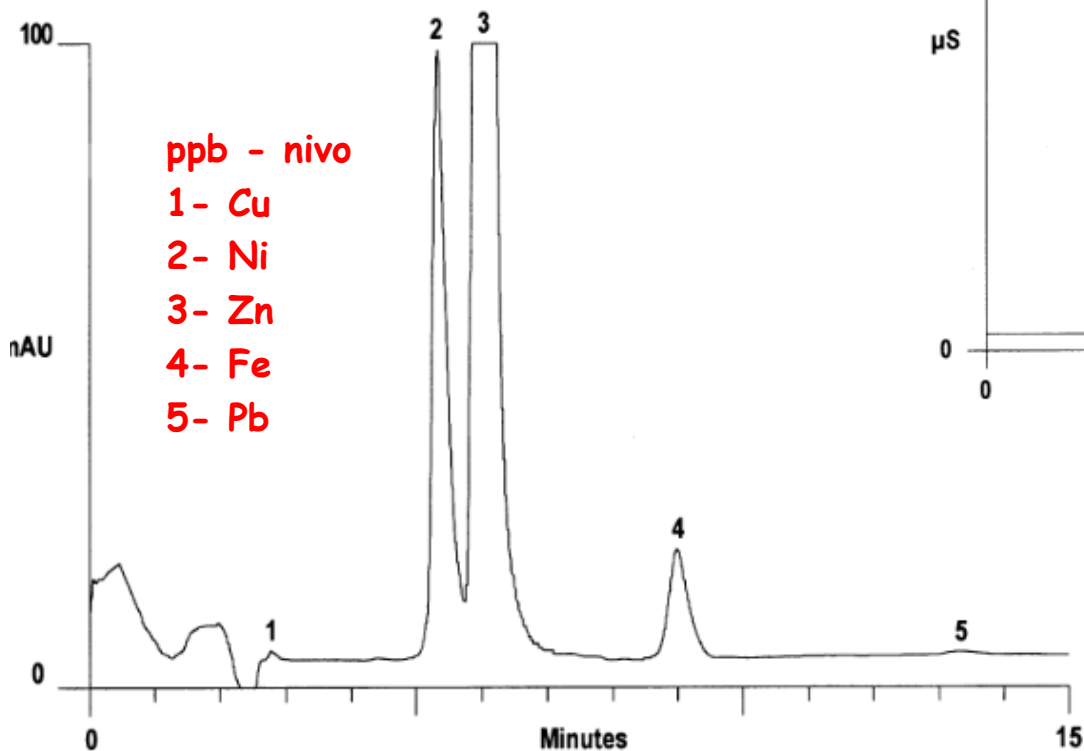
	$\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{PO}_4^{3-}$ , $\text{SO}_4^{2-}$	$\text{Cu(II)}$ , $\text{Cd(II)}$ , $\text{Ni(II)}$ , $\text{Zn(II)}$ , $\text{Co(II)}$ , $\text{Fe(III)}$ , $\text{Pb(II)}$	
Column	IonPac AG14+AS14	IonPac CG5A+CS5A	
Eluent	3.5 mM $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 1.0 mM $\text{NaHCO}_3$	<i>A</i>	<i>B</i>
		28 mM oxalic acid 45 mM NaCl 116 mM $\text{NaNO}_3$ 40 mM HCl	28 mM oxalic acid 45 mM NaCl 265 mM $\text{NaNO}_3$ 40 mM HCl
Gradient			
0 min	–	100%	0%
9 min	–	0%	100%
Eluent flow rate ( $\text{ml min}^{-1}$ )	1.2	1.0	
Injection volume ( $\mu\text{l}$ )	25	750	
Detection	Suppressed conductivity	Spectrophotometry (530 nm)	
Post-column reagent	–	0.4 mM PAR 1 M 2-dimethylaminoethanol 0.5 M $\text{NH}_4\text{OH}$ 0.3 M $\text{NaHCO}_3$ (pH 10.4)	
PCR flow rate ( $\text{ml min}^{-1}$ )	–	0.6	

Microchemical Journal 72 (2002) 277–284

# Food analysis

Milk (in powder)

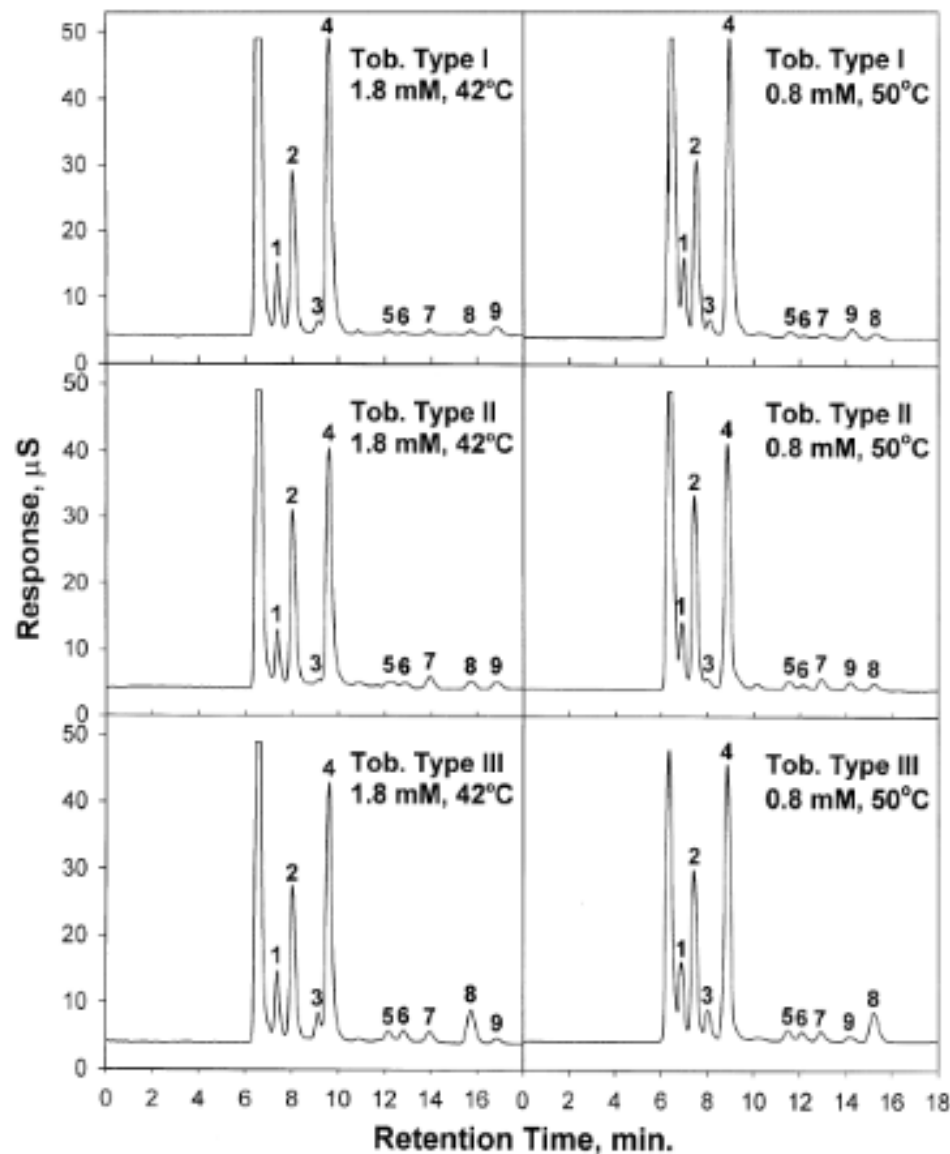
IC IC IC IC



Microchemical Journal 72 (2002) 277–284

# Tobaco

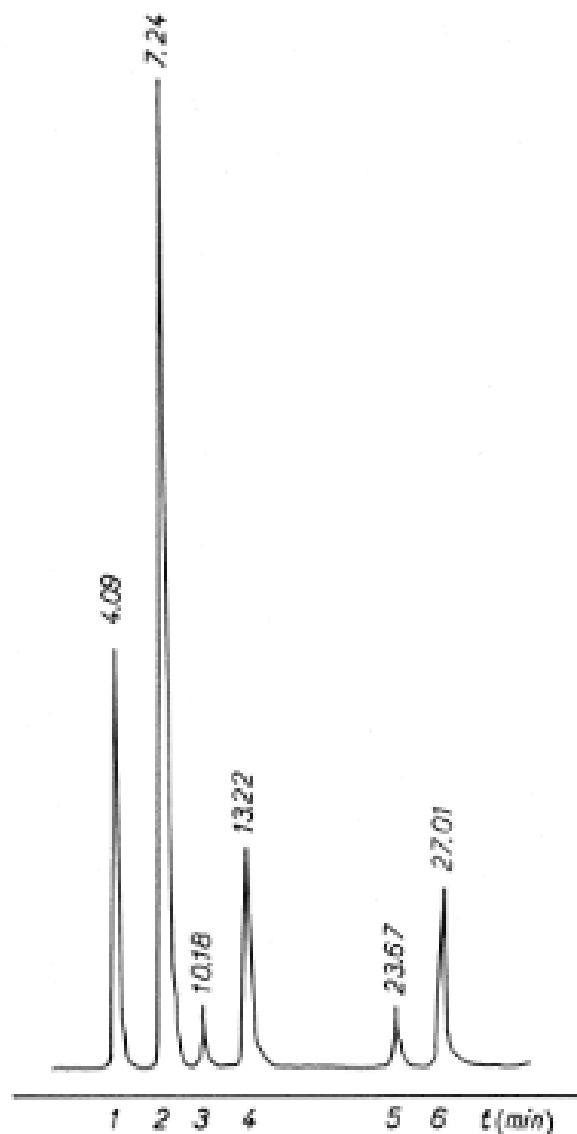
IC IC IC<sup>IC</sup>  
IC IC



Journal of Chromatography A, 950 (2002) 81–88

# Reversed-phase ion-pair HPLC determination of some water-soluble vitamins in pharmaceuticals

IC IC IC IC



- 1 – B<sub>3</sub>
- 2 – *p*-aminobenzoeva kiselina
- 3 – B<sub>6</sub>
- 4 – standard (fenol)
- 5 – B<sub>1</sub>
- 6 – B<sub>2</sub>

in Beviplex<sup>®</sup> coated tablets. Mobile phase: hexanesulphonic acid sodium salt and triethanolamine in water–methanol (92:8 v/v) for the first ten minutes and (82.8:17.2 v/v) to the end of the separation. pH was adjusted to 2.8 with orthophosphoric acid. Phenol was used as an internal standard. The flow rate was 2 ml min<sup>-1</sup> and UV detection was performed at 280 nm, at room temperature.

Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis  
18 (1999) 999–1004

Hvala na pažnji