

Sulfat, Thiosulfat, Chlorid, Nitrat in einem Probeansatz

Prinzip

Anionen wie Sulfat, Thiosulfat, Chlorid und Nitrat können mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) bestimmt werden. Tertiäre Aminogruppen einer Ionentauschersäule trennen diese Anionen voneinander, was in charakteristischen Retentionszeiten für die einzelnen Anionen resultiert. Die Detektion erfolgt konduktometrisch.

Anwendungsbereich/Störungen

Retentionszeiten und statistische Daten zu den Eichkurven von Sulfat, Thiosulfat, Chlorid und Nitrat mit Laufmittel (A) und (B), nach Känel & Mez, 1992.

Substanz	SO ₄ ²⁻ (A) *	Cl ⁻ (A) *	NO ₃ ⁻ (A) *	SO ₄ ²⁻ (B) *	S ₂ O ₃ ²⁻ (B) *
Retentionszeiten [Min]	10	3.5	6.25	7.25	10.75
Eichgerade: y=	-5.7279+2.5926x	-15.534+1.6859x	-8.7149+2.8527x	-5.3855+1.9132x	-6.5640+2.7342x
R ²	0.999	0.998	0.996	1.000	1.000
Gültigkeitsbereich [µM]	6.02-1000	17.59-700	9.3-700	25-1000	25-1000
LQDC [µM]	6.02	17.59	9.30	5.47	6.70
Rel. Standardfehler <5% [µM]	0-1000	0-700	25-700	25-1000	50-1000
Rel. Standardfehler >5% [µM]	-	-	9.3-25	-	25-50

LQDC lowest quantitatively determinable concentration

*Als Stammlösung für die Verdünnungsreihe diente für Laufmittel A ein Multiionenstandard aus Sulfat, Chlorid und Nitrat, für Laufmittel B einer aus Sulfat und Thiosulfat. x: Peakhöhe

Reagenzien, Material

- Formaldehyd (37-40%)
- Acetonitril (HPLC-Grade): giftig, geeignete Handschuhe tragen!
- Phthalsäure
- Eluent (Laufmittel) für HPLC-Analyse: 3 mM Phthalsäure, 5% Acetonitril, pH 4.2 (mit TRIS einstellen).
- Na₂SO₄ (Fluka, puriss), Na₂S₂O₃*5 H₂O, NaNO₃, NaCl (Merck).

Messapparatur

- Säule: IC Anionensäule SUPER-SEP (Metrohm 6.1009.000, 10 cm)
- Injektionsventil: Rheodyne 7010
- Injiziertes Probevolumen: 100 µl, durch 0.45 µm Filter (Millipore, Millex HV₁₃) vorfiltriert
- Pumpe: Doppelkolben-Pumpe (SP 8770, Spektra-Physics)
- Flussrate: 1.2 ml Min⁻¹ bis 1.5 ml Min⁻¹
- Detektor: Leitfähigkeitsdetektor (Wescan 213A)
- Schreiber: Labograph E 586 (Metrohm)
- Autosampler: MSI 660T (Kontron Instruments)
- Polystyrolröhrchen, 5 ml (Milian, Genève) für Proben
- Millex-HV₁₃-Filtereinheiten (0.22 µm): für Filtration von ca. 5-10 Proben geeignet
- 1 ml-Kunststoffspritzen
- Mikrotitrierbecher (Polystyrol) 2 ml für Autosampler
- Messkolben (100 ml) für Eichstammlösung mit Phosphorsäure (0.5 M) spülen, mit Wasser nachspülen und trocknen

Vorgehen***Konservierung der Proben***

- 1 ml Wasserprobe steril (0.22 µm) filtrieren und mit 50 µl Formaldehyd (37-40%) in einem 5 ml PS-Röhrchen fixieren.
- Bis zur Analyse Proben bei 4°C aufbewahren.
- 1 ml filtrierte und konservierte Probe vor der Injektion in HPLC partikelfrei (0.45 µm) filtrieren.

Herstellung des Laufmittel-Konzentrats (30mM):

- 4.98 g Phthalsäure auf Magnetrührer unter Erwärmen (ca. 60°C) in ungefähr 950 ml H₂O_{dest.} lösen.
- Nach dem vollständigen! Erkalten der Lösung 10 ml Acetonitril zugeben.
- pH mit TRIS (ca. 2 Spatel) auf 3.95 einstellen.
- Bei pH=3.6 nochmals nacheeichen, TRIS vorsichtig zugeben.
- Volumen mit H₂O_{dest.} auf 1000 ml ergänzen.
- Das Konzentrat ist bei 4°C während ungefähr zwei Monaten haltbar.

Herstellung des gebrauchsfertigen Eluents (3mM)

- 100 ml Laufmittel-Konzentrat mit 50 ml Acetonitril versetzen.
- Mit H₂O_{dest.} auf 1000 ml ergänzen.
- Vor Gebrauch Eluent durch ein 0.22 µm-Filter (Millipore, Typ GS) abnutschen.
- Eluent während 15-30 Minuten mit Helium entgasen.

Standards

- Die Eichlösungen (Konzentrationsbereich 0-1000 µM) entsprechend den Proben mit Formaldehyd fixieren.

Hinweise

Die Anionensäule darf mit maximalen Konzentrationen von 1000 µM/Anion beladen werden. Laut Hersteller sind auch Analysen von Sulfit und Nitrit möglich.

Literatur

- Känel B, Mez K. 1992. Vielfalt und Dynamik mikrobieller Stoffwechselaktivitäten in der Redoxtransitionszone des Lago di Cadagno. Diplomarbeit Universität Zürich