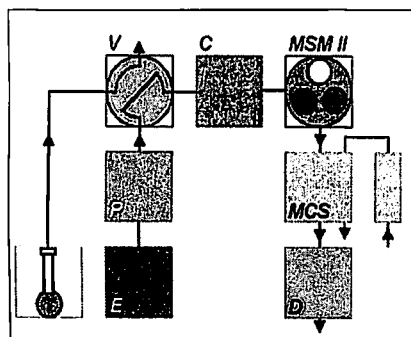


Ionchromatografie, een geladen onderwerp

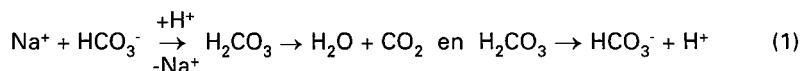
Hai Holthuysen
Lab. Apotheek Viecuri Medisch
Centrum voor Noord-Limburg
Tegelseweg 210, 5912 BL Venlo
077-3205194
hholthuysen@viecuri.nl

Inleiding

In het apotheek laboratorium wordt veelvuldig gebruik gemaakt van chromatografische technieken. Deze worden gebruikt voor een scala van toepassingen. Denk aan concentratie bepaling van geneesmiddelen in plasma voor Therapeutic Drug Monitoring en toxicologische analyse, analyse van farmaceutische producten en onderzoeken om de houdbaarheid van diverse producten vast te stellen. Kreten als gaschromatografie, reversed en straight phase vloeistofchromatografie klinken ons bekend in de oren. We zijn bekend met zowel de theorie als de toepassing van deze technieken in de praktijk. Anders is dit met de term ionchromatografie. We hebben er allemaal wel eens van gehoord en de meeste weten dat dit de analyse van anionen en kationen inhoudt. Het is het bekende verhaal van de klok en de klepel, we hebben hem wel horen luiden, maar weten niet waar hij hangt. Dit deed mij besluiten om op 18 april j.l. het seminar ionchromatografie te bezoeken, dat werd georganiseerd door de firma Applikon. Wel ver weg, Schiedam,



Figuur 1. Chromatografie systeem voor ion analyse.



maar ik was toch heel benieuwd of er toepassingen voor deze techniek waren in het apotheek laboratorium.

HPLC systeem

Het chromatografie systeem (zie figuur 1) voor ion analyse bestaat uit de volgende onderdelen:

1. Eluent (E)
2. Pomp (P)
3. Injectiekraan (V)
4. Analytische kolom (C)
5. Chemische suppressor (MSMII)
6. CO₂ suppressor (MCS)
7. Detector (D)

Eluent

Er moet onderscheid worden gemaakt tussen de analyse van anionen en kationen. Voor de analyse van anionen wordt meestal gebruik gemaakt van een NaHCO₃/Na₂CO₃ buffer. Er worden hoge eisen gesteld aan de zuiverheid van dit eluent, met name voor de analyse van anionen in het lage ppb gebied. Geadviseerd wordt om ultra puur water te gebruiken voor de bereiding van dit eluent. Voor de bepaling van kationen wordt meestal gebruik gemaakt van een eluent samengesteld uit een lage concentratie salpeterzuur bijvoorbeeld 3 mmol/l.

Pomp

Aan de pomp worden geen specifieke eisen gesteld.

Injectiekraan

Aan de injectiekraan worden geen specifieke eisen gesteld, sampleloop 5-100 µL. Monsters dienen gefiltreerd te worden (0,45 µm).

Analytische kolom

Het scheidingsmechanisme in de

analytische kolom vindt plaats op basis van ion exchange chromatografie. Een anion wisselaar voor anionen en een kationwisselaar voor kationen. In de praktijk komt dit neer op verschillende kolommen voor de bepaling van anionen en kationen.

Chemische suppressie

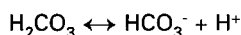
De eerder besproken NaHCO₃/Na₂CO₃ buffer die wordt gebruikt voor de analyse van anionen heeft een achtergrond geleidbaarheid van ca. 660 µS/cm.

Om de gevoeligheid van de analyse zo groot mogelijk te maken, met name van belang bij lage concentraties anionen, is het belangrijk om dit achtergrondsignaal als het ware weg te filteren. Dit noemen we chemische suppressie of chemische onderdrukking. De chemische suppressie is gebaseerd op het principe van een H⁺ kationen wisselaar. De natriumionen en andere kationen uit het eluent en het sample worden uitgewisseld tegen de H⁺ ionen uit de suppressor. Hierbij ontstaat water en kooldioxide volgens de reactie zoals die bovenin deze pagina is weergegeven.

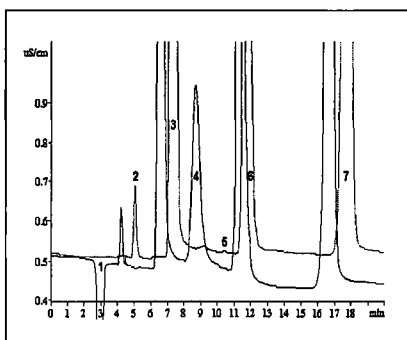
Hierna wordt de suppressor gespoeld met zwavelzuur en vervolgens met water om het systeem te regenereren, met andere woorden de kationen aanwezig op de suppressor worden uitgewisseld met de waterstof ionen afkomstig van de zwavelzuur. De Metrohm suppressor is zeer robuust en kan ook tegen organische solvents! Door deze suppressie kan het achtergrondsignaal worden terug gebracht tot ca. 15 µS/cm.

CO₂ suppressie

Na de chemische suppressie ontstaat CO₂, maar ook HCO₃⁻ volgens onderstaande reactie.



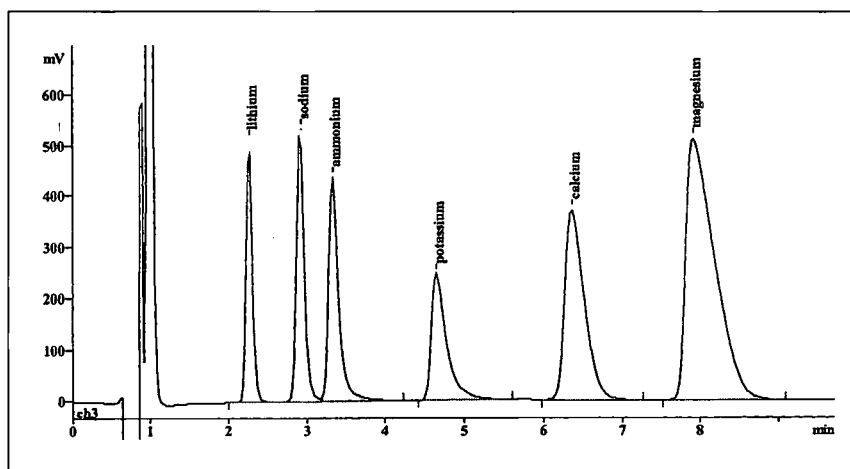
Door de verwijdering van de CO₂ is het mogelijk om het achtergrondsignaal nog verder te verlagen tot ca. 0,5 µS/cm. Uit de evenwichtsvergelijking van bovenstaande reactie kunnen we afleiden dat toevoeging van H⁺ ionen de reactie naar de kant van H₂CO₃ zal verschuiven, wat een afname van bicarbonaat ionen tot gevolg zal hebben. In het chromatogram (figuur 2) kan men zien dat de carbonaat piek (4) na chemische- en CO₂-suppressie verdwijnt. Deze zogenaamde carbonaat piek kan storen in de analyse van ionen met geringe concentratie. In dit voorbeeld 4 ppb bromide (piek 5).



Figuur 2. Verwijdering van de carbonaat piek (4) na chemische- en CO₂-suppressie.

Detector

De detector die wordt gebruikt bij ionchromatografie is de geleidbaarheid detector. Hier worden speciale eisen aan gesteld. Omdat de temperatuur een grote invloed heeft op de geleidbaarheid van ionen moet de temperatuurstabiliteit van de detector < 0,01°C zijn.



Figuur 3. Chromatogram van een lithium standaard.

Toepassingen in het apotheek laboratorium

Welke toepassingen zijn er nu mogelijk met ionchromatografie in het laboratorium van de apotheek.

Lithium

Lithiumzouten worden in de psychiatrie toegepast bij de bestrijding van manische depressiviteit en schizofrenie. Momenteel worden de meeste lithiumspiegels vlamfotometrisch of met behulp van een ion selectieve elektrode gemeten op het klinisch chemisch laboratorium. Lithium in serum kan echter ook bepaald worden met ion chromatografie. De voorbereiding bestaat uitsluitend uit een verdunning, meestal 1:100 met 1 mmol/L HNO₃. Het chromatogram (figuur 3) laat een standaard zien met daarin lithium.

Water voor injectie

Een volledige analyse van water voor injectie en gesteriliseerd water voor injectie is zeer tijdrovend. De testen beschreven in de Europese Pharmacopee zijn voor chloriden < 0,5 ppm, nitraten < 0,2 ppm. Voor sulfaten, calcium en magnesium zijn geen eisen vermeld. In principe is

het mogelijk om voor deze anionen en kationen kwantitatieve waarden te bepalen met ionchromatografie in relatief korte tijd. Dit wordt momenteel uitgevoerd in het Amphia Ziekenhuis in Breda. Wat betreft de bepaling van aluminium en zware metalen wordt aangeraden dit niet uit te voeren met ionchromatografie.

Suikers

Met ionchromatografie is het mogelijk suikers als sorbitol, mannitol, glucose, xylose en lactose te bepalen. Hiervoor is wel een PAD detector nodig (puls amperometrische detector).

Tot slot

Tot slot iets over de aanschaf van deze apparatuur. Het is mogelijk om het ionchromatografisch systeem op te bouwen uit afzonderlijke modules. De pomp en injector zijn op bijna ieder laboratorium aanwezig. Voor de bepaling van kationen is uitsluitend een geleidbaarheid detector nodig. Wil men echter ook anionen bepalen dan is een chemische suppressor vereist. Een CO₂ suppressor geeft nog meer praktische voordelen.