

Die Kleinen im Sommer...

©Dr. Stavros Kromidas, www.kromidas.de

In diesem HPLC-Tipp geht es um diverse Probleme, die mit den Autosampler-Vials zu tun haben.

Vials, immer wieder vials...

- Beim Schütteln eines vials (bei mir leider immer wieder eine spontane Bewegung...) kann sich auf der Unterseite des Vial-Caps ein Substanzfilm bilden – die Reproduzierbarkeit der Injektion lässt zu wünschen übrig. Beim Vortexieren bzw. automatischen Schütteln ist diese Gefahr eher selten gegeben, die Präzision bei Wiederholinjektionen... ist in der Regel besser
- Der Greifarm des Autosamplers hat evtl. ein vial verloren; wenn man Pech hat, versteckt sich jenes unter dem Karussell. Dadurch ist das Karussell nun etwas schief, die vials dort liegen ein wenig niedriger/höher, Ergebnis: Geänderte Peakflächen. Der Grund: Die Nadel stößt evtl. an den Wänden vom vial an oder sie kommt auf dem Boden auf. Oder aber im Falle von inhomogenen Probelösungen ergibt sich eine unterschiedliche Probekonzentration oder sogar ein Konzentrationsgradient. Und je nach Höhe in der die Nadel Probelösung ansaugt, ergeben sich Schwankungen der Peakfläche oder ein Trend dergleichen. Die Höhe eines vials kann sich auch dann verändern, wenn sich unter dem vial Schmutz, Dichtungsabrieb, Salzkriställchen usw. eingefunden haben
- Hellrote vs. dunkelrote vs. Silikon vs. vorgeschlitzte vs. „Sandwich-Septen“; Unterschiede bezüglich Abriebs bzw. Verdampfens von Probelösungsmittel bzw. Neigung zu Memoryeffekt
- Vial richtig dicht vs. einfach „klack“ und somit eher locker aufgesetzt: Im ersten Fall ist die erste Injektion evtl. fehlerbehaftet (durch den Unterdruck beim erstmaligen Stechen der Nadel drückt sich etwas von der Probelösung in die Nadel hoch) im zweiten Fall sind alle Injektionen OK – auch die erste
- Vial, beispielsweise Nr. 18, geht immer wieder kaputt; das ist zwar ein seltener Fall, dennoch möchte ich ihn erwähnen: Durch einen Fabrikationsfehler kann beim 6-Port-Ventil passieren, dass die zwei Scheiben nicht 100% übereinander liegen. Bei wiederholten Problemen mit Injektionen nur aus einem bestimmten vial am besten zeitnah den Hersteller wegen eines Austausches kontaktieren
- Probleme beim Methodentransfer
Beim Methodentransfer tauchen oft deswegen Probleme auf, weil nicht alle Informationen ausgetauscht bzw. Begriffe unterschiedlich verstanden werden. Nachfolgend drei Beispiele betreffend die vials:
 - „Wir arbeiten bei diesen geringen Volumina mit Aufsätzen, die sollt ihr auch verwenden.“ „OK“. Nur: In einem Labor werden die beweglichen (und billigen) Aufsätze verwendet, im anderen die festen Aufsätze. Es ergeben sich womöglich unterschiedliche Peakflächen, weil im ersten Fall die Nadel links oder rechts die Vial-Wand berühren kann...
 - „Wirkstoff X bleibt gerne hängen, ihr sollt vials mit inerter Oberfläche verwenden.“ „OK“. Nur: Versteht jede(r) unter „inert“ das Gleiche?

- Es werden statt Glas, PP-vials verwendet
 - Die vials werden mit HCL behandelt; die Silanolgruppen auf der Glasoberfläche liegen undissoziiert vor, basische Wirkstoffe werden zwar nicht adsorbiert, Wasserstoffbrückenbindungen wären jedoch möglich
 - Es werden silanisierte vials verwendet; analog einer endcappeden C18-Phase werden nicht nur keine basische sondern überhaupt keine polare Komponenten adsorbiert
 - Es werden silikonisierte vials verwendet; durch die Silikon-Schutzschicht wird nicht lediglich Adsorption sondern auch eine Benetzung der Oberfläche verhindert, die Probelösung perlt einfach ab
- „Wir arbeiten mit vials mit so ´ne Verjüngung, weißt Du? „Ja, wir auch!“ Nur: Erstens, können solche Aufsätze unterschiedliche Länge aufweisen. Und zweitens kann der Durchmesser am Ende der Verjüngung unterschiedlich groß sein. Dadurch kann durch die Oberflächenspannung genau dort ein Luftbläschen entstehen – und dies abhängig vom Probelösungsmittel! Ergebnis: Unterschiedliche Peakflächen
In Abbildung 1 werden Aufsätze der Firma VWR gezeigt, die die hier erwähnten Unterschiede demonstrieren.



Abbildung 1: Aufsätze für HPLC-vials unterschiedlicher Länge und unterschiedlicher Verjüngung, Details, siehe Text