

Der HPLC-Tipp im April

Ultraschallbad und Peakfläche

©Dr. Stavros Kromidas, www.kromidas.de

Der Fall

Das Ultraschallbad wird häufig auch zum Auflösen von Proben verwendet. Sein Einfluss auf die späteren chromatographischen Ergebnisse sollte nicht unterschätzt werden. Im Falle von schwankenden Peakflächen sollte ggf. an mögliche Variabilitäten im Zusammenhang mit dem Ultraschallbad gedacht werden.

Die Lösung

Nachfolgend zusammengefasst mögliche Einflussfaktoren:

- ***Verteilung der Energie/Temperatur***
 - Wasser; Leitungs- oder destilliertes Wasser?
 - Wasserstand; hoher Wasserstand: Geringe Energie, dafür jedoch homogen verteilt. Niedriger Wasserstand: Erhöhte Energie, dadurch effektiveres Auflösungsvermögen. Durch die höhere Temperatur besteht allerdings eine größere Gefahr von Hydrolyse, Umlagerung oder generell einer Veränderung von Komponenten in der Probe/Matrix. Dies wird beispielsweise bei bestimmten Wirkstoffen (z. B. Paracetamol), Vitaminen, Aminosäuren und Farbstoffen beobachtet.
 - Größe und Geometrie der U-Bades (rund vs. eckig, Dicke der Wände etc.)
 - Größe, Geometrie und Material des Gefäßes in dem die vials/Probekölbchen sich befinden, z. Becherglas vs. Drahtgestell
 - Unterlage; steht das Ultraschallbad direkt auf dem Labortisch oder auf einer Gummimatte/auf Gummifüßchen?
 - Positionierung der vials/der Probekölbchen, z. B. befindet sich das Kölbchen direkt auf dem Boden oder in einer Höhe von 5/20 cm? Vorbemerkung und anschließend eine Erläuterung: Die Heizdrähte befinden sich eher selten am Boden, häufiger an den Seitenwänden. Man stellt nun zu Beginn ein vial mit der SST- oder Standardlösung beispielsweise in die Mitte des U-Bades. Im nächsten Schritt sind viel mehr vials zu behandeln, es muss demnach der gesamte zur Verfügung stehende Raum genutzt werden. Je nach Geometrie und U-Bad-Typ (30 vs. 50 kHz) sowie Wassermenge kann eine Temperaturdifferenz (genauer: Temperaturgradient) von gut und gerne 5 °C und mehr zwischen Wand/Boden und Mitte herrschen. Je nach

Stabilität/Hydrolyse neigung der Analyte kann eine merkliche Differenz im Gehalt und evtl. zusätzliche Peaks die Folge sein.

- **Unterschiedliche Arbeitsweise**

- Bei komplexer Matrix (z. B. Stärke) wird von manchen AnwenderInnen während der Ultraschallbehandlung die Probelösung zwischendurch geschüttelt, von Anderen nicht
- Manche entfernen das Kölbchen nach der vorgesehenen Behandlungszeit von beispielsweise 5 min direkt, manchmal bleibt es noch weitere 15 min im U-Bad
- Manche gießen einen „Schluck“ Isopropanol hinzu, um Algenbildung zu verlangsamen, in anderen Fällen wird das U-Bad seltener verwendet, das Wasser dort ist recht alt

Die Liste lässt sich beliebig erweitern.

Das Fazit

Wünschenswert wäre im Rahmen der Methodvalidierung beim Punkt „Robustheit“ die Überprüfung eines möglichen Einflusses vom U-Bad. Sollte sich eine Beeinflussung der Probestabilität und der Reproduzierbarkeit ergeben, wäre dies in der Methodenbeschreibung unbedingt zu erwähnen. Die gemachten Erfahrungen und die Empfehlungen daraus, wie denn die aktuelle Probe aufzulösen ist, sollten nach Möglichkeit – vor allem wenn Methodentransfer ins Haus steht – detailliert kund getan werden, z. B: U-Bad-Geometrie/Typ, maximal zulässige Wassertemperatur, Füllmenge/-höhe, Positionierung der vials kritisch ja/nein usw.