

Ultraschall-unterstützte Herstellung von Wasser-Standards für die coulometrische Karl-Fischer-Titration

Authors: Nenad Gajovic-Eichelmann¹, Benjamin Laulier²

¹ Fraunhofer IZI-BB, Am Mühlenberg 13, 14476 POTSDAM - GERMANY

² SinapTec Ultrasonic Technology, SYNERGIE PARK, 7 avenue Pierre et Marie Curie 59260 LEZENNES - FRANCE

Abstract

Die ultraschall-unterstützte Extraktion von Wasser aus Natriumtartrat Dihydrat mit Methanol und DMSO erwies sich als gut reproduzierbare, zeitsparende Methode für die Herstellung von Wasserstandards für die Karl Fischer Titration (KFT). 30 s Ultraschall-Behandlung mit einem computergesteuerten 120W Ultraschallhomogenisator (SinapTec NexTgen Lab120) ergaben vergleichbare Extraktionsergebnisse mit 50-800 mg Natriumtartrat Dihydrat, die in 5 mL Lösungsmittel dispergiert wurden, wie 60 min Schütteln auf einem Horizontalschüttler bei 300 rpm. Die Extraktion von Wasser aus Natriumtartrat Dihydrat, einem stabilen und nicht-hygrokopischen organischen Salz, das häufig als Sekundärstandard in der volumetrischen KFT, verwendet wird, zeigte ein komplexes Verhalten: Die "Recovery", d.h. die tatsächlich extrahierte Menge im Verhältnis zum stöchiometrischen Wassergehalt einer Probe, variierte zwischen ca. 100% und 20%, in Abhängigkeit der eingesetzten Menge an Tartrat pro 5 mL Lösungsmittel (20-800 mg), dem verwendeten Lösungsmittel (Methanol, DMSO und Ethylacetat), der Dauer und Methode, die für die Extraktion verwendet wurden (Ultraschall oder Schütteln). Fast 100% Recovery wurden mit der niedrigsten untersuchten Menge von Natriumtartrat Dihydrat (20 mg) in DMSO mit ultraschall-unterstützter Extraktion gefunden, aber die Reproduzierbarkeit unter diesen Bedingungen war schlecht. Die höchste Reproduzierbarkeit der hergestellten Wasserstandards erhielten wir mit 100-400 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Lösungsmittel, Methanol als Lösungsmittel und mit ultraschall-unterstützter Extraktion. Ein typischer Standard, mit 100 ± 0.5 mg Natriumtartrat Dihydrat in 5 mL trockenem Methanol, ergab eine Wasserkonzentration von 1666 ± 28 ppm (N=5). Dies entsprach einer Recovery von 42 ± 0.7 %. Mit ultraschall-unterstützter Extraktion dauerte der komplette Workflow einschließlich Wägen, Extraktion und Titration etwa 10-15 min. Im Vergleich zu klassischen Probenvorbereitungsprotokollen, die auf Horizontalschütteln beruhen, ergibt sich daraus eine signifikante Zeit- und Kostenersparnis.

Einleitung

Karl-Fischer-Titration (KF-Titration, KFT) ist die meistverbreitete Analysenmethode für die quantitative Bestimmung von Wasser in Pharmazeutika, Kosmetikprodukten, Öl, vielen Lebensmitteln und Chemikalien. Moderne halb- oder vollautomatische KF-Instrumente können zu geringen Kosten und mit geringem manuellen Aufwand, bis zu 20 Proben pro Stunde analysieren. Volumetrische KF-Instrumente können Wassergehalte bis 100% analysieren, wie sie z.B. in Lebensmitteln vorkommen. Sie benötigen präzise Wasserstandards für die Titerbestimmung des Titrationsreagenzes und zur Überprüfung der Gerätefunktion. Die coulometrische KF-Titration ist spezialisiert auf die Bestimmung niedrigster Wasserkonzentrationen, mit einem Detektionslimit von ca. 10 µg Wasser. Als sog. absolute Methode ist sie in der Lage, quantitative Messungen ohne Kalibrierung durchzuführen. In der Praxis werden für die Erzielung präziser und wiederholbarer Messungen sowohl in der coulometrischen als auch volumetrischen KFT regelmäßige Funktionskontrollen mit definierten Wasserstandards durchgeführt. Die Herstellung präziser Wasserstandards ist eine Herausforderung, insbesondere bei niedrigen Konzentrationen von ca. 10.000 ppm (µg/g) und weniger. Die meisten Anwender nutzen dazu kommerziell erhältliche, zertifizierte Referenzmaterialien (CRM). Diese sind jedoch nicht lagerfähig und müssen, einmal geöffnet, sofort verbraucht werden. Dies steigert in erheblichem Maße die Kosten von KF-Analysen, insbesondere, wenn diese nur sporadisch durchgeführt werden, wie in vielen Forschungslabors üblich. Ein weiterer Nachteil der kommerziellen CRM ist die begrenzte Auswahl an Konzentrationen und Lösungsmitteln.

Die Motivation dieser Arbeit war es, Wasserstandards für die KFT mit Hilfe der ultraschall-unterstützten Extraktion von Wasser aus dem stabilen, nicht-hygrokopischen Salz Natriumtartrat Dihydrat herzustellen. Als Extraktionsmittel wurden drei verschiedene, wasserfreie organische Lösungsmittel eingesetzt: Methanol, DMSO und Ethylacetat. Ein computergesteuerter Labor-Ultraschallhomogenisator (SinapTec NexTgen Lab120) wurde eingesetzt, und die Ergebnisse mit einer Referenzmethode verglichen, der Extraktion mit einem Horizontalschüttler.

Materials und Methods

Ein SinapTec NexTgen Lab120 Ultraschallhomogenisator, ausgerüstet mit einem 35 kHz US-Generator (NS1923-003) und einer 6mm Titansonde für Volumina von 2-50 mL (22D6) wurde für alle Experimente benutzt (Abb.1.1). Das computergesteuerte Gerät erlaubt mittels der Steuersoftware (NexTGen Lab Premium) die kontinuierliche Aufzeichnung der Schwingungsamplitude (%), Leistung (W), Frequenz (KHz), dissipierten Energie (Ws) und, optional, der Proben temperatur. Alle Ultraschall-Behandlungen in dieser Studie wurden mit einer Zeitsteuerung (US-Dauer: 10-60 s) bei einer konstanten Amplitude von 70% durchgeführt. Alternativ zur Zeitsteuerung erlaubt die Software die Voreinstellung der insgesamt abgegebenen Energiemenge als Stopp-Bedingung. Dieses Regime eignet sich besonders für Proben, deren Volumina und Zusammensetzung stärker variieren als bei der vorliegenden Studie.

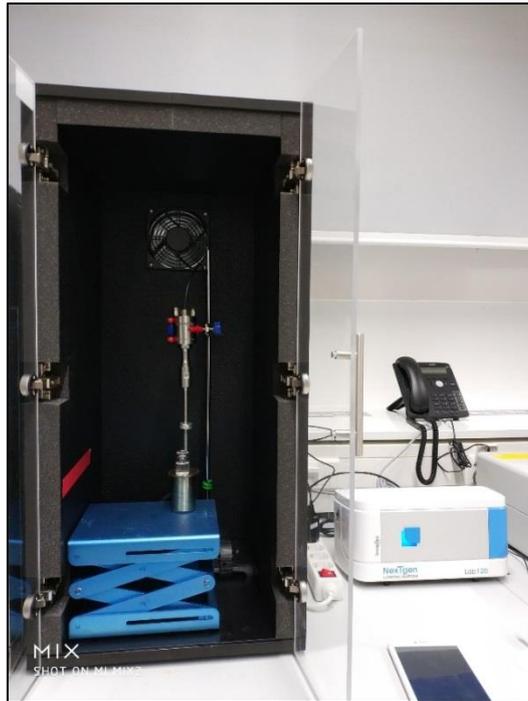


Abb. 1.1: Ultraschallhomogenisator SinapTec NexTgen Lab120.

Ein Horizontalschüttler (Edmund Bühler, KL-2) mit 300 rpm Schüttelfrequenz und bis zu 60 min Schütteldauer wurde als Benchmark für die Extraktion genutzt. Horizontalschüttler gehören zu den meistgenutzten Geräten für den Probenaufschluss, bzw. die Solubilisierung und Dispersion schwerlöslicher Reagenzien (Abb. 1.2).



Abb. 1.2: Horizontalschüttler.

Natriumtartrat Dihydrat (Honeywell Hydranal, Product no. 34803-100G, Lot I054A, mit zertifiziertem Wassergehalt 15,69 % (w/w) wurde als Referenzmaterial genutzt. Wasserfreies Methanol (Honeywell Hydranal 34741-1L, Lot J086D, Wassergehalt < 0,01 % (w/w), wasserfreies DMSO (Acros Organics 348441000, Lot1999470) und HPLC-grade Ethylacetat (VWR 83621.320, Lot 14Z2631) wurden als Lösungs- bzw. Extraktionsmittel genutzt. Ein typischer Wasserstandard wurde auf die folgende Weise zubereitet: 100 ± 2 mg Natriumtartrat Dihydrat wurden in ein 6 mL Probenglas eingewogen (Metrohm 62419007, KFT grade), mit Stickstoff 5.0 gespült (N2 5.0, H2O < 5 ppm, Linde Industriegase) und provisorisch mit einem Aluminium-Septum-Verschluss abgedeckt (Metrohm 61448050, KFT grade). $5 \pm 0,1$ mL Lösungsmittel wurden mit einer 5 mL Ganzglasspritze (Poulten Graf Fortuna Optima, Germany) hinzugegeben. Die Ultraschallsonde wurde nun mittig in das Probenglas eingeführt, so dass ca. 1mm Abstand zum Boden frei blieb (siehe Abb. 2). Ein Silikongummideckel mit zentralem 6mm-Loch verhinderte das Eindringen von Luftfeuchtigkeit. Die Ultraschallsonde wurde durch Start des Software-Programms aktiviert (Default mode: Fixierte Amplitude 70%), und nach 30 s automatisch deaktiviert. Unter diesen Bedingungen blieb die Proben temperatur unter 43°C , deutlich unterhalb des Siedepunkts von Methanol von 65°C . Die Leistung wurde aufgezeichnet, um die Reproduzierbarkeit des Extraktionsschrittes von Experiment zu Experiment nachzuweisen. Nach Entfernen der Ultraschallsonde wurde das Probenglas permanent mit dem Crimpverschluss verschlossen und –ohne Gefahr des Eintrags von Luftfeuchtigkeit- bis zur Durchführung der KF-Titration bei 25°C aufbewahrt.

Ein computergesteuertes coulometrisches Karl-Fischer-Titrations-System wurde benutzt (Metrohm Coulometer 831 mit KF-Zelle ohne Diaphragma, mit tiamo 2.5 lights Software). Die Zelle wurde mit 100 mL KF-Reagenz gefüllt (Honeywell Hydranal “Coulomat AG Oven” 34739-500ML Lot 1260). Das Reagenz wurde ersetzt, nachdem insgesamt 50 mL Probe zugegeben worden waren (nach ca. 250 Probeninjektionen). Die Titrationsparameter wurden gemäß European Pharmacopoeia 2.5.32 ausgewählt (kurz: EP 55 mV; Dynamics 100 mV; Igen 400 mA; Ipol 10 μA ; Startdrift 10 $\mu\text{g}/\text{min}$; Stopdrift 5 $\mu\text{g}/\text{min}$; setting time 30s. Ein detailliertes Protokoll kann von den Autoren bezogen werden).

Flüssige Proben mit einem Volumen von $0,2 \pm 0,005$ mL wurden mittels einer Einweg-1mL-Spritze mit 120mm x 0,8 mm Kanüle manuell durch den Injektionsport injiziert. Abb. 2 zeigt den gesamten Workflow. Wenn nicht anders beschrieben, wurden jeweils drei Proben unter identischen Bedingungen vorbereitet (N=3) und einmal mit KFT analysiert (n=1). Dieses Vorgehen war gerechtfertigt, da vorläufige Versuche zeigten, dass die relative Standardabweichung der KFT ca. 1% betrug, und damit deutlich niedriger war als der Gesamtfehler aller Probenvorbereitungsschritte (relative Standardabweichung ca. 3-4%). Für die Reproduzierbarkeits- und Stabilitäts-Untersuchung wurden jeweils 5 Proben vorbereitet (N=5) und jeweils dreimal mit KFT bestimmt (n=3), um eine maximale Genauigkeit zu erzielen.

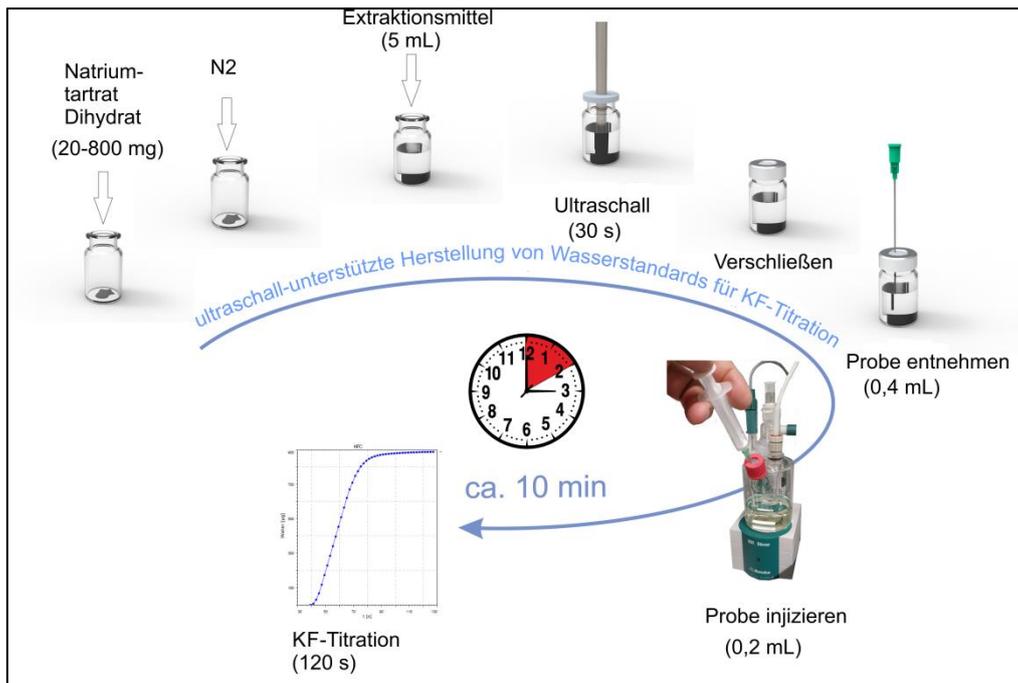


Abb. 2: Herstellung von Wasserstandards durch ultraschall-unterstützte Wasserextraktion (kompletter Workflow incl. KF-Titration dauert ca. 10-15 min).

Ergebnisse

Natriumtartrat Dihydrat ist ein ungiftiges und stabiles, nicht-hygroscopisches organisches Salz mit einem stöchiometrischen Wassergehalt von 15,66% (w/w) und wird häufig als Sekundärstandard für die Titerbestimmung in der volumetrischen Karl-Fischer-Titration verwendet. Der Hauptnachteil ist seine schlechte Löslichkeit in wasserfreien organischen Lösungsmitteln und den meist methanolbasierten KFT-Reagenzien ("Analyten"). Abb. 3 zeigt Wasserstandards mit 50-1000 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Methanol. Da ein Großteil des eingesetzten Tartrats ungelöst bleibt, ist es nicht möglich, die Extraktionsausbeute oder "Recovery" (tatsächlich extrahierte Menge bezogen auf den gesamten stöchiometrischen Wassergehalt der Probe) visuell abzuschätzen. Aus diesem Grund verwenden viele Labors kein Natriumtartrat Dihydrat, sondern kommerzielle, zertifizierte Referenzstandards (CRM) mit genau bekanntem Wassergehalt. Unsere Motivation war es, mit Hilfe des computergesteuerten Ultraschallhomogenisators SinapTec NextGen Lab120 präzise und reproduzierbare Wasserstandards für die coulometrische KFT herzustellen. Die ultraschall-unterstützte Wasserextraktion mit drei organischen Extraktionsmitteln (Methanol, DMSO, Ethylacetat) wurde mit einer Referenzmethode verglichen, dem 60-minütigen Schütteln auf einem Horizontalschüttler bei 300 rpm.



Abb. 3: Natriumtartrat Dihydrat ist schwer löslich in Methanol, die Extraktionsausbeute (Recovery) kann nicht visuell bewertet werden.

Abb. 4 zeigt den zeitlichen Verlauf der Wasserextraktion mit 100 mg Natriumtartrat Dihydrat und 5 mL Methanol. Mit Ultraschall und einer voreingestellten Amplitude von 70% war die Extraktion bereits nach 30 s nahezu abgeschlossen. Die Recovery betrug ca. 40%, die Probentemperatur ca. 42°C. Die weitere Ultraschall-Behandlung bis hin zu der maximalen getesteten Dauer von 120s (exakter Zyklus: 60 s US / 2 min Pause / 60 s US) führte zwar zu einer Erwärmung auf bis zu 52° C, erhöhte jedoch nicht die Recovery. Im Gegensatz dazu dauerte es auf dem Horizontalschüttler 30-60 min bei 300 rpm, um eine Recovery von ca. 40% zu erreichen.

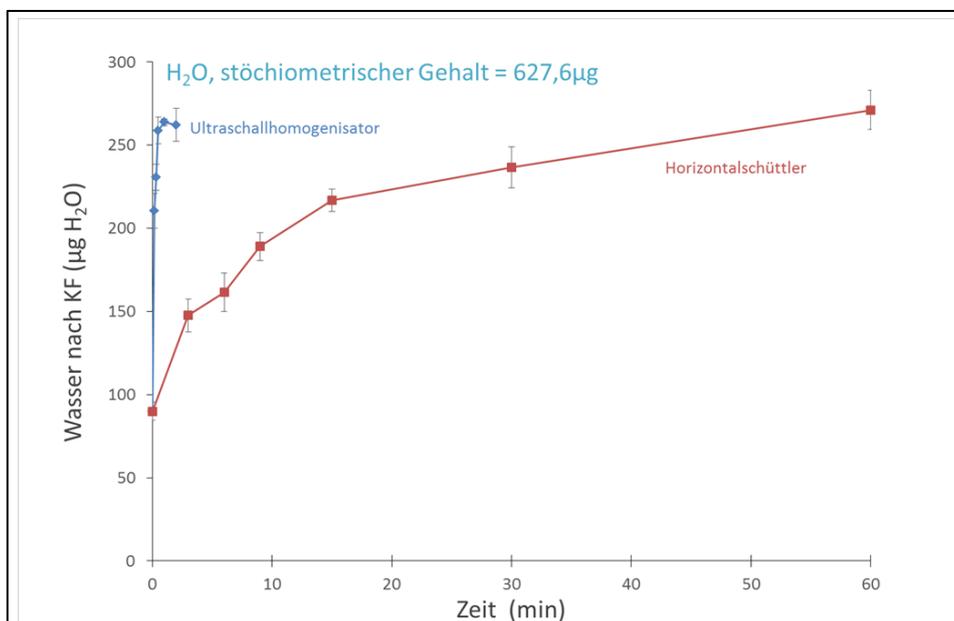


Abb. 4: Zeitlicher Verlauf der Wasserextraktion aus 100 mg Natriumtartrat Dihydrat in 5 mL Methanol als Extraktionsmittel. Ultraschall-Behandlung (blau) vs. horizontales Schütteln (rot). 3 Proben pro Zeitpunkt (N=3) und eine KF-Titration pro Probe (n=1). Nach 30 s Ultraschall oder 60 min Schütteln wird die maximale Extraktionsausbeute (Recovery) von ca. 40% erreicht.

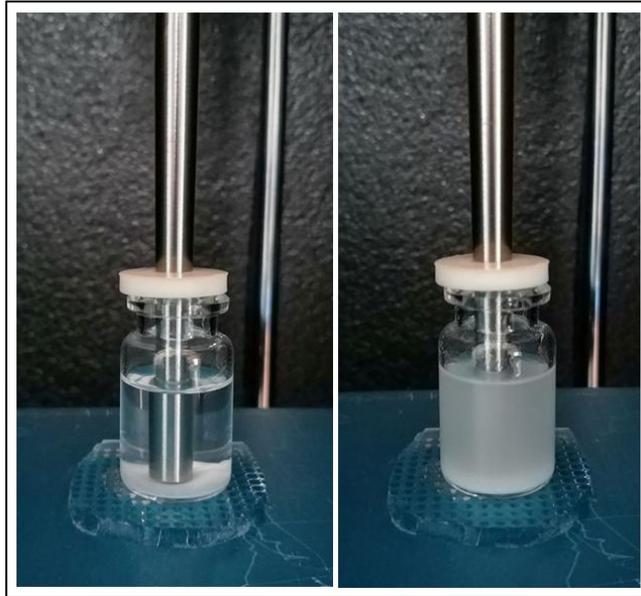


Abb. 5: Natriumtartratdihydrat (100 mg in 5 ml Methanol) vor (links) und nach (rechts) 30 s Ultraschallbehandlung bei 70% fester Amplitude. Die Temperatur steigt nach Ultraschall auf 42 ° C.

Abb.6 zeigt die mit KFT im Überstand gemessene Wasserkonzentration in ppm ($\mu\text{g/g}$) von Wasserstandards, die mit 20-800 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Methanol hergestellt wurden. Die Ultraschall-Behandlung erfolgte bei einer voreingestellten Amplitude von 70% für 30s. Zum Vergleich wurden identische Proben bei 300 rpm 60 min lang geschüttelt. Die Extraktion verlief nach einer komplexen Kinetik, mit Unterschieden zwischen beiden Extraktionsmethoden: Bei weniger als 200 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Methanol, extrahierte man mit dem Schüttler eine signifikant höhere Wassermenge. Bei höheren Natriumtartrat Dihydrat-Mengen war das Verhältnis jedoch umgekehrt: die Ultraschall-unterstützte Extraktion war hier effektiver.

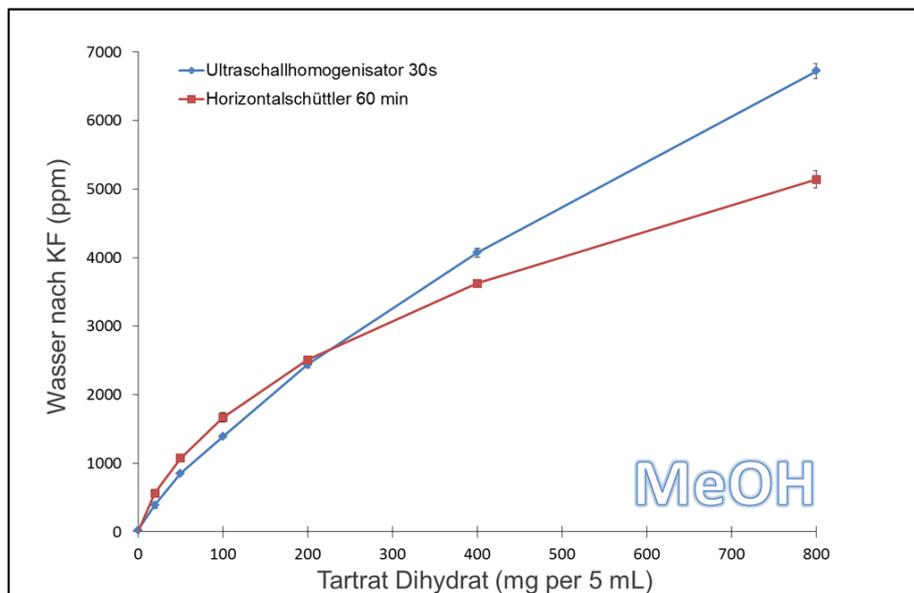


Abb. 6: Wasserstandards in 5mL Methanol (Y-Achse: ppm). 3 Proben pro Konzentration (N=3) und eine KF-Titration pro Probe (n=1).

Um dieses unerwartete Ergebnis genauer zu untersuchen, wurden die gemessenen Daten erneut aufgetragen, jedoch mit der Recovery (=Extraktionsausbeute in %) auf der Y-Achse (Abb.6). In dieser Darstellung wurden die Unterschiede bei der Extraktion mit Methanol deutlicher sichtbar: Die ultraschall-unterstützte Extraktion wies bei der niedrigsten Tartrat-Menge von 20 mg eine maximale Recovery von ca. 50% auf, die bis auf ca. 20% bei 800 mg Tartrat abfiel. Im Gegensatz dazu betrug im Schüttelexperiment die maximale Recovery (bei 20 mg) 72%, und fiel dann (bei 800 mg) bis auf 16% ab. Wir nehmen an, dass aufgrund der kurzen und intensiven Ultraschallbehandlung von 30s, nur die äußere Hydratschicht aufgeschlossen und extrahiert wird ("first water of hydration"). Diese entspricht 7.83% des Gewichts von Natriumtartrat Dihydrat (May et al. 1989) bzw. 50% des gesamten Hydratwassers. Dementsprechend stellt ein Wert von 50% bei der kurzen, ultraschall-unterstützten Extraktion mit Methanol scheinbar das thermodynamische Limit der Recovery dar. Im Gegensatz dazu wird beim 60-minütigen Schütteln einer kleinen Tartratmenge (200mg) in 5 mL Methanol offensichtlich auch ein Teil des stärker gebundenen Hydratwassers aufgeschlossen und extrahiert, die Recovery liegt entsprechend zwischen 30% und 80%. Dieser Wert fällt jedoch mit zunehmender Tartratmenge schnell ab, auf unter 20% bei 800 mg. Die Reproduzierbarkeit beider Extraktionsmethoden wurde mit zunehmender Tartratmenge besser: Bei 100-800 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Methanol war die Standardabweichung minimal.

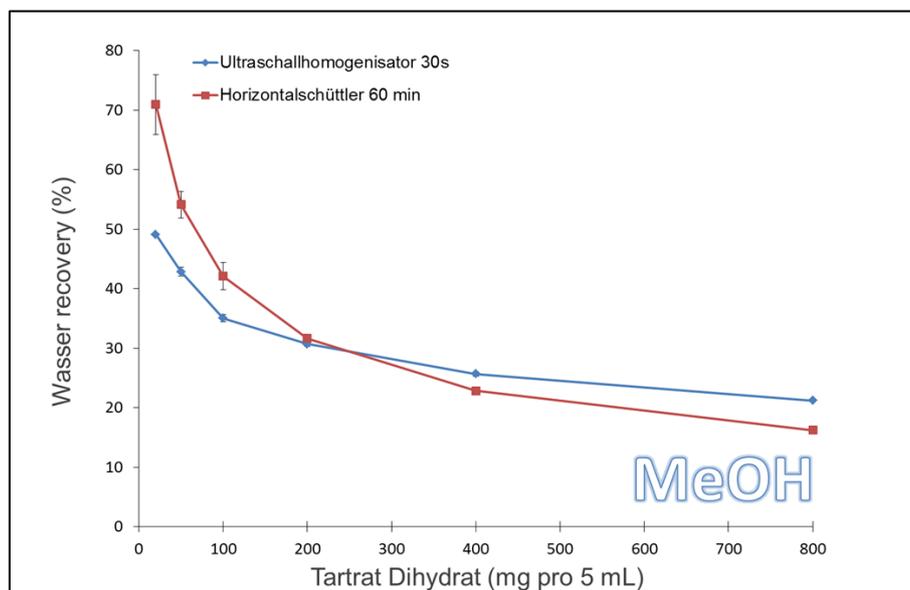


Abb. 7: Wasserstandards in 5mL Methanol (Y-Achse: recovery (%) d.h. tatsächlich extrahiertes Wasser bezogen auf gesamtes stöchiometrisches Wasser $\mu\text{g}/\mu\text{g}$)

Wir untersuchten, ob die beobachteten Unterschiede zwischen Ultraschall und Schütteln spezifisch für Methanol als Extraktionsmittel waren, oder einem allgemeinen Muster folgten. Aus diesem Grund wurde das gleiche Experiment mit DMSO und Ethylacetat als Extraktionsmittel wiederholt.

Abb.8 illustriert die Wasserextraktion mit DMSO, unter den o.g. Bedingungen. DMSO ist ein ungiftiges, polares Lösungsmittel und könnte eine weniger toxische Alternative zu Methanol sein. Mit DMSO als Extraktionsmittel war die ultraschall-unterstützte Extraktion bei allen untersuchten Tartratmengen (20-800 mg) effektiver als Schütteln. Wenn diese Daten neu aufgetragen werden, mit der Recovery auf der Y-Achse, wird ein interessantes Resultat offenbar: Bei der niedrigsten Tartratmenge von 20 mg pro 5 mL DMSO, beträgt die Recovery beim Ultraschall-Aufschluss fast 100% (Abb. 9). Das bedeutet, dass das Hydratwasser nahezu vollständig aufgeschlossen und extrahiert wurde. Dieser Unterschied zu Methanol spiegelt sich auch im optischen Eindruck wieder: Tartrat

quillt in DMSO merklich auf und wird leicht transparent. Interessanterweise betrug die Recovery beim Schütteln mit DMSO als Extraktionsmittel stets weniger als 50%. Wie schon bei Methanol beobachtet, verbesserte sich die Reproduzierbarkeit bei beiden Verfahren mit zunehmender Tartratmenge. Bei 100-800 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL war auch hier die Standardabweichung minimal.

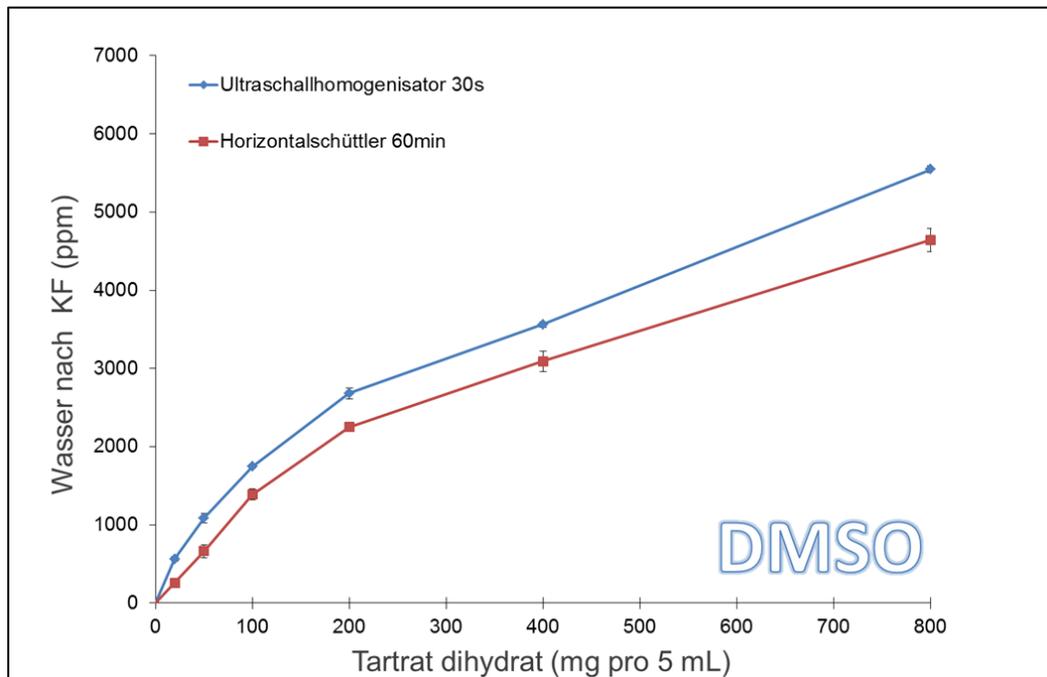


Abb. 8: Wasserstandards in 5mL DMSO (Y-Achse: ppm). 3 Proben pro Konzentration (N=3) und eine KF-Titration pro Probe (n=1). DMSO ist ein weniger toxisches Extraktionsmittel als Methanol mit vergleichbarer Extraktionseffizienz.

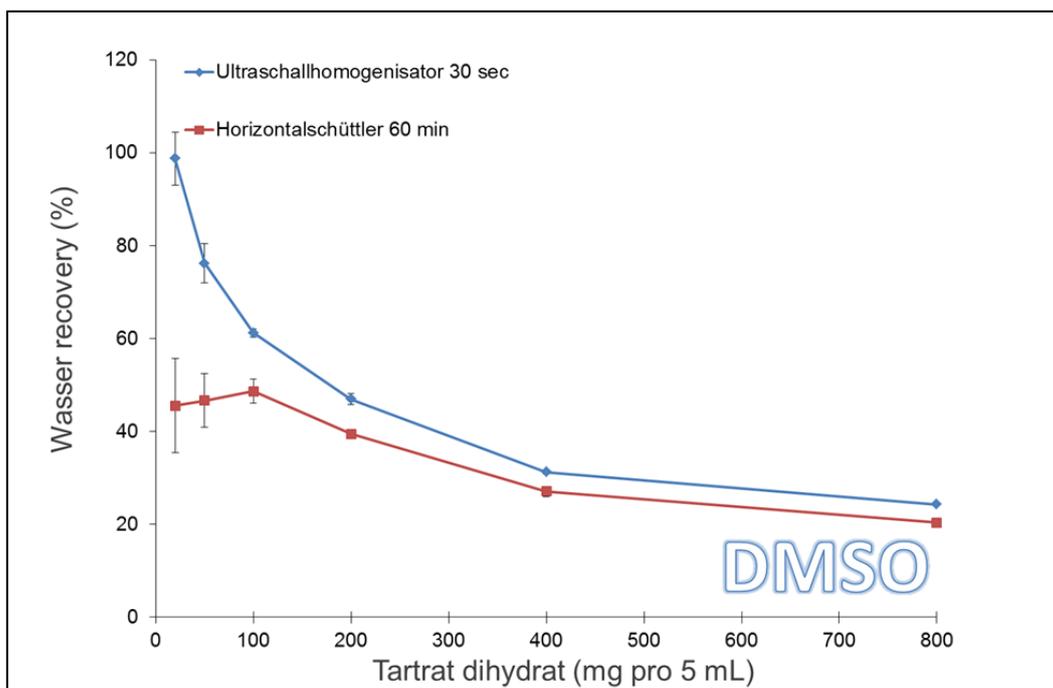


Abb. 9: Wasserstandards in 5mL DMSO (Y-Achse: recovery (%) d.h. tatsächlich extrahiertes Wasser bezogen auf gesamtes stöchiometrisches Wasser $\mu\text{g}/\mu\text{g}$)

Abb. 10 zeigt schließlich die Wasserextraktion mit Ethylacetat als Extraktionsmittel. Dieses Lösungsmittel ist weniger giftig und viel weniger polar als Methanol. Jedoch wurden mit Ethylacetat verschwindend geringe Mengen an Wasser extrahiert, unabhängig vom eingesetzten Verfahren. Entsprechend groß war der Messfehler der KF-Titration. Ethylacetat ist nicht geeignet als Extraktionsmittel für die Herstellung von Wasserstandards für die KF-Titration.

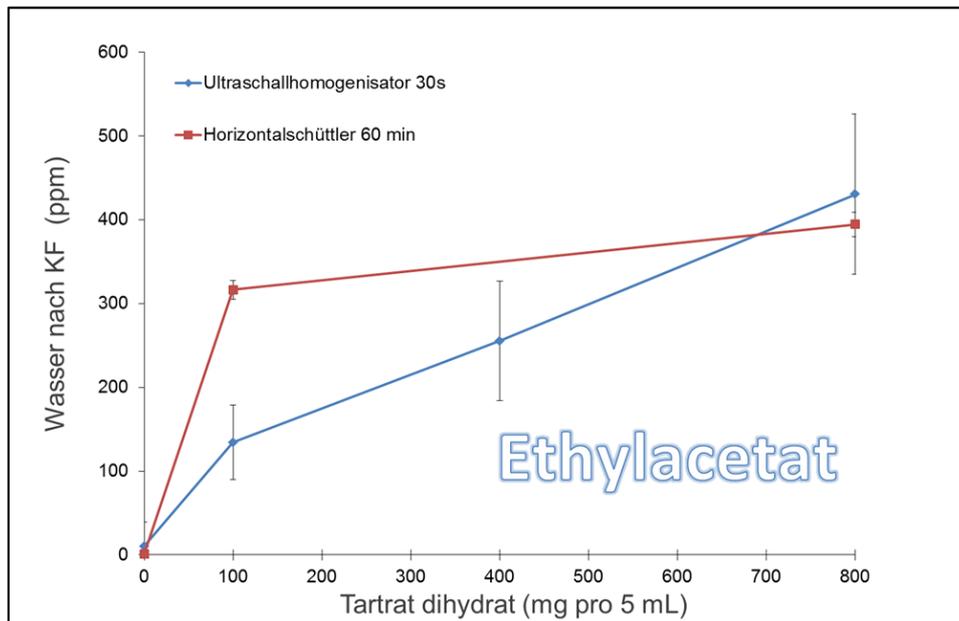


Abb. 10: Wasserstandards in 5mL Ethylacetat (Y-Achse: ppm). 3 Proben pro Konzentration wurden hergestellt (N=3) und eine KF-Titration pro Probe (n=1). Ethylacetat ist ein weniger toxisches und unpolares Extraktionsmittel als Methanol. Seine Extraktionskapazität für Wasser ist jedoch sehr gering. Es eignet sich daher nicht für die Herstellung von Wasserstandards.

Methanol und DMSO sind auf der Basis der gemessenen Daten ähnlich gute Extraktionsmittel für die Herstellung von Wasserstandards. Die Standardabweichung der in Methanol hergestellten Standards war jedoch etwas niedriger als bei DMSO (7,7 µg in Methanol vs. 9,9 µg in DMSO, N=6), vermutlich da die KF-Titration von DMSO-Standards deutlich länger dauerte und sich in DMSO sehr leicht Gasblasen bildeten, wenn es mit einer 1mL Spritze dosiert wurde. Ebenso wurde beschrieben, dass DMSO mit KF-Reagenzien reagieren kann. Aufgrund dessen wurde Methanol als das am besten geeignete Extraktionsmittel für die Herstellung von Wasserstandards aus 100 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Extraktionsmittel ausgewählt. Die Extraktion erfolgte unter Anwendung von Ultraschall (70% Amplitude für 30s) (Abb. 11). Um die Reproduzierbarkeit des Protokolls zu untersuchen, wurden jeweils 5 identische Standards hergestellt (N=5) und jeweils 3-mal mit KFT analysiert (n=3). Abb. 12 (rechts) zeigt die Ergebnisse. Die Wasserkonzentration betrug 1666 ± 28 ppm (N=5, n=3).

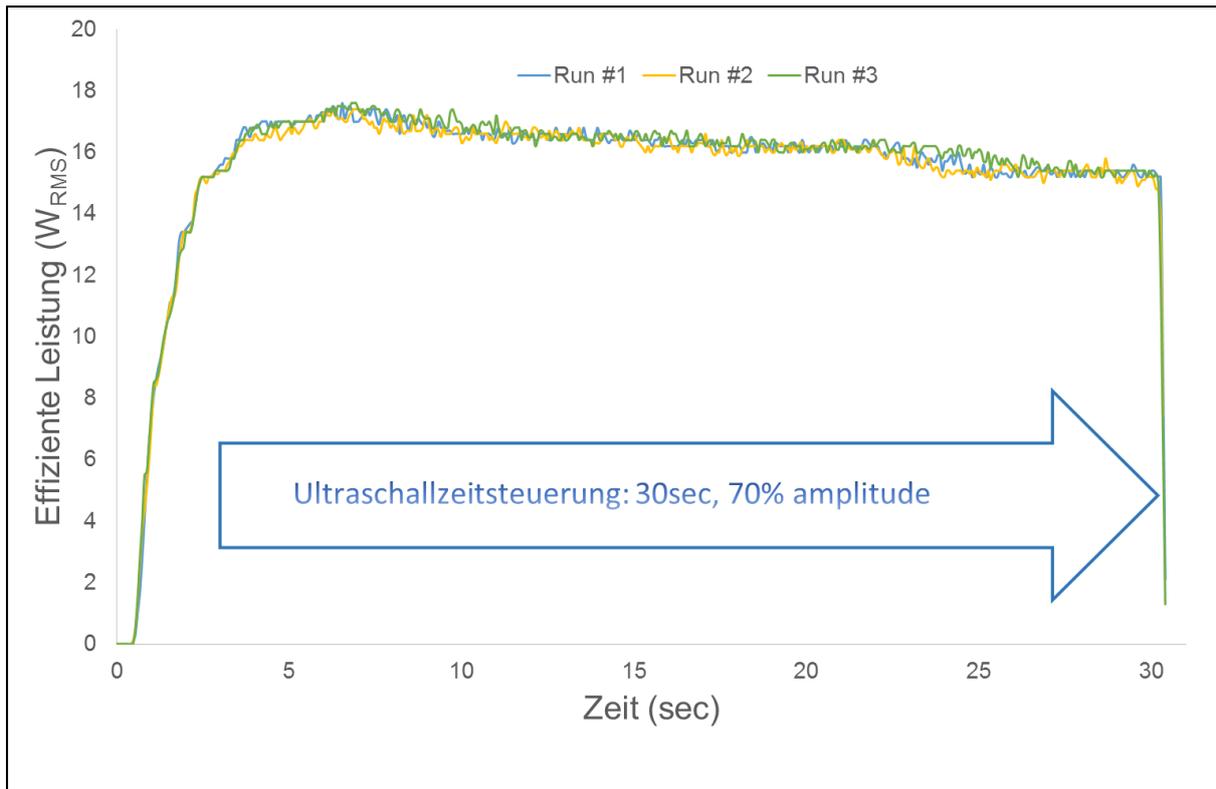


Abb. 11: Die Ultraschall-Behandlung mit NextGen Lab120 ist sehr gut reproduzierbar: 3 Wasserstandards in Methanol wurden unter identischen Bedingungen hergestellt (100 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Methanol. Ultraschall-Protokoll: Amplitude 70%, 30 s).

Für die Untersuchung der Haltbarkeit von selbst hergestellten Wasserstandards wurden auf die gleiche Weise 5 identische Proben hergestellt (N=5). Jeweils eine davon wurde nach 0h, 2h, 4h, 8h und 10h Lagerung bei 25°C 3-mal mit KFT analysiert (n=3). Abb. 12 (links) zeigt die Ergebnisse. Über den untersuchten Zeitraum hinweg wurden keine signifikanten Änderungen beobachtet. Die Wasserkonzentration betrug 1698 ± 51 ppm (N=5, n=3).

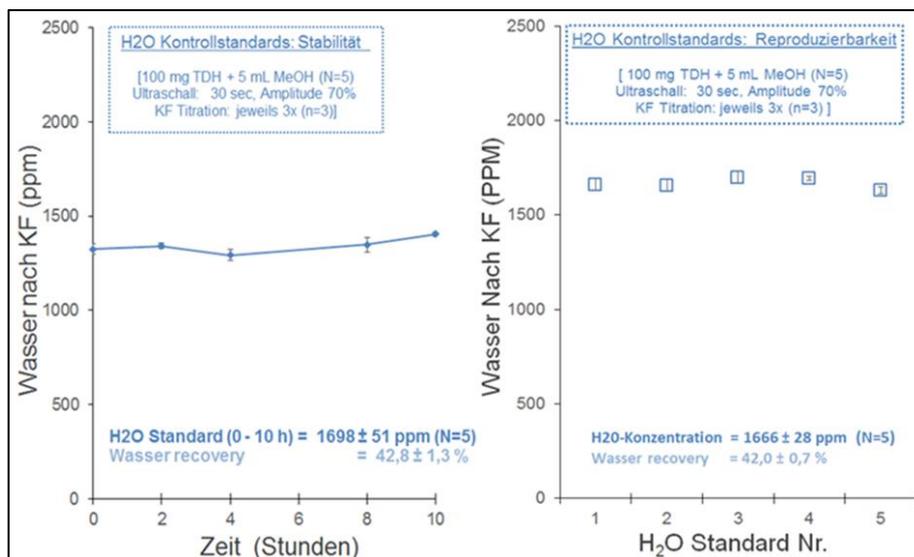


Abb. 12: Stabilität (links) und Reproduzierbarkeit (rechts) von 5 Wasserstandards. Herstellung mit ultraschall-unterstützter Extraktion unter identischen Bedingungen. 5 Proben (N=5) und drei KF-Titrationen je Probe (n=3).

Zusammenfassung

Die ultraschall-unterstützte Extraktion von Wasser aus Natriumtartrat Dihydrat mit Methanol oder DMSO als Extraktionsmittel erwies sich als effiziente, zeitsparende und gut reproduzierbare Alternative für die ad-hoc Herstellung von Wasserstandards für die KF-Titration. Eine kurze Ultraschall-Behandlung von 30s mit voreingestellter Amplitude von 70% ergab mit allen drei untersuchten Extraktionsmitteln eine vergleichbare Extraktionsausbeute ("Recovery") wie 60-minütiges horizontales Schütteln. Für Proben mit stärker variierender Zusammensetzung kann die Ultraschall-Behandlung stärker standardisiert werden, wenn anstelle der Zeitsteuerung die dissipierte Ultraschall-Energie (in Ws) als Stopp-Kriterium definiert wird. Der gesamte Workflow inklusive Wägen, ultraschall-unterstütztem Extrahieren und KF-Titration dauerte nur 10-15 min. Dies bedeutet eine signifikante Zeitersparnis von 30-60 min im Vergleich zum konventionellen Workflow auf der Basis von horizontalem Schütteln, während die Reproduzierbarkeit beider Methoden vergleichbar gut war. Interessanterweise konnte bei Verwendung von Methanol als Extraktionsmittel keine der beiden Methoden das Hydratwasser vollständig extrahieren, wenn 50-800 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Extraktionsmittel eingesetzt wurden. Bei Verwendung von DMSO als Extraktionsmittel war Ultraschall unter allen getesteten Bedingungen effektiver als Schütteln und erreichte bei einer Tartratmenge von 20mg eine Recovery von fast 100%. Ethylacetat erwies sich als ungeeignetes Extraktionsmittel. Die beste Reproduzierbarkeit und geringsten Messfehler bei der KF-Titration wurden mit Wasserstandards erzielt, die mit 100-400 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Methanol angesetzt wurden. So betrug die Wasserkonzentration des mit Ultraschall hergestellten Standards aus 100 mg Natriumtartrat Dihydrat pro 5 mL Methanol 1666 ± 28 ppm (N=5, n=3). Diese eignen sich gut für die Funktionskontrolle in der coulometrischen KF-Titration.

Literature

May JC, Wheeler RM, Grim E; The Gravimetric Method for the Determination of Residual Moisture in Freeze-Dried Biological Products (1989) *Cryobiology* 26, 277-284



Fraunhofer

IZI-BB

Am Mühlenberg 13

14476 Potsdam

GERMANY

www.izi-bb.fraunhofer.de



SYNERGIE PARK

7 avenue Pierre et Marie Curie

59260 Lezennes

FRANCE

www.sinaptec.fr

sinaptec@sinaptec-ultrasonic.com

Telefon: +33 (0)3 20 61 03 89