

Titrimetrische Analytik pharmazeutischer Rohstoffe

Validierung von Titrationsmethoden und Qualifizierung eines Titriergeräts am Beispiel der Gehaltskontrolle von Ephedrin-Hydrochlorid

Einführung

Die Titration ist im Gegensatz etwa zur HPLC eine Absolutmethode und erfordert demzufolge keine Referenzmethode. Die Reaktionsabläufe sind bekannt, die Titration verläuft streng stöchiometrisch und in der Regel sehr schnell. Wird ein Titriermittel mit bekanntem Titer verwendet, lässt sich der Gehalt der Probe direkt bestimmen. Dies gilt allerdings nur für Rohstoffe, nicht jedoch für Formulierungen, die weitere Komponenten enthalten, welche mit dem Titriermittel in ähnlicher oder gleicher Weise reagieren können.

Es ist nicht sinnvoll, die einzelnen Komponenten eines Analysengeräts oder -systems getrennt zu qualifizieren. Vielmehr wird das komplette Titrationssystem (Titriergerät, Bürette, Elektrode, Titrationsauswertung, eventuell Probenwechsler) einer Leistungsüberprüfung unterzogen. Die Qualifizierung des Titriergeräts und die Validierung der Titrationsmethode erfolgen gleichzeitig.

Allgemeines Vorgehen

Von der Probe – hier Ephedrin-Hydrochlorid (Ephedrin x HCl, $C_{10}H_{15}NO \times HCl$) – werden 5 bis 10 verschiedene Probenmengen auf 0,1 mg genau eingewogen (validierte Waage verwenden). Bei Verwendung einer 20-mL-Bürette sind die Einwaagen dabei so zu wählen, dass der Titriermittelverbrauch zwischen 2,5 und 15 mL liegt. Man löst die Probe im vorgeschriebenen Lösungsmittel, versetzt mit Hilfslösung und titriert anschliessend mit $c(\text{Titriermittel}) = 0,1 \text{ mol/L}$.

1 mL $c(\text{Titriermittel}) = 0,1 \text{ mol/L}$ entspricht 20,17 mg Ephedrin x HCl

Verwendete Geräte und Zubehör

- GPD-Titrino 751
- Magnetrührer 2.728.0040
- 20-mL-Wechseinheiten 6.3014.223
- LL-Solvotrode 6.0229.100 [Bezugselektrolyt Tetraethylammoniumbromid $c(\text{TEABr}) = 0,4 \text{ mol/L}$ in Ethylenglycol (6.2320.000)] mit Elektrodenkabel 6.2104.020
- Metrodata-Software VESUV 3.0
- Eventuell Drucker mit Druckerkabel

Titration gemäss European Pharmacopoeia, 3rd Edition, Supplement 2001

Reagenzien

- Titriermittel: Natronlauge, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$, CO_2 -frei, wässrig
- Hilfslösung: Salzsäure, $c(\text{HCl}) = 0,01 \text{ mol/L}$, wässrig
- Lösungsmittel: Ethanol

Analyse

Die Probe wird ins Titriergefäss eingewogen (5 bis 10 verschiedene Einwaagen zwischen 100 und 350 mg) und in 50 mL Ethanol gelöst. Man gibt 5,0 mL $c(\text{HCl}) = 0,01 \text{ mol/L}$ zu und titriert mit $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/L}$ bis nach dem zweiten Äquivalenzpunkt.

Bemerkungen

- Ethanol ist nicht immer blindwertfrei. Da kleine Blindwerte schlecht zu bestimmen sind, wird dem Lösungsmittel Salzsäure zugesetzt. EP1 entspricht dann der Salzsäure plus dem etwaigen Blindwert, EP2 dem Ephedrin-Hydrochlorid.
- Die Solvotrode bedarf einer speziellen Behandlung. Sie wird über Nacht in dest. H₂O gestellt, damit sich eine optimale Quellschicht bilden kann. Dann lockert man das Schliffringdiaphragma, lässt etwas Elektrolyt ausfliessen und drückt den Schliff wieder an. Man spült kurz mit dest. H₂O und tupft die Elektrode mit einem weichen Papiertuch trocken (nicht reiben).

Berechnung

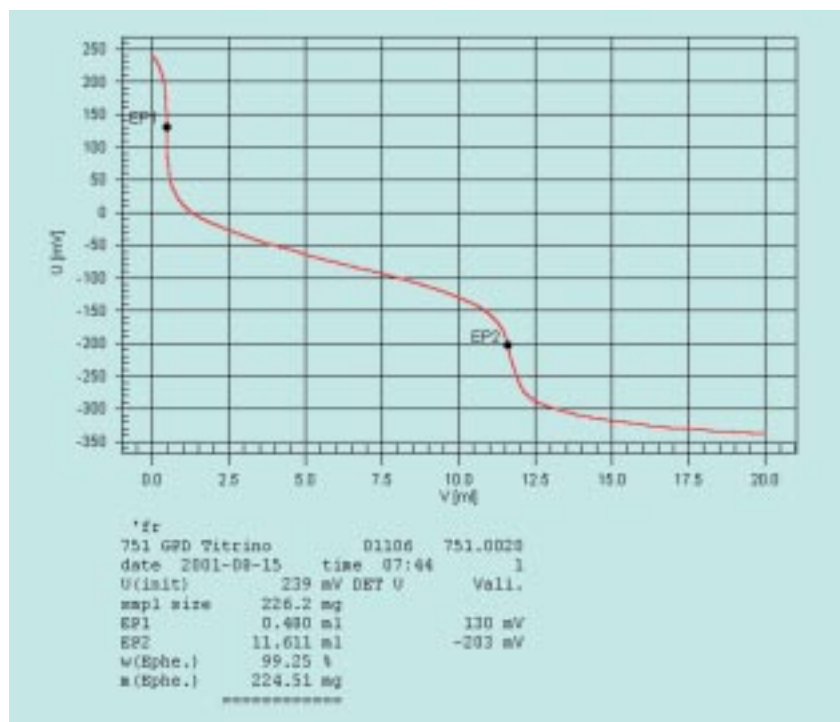
$$m(\text{Ephedrin x HCl}) \text{ in mg} = (\text{EP2} - \text{EP1}) * \text{C01} * \text{C30}$$

EP1 = Titriermittelverbrauch bis zum ersten EP in mL

EP2 = Titriermittelverbrauch bis zum zweiten EP in mL

C01 = 20,17 (Äquivalentgewicht von Ephedrin x HCl in mg/mL)

C30 = Titer des Titriermittels



Titrationkurve und Ergebnisreport für die Bestimmung von Ephedrin-Hydrochlorid gemäss European Pharmacopoeia.

Ergebnisse der Titrations gemäss European Pharmacopoeia

	Einwaage / mg	EP1 / mL	EP2 / mL	EP2 – EP1 / mL	m(Ephedrin x HCl) / mg	w(Ephedrin x HCl) / %
1	226,2	0,480	11,611	11,131	224,51	99,25
2	166,1	0,489	8,708	8,219	165,78	99,81
3	292,2	0,488	14,931	14,443	291,32	99,70
4	109,8	0,483	5,907	5,424	109,40	99,64
5	171,3	0,491	8,995	8,504	171,53	100,13
6	217,3	0,497	11,213	10,716	216,14	99,47
7	321,5	0,510	16,355	15,845	319,59	99,41
8	97,0	0,494	5,283	4,789	96,59	99,58
9	167,3	0,501	8,784	8,283	167,07	99,86
10	223,0	0,498	11,504	11,006	221,99	99,55

Titration gemäss USP 24 NF 19 (2000)

Reagenzien

- Titriermittel: Perchlorsäure, $c(\text{HClO}_4) = 0,1 \text{ mol/L}$ in Eisessig
- Hilfslösung: Quecksilber(II)-acetat-Lösung:
6,0 g Hg(II)-acetat werden in Eisessig gelöst und damit auf 100 mL aufgefüllt.
- Lösungsmittel: Eisessig, $w(\text{CH}_3\text{COOH}) \geq 96\%$

Analyse

Die Probe wird ins Titriergefäss eingewogen (5 bis 10 verschiedene Einwaagen zwischen 100 und 350 mg) und in 25 mL Eisessig gelöst. Man gibt 6 mL Quecksilber(II)-acetat-Lösung zu und titriert mit $c(\text{HClO}_4) = 0,1 \text{ mol/L}$ bis nach dem ersten Äquivalenzpunkt.

Bemerkungen

- Aminhydrochloride werden durch Zugabe von Hg(II)-acetat umgesetzt. Es entsteht HgCl_2 und das entsprechende Aminacetat, welches sich gut mit HClO_4 titrieren lässt.

Quecksilberverbindungen sind problematisch für die Umwelt und müssen sachgerecht entsorgt werden!

- Die Solvotrode bedarf einer speziellen Behandlung. Sie wird über Nacht in Eisessig gestellt, damit sich ihre Gelschicht optimal an dieses Medium anpassen kann. Dann spült man kurz mit Ethanol, lockert das Schlifffdiaphragma, lässt etwas Elektrolyt ausfliessen und drückt den Schliff wieder an. Zum Spülen schwenkt man die Elektrode kurz in Eisessig.

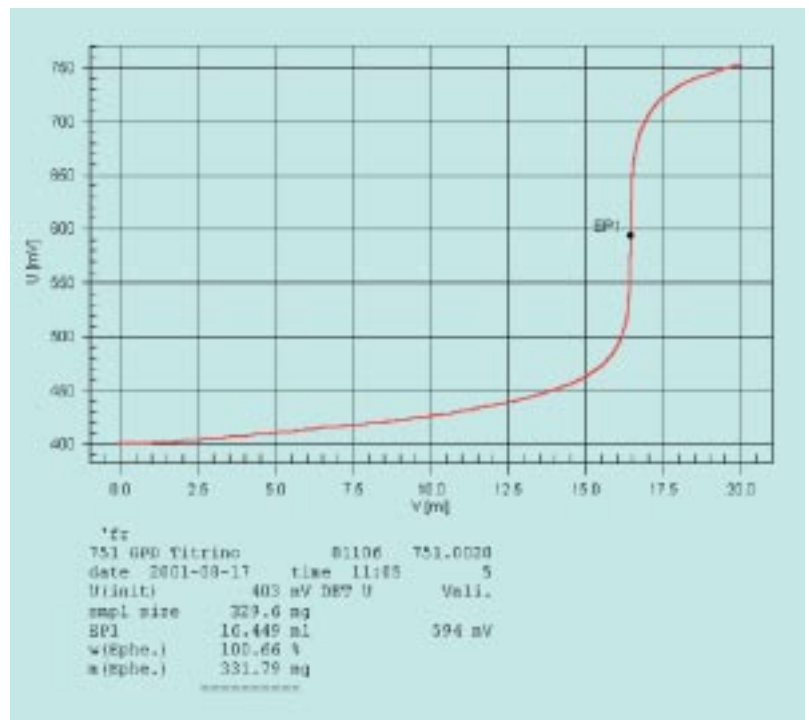
Berechnung

$$m(\text{Ephedrin x HCl}) \text{ in mg} = \text{EP1} \cdot \text{C01} \cdot \text{C30}$$

EP1 = Titriermittelverbrauch in mL

C01 = 20,17 (Äquivalentgewicht von Ephedrin x HCl in mg/mL)

C30 = Titer des Titriermittels



Titrationkurve und Ergebnisreport für die Bestimmung von Ephedrin-Hydrochlorid gemäss USP 24 NF 19.

Ergebnisse der Titrations gemäss USP 24 NF 19

	Einwaage / mg	EP1 / mL	m(Ephedrin x HCl) / mg	w(Ephedrin x HCl) / %
1	103,0	5,099	102,85	99,85
2	220,7	11,048	222,84	100,97
3	156,7	7,845	158,23	100,98
4	329,6	16,449	331,78	100,66
5	241,5	12,079	243,63	100,88
6	323,0	16,047	323,67	100,21
7	101,3	5,085	102,56	101,25
8	134,9	6,742	135,99	100,81
9	210,9	10,529	212,37	100,70
10	187,3	9,368	188,95	100,88

Statistische Berechnungen und Interpretation der Ergebnisse

An dieser Stelle sei auf das Metrohm Application Bulletin Nr. 252 hingewiesen. Es enthält alle benötigten Berechnungsformeln sowie ein Beispiel eines Validierungsprotokolls.

Die in den folgenden Abschnitten angegebenen Beurteilungskriterien (Grenzwerte) werden nur unter optimalen Bedingungen erreicht, etwa bei einer wässrigen potentiometrischen Titration unter Verwendung eines Sekundärstandards (z.B. Titerbestimmung). Für nichtwässrige Titrationsmethoden mit nicht zertifizierten Probenmaterialien gelten andere Kriterien. Hier bleibt es dem Anwender überlassen, eigene, praxisgerechte Grenzen festzulegen, innerhalb derer eine Methode bei vernünftigem Zeitaufwand als genügend robust und präzise anerkannt wird.

Die beiden beschriebenen Pharmakopöe-Methoden zur titrimetrischen Bestimmung von Ephedrin-Hydrochlorid wurden von den entsprechenden Gremien in Ringversuchen getestet und für gut befunden. Unterschiede zwischen den beiden Titrationsmethoden können Sie der tabellarischen Übersicht am Ende dieses Artikels entnehmen, in der die Validierungs-Kenndaten zusammengefasst sind. Die angegebenen Werte wurden bei einer Zehnfachbestimmung mit unterschiedlichen Probeneinwaagen (siehe oben) erzielt.

a) Lineare Regression: Titriermittelverbrauch als Funktion der Einwaage

Die Probeneinwaage wird als x-Koordinate (unabhängige Variable) und der Titriermittelverbrauch als y-Koordinate (abhängige Variable) aufgetragen. Die lineare Regression legt durch die Messpunkte eine Gerade und zwar so, dass die Summe der Quadrate der einzelnen Abweichungen minimal ist. Die Regressionsgerade wird beschrieben durch die Gleichung $y = bx + a$, wobei «a» für den y-Achsenabschnitt und «b» für die Steigung der Geraden steht.

Systematische Fehler der Titrationsmethode äussern sich in einer signifikanten Abweichung der Nullpunkt-Koordinate der y-Achse (Achsenabschnitt), d.h. die berechnete Regressionsgerade aus den Wertepaaren [Einwaage, Titriermittelverbrauch] schneidet die y-Achse nicht genau im Ursprung des Koordinatensystems.

Falls der y-Achsenabschnitt a_{sys} grösser als $\pm 0,010 \text{ mL}$ ($\pm 10 \mu\text{L}$) ist, muss davon ausgegangen werden, dass ein systematischer Fehler vorliegt (ein etwaiger Blindwert ist von a_{sys} zu subtrahieren).

b) Lineare Regression (Streudiagramm): Massenanteil w(Ephedrin x HCl) als Funktion des Titriermittelverbrauchs

Berechnung

Titration gemäss European Pharmacopoeia:

$$w(\text{Ephedrin x HCl}) \text{ in } \% = (\text{EP2} - \text{EP1}) * \text{C01} * \text{C02} * \text{C30} / \text{C00}$$

Titration gemäss USP 24 NF 19:

$$w(\text{Ephedrin x HCl}) \text{ in } \% = \text{EP1} * \text{C01} * \text{C02} * \text{C30} / \text{C00}$$

C00 = Probeneinwaage in mg

EP1 = Titriermittelverbrauch bis zum ersten EP in mL

EP2 = Titriermittelverbrauch bis zum zweiten EP in mL

C01 = 20,17 (Äquivalentgewicht von Ephedrin x HCl in mg/mL)

C02 = 100 (Umrechnungsfaktor für %)

C30 = Titer des Titriermittels

Eine weitere Möglichkeit zur Aufdeckung von systematischen Fehlern ist die Berechnung und grafische Darstellung der Regressionsgeraden aus den Wertepaaren [Titriermittelverbrauch, Massenanteil w(Ephedrin x HCl)]. Dieses Diagramm vermittelt darüber hinaus einen guten visuellen Eindruck von der Streuung der Resultate.

Signifikante positive oder negative Steigungen der Regressionsgeraden $y = bx + a$ deuten auf eine scheinbare Abhängigkeit des Massenanteils von der Grösse des Titriermittelverbrauchs bzw. der Probeneinwaage hin.

Im Idealfall sollte die Steigung b_{sys} der Regressionsgeraden hier 0,000 betragen, d.h. die Gerade sollte parallel zur x-Achse verlaufen und der Gleichung $y = \text{theoretischer Wert} = 100\%$ entsprechen.

Falls b_{sys} grösser als $\pm 0,005 \text{ mL}^{-1}$ ist, muss auch hier ein methodenbedingter, systematischer Fehler angenommen werden. Nach Korrektur der gefundenen Werte (Titriermittelverbräuche) um a_{sys} und erneuter Berechnung der Massenanteile $w(\text{Ephedrin x HCl})$ fällt die neue Steigung b_{sys} viel besser aus. Diese starke Verbesserung zeigt sich auch bei erneuter Darstellung der Regressionsgeraden.

c) Präzision (Wiederholbarkeit) und Richtigkeit

Für die Validierung von Analysemethoden sind die Präzision (Wiederholbarkeit) und die Richtigkeit der Messwerte relevant.

Die **Wiederholbarkeit** der Messung wird durch die relative Standardabweichung s_{rel} ausgedrückt. s_{rel} sollte kleiner als 0,3% sein. (Unter optimalen Bedingungen sind auch relative Standardabweichungen von 0,1% und darunter erzielbar.)

Die Berechnung der **Richtigkeit** stützt sich auf den vom Hersteller garantierten Gehalt. [Genau genommen müsste mit Primär- oder Sekundärstandards (Urtitersubstanzen) verglichen werden.] Die relative Abweichung vom theoretischen Wert sollte $\pm 1\%$ nicht übersteigen.

Vergleich der beiden Titrationsmethoden

	European Pharmacopoeia	USP 24 NF 19
y-Achsenabschnitt $a_{sys} / \mu\text{L}$ (lineare Regression a)	28,7	30,4
Steigung b_{sys} / mL^{-1} (lineare Regression b)	-0,0253	-0,0147
Mittelwert $w(\text{Ephedrin x HCl}) / \%$	99,64	100,72
Wiederholbarkeit relative Standardabweichung $s_{rel} / \%$	0,25	0,40

*Man kann
niemanden
überholen,
wenn man
in seine
Fussstapfen tritt.*

François Truffaut