

Titrimetrische Gehaltsbestimmung

Der 815 Robotic Titration Soliprep mit integriertem Hochfrequenz-Homogenisierer arbeitet Ihre Proben vollständig automatisiert auf und analysiert sie mittels Titration.



Vollständig automatisierte Probenvorbereitung und Analyse von Tabletten

Die pharmazeutische Industrie ist auf verlässliche Analyseergebnisse angewiesen. Mit dem 815 Robotic Soliprep bietet Ihnen Metrohm ein zuverlässiges System zur vollständig automatisierten Probenvorbereitung mit anschließender Titration an. Dank dem integrierten Hochfrequenz-Homogenisierer eignet es sich bestens zur Analyse von festen Proben, zum Beispiel Tabletten. Die Resultate der Gehaltsbestimmung weisen eine hervorragende Genauigkeit und sehr kleine Standardabweichungen auf.

Bei der Herstellung von Pharmazeutika in Tablettenform ist sicherzustellen, dass jede Tablette eines Batches innerhalb enger Grenzen denselben, auf der Verpackung angegebenen Wirkstoffgehalt aufweist. Für die exakte Bestimmung der Wirkstoffe stehen verschiedene Analysemethoden zur Verfügung. Zahlreiche SOPs (Standard Operating Procedures, Standard-Arbeitsanweisungen) der European Pharmacopoeia sowie der United States Pharmacopoeia basieren auf titrimetrischen Bestimmungsmethoden. Oft lässt ein Wirkstoff aufgrund seiner chemischen Eigenschaften eine titrimetrische Quantifizierung zu; in diesen Fällen kann auf teure und komplizierte LC-MS- oder GC-MS-Methoden verzichtet werden.

Resultate hoher Genauigkeit bedingen eine sorgfältig und reproduzierbar durchgeführte Probenvorbereitung. In Abhängigkeit von Form und Beschichtung der Tablette sowie der darin enthaltenen Füllstoffe und der Wirkstoffkonzentration sind vor der eigentlichen Analyse unterschiedliche Probenvorbereitungsschritte erforderlich. Der erste Schritt der Probenvorbereitung beinhaltet immer die Homogenisierung der Tablette in einem dafür geeigneten Lösungsmittelgemisch. Je nach Analysetechnik sind noch weitere Schritte wie Verdünnen oder Pipettieren unumgänglich. Die meisten Laboratorien führen diese Zeit raubenden und oftmals umständlichen Arbeitsschritt noch manuell durch. Aufgrund unterschiedlichster Einflüsse und kleinster Abweichungen in der Durchführung der manuellen Probenaufbereitung können Verschleppungen und Kontaminationen auftreten, die zu fehlerhaften Resultaten führen.

All diese Probleme lassen sich durch Vereinheitlichung der Probenvorbereitung mittels eines vollständig automatisierten Systems eliminieren – jede Probe wird exakt gleich behandelt. Sowohl die Bestimmung der Wirkstoffkonzentration einer einzelnen Tablette als auch die Überprüfung der Einhaltung der Qualitätsanforderungen im gesamten Batch mittels Stichproben kann mit demselben automatisierten System durchgeführt werden. Nebst einer deutlich besseren Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Resultate trägt die Automation zu einem höheren Probendurchsatz, zu mehr Sicherheit im Labor sowie zur Einsparung von Chemikalien bei. Zudem steht dem Laborpersonal mehr Zeit für andere Aufgaben zur Verfügung.



Der Hochfrequenz-Homogenisierer Polytron ermöglicht die vollständig automatisierte Aufarbeitung von festen Proben, beispielsweise Tabletten. Nach der Lösungsmittelzugabe zerkleinert er die Tabletten direkt im Probenbecher.

Instrumentelles

Das vollständig automatisierte System zur Gehaltsbestimmung von Inhaltsstoffen in Tabletten besteht im Wesentlichen aus einem Probenwechsler mit integriertem Homogenisierer, einem Titrator mit kombinierter pH-Elektrode, Dosiereinheiten für die Lösungsmittelzugabe sowie einer Schlauchquetschpumpe zum Absaugen des Becherinhalts nach erfolgter Bestimmung. Die Steuerungs- und Datenerfassung erfolgt mit der Titrationssoftware **tiamo™**.

Das System im Überblick

- 815 Robotic Titration Soliprep
- integrierter Hochfrequenz-Homogenisierer Polytron 1300D
- externe Waschstation
- 809 Titrande
- Zwei 800 Dosinos mit Dosiereinheit
- 6.0229.100 Solvotrode
- 772 Pump Unit
- Bis zu 59 Probengefäße mit einem Volumen von 50 bis 100 mL
- Steuerungs- und Datenerfassungssoftware **tiamo™**

Der Hochfrequenz-Homogenisierer ist in zwei Varianten erhältlich: mit kurzen Messern (Standardausführung) oder mit vorstehenden Messern. Die Variante mit den vorstehenden Messern (Länge des Aggregats: 157 mm) wird bei Proben eingesetzt, die zerkleinert werden sollen, während das Aggregat ohne vorstehende Messer für die Homogenisierung von Pasten und Suspensionen gedacht ist. Der Polytron-Homogenisierer wird von der Schweizer Firma Kinematica AG hergestellt und speziell den Bedürfnissen von Metrohm angepasst.

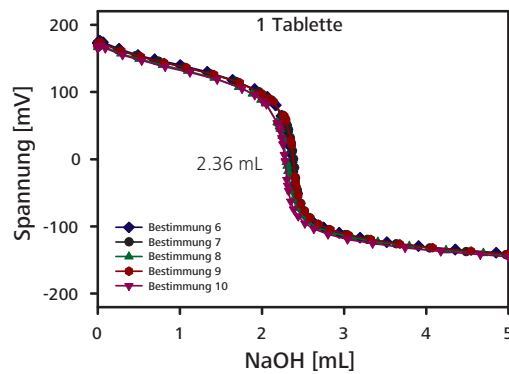
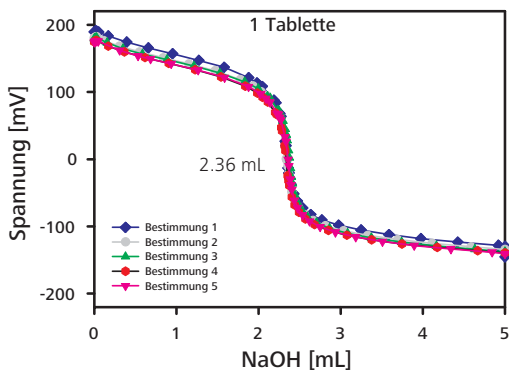
Probenvorbereitung und Titration

Die vollständig automatisierte Aufarbeitung einer Tablette mit anschließender titrimetrischer Gehaltsbestimmung eines Inhaltsstoffs erfordert nur wenig Zeit; im weiter unten vorgestellten Beispiel gerade mal acht Minuten¹. Die einzigen manuellen Schritte sind das Einwiegen der Probe, die Eingaben in die Probetabelle und die Platzierung der Probe auf dem Rack des Probenwechslers. Den Rest erledigt das System ohne Ihr Zutun. Die Titration mit einer starken Base eignet sich beispielsweise zur Bestimmung von Substanzen mit einer phenolischen Hydroxylgruppe.



Aggregat des Hochfrequenz-Homogenisierers mit kurzen Messern (links) oder vorstehenden Messern (rechts).

¹ Der zeitliche Aufwand für die Homogenisierung ist von der Härte und Löslichkeit der zu untersuchenden Tabletten abhängig und bestimmt maßgeblich die Gesamtdauer der Analyse.



Titrationenkurven der Gehaltsbestimmung mit einer Tablette pro Einwaage. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Titrationenkurven der zehn Einzelmessungen auf zwei Grafiken verteilt dargestellt.

Bestimmung Nr.	Probeneinwaage mg	Titrantverbrauch mL NaOH	Wirkstoffgehalt	
			%	mg/Tabl.
1	256.6	2.3523	38.53	98.9
2	256.6	2.3653	38.74	99.4
3	259.1	2.3630	38.65	100.2
4	255.1	2.3436	38.61	98.5
5	256.0	2.3763	39.01	99.9
6	258.4	2.3633	38.44	99.3
7	260.2	2.3971	38.72	100.7
8	260.6	2.3252	37.50	97.7
9	261.0	2.3936	38.54	100.6
10	249.5	2.2934	38.63	96.4
			Mittelwert	99.2
			RSD	1.36%

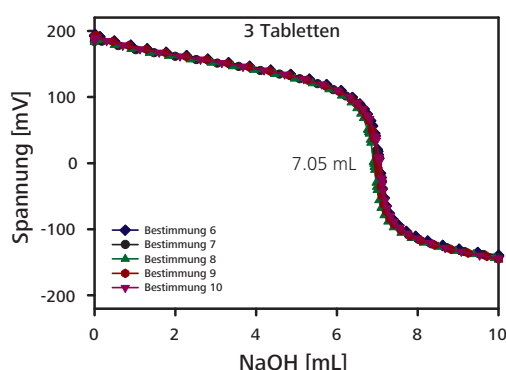
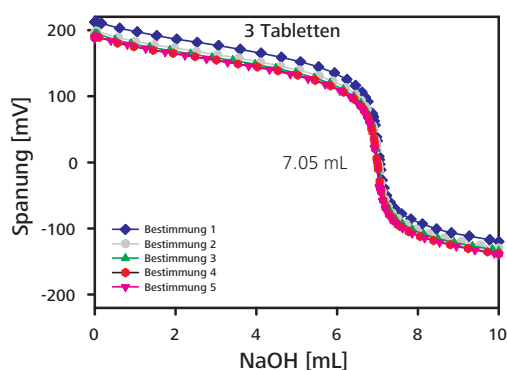
Tabelle: Ergebnisse der zehn Titrationen mit jeweils einer Tablette pro Einwaage

Der Ablauf im Detail

- Wägen Sie die gewünschte Anzahl Tabletten im Probenbecher ein.
- Platzieren Sie alle benötigten Becher auf dem Rack und tragen Sie alle relevanten Daten wie Einwaagen, Positionen auf dem Rack und jeweilige Probenbezeichnung in die Probentabelle der Titrationsoftware **tiamo™** ein.
- Zu Beginn der Probenvorbereitung wird die Probe an der ersten Arbeitsstation automatisch mit 60 mL Methanol versetzt. Dies erfolgt über einen Dosino mit Dosiereinheit, welche direkt und platzsparend auf der Reagenzflasche montiert sind. Direkt im Anschluss zerkleinert der integrierte Hochfrequenz-Homogenisierer Polytron nun mit 25'000 Umdrehungen/min wahlweise eine oder drei Tabletten in 90 oder 120 Sekunden (variiert mit der Härte und Löslichkeit der zu untersuchenden Tabletten).
- Zur homogenisierten Probe wird 10 mL Reinstwasser zugegeben. Die nun fertig aufgearbeitete Probenlösung wird sofort mit einer NaOH-Lösung ($c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/L}$) titriert, und zwar an der zweiten Arbeitsstation mit Hilfe eines 809 Titrandos und einer Solvotrode.
- Noch während die Titration läuft, wird der Homogenisierer voll automatisch in der externen Waschstation gespült und gereinigt.
- Nach Beendigung der Titration wird der Becher vom System entleert und die pH-Elektrode gereinigt. Das Absaugen und vollständige Entleeren der Becher erfolgt mit der 772 Pump Unit.

Applikationsbeispiel: Wirkstoffbestimmung

Im Folgenden wird die Bestimmung des Wirkstoffgehalts von Tabletten gezeigt, die zur Senkung eines erhöhten Harnsäurespiegels im Blut verabreicht werden. Der Wirkstoff enthält eine phenolische Hydroxylgruppe und ist daher eine schwache Säure, deren Stärke mit derjenigen der Essigsäure vergleichbar ist. Nach dem Abspalten des Protons wird die negative Ladung des Sauerstoffatoms über den gesamten Ring delocalisiert (Resonanzstabilisierung). Je stabiler das durch Deprotonierung erhaltene Anion ist, desto wahrscheinlicher ist seine Bildung. Folglich ist die Titration mit NaOH-Lösung eine gut geeignete und komfortable Methode zur Bestimmung des Wirkstoffgehalts. Die gesamte Bestimmung mit Probenvorbereitung dauert gerade mal acht Minuten.



Titrationen der Gehaltsbestimmung mit drei Tabletten pro Einwaage. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Titrationskurven der zehn Einzelmessungen auf zwei Grafiken verteilt dargestellt.

Bestimmung Nr.	Probeneinwaage [mg]	Titrantverbrauch [mL NaOH]	Wirkstoffgehalt	
			%	mg/Tabl.
1	769.7	7.0266	38.37	98.4
2	771.2	6.9992	38.14	98.1
3	768.2	7.1721	39.24	100.5
4	768.0	7.0305	38.47	98.5
5	771.4	7.1075	38.72	99.6
6	774.3	7.0507	38.27	98.8
7	772.6	7.015	38.16	98.3
8	766.0	6.9506	38.14	97.4
9	773.5	7.0211	38.15	98.4
10	776.6	7.0817	38.32	99.2
			Mittelwert	98.7
			RSD	0.88%

Tabelle: Ergebnisse der zehn Titrationen mit jeweils drei Tabletten pro Einwaage

Auswertung

Die Berechnung des Wirkstoffgehalts einer Tablette erfolgt gemäss der unten stehenden Formel unter Verwendung der folgenden Parameter: Verbrauch an Titrant (NaOH-Lösung), Titer und Molarität des Titranten und Probeneinwaage.

$$\text{Wirkstoffgehalt [\%]} = \frac{EP1 \times c(\text{NaOH}) \times \text{Titer} \times MW(\text{Wirkstoff})}{C00} \times 100$$

EP1	Verbrauch an Titrant bis zum Erreichen des Endpunkts in mL
c(NaOH)	Konzentration des NaOH-Titranten in mol/L
Titer	Titer des NaOH-Titranten (dimensionslos)
MW(Wirkstoff)	Molmasse des Wirkstoffs in g/mol
C00	Probeneinwaage in mg

Resultate

Zur Bestimmung des Wirkstoffgehalts wurden zwei Messreihen mit je 10 Proben aufgenommen. Bei der ersten Messreihe wurde eine Tablette pro Einwaage, bei der zweiten Messreihe wurden drei Tabletten pro Einwaage aufgearbeitet und titriert.

Erste Messreihe: Bestimmung mit je einer Tablette pro Einwaage

Titrationen der Gehaltsbestimmung mit einer Tablette pro Einwaage. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die Titrationskurven der zehn Einzelmessungen auf zwei Grafiken verteilt dargestellt.

Die zehnmalige Bestimmung einer respektive dreier Tabletten ergab einen Wirkstoffgehalt von 99.2 respektive 98.7 mg pro Tablette. Durch die Verwendung von jeweils drei Tabletten pro Bestimmung anstelle einer einzigen verbessert sich die relative Standardabweichung von 1.36 auf 0.88%. Die Resultate stimmen hervorragend mit dem vom Hersteller angegebenen Wert von ca. 100 mg/Tablette überein.

Fazit

Mit dem 815 Robotic Titration Soliprep können bis zu 59 einzelne Proben vollständig automatisiert aufgearbeitet und titriert werden. Dank dem integrierten Homogenisierer eignet sich das System bestens für feste Proben wie beispielsweise Tabletten. Die Resultate überzeugen durch ihre hervorragende Genauigkeit und äusserst geringe relative Standardabweichung. Darüber hinaus können Sie mit dem vollständig automatisierten System viel Zeit sparen. Aufgrund ihrer Flexibilität lassen sich die drei Probenwechsler der 815 Robotic-Soliprep-Familie nicht nur für titrimetrische Anwendungen sondern auch in der Probenvorbereitung für die IC, HPLC, ICP oder Voltammetrie einsetzen (siehe auch Artikel auf Seite 20). Der Hochfrequenz-Homogenisierer ist fester Bestandteil jeder Modellvariante.