

Auswertungsmöglichkeiten und Optimierung potentiometrisch und photometrisch indizierter Titrationsen

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Nadja Kos
aus Berlin

Februar 2010

Die vorliegende Arbeit wurde von 2003 bis 2009 unter der Leitung von Prof. P. Surmann am Institut für Pharmazie der Freien Universität Berlin angefertigt.

1. Gutachter: Prof. Dr. P. Surmann
2. Gutachter: Prof. Dr. M. Melzig

Disputation am: 11. Juni 2010

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bedanken bei:

Prof. P. Surmann für die Überlassung des interessanten Themas, die allzeit gewährte Unterstützung und Diskussionsbereitschaft und den gewährten Freiraum zum selbstständigen Arbeiten,

Dr. P. Witte für seine große Unterstützung bei der Behebung vieler technischer Probleme und für viele interessante Diskussionen,

allen technischen Mitarbeitern und Doktoranden aus dem Arbeitskreis für ein stets herzliches Arbeitsklima und ein immer offenes Ohr für Probleme,

meinen Vater Prof. Dr. Olaf. Kos für seinen steten Glauben an meine Arbeit und seine konstruktiven Hinweise auch in für ihn schwierigen Zeiten und meiner Mutter Christine Kos für ihre Unterstützung während Studium und Promotion,

meinem Mann Stefan Kos für viele gewährte Freiräume und seiner Hilfsbereitschaft bei allen PC-Problemen und bei meinem Sohn Jakob für viele neue und schöne Lebenserfahrungen.

für meinen Vater ...

Inhalt

1	Einleitung	1
1.1	Allgemeines zur Titration	1
1.2	Potentiometrische Indikation.....	2
1.3	Photometrische Endpunkterkennung	2
1.4	Zielstellung	3
1.5	Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden	4
1.5.1	Bedeutung von Arzneistoffhydrochloriden	4
1.5.2	Möglichkeiten der Titration von Arzneistoffhydrochloriden.....	5
1.5.3	Präzisionsanforderungen bei der Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden im Ph. Eur.	6
2	Potentiometrische Indikation	8
2.1	Messprinzip und Sensoren	8
2.2	Prinzipieller Kurvenverlauf und Auswertung	9
2.3	Titrationsautomatisierung am Beispiel von Chininhydrochlorid	11
2.4	Probleme bei der Durchführung potentiometrischer Titrationsen	13
2.4.1	Allgemeine Problemübersicht	13
2.4.2	Bedeutung der Formierung der Elektroden	9
2.4.3	Testung unterschiedlicher Elektrodenglasarten am Beispiel von Chininhydrochlorid in Ethanol nach Ph. Eur	15
2.4.3.1	Verwendung einer hochohmigen Elektrode, U-Glas	15
2.4.3.2	Verwendung einer mittelohmigen Elektrode, T-Glas	17
2.4.3.3	Auswertung der Untersuchungsergebnisse	18
2.5	Einfluss der HCl-Zugabe auf die Potentialeinstellung und Präzision	19
2.5.1	Titration mit- und ohne HCl-Zugabe	19
2.5.2	Vergleich beider Titrationsvarianten.....	22
2.6	Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse.....	24

II

3	Alternative Lösungsmittel	25
3.1	Allgemeine Spezifikationen von Lösungsmitteln	25
3.2	Auswahl geeigneter Lösungsmittel	26
3.2.1	Verwendung von Isopropanol als Lösungsmittel	27
3.2.1.1	Versuchsordnung	27
3.2.1.2	Versuchsdurchführung	27
3.2.1.3	Versuchsergebnisse	28
3.2.2	Verwendung von Aceton als Lösungsmittel	30
3.2.2.1	Probleme bei der Versuchsdurchführung.....	30
3.2.2.2	Versuchsergebnisse	31
3.2.3	Verwendung von Methanol als Lösungsmittel	31
3.2.3.1	Versuchsdurchführung	32
3.2.3.1	Versuchsergebnisse	32
4	Spezifische Aspekte der Störfaktorenminimierung.....	33
4.1	Folgeprobleme beim Einsatz organischer Lösungsmittel	33
4.2	Arbeiten mit einer Ag/AgCl-Elektrode ohne Überführung.....	33
4.3	Abschirmung des Messmediums.....	35
5	Titration von Chininhydrochlorid unter optimierten Bedingungen ..	36
5.1	Vorbetrachtungen	37
5.2	Versuchsdurchführung	37
5.3	Auswertung und Interpretation der Ergebnisse	38
6	Titration diverser Arzneistoffe mit den pKs-Werten 4,84; 6,4; 8,5; 9,0 und 11,5	42
6.1	Titration von Procainhydrochlorid unter optimierten Bedingungen	42
6.1.1	Allgemeines	42
6.1.2	Versuchsdurchführung	42
6.1.3	Auswertung und Interpretation der Ergebnisse	43
6.2	Betrachtung von Arzneistoffen mit ungünstigeren pKs-Werten	45
6.2.1	Titration von Papaverinhydrochlorid	45
6.2.2	Titration von Guanethidinmonosulfat	47

6.2.3	Titration von Metforminhydrochlorid	48
6.3	Titration von zweiprotonigen Kationensäuren	49
6.3.1	Versuchdurchführung	49
6.3.2	Ergebnisproblematik	49
6.3.3	Alternative Bestimmungsmethode	50
7	Optimierungsergebnisse	52
7.1	Zusammenfassung	52
7.2	Schlussfolgerung	52
7.2.1	Allgemeines	52
7.2.2	Glasmembran	53
7.2.3	Abschirmung	54
8	Photometrische Titrationskurven	56
8.1	Einführung.....	56
8.2	Grundlagen photometrischer Indizierung.....	56
8.3	Aufbau eines Dioden-Array-Spektrophotometers	58
8.4	Möglichkeiten der Durchführung photometrisch indizierter Titrationskurven	59
8.4.1	Lichtleiter	59
8.4.2	Mikrotitration	60
9	Kurvenformen photometrischer Titrationskurven	61
9.1	Historische Ansätze.....	61
9.2	Berechnung photometrischer Titrationskurven	61
9.3	Beeinflussung des Kurvenverlaufs durch den Indikator	63
9.4	Auswertungsmöglichkeiten photometrischer Titrationskurven	71
9.4.1	Vorüberlegungen zu Auswertungsverfahren	71
9.4.2	Knickpunktauswertung	71
9.4.3	Tangentenverfahren.....	72
9.4.4	Auswertung nach der Kreismethode	72
9.4.4.1	Variation der TUBBS- Methode	74
9.4.5	Differenzierte Titrationskurven	76
9.5	Ergebnisdiskussion.....	77

10	Auswerteverfahren und Kurvenformen	78
10.1	Vorbetrachtungen	78
10.2	Titration von Procainhydrochlorid gegen Kresolrot	78
10.2.1	Durchführung	78
10.2.2	Varianten der Kurvenauswertung	79
10.2.2.1	Testung verschiedener Wellenlängen	81
10.3	Titration von Procainhydrochlorid gegen Thymolblau	84
10.3.1	Durchführung	84
10.3.2	Varianten der Kurvenauswertung	84
10.3.2.1	Testung verschiedener Wellenlängen	86
10.4	Auswertung der Ergebnisse	89
11	Photometrische Mikrotitration	91
11.1	Vorbetrachtung	90
11.2	Photometrische Bestimmung von Procainhydrochlorid	92
11.2.1	Titration gegen den Indikator Thymolblau	92
11.2.1.1	Durchführung	92
11.2.1.2	Ergebnisse	92
11.2.2	Titration gegen den Indikator Kresolrot	94
11.2.2.1	Durchführung	94
11.2.2.2	Ergebnisse	94
11.3	Photometrische Bestimmung von Chininhydrochlorid	96
11.3.1	Titration gegen den Indikator Thymolblau	96
11.3.1.1	Durchführung	96
11.3.1.2	Ergebnisse	96
11.3.2	Titration gegen den Indikator Kresolrot	99
11.3.2.1	Durchführung	99
11.3.2.2	Ergebnisse	99
11.4	Auswertung der Ergebnisse	102
12	Photometrische Titrationsen mit Hilfe eines Lichtleiters	105
12.1	Vorteile der Messung mittels Lichtleiter	105
12.2	Probleme bei der Signalaufnahme durch Lichtleiter.....	105

12.2.1	Aufbau einer Tauchsonde	105
12.2.2	Grafische Darstellung einer Titration mit Indizierung durch einen Lichtleiter .	106
12.3	Maßnahmen zur Verbesserung der Signalqualität	108
12.3.1	Analyse der Messprobleme	108
12.3.2	Optische Abschirmung des Strahlenganges	108
12.3.3	Untersuchung der Messunruhen auf statistische Schwankungen	109
12.3.3.1	Vorüberlegungen	109
12.3.3.2	Durchführung	110
12.3.3.3	Auswertung der Ergebnisse	114
12.3.4	Auswertung der Optimierungsmaßnahmen	114
12.4	Versuch der Kurvenauswertung bei Indizierung durch einen Lichtleiter	116
12.4.1	Vorüberlegung	116
12.4.2	Titration von Chininhydrochlorid in Isopropanol, Indikator: Kresolrot	116
12.4.2.1	Durchführung	116
12.4.2.2	Auswertung	117
12.4.2.3	Ergebnisse	119
12.4.3	Titration von Chininhydrochlorid in Aceton, Indikator: Kresolrot	119
12.4.3.1	Durchführung	119
12.4.3.2	Auswertung	119
12.4.4	Titration von Procainhydrochlorid, Indikator: Thymolblau	121
12.4.4.1	Vorüberlegung	121
12.4.4.2	Durchführung	121
12.4.4.4	Auswertung	121
12.4.5	Zusammenfassung der Ergebnisse	124
12.4.5.1	Diskussion der Auswertungsverfahren	124
12.4.5.2	Überlegungen zur Kurvenform	125
14	Abschlussbetrachtungen	126
14.1	Zusammenfassung	126
14.2	Ausblick	127
Abstract	129

Anhang	131
Literaturverzeichnis	131
Geräteverzeichnis	136
Abkürzungsverzeichnis	137
Publikationen	139

Lebenslauf

1 Einleitung

1.1 Allgemeines zur Titration

Titrationen gelten seit langer Zeit als Standardmethoden zur Gehaltsbestimmung in der Analytischen Chemie. Sie sind daher in vielen Pharmakopöen zur Gehaltsbestimmung von Arzneistoffen aufgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse sind richtig und präzise.

Ein Vorteil der Titration ist, dass sie ohne den Einsatz einer Referenzsubstanz erfolgen kann also kalibrierfrei ist, nur eine eingestellte Maßlösung ist erforderlich. Deshalb wird sie auch als Absolutmethode bezeichnet [1]. Durch ihre einfache Probenvorbereitung und schnelle Durchführbarkeit ohne den Einsatz von Referenzsubstanzen ist die Titration als robuste Methode vielseitig einsetzbar. Auch aufgrund der geringen Investitions-, Folge- und Personalkosten hat die Titration Vorteile gegenüber anderen Analyseverfahren [26].

Bei Titrationen wird die gelöste zu bestimmende Substanz aus einem chemisch definierten Anfangszustand in einen chemisch definierten Endzustand gebracht. Dies geschieht durch Erzeugen oder Zufügen eines Reagenzes oder einer Reagenzlösung [1].

Die Reaktion ist beendet, wenn beide Reaktionspartner in äquivalenten Mengen vorliegen. Aus den stöchiometrischen Verhältnissen der abgelaufenen Reaktion und der verbrauchten Menge an Reagenzlösung, lässt sich die umgesetzte Substanzmenge berechnen.

Als Voraussetzungen für die Anwendung dieses Analyseverfahrens sind unbedingt erforderlich:

- stöchiometrisch einheitlich ablaufende Reaktion
- schnelle Umsetzung
- keine Nebenreaktionen
- Möglichkeit zur Bestimmung des Äquivalenzpunktes.

Viele Normvorschriften der aktuellen Pharmakopöen beinhalten den Einsatz von Farbindikatoren zur Bestimmung des Endpunktes oder elektrochemische, meist potentiometrische, Indikationen.

Insbesondere bei nichtwässrigen potentiometrischen Titrationen treten immer wieder messtechnische Probleme auf [11]. Für die photometrische Titration gibt es bis heute kein allgemein gültiges Verfahren zur Automatisierung und Auswertung. Daher verlieren beide Verfahren an Bedeutung zugunsten anderer quantitativer Analyseverfahren, wie z.B. HPLC. Diese sind jedoch besonders für kleinere Labore apparativ sehr aufwendig und kostenintensiv.

1.2. Potentiometrische Indikation

Die Potentiometrie ist ein vielgenutztes Verfahren zur Bestimmung des Endpunktes einer Titration. Die erste potentiometrische Säure-Base-Titration erfolgte 1897 mit Hilfe einer Wasserstoffelektrode durch Wilhelm Böttger [35]. Seither errang die potentiometrische Titration immer mehr Bedeutung. Die erste Monografie über die potentiometrische Titration erschien im Jahre 1923 von Erich Müller [36]. 1970 gab es erste Ansätze den Endpunkt einer potentiometrischen Titration rechnerisch zu ermitteln, sowie eine Programmierung dafür zu erstellen [48]. Weiterführende Näherungsverfahren unter Einbezug von Titrationsparametern wurden 1971 von KELLER/RICHTER erstellt [49]. Die Automatisierung potentiometrischer Titrationsen konnte so weiter vorangetrieben werden.

Im Allgemeinen liefert die potentiometrische Indikation genaue Werte und ist, im Vergleich zu verwendbaren Farbindikatoren, unabhängig von subjektiven Eindrücken der titrierenden Person. Die automatisierte Auswertung der potentiometrischen Indikation ist mittlerweile weit verbreitet. Besonders für Säure-Base-Titrationsen gibt es viele Untersuchungen hinsichtlich der Ionenselektivität und Vorbehandlung von Glasmembranen der Messelektroden [37]. Die Datenerfassung sowie die Umwandlung der Daten in grafische Systeme ist ebenfalls gut untersucht, je nach Lösungsmittel sind Darstellungen in mV und pH möglich [38]. Die Verwendung von Lösungsmittelgemischen und deren Einfluss auf pK-Werte ist für die Titration schwacher Säuren und Basen interessant [39]. Es stellt sich die Frage, ob die potentiometrische Indikation, obwohl schon oft und lange verwendet, trotzdem noch zu optimieren ist. Besonders im Hinblick auf die nach wie vor problematische nichtwässrige Titration ist dies interessant.

1.3 Photometrische Endpunkterkennung

Mit der instrumentellen Einsetzbarkeit der Photometrie bei Titrationsen ist man im Gegensatz zur Potentiometrie unabhängiger von geeigneten Lösungsmitteln. Es muss nur ein passender Indikator verwendet werden. Die bei der Potentiometrie erforderliche Zeit für die Potentialeinstellung ist für die Photometrie nicht relevant. Lediglich die Mischung der Stoffe während des Titrationsvorganges ist hier maßgeblich für die Titrationsdauer.

Durch die Nachteile bei der visuell-manuellen Farberkennung wurde in den vergangenen Pharmakopöen die indikatorinduzierte Titration zunehmend durch die potentiometrische Endpunkterkennung ersetzt. Es ist daher wichtig photometrisch indizierte Titrationsen

instrumentell erfassen zu können und einer Auswertung zuzuführen. Im Jahr 1956 wurden erstmals durch eine spezielle Schaltung die Transmissionswerte der Titrationslösung automatisch umgeformt und als Titrationskurve grafisch dargestellt [41]. Erstmals versuchte HIGUCHI die erhaltenen Titrationskurven grafisch und numerisch auszuwerten. Diese Verfahren ließen sich jedoch nicht universell auf alle Titrationskurven anwenden [40]. Zahlreiche andere Autoren versuchten, photometrische Titrationskurven einer universellen Auswertung zugänglich zu machen, scheiterten aber an deren unterschiedlichen Kurvenformen [22]. Diese unterschiedlichen Kurvenformen und deren schon aus der Potentiometrie bekannten unterschiedlichsten Auswertungsmöglichkeiten machten die Entwicklung eines Standardverfahren bisher nicht möglich.

1.4 Zielstellung

Arzneistoffhydrochloride können durch nichtwässrige Titration mit potentiometrischer Indikation quantitativ bestimmt werden. Diese Methode wurde zur Gehaltsbestimmung für viele Arzneistoffhydrochloride in den vergangenen Pharmakopöen beschrieben. In der Praxis treten jedoch immer wieder Probleme bei der Indizierung nichtwässriger Titrationsen auf. Die Ursachen solcher Schwierigkeiten sollen genauer untersucht und wenn möglich Abhilfe geschaffen werden.

Eine weitere Möglichkeit ist die manuell-visuelle Indikation solcher Titration. Diese ist jedoch für die engen Grenzen der Arzneibuchvorgaben sowie für Routineanalytik wenig geeignet. Um hier genaue Ergebnisse zu erhalten, ist eine instrumentelle Indizierung durch ein Photometer unbedingt erforderlich. Die notwendigen Voraussetzungen, einzuhaltende Bedingungen, sich aufzeigende Möglichkeiten aber auch Grenzen werden im Laufe dieser Arbeit ausführlich erörtert.

Viele der heutigen Arzneistoffe liegen als Salze vor. Diese Arbeit befasst sich mit der Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden. Viele Störfaktoren können eine erfolgreiche Endpunktbestimmung und damit Gehaltsbestimmung von Arzneistoffhydrochloriden behindern. Die potentiometrische Endpunktbestimmung kann in nichtwässrigen bzw. wasserarmen Titrationsmedien problembehaftet sein [11]. Die visuelle Indizierung einer Titration ist stark vom subjektiven Eindruck der titrierenden Person abhängig und als Verfahren somit schlecht standardisierbar.

Es werden die traditionell angewendeten Titrationsverfahren mit potentiometrischer Endpunktbestimmung auf ihre Möglichkeiten und Grenzen untersucht. Störfaktoren hinsichtlich

verwendbarer Elektroden werden aufgezeigt, sowie Optimierungsmöglichkeiten vorgeschlagen. Alternative Lösungsmittel werden hinsichtlich ihrer Einsetzbarkeit auf Vor- und Nachteile untersucht und diskutiert.

Des Weiteren soll, abweichend von der traditionellen potentiometrischen Endpunktbestimmung, eine alternative Methode für die Bestimmung des Endpunktes von Titrations von Arzneistoffhydrochloriden entwickelt werden. Die instrumentelle photometrische Erfassung des Endpunktes einer Titration mit Hilfe von Indikatoren, insbesondere verschiedener Auswertungsmöglichkeiten zur Ermittlung des Äquivalenzpunktes soll hier untersucht werden.

Der zunehmenden Tendenz des Arzneibuchs, weg von der Titration hin zu hochspezialisierten chromatographischen Analyseverfahren, soll durch Verbesserung und Weiterentwicklung der gängigen Titrationsmöglichkeiten entgegengewirkt werden.

1.5 Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden

1.5.1 Bedeutung von Arzneistoffhydrochloriden

Einfluss auf die Resorption eines Arzneistoffes haben u.a. die Arzneiform, die Dosierung, die resorbierende Oberfläche, die Lipophilität des Arzneistoffes und der pH-Wert des Resorptionsortes [29]. Die Lipophilität soll nun näher betrachtet werden. Voraussetzung für eine gute Resorption eines Arzneistoffes aus dem Gastrointestinaltrakt (GI-Trakt) sind sowohl seine lipophilen als auch seine hydrophilen Eigenschaften. Rein lipophile Arzneistoffe lösen sich nur sehr langsam im wässrigen Milieu des GI-Traktes auf und können daher nur schwer und sehr langsam resorbiert werden. Rein hydrophile Arzneistoffe können nicht durch die Lipidschicht des GI-Traktes penetrieren. Viele Arzneistoffe besitzen große lipophile Strukturen und wären daher nur schwer resorbierbar. Um die Resorption zu verbessern liegen sie oft als Salze vor. Dieser eingeführte hydrophile Teil im Arzneistoff führt zu einer verbesserten Auflösung im GI-Trakt und damit zu einer besseren Resorption [28]. Eine Form dieser Salzbildung sind die Arzneistoffhydrochloride.

Diese Arzneistoffhydrochloride werden in den Monografien der Arzneibücher quantitativ bestimmt. Dazu wird in vielen Fällen der eingeführte Säureteil als Agenz verwendet.

Weiterhin können Säuren Bestandteil von Verunreinigungen (Säurezahl) in Fetten oder Polymeren sein. Auch diese sind im Rahmen der Qualitätskontrolle zu quantifizieren.

Die quantitative Bestimmung von Säuren, u.a. als Arzneistoffbestandteil oder als Verunreinigung, ist deshalb ein grundlegender Bestandteil der Pharmakopöen und soll näher betrachtet werden.

1.5.2 Möglichkeiten der Titration von Arzneistoffhydrochloriden

Die Titration ist, neben anderen analytischen Verfahren, eine geeignete Methode, um Arzneistoffhydrochloride quantitativ zu bestimmen. Dafür gibt es im Allgemeinen zwei Ansatzmöglichkeiten.

Die erste Variante ist die Bestimmung des Chlorid-Anions.

Dies ist einerseits möglich mit Hilfe von argentometrischen Verfahren, wie z. B. nach Mohr [2] und Volhard [2]. Andererseits gibt es die Möglichkeit der acidimetrischen Cl⁻ Bestimmung mit Perchlorsäure im nichtwässrigen Milieu. Diese wird meist in Eisessig durchgeführt, unter Zusatz von Quecksilberacetat. Die Endpunktanzeige ist hier durch einen Indikator oder mittels Potentiometrie möglich.

Die andere Möglichkeit der quantitativen Erfassung von Arzneistoffhydrochloriden ist die Titration der protonierten Arzneistoffform als Kationensäure. Dabei werden die Arzneistoffe in polaren Lösungsmitteln mit einer geringeren Autoprotolysekonstante als Wasser gelöst und mit einer genügend starken Base titriert.

Die früher in den Arzneibüchern sehr häufig angewandte Methode der wasserfreien Titration rückt, zugunsten der Alkalimetrie, in den Hintergrund.

Dafür gibt es folgende Gründe:

Bei der wasserfreien Titration hat sich als Lösungsmittel Essigsäure unter Zugabe von Acetanhydrid bewährt. Dieses entzieht der Essigsäure eventuell vorhandene Restwassermengen unter Bildung von zwei äquivalenten Essigsäure.

Die Titration mit Perchlorsäure muss unter dem Abzug, mit entsprechenden Sicherheitsmaßnahmen, durchgeführt werden. Während der Titration muss darauf geachtet werden, dass kein Wasser in das System gelangt, z. B. durch ein Trockenrohr. Perchlorsäurehaltige Reste der Titration müssen speziell getrennt entsorgt werden.

Die in der Alkalimetrie verwendete Natriumhydroxid-Maßlösung ist preiswert und einfach herzustellen. Das Arbeiten unter dem Abzug ist nicht zwingend erforderlich. Die Entsorgung ist nach Neutralisation problemlos.

Demzufolge fällt das aufwendigere Arbeiten im Wasserfreien zugunsten einer vergleichsweise einfachen Säure-Base-Titration weg.

1.5.3 Präzisionsanforderungen bei der Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden im Ph. Eur.

Ziel jeder Titration ist es, den quantitativen Stoffumsatz zwischen zu bestimmender Verbindung und Maßlösung zu ermitteln. Da viele Titrationslösungen ohne sichtbare Änderung der Titrationslösung verlaufen, ist es notwendig, das Titrationsende auf anderem Wege sichtbar zu machen. Dabei ist es wichtig eine optimal auf die Titration abgestimmte Indizierung zu wählen. Eine stöchiometrisch fehlerfrei ablaufende Titration kann durch ungeeignete Auswahl der Endpunkterkennung zu falschen Ergebnissen führen, die im Falle hoher Präzision eine nicht vorhandene Genauigkeit und somit ein richtiges Ergebnis vortäuschen können. Diesen Fehler kann man nur durch parallele Bestimmung mit Hilfe von CRS-Substanzen oder anderer quantitativer Analysemethoden sichtbar machen.

In aktuellen Pharmakopöen sind die Titrationsmethoden, insbesondere die Bestimmung des Endpunktes, sehr allgemein gehalten.

Im Gegensatz dazu sind die Forderungen der aktuellen Pharmakopöen für den Gehalt von Arzneistoffen mit der meist üblichen Angabe von 99 – 101 % sehr eng gesetzt.

Folgendes Beispiel zeigt, dass diese maximal zulässigen Abweichungen unter den Bedingungen, welche das Arzneibuch vorschreibt (Einsatz von Farbindikatoren mit visueller Indikation oder Potentiometrie ohne konkrete Angaben zur Durchführung), oft nicht zu realisieren sind.

Jede Bestimmungsreihe liefert ein Ergebnis \bar{x} mit einer Präzision von s , bezogen auf das Ergebnis. Dies ist als Standardabweichung des Mittelwertes in Gleichung 1-1 dargestellt.

$$(1-1) \quad s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Für das richtige Ergebnis lassen sich durch die Berechnung des Vertrauensintervalls, hier mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % und damit einer Sicherheit von 95 %, folgende Grenzen setzen (Gleichung 1-2):

$$(1-2) \quad \bar{x} - \frac{s}{\sqrt{n}} \cdot t_{0,05;n-1} \leq \bar{x}(\text{wahr}) \leq \bar{x} + \frac{s}{\sqrt{n}} \cdot t_{0,05;n-1} \quad [1]$$

Für die Gehaltsannahme von 100 % kann man so folgendes Vertrauensintervall formulieren:

$$(1-3) \quad (100 - s_{\bar{x}} \cdot t_{0,05;n-1})\% \leq 100\% \leq (100 + s_{\bar{x}} \cdot t_{0,05;n-1})\%$$

Im Intervall $(100 + s_{\bar{x}} \cdot t_{0,05,n-1}) - (100 - s_{\bar{x}} \cdot t_{0,05,n-1})$ liegt somit das wahre Ergebnis.

Mit den oben geforderten 99 – 101 % Gehalt führt dies zur Forderung:

$$(1-4) \quad 2 \cdot s_{\bar{x}} \cdot t_{0,05,n-1} \leq 2 \quad \text{also} \quad \frac{t_{0,05,n-1}}{\sqrt{n}} \leq \frac{1}{s}$$

Bei einer Bestimmungsreihe mit 8 Einzelbestimmungen ergibt sich mit einer Standardabweichung von 0,5 % (von 100 % Gehalt) ein Vertrauensintervall von:

$$99,582\% \leq 100\% \leq 100,42\% .$$

Liegt der gefundene Mittelwert aber bei z.B. 99,4 % Gehalt, welches in dieser Angabe den Anforderungen des Arzneibuchs genügen würde, so ist beim Anwenden von Gleichung (1-2) das Intervall, in welchem das wahre Ergebnis liegt, bei $98,98\% \leq 99,4\% \leq 99,82\%$. Diese Angabe genügt bezogen auf die untere Gehaltsgrenze so nicht mehr den Anforderungen der aktuellen Arzneibücher.

Daraus ergibt sich, dass bei o. a. Bestimmungsreihe der mittlere Gehalt nicht weniger als 99,5 % betragen darf, um mit oben genannter Standardabweichung sowie Vertrauensintervall den Ansprüchen des Arzneibuches mit zulässiger Abweichung von $\pm 1\%$ zu genügen.

Bei Titrationsen, deren Endpunkt über eine visuelle Indizierung oder mit Hilfe von Standardelektroden erfolgt, wird eine Standardabweichung von 0,5 % schwer zu erreichen sein. Wenn man zusätzlich ein Vertrauensintervall festlegt, wird die Gehaltsforderung von 99 – 101 % schon durch diese Bedingungen nur schwer zu erfüllen sein.

2 Potentiometrische Indikation

2.1 Messprinzip und Sensoren

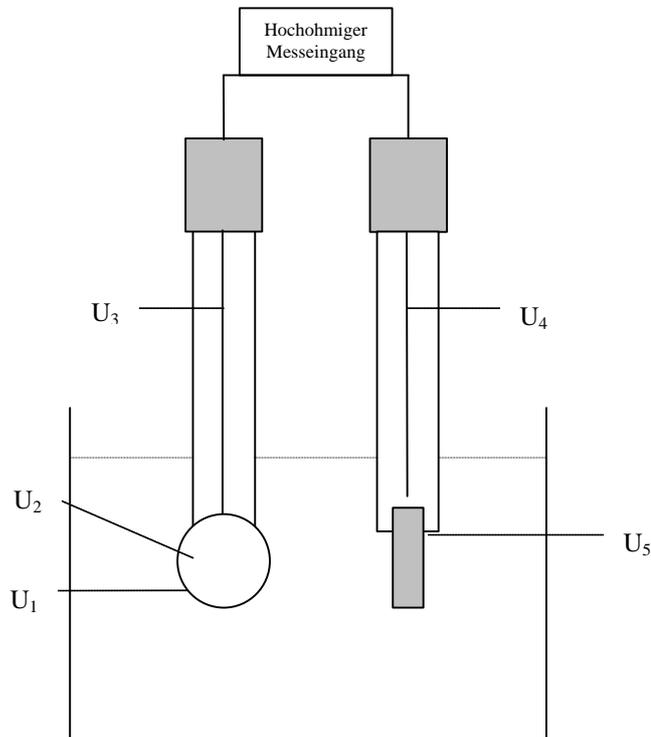


Abbildung 2-1: Schematische Versuchsanordnung in der Potentiometrie [3]

Die Versuchsanordnung bei potentiometrischen Bestimmungen (siehe Abbildung 2-1) besteht grundlegend aus 2 Elektroden, einer Messelektrode, hier Glaselektrode und der Bezugselektrode. Diese beiden Elektroden sind über ein Potentiometer miteinander verbunden. In diesem Messsystem existieren grundlegend 5 verschiedene Potentiale.

U_1 : Potential der Glasmembran der Messelektrode gegen die zu bestimmende Lösung

U_2 : Potential des Innenpuffers gegen die Glasmembran

U_3 : Potential des Ableitelementes gegen den Innenpuffer

U_4 : Potential des metallischen Leiters/schwerlösliches Salz gegen die Elektrolytlösung

U_5 : Diffusionspotential am Diaphragma

Die Potentiale U_2 , U_3 und U_4 sind durch den Elektrodenaufbau konstant. Das Diffusionspotential U_5 sollte durch die Verwendung geeigneter Elektrolytsalze (Ionenbeweglichkeiten von Kationen und Anionen annähernd gleich) möglichst klein und konstant gehalten werden.

Die bei Titrationsen resultierende Spannungsänderung am Potentiometer entsteht somit nur durch die Potentialänderung von U_1 . In Abhängigkeit von der Zusammensetzung der Messlösung können die resultierenden Potentialänderungen registriert und aufgezeichnet werden. Durch Quellungsvorgänge und Ionenaustausch stellt sich zwischen der äußeren Gelschicht des Glases und der Lösung ein elektrochemisches Gleichgewicht ein [27]. Um stabile Messwerte zu erhalten, ist es daher notwendig, die Elektroden im Messmedium zu formieren (siehe Abschnitt 3.2).

Grundlage für die gemessene Spannung der Messelektrode gegen die Messlösung ist die Aktivität des zu bestimmenden Ions, hier H_3O^+ , welches je nach verwendetem Lösungsmittel, in unterschiedlichen Formen vorliegt. Die mathematische Grundlage dieses Zusammenhangs ist in Gleichung (2-1) dargestellt (Nernst-Gleichung).

$$(2-1) \quad U = U_0 + \frac{2,303 \cdot RT_0}{F} \cdot \lg a_{H_3O^+}$$

2.2 Prinzipieller Kurvenverlauf und Auswertung

Bei potentiometrischer Indikation werden während der Titration kontinuierlich die Potentialdifferenzen zwischen Mess- und Bezugselektrode registriert, welche an der Messelektrode entstehen.

Anschließend erfolgt eine Auswertung der erhaltenen Titrationskurve. Der Äquivalenzpunkt wird aus dem Wendepunkt der Titrationskurve ermittelt. Oft angewendet auf graphische Darstellungen sind die Tangenten-Methode [4], die Kreismethode nach Tubbs [4], sowie differenzierte Titrationskurven (Maximum der abgeleiteten Titrationskurve). Die in dieser Arbeit verwendete Steuerungs- und Auswertungssoftware EasyCap 2.1.0.11 [5] ermittelt den Äquivalenzpunkt nach internen rechnerischen Verfahren, deren Grundlage die Ermittlung des Wendepunktes ist.

In den aktuellen Pharmakopöen setzt sich die Entwicklung fort, die wasserfreie Titration des Cl^- durch die der alkalimetrische Titration der Kationensäure zu ersetzen. In den entsprechenden Monographien wird eine definierte Einwaage des Hydrochlorids in einer vorgegebenen Menge Ethanol R 96 % und 5,0 ml HCl ($0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) gelöst. Titriert wird mit einer NaOH-Maßlösung ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$). Die Bestimmung des Endpunktes erfolgt mit Hilfe der Potentiometrie (Abbildung 2-2). Die allgemeine Messanordnung besteht, wie bereits oben beschrieben, aus einer Elektrode mit konstantem Potential und einer H_3O^+ sensitiven Messelektrode, der Glaselektrode.

Bei der Titration einer einprotonigen Kationensäure entstehen so zwei Potentialsprünge, wobei der Verbrauch des ersten Äquivalents NaOH auf die Umsetzung der zugefügten 5,0 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) zurückzuführen ist. Das zu bestimmende Hydrochlorid wird am zweiten Potentialsprung erfasst. Der Gehaltsberechnung wird das zugesetzte Volumen zwischen beiden Potentialsprüngen zugrunde gelegt. Diese Vorgehensweise ist notwendig, um Säureverunreinigungen der verwendeten Lösungsmittel bis zum ersten Potentialsprung mitzufassen und so der eigentlichen Titration zu entziehen.

Betrachtet man die Titrationskurve in Abbildung 2-2 genauer, lässt sich erkennen, dass ganz korrekt gesehen 3 Wendepunkte vorhanden sind. Dieser Kurvenverlauf ist typisch für Titrations von schwachen Säuren mit starken Basen. Der in Abbildung 2-2 dargestellte Wendepunkt (Wp3) stellt den Halbneutralisationspunkt dar. An dieser Stelle ist die Hälfte der schwachen Säure vom Titrationsmittel neutralisiert. Aus der Lage dieses Punktes lässt sich die Dissoziationskonstante der schwachen Säure annähernd berechnen [6]. Exakt formuliert erfasst man somit das zugesetzte Volumen zwischen den beiden Wendepunkten an den Potentialsprüngen der Titrationskurve.

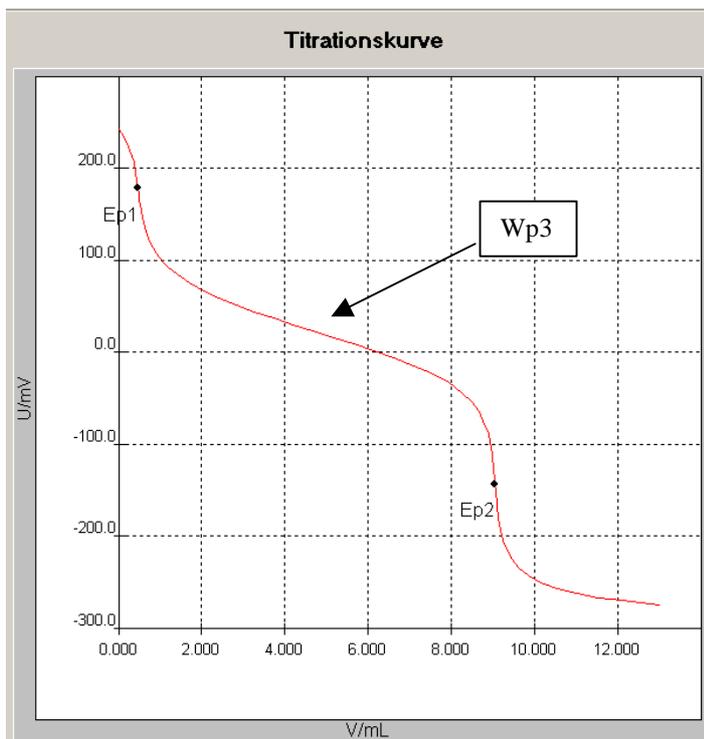


Abbildung 2-2: Beispiel der oben beschriebenen potentiometrischen Titrationskurve

Für die Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden durch Titration mit wässriger NaOH-Maßlösung ist die potentiometrische Endpunkterkennung gut geeignet. Hier erlaubt die Potentiometrie eine gewisse Differenzierung hinsichtlich Verfälschungen. Bei der

alkalimetrischen Titration gegen Farbindikatoren können fremde Säuren oft nicht von der zu bestimmenden Säure differenziert werden. Sie werden demzufolge miterfasst und verfälschen das Analyseergebnis. Die Potentiometrie kann Säuren mit einem pK_s -Wert, der um mehr als 2 Einheiten von der zu titrierenden abweicht, sichtbar machen, und somit Verfälschungen besser abgrenzen.

Viele Arzneistoffhydrochloride müssen aufgrund ihres Löslichkeitsverhaltens und ihrer ungünstigen pK_s -Werte im nichtwässrigen Milieu titriert werden. Kationensäuren mit einem pK_s -Wert von > 8 sind in H_2O als Lösungsmittel nicht mehr titrierbar. Wählt man ein Lösungsmittel mit kleinerer Autoprotolysekonstante, wie z.B. Ethanol, sind diese schwachen Säuren noch titrierbar, da der Potentialsprung am Äquivalenzpunkt größer ist. Außerdem wird wegen der geringeren Dielektrizitätskonstante die Aciditätskonstante oft etwas größer.

In Lösungsmitteln wie z.B. Ethanol, Isopropanol oder Aceton ist die Potentiometrie durch ihre Störanfälligkeit gegenüber äußeren elektrostatischen Einflüssen problembehaftet, auch das schlechtere Ansprechverhalten einzelner Elektroden ist mit zu beachten. Diese Probleme sollen näher betrachtet werden.

2.3 Titrationsautomatisierung am Beispiel von Chininhydrochlorid

Das grundlegende Titrationsprinzip soll am Beispiel von Chininhydrochlorid gezeigt werden: Ca. 300 mg Chininhydrochlorid werden in 60 ml Ethanol R 96 % gelöst. Dazu werden 5,0 ml HCl $0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ gegeben. Als Maßlösung wird eine zuvor eingestellte wässrige 0,1 molare $NaOH$ verwendet. Es erfolgt der Einsatz eines Titrino GP 736 [I] gekoppelt mit externer PC-Steuerung durch EasyCap - Software 2.1.0.11, Deutsche Metrohm 2000 [5].

Titrimodus ist die DET (Dynamische Äquivalenzpunkt Titration).

„Bei dieser Art der Titration wird das Titrimittel in verschiedenen großen Volumen-Inkrementen zugegeben: Im flachen Teil der Kurve sind die Inkremente groß, während im steilen Teil kleine Inkremente zugegeben werden. Nach Zugabe eines Volumen-Inkrementes wird der Messwert übernommen wenn entweder eine vorgeschriebene Driftschwelle unterschritten oder eine Wartezeit abgelaufen ist.“ [5].

Abbildungen 2-3 und 2-4 zeigen die mit o. a. Software eingestellten Titrations- und Auswertungsparameter.

Durch die eingestellte minimale Reagenzzugabe von 5 µl wird eine hohe Datendichte beim Potentialsprung nahe des Äquivalenzpunktes geliefert, was eine präzisere Bestimmung ermöglicht.

Wenn die Messwertdrift einen Wert von 20 mV/min unterschreitet, wird das nächste Volumeninkrement dosiert. Um einer zu hohen Titrationsdauer entgegenzuwirken, wird spätestens nach einer Wartezeit von 26 Sekunden der Messwert übernommen. Ein Startvolumen wurde aufgrund des erwarteten 1. Wendepunktes bei ca. 0,5 ml verbrauchter Maßlösung nicht eingestellt.

Der im Fenster EP-Kriterium gesetzte Schwellenwert für die Äquivalenzpunktanerkennung liegt bei 20. Die genaue Berechnung erfolgt mit einem speziellen Algorithmus der Firma Metrohm. Nach einer Zugabe von 13 ml Maßlösung wird die Titration automatisch beendet.

Für die Berechnung des Analysenergebnisses wurden in Abbildung 2-4 die Berechnungsformeln hinterlegt, welche mit vorher angegebener Einwaage den Gehalt der Substanz automatisch errechnet. Statistische Größen, wie Mittelwert und Standardabweichung von Messreihen, wurden ebenfalls programmiert.

Parameter

Titrationsparameter

Messpkt.dichte: 4

Min.Inkremete: 5.0 µl

Titr.Geschw.: max. ml/min

Dos.element: internal D0

Messw.Drift: 20 mV/min

Wartezeit: 26 s

Messeingang: 1

Temperatur: 25.0 °C

Auswertung

EP-Kriterium: 20

EP-Anerk.: all

Fix EP's... Fenster...

Startbedingungen

Kein Start V

Abs.Start V: 0.01 ml

Dos.Geschw.: max. ml/min

Pause: 0 s

Aktivierpuls

Abbruchbedingungen

Kein Stopp V

Abs.Stopp V: 13 ml

Stopp U: OFF mV

Stopp EP: 9

Füllgeschw.: max. ml/min

OK Abbrechen

Abbildung 2-3: Titrationsparameter

The screenshot shows a window titled 'Berechnungen' with the following elements:

- Proz.Name:** Berechnungen
- Variable:**
 - DET U.EP#
 - Einmass
 - Id1
 - Id2
 - Id3
 - Probnummer
 - Statistikstatus
- Buttons:** OK, Abbrechen, Resultatnamen, Zeile löschen, Zeile einfügen
- Formeln:**

	Grösse	Name	Formel	Einheit	Dez.	Statis
1	RS	Verbrauch	'DET U.EP2'-'DET U.EP1'	ml	3	<input type="checkbox"/>
2	RS	Masse ChininHCl	'Verbrauch'*0,03609	g	3	<input type="checkbox"/>
3	RS	Gehalt ChininHCl	'Masse ChininHCl'*100/Einmass	%	3	<input checked="" type="checkbox"/>
4	RS	Gehalt Mittelwert	MN('Gehalt ChininHCl')	%	3	<input type="checkbox"/>
5	RS	Gehalt Count	N('Gehalt ChininHCl')		0	<input type="checkbox"/>
6	RS	Gehalt StdAbw	std('Gehalt ChininHCl')		4	<input type="checkbox"/>
7						<input type="checkbox"/>
8						<input type="checkbox"/>
9						<input type="checkbox"/>
10						<input type="checkbox"/>
- Transfer..:** 10 Anzahl der Bestimmungen für Statistik

Abbildung 2-4: Berechnungen

2.4 Probleme bei der Durchführung potentiometrischer Titrationsen

2.4.1 Allgemeine Problemübersicht

Bei der Titration mit potentiometrischer Endpunktanzeige gibt es viele Faktoren, welche die Robustheit des Verfahrens deutlich herabsetzen können. Diese Bestimmungsmethode soll hinsichtlich der Arzneibuchvorgaben diskutiert und optimiert werden.

Viele der heutigen Arzneistoffe können aufgrund von schlechter Löslichkeit und ungünstigen pKs-Werten nicht in rein wässrigen Medien titriert werden. Es muss daher auf andere Lösungsmittel ausgewichen werden, welche mit anderen Lösungseigenschaften und kleineren Autoprotolysekonstanten als Wasser eine Bestimmung zulassen.

Nichtwässrige Lösungsmittel, z. B. Ethanol oder Isopropanol, besitzen eine geringere Leitfähigkeit als wässrige, woraus ein höherer elektrischer Widerstand resultiert. Dadurch ist der Gesamtwiderstand der Messkette im Vergleich zu wässrigen Systemen höher [11]. Die resultierende verminderte Empfindlichkeit der verwendeten Glaselektrode kann die Qualität der Bestimmung herabsetzen (Näheres unter Abschnitt 2.4.3). Dynamisch arbeitende Titrationsautomaten zeigen durch zu träge Signaländerungen hier oft fehlerhafte Titrationskurven.

Auch treten in diesen organischen Lösungsmitteln Störungen aufgrund von statischer Elektrizität auf, die eine Registrierung oder Auswertung einer Titrationskurve erschweren oder unmöglich machen. Diese Störspannungen stammen von elektrostatischen und elektromagnetischen Feldern, welche in jedem Labor entstehen, in dem elektrische Geräte betrieben werden.

Mit der Verwendung von verschiedenen Elektroden sollen diese Probleme gemindert werden. Dieses wird diskutiert.

Weitaus größere Probleme ergeben sich bei der Auswahl geeigneter Bezugselektrolyte. Der übliche Bezugselektrolyt bei nichtwässrigen Titrationsen ist eine in Ethanol gesättigte LiCl-Lösung.

Um das Entstehen hoher Diffusionspotentiale und die damit verbundenen Probleme bei der Messung zu vermeiden, sollte mit Bezugselektrolyten gearbeitet werden, die dem verwendeten Lösungsmittel entsprechen.

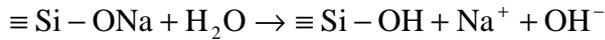
Bei polaren Lösungsmitteln erfolgt die Auflösung der Elektrolytsalze im Allgemeinen über Wasserstoffbrücken und Ladungs-Dipol-Anziehung. Polar protische Lösungsmittel (Amphiprotisch ? sowohl H^+ -Donatoren als auch H^+ -Akzeptoren) können sowohl Kationen als auch Anionen gut solvatisieren.

Polare Lösungsmittel mit einsamen Elektronenpaaren ohne acides H (aprotisch polar) sind nicht in der Lage Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden und damit Anionen zu solvatisieren. Aus diesem Grund können sie Kationen über Ladungs-Dipol-Kräfte besser solvatisieren. Die entsprechenden Anionen des gelösten Salzes liegen demzufolge meist ohne schützende Solvathülle vor. Eine Auflösung entsprechender Elektrolytsalze in aprotischen Lösungsmitteln kann bei anschließender Formierung aufgrund der stark unterschiedlichen Wanderungsgeschwindigkeiten von Kationen mit Solvathülle und Anionen ohne Solvathülle zu hohen Diffusionspotentialen führen. Da das Diffusionspotential von Bezugselektroden möglichst klein sein und annähernd konstant sein sollte, kann dies zu Problemen bei der Messung führen.

2.4.2 Bedeutung der Formierung der Elektroden

Elektroden sollten, bevor sie für die Messung verwendet werden, im entsprechenden Messmedium formiert werden. Da das Arzneibuch über die Titrationsbedingungen keine konkreten Angaben macht, wurden Untersuchungen voran gestellt, um die geeignete Elektrode und die erforderliche Zeit zu ermitteln.

Beim Kontakt einer Glasmembran mit einer wässrigen Lösung erfolgt an deren Oberfläche eine Quellung sowie ein Ionenaustausch. Dabei gehen Alkali-Ionen des Glases in die Lösung über und werden durch Wasserstoffionen aus der Lösung ersetzt:



Die oberste Schicht bildet so viele Hydroxylgruppen, dass eine Messung möglich ist. Der Ionenaustausch geht bei fortlaufendem Kontakt mit dem Lösungsmittel weiter in die Tiefe. Eine so formierte Oberfläche einer Glaselektrode wird auch als Quellschicht bezeichnet, korrekter ist allerdings die Bezeichnung Auslaugschicht [7].

Die Bezugselektrode besitzt ein konstantes Potential, da sich um das Diaphragma herum eine HELMHOLTZsche Doppelschicht ausbildet. Der sich so bildende Gleichgewichtszustand in unmittelbarer Umgebung der Elektrode führt hierbei zu konstanten Spannungsmessungen.

2.4.3 Testung unterschiedlicher Elektrodenglasarten am Beispiel von Chininhydrochlorid in Ethanol nach Ph. Eur.

Nichtwässrige Lösungsmittel, hier das verwendete Ethanol, besitzen eine geringere Leitfähigkeit als wässrige, woraus ein höherer elektrischer Widerstand resultiert. Dadurch ist der Gesamtwiderstand der Messkette, im Vergleich zu wässrigen Systemen, höher. Träges Ansprechverhalten ist die Folge. Mit der Wahl geeigneter Glasarten für die Messelektrode ist es möglich, den Gesamtwiderstand der Messkette abzusenken. Dies soll am Beispiel gezeigt werden. Es wird eine getrennte Messanordnung mit einer Bezugselektrode Ag/AgCl/LiCl/gesättigt in Ethanol [III] verwendet.

Für die Beurteilung elektrischer Widerstände von Glasmembranen ist vom Normenausschuss für Mess- und Regeltechnik (NAMUR) folgende Einteilung getroffen worden [7]:

niederohmig: $R < 10 \text{ M}\Omega$

mittelohmig: $10 \text{ M}\Omega < R < 100 \text{ M}\Omega$

hochohmig: $100 \text{ M}\Omega < R$

2.4.3.1 Verwendung einer hochohmigen Elektrode, U-Glas [II]

Die verwendete U-Glaselektrode besitzt laut Herstellerangabe einen Membranwiderstand von 150 – 500 M Ω [8]. Diese Glasart ist nach o. a. Einteilung zu den hochohmigen Membrangläsern zu zählen.

Vor der Messung wird die Elektrode formiert. Nach 10 Minuten Formierung betrug die Drift ca. 1 mV/min (siehe Abbildung 2-5). Bei potentiometrischen Titrations kommt es am Äquivalenzpunkt zu Potentialsprüngen von $\Delta V > 100$ mV (siehe Abbildung 2-6). Die vorliegende Messwertdrift von 1 mV/min ist somit kein die Titration beeinflussender Faktor. Deshalb ist eine Formierung der Elektrode von 10 Minuten als ausreichend anzusehen. Nach erfolgter Formierung wurde die Titration unter den Bedingungen von 2.3 durchgeführt. Die resultierende Titrationskurve ist unter Abbildung 2-6 zu sehen.

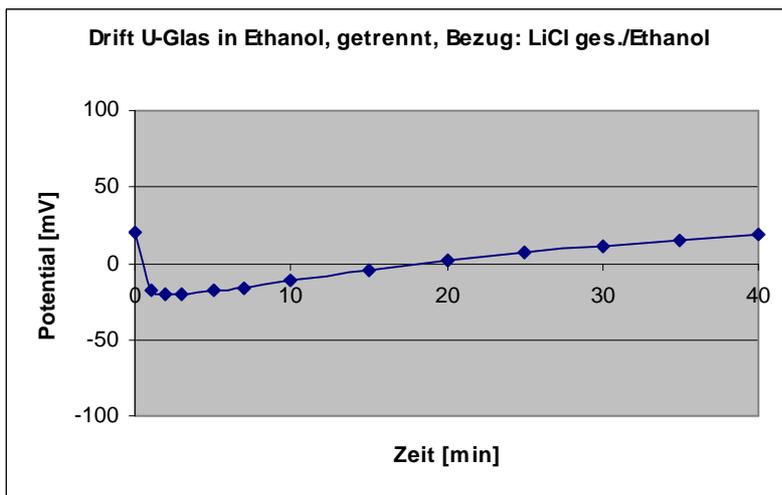


Abbildung 2-5: Potentialentwicklung während der Elektrodenformierung

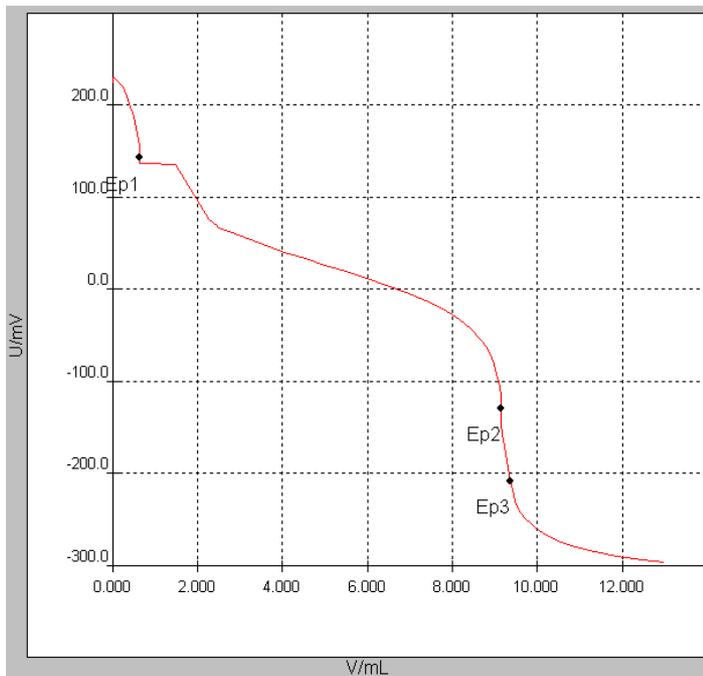


Abbildung 2-6: Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$), Verwendung einer U-Glaselektrode [II]

2.4.3.2 Verwendung einer mittelohmigen Elektrode, T-Glas [IV]

Um den elektrischen Widerstand des Systems zu verringern, wurde von U-Glas auf T-Glas gewechselt. T-Glas-Elektroden haben durch ihre mittelohmige Glasmembran (Membranwiderstand von 40 – 150 M Ω [8]) einen geringeren Membranwiderstand als das im Allgemeinen verwendete U-Glas. So soll der in schlecht leitenden Lösungsmitteln, wie z. B. nichtwässrigen Medien erhöhte Gesamtwiderstand, durch den Einsatz von T-Glaselektroden wieder gesenkt werden, woraus stabile Messwerte resultieren.

Nach 10 Minuten Formierung betrug die Drift ca. 1 mV/min (Abbildung 2-7). Deshalb ist, wie festgestellt, eine Formierung der Elektrode von 10 Minuten als ausreichend anzusehen. Nachfolgende Titrations wurden beginnend analog zum Versuchsaufbau und den Versuchsbedingungen wie unter Punkt 2.3 beschrieben, durchgeführt.

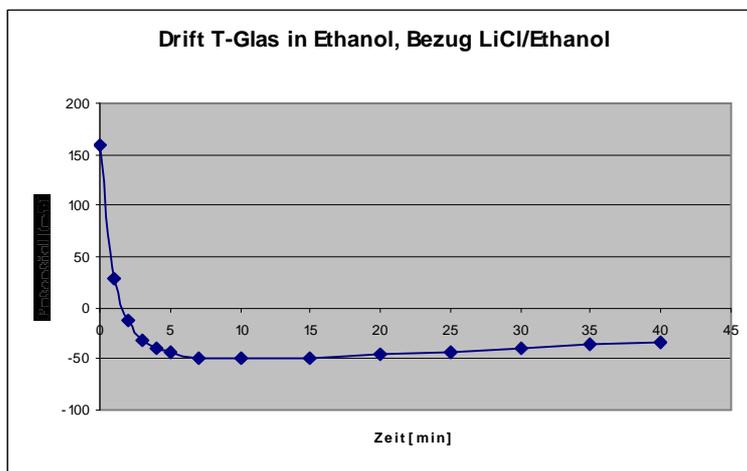


Abbildung 2-7: Potentialentwicklung während der Elektrodenformierung

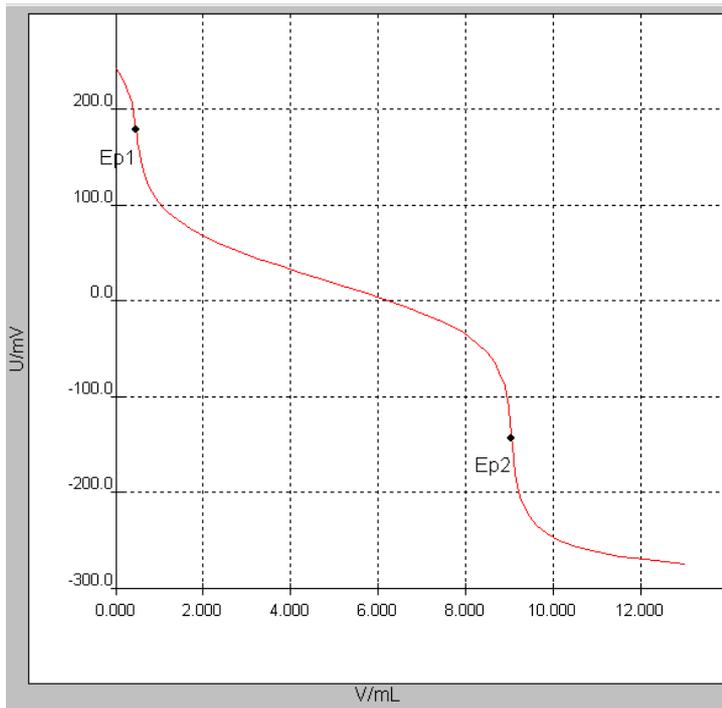


Abbildung 2-8: Titrationskurve von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$)

2.4.3.3 Auswertung der Untersuchungsergebnisse

Beim eingesetzten U-Glas kam es besonders zu Beginn aber auch im Verlauf der Titration zu sprunghaften Potentialänderungen. Dies führte zu ungenauen, teilweise sogar zu mehreren Äquivalenzpunkten (Abbildung 2-6). Nach Versuchsbeschreibung ist der erste Wendepunkt bereits nach einem Verbrauch von ca. 0,5 ml Maßlösung zu erwarten. Somit war das für die Gehaltsberechnung zugrunde gelegte Volumen, aufgrund der Messunsicherheit beim ersten Wendepunkt, stark fehlerbehaftet bzw. überhaupt nicht mehr auswertbar. Insbesondere programmierte und automatisierte Titrationsanlagen geraten hier bezüglich der Messwertübernahme an ihre Grenzen, da die Wertübernahme entweder durch das Unterschreiten einer festgelegten Driftschwelle oder nach Ablauf einer definierten Wartezeit erfolgt (siehe auch Abbildung 2-3).

Die dicht beieinander liegenden Äquivalenzpunkte 2 und 3 lassen sich durch eventuell vorhandenes HCO_3^- in der Lösung erklären, welches mit NaOH reagiert und Äquivalenzpunkt 2 entstehen lässt. Da das verwendete Wasser für die NaOH-Maßlösung CO_2 -frei gemacht wurde und bei anschließender potentiometrischer Einstellung der Maßlösung kein Carbonatsprung zu erkennen war, ist die Ursache entweder im verwendeten Ethanol, eher aber im stetigen Rühren der Lösung zu suchen, wobei sich CO_2 im Titrationsmedium löst.

Beim Einsatz der T-Glaselektrode wurde das Messsignal deutlich stabiler und die Kurve konnte einer Auswertung zuträglich gemacht werden. Die Robustheit einer nichtwässrigen Titration mit potentiometrischer Indikation hängt also von der Wahl der Glasart ab. Ist diese geeignet, so kann man präzise Ergebnisse erzielen.

2.5 Einfluss der HCl-Zugabe auf die Potentialeinstellung und Präzision

Wie bereits erwähnt, tritt durch die Zugabe der HCl ein erster Wendepunkt nach einem Verbrauch von ca. 0,5 ml Maßlösung auf. Jede Äquivalenzpunktanerkennung ist mit Messunsicherheiten behaftet. Um die Präzision der Messung weiter zu erhöhen, wurde der Versuch unternommen, die Titration ohne vorherige HCl-Zugabe durchzuführen und so die Messunsicherheit bei der Bestimmung des ersten Äquivalenzpunktes zu eliminieren, da dies zum Wegfall des ersten Wendepunktes führt (Abbildung 2-9).

Die Titrationsdauer kann so durch die Festsetzung eines Startvolumens von 5 ml Maßlösung deutlich verkürzt werden, da die Verringerung der Titrationsdauer durch die Tatsache bestimmt wird, dass durch den Wegfall des ersten Äquivalenzpunktes an dieser Stelle, siehe auch Punkt 2.3, die Dynamik der Dosierschritte, mit den entsprechenden Wartezeiten zwischen den einzelnen Schritten, entfällt.

2.5.1 Titration mit und ohne HCl-Zugabe

Eine Messreihe von 8 nacheinander folgenden Titrationsen, unter den unter Punkt 2.3 genannten Bedingungen, ergab eine Standardabweichung von 0,16 % (Tabelle 3-1). Um die Reproduzierbarkeit bei der Bestimmung des ersten Äquivalenzpunktes zu überprüfen, wurden diese Volumina in Tabelle 2-1 mit aufgeführt. Es ist zu erkennen, dass die Werte stark schwanken. Dies kann zum Teil auf Dosierungenauigkeiten zurückzuführen sein, da es aufgrund der Differenzbildung zu Ermittlung des tatsächlichen Verbrauches an Maßlösung nicht erheblich ist, wie viel HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) wirklich zugegeben wurde. Die Dosierung erfolgte mit einer 5 ml Vollpipette, welche eine hohe Dosiergenauigkeit aufweist und diese Schwankungen eher nicht erklärt. Eher anzunehmen sind bereits aufgeführte Probleme bei der Ermittlung des ersten Äquivalenzpunktes, welche auch durch geeignetere Glasarten nicht vollständig behoben werden können.

Einwaage Chininhydrochlorid [g] (bezogen auf die wasserfreie Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH bis zum ersten Wendepunkte [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,965$	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,965$	Gehalt Chininhydrochlorid [%]
0,3178	0,497	9,138	100,14
0,3049	0,519	8,746	99,91
0,3529	0,481	10,141	100,09
0,3104	0,476	8,931	100,20
0,3203	0,475	9,232	100,39
0,3124	0,468	8,994	100,27
0,3256	0,459	9,381	100,34
0,3103	0,487	8,931	100,24
Mittelwert:			100,20 %
Standardabweichung:			0,16 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,13 %
Varianz:			0,026 % ²

Tabelle 2-1: Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$)

Nachfolgend wurden 8 Messungen unter Bedingungen von Punkt 2.3, allerdings wie oben erwähnt ohne Zugabe von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$), durchgeführt und statistisch ausgewertet. Die Titrationskurve ist in Abbildung 2-9 zu sehen. Die ermittelte Standardabweichung betrug 0,066 %, was einer Absenkung im Vergleich zur vorangegangenen Bestimmung, unter Zugabe von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$), von fast 60 % entspricht (Tabelle 2-2).

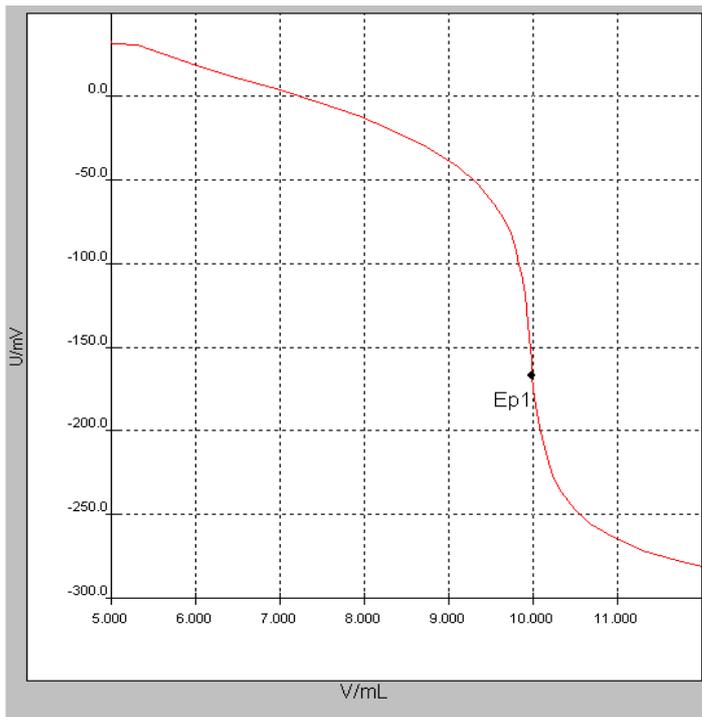


Abbildung 2-9: Titrationskurve von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) in Ethanol ohne Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$)

Einwaage Chininhydrochlorid [g] (bezogen auf die wasserfreie Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,965$	Gehalt Chininhydrochlorid [%]
0,3179	9,141	100,14
0,3303	8,722	100,16
0,3039	8,751	100,28
0,3143	9,047	100,25
0,3104	8,934	100,24
0,3102	8,921	100,16
0,3299	9,483	100,11
0,3118	8,965	100,13
Mittelwert:		100,18 %
Standardabweichung:		0,067 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$		0,056 %
Varianz:		0,0044 % ²

Tabelle 2-2: Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) in Ethanol ohne Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$)

2.5.2 Vergleich beider Titrationsvarianten

Um festzustellen, ob beide Untersuchungsreihen zu einer Grundgesamtheit gehören, sie sich also nicht signifikant unterscheiden und deshalb statistisch gleichwertig verwendet werden können, wurden statistische Prüfverfahren angewendet.

Der F-Test ergab einen signifikanten Unterschied beim Vergleich der beiden Standardabweichungen (Gleichung 2-1 bis 2-3): die Nullhypothese H_0 wurde abgelehnt, die verglichenen Standardabweichungen gehören demnach nicht zu einer Grundgesamtheit. Deshalb wurde das Testverfahren nach WELCH zum Vergleich zweier Mittelwerte verwendet. Es soll so festgestellt werden, ob beide Mittelwerte aus einer normalverteilten Grundgesamtheit mit gleichem Mittelwert stammen = H_0 . Dieser T-Test ergab, dass beide Stichproben zu einer Grundgesamtheit gehören, die Nullhypothese wurde angenommen (Gleichung 2-4 bis 2-8). Die Mittelwerte unterscheiden sich statistisch nicht, da der Unterschied allein auf einen Zufallsfehler zurückzuführen ist [9]. Aus diesem Fall ist es also möglich, die Titration ohne vorherige HCl-Zugabe durchzuführen.

F-Test [9]:

$$(2-1) \quad \hat{F} = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{0,0257}{0,00443} = 5,80$$

$$(2-2) \quad F_a = 3,87 \text{ für } P = 0,95 [9]$$

$$(2-3) \quad F_a < \hat{F} \Rightarrow H_0 \text{ abgelehnt}$$

Testverfahren nach WELCH [9]:

$$(2-4) \quad \hat{t} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{A + B}} = \frac{103,817 - 103,8296}{0,0614} = 0,205$$

$$(2-5) \quad A = \frac{s_1^2}{n_1} = \frac{0,0257}{8} = 5,54 \cdot 10^{-4}$$

$$(2-6) \quad B = \frac{s_2^2}{n_2} = \frac{0,00443}{8} = 3,21 \cdot 10^{-3}$$

$$(2-7) \quad t_a = 2,36 \text{ für } P = 0,95 [9]$$

$$(2-8) \quad t_a > \hat{t} \Rightarrow H_0 \text{ angenommen}$$

Einschränkend ist jedoch zu bemerken, dass das verwendete Lösungsmittel Ethanol von reinster Qualität war und qualitativ schlechteres Ethanol mit höherem Säuregehalt diesen Vergleich nicht mehr zulassen muss.

Es stellt sich trotzdem die Frage, inwieweit eine HCl-Zugabe überhaupt noch sinnvoll ist.

Hierzu wurden die Vorgaben des Arzneibuches herangezogen.

Im Europäischen Arzneibuch [10], ist für die Gehaltsbestimmung von Chininhydrochlorid das Lösungsmittel Ethanol R 96 % vorgeschrieben. Dieses muss der Monographie Ethanol 96 % entsprechen. Hier ist bei der Prüfung auf Reinheit gefordert, dass ein Säuregehalt von maximal 30 ppm (berechnet als Essigsäure) enthalten sein darf.

Laut Monographie von Chininhydrochlorid wird der Arzneistoff in 50 ml Ethanol R 96 % gelöst. Wenn im verwendeten Ethanol die maximal zugelassene Höchstgrenze von 30 ppm (berechnet als Essigsäure) enthalten ist, entspricht das einem Gehalt an Essigsäure von $2,49 \cdot 10^{-5}$ mol in 50 ml. Die vorgegebene Einwaage von 0,250 g Substanz entspricht einer Stoffmenge von $6,298 \cdot 10^{-4}$ mol. Der prozentual mögliche Säuregehalt des Ethanol beträgt also, bezogen auf die Einwaage an Hydrochlorid, bis zu 3,95 %. Dieser Fehler ist für eine Gehaltsbestimmung nicht tolerierbar. Um diesen, bei maximaler Säureverunreinigung, vorhandenen Säurefehler zu eliminieren, müsste man vor der Titration einen Blindversuch durchführen und so Fehlvolumina abgrenzen. Dies ist jedoch wieder eine zusätzliche Titration mit geringsten Titrationsvolumina, welche nur eine sehr unpräzise Bestimmung ermöglicht und eine neue Fehlerquelle.

Als Alternative zur HCl-Zugabe könnte man mehrere Titrations mit unterschiedlichen Einwaage durchführen und diese grafisch auftragen (Abbildung 2-10). Aus der mittels linearer Regression erhaltenen Geradengleichung $y = a_0 + a_1 \cdot e$ kann durch a_0 der Lösungsmittelverbrauch und der Indikatorfehler ermittelt werden. Eine Gehaltsberechnung kann über die Steigung a_1 ebenfalls erfolgen (Gleichung 2-9) [1]. Für Einzelbestimmungen ist die Zugabe von 5,0 ml 0,01 molarer HCl sinnvoll und für die Maßgabe der Richtigkeit dieser Methode zwingend erforderlich.

$$(2-9) \quad \omega = a_1 \cdot c_R \cdot M_R$$

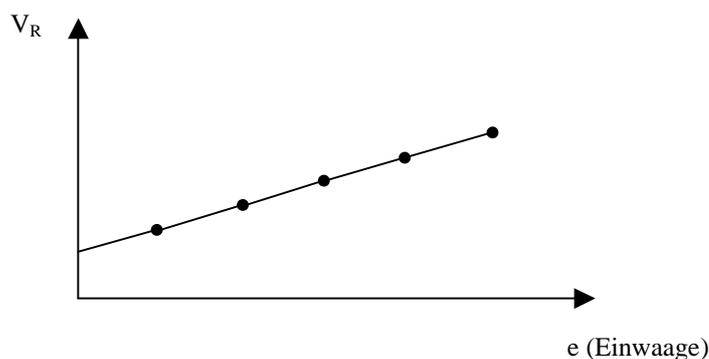


Abbildung 2-10: Titrationsergebnisse variabler Einwaagen

2.6 Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse

Die vorangegangenen Untersuchungen zeigen, dass die allgemeinen Angaben in den aktuellen Pharmakopöen auf Anhieb nur schwer zu auswertbaren Ergebnissen führen. Da die unter Punkt 2.4.3.1 verwendete U-Glas-Elektrode überhaupt nicht geeignet war, müssen die zu verwendenden Elektroden genauer spezifiziert werden. Die nachfolgend verwendete T-Glas-Elektrode brachte deutliche Verbesserungen hinsichtlich Anwendbarkeit für nichtwässrige Titrationsmedien. Einschränkungen hinsichtlich der Robustheit der Erfassung des ersten Wendepunktes wurden aufgezeigt und konnten durch eine alternative Titrationsvariante behoben werden. Hinsichtlich der Einsetzbarkeit der Variante ohne vorherige HCl-Zugabe wurde jedoch die zugelassene schlechte Qualität des Ethanol (bezogen auf den Säuregehalt) als Grund für Einschränkungen angegeben.

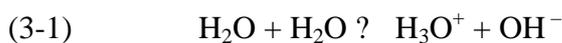
Eine weitere Variante der Gehaltsbestimmung ohne Zugabe von HCl wurde durch Verwendung eines additiven Korrekturvolumens beschrieben [1]. Da diese Methode auch statistisch verwertbare Ergebnisse liefert, kann sie eine Alternative zur Standardmethode sein. Für Titrationsen mit < 5 Einzelbestimmungen, welche in der Praxis meist Anwendung finden, ist sie nicht geeignet.

3 Alternative Lösungsmittel

3.1 Allgemeine Spezifikationen von Lösungsmitteln

Viele der heutigen Arzneistoffe müssen aufgrund ihres Löslichkeitsverhaltens und ihrer ungünstigen pKs-Werte im nichtwässrigen Milieu titriert werden. Organische Lösungsmittel haben, wie in Tabelle 3-1 beschrieben, eine geringere Autoprotolysekonstante als Wasser. Durch die geringere Eigendissoziation dieser Lösungsmittel ist das Protolysegleichgewicht im Vergleich zu Wasser nach links verschoben [42]. Die schwächeren Säure-Base-Eigenschaften verringern somit z. B. die Rückreaktion einer konjugierten Base mit der Säure (Lösungsmittel). Diese Lösungsmittel sind im Vergleich zu Wasser also weniger acide. Dadurch steigt, je nach Lösungsmittelleigenschaften, der Einsatzbereich hinsichtlich bestimmbarer Substanzen [1].

Autoprotolyse von Wasser:



$$(3-2) \quad K_L = \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot a_{\text{OH}^-}}{a_{\text{H}_2\text{O}}^2} \quad K_{L(\text{H}_2\text{O})} = 10^{-14}$$

Autoprotolyse von amphiprotischen organischen Lösungsmitteln, z.B. Isopropanol:



$$(3-4) \quad K_L = \frac{a_{\text{H}_2\text{S}^+} \cdot a_{\text{S}^-}}{a_{\text{HS}}^2} \quad K_{L(\text{Isoprop})} = 1,819 \cdot 10^{-21}$$

Die kleinere Autoprotolysekonstante von Isopropanol hat zur Folge, dass der Potentialsprung im Bereich des Äquivalenzpunkt größer wird. Schwächere Säuren und Basen können so noch erfasst werden.

Die Dielektrizitätskonstante ϵ zeigt die Polarität dipolarer Moleküle an. Je kleiner die Dielektrizitätskonstante eines Lösungsmittels ist, umso mehr verstärken sich die elektrostatischen Kräfte zwischen den in der Lösung befindlichen Teilchen. Die Dissoziation von Ionenpaaren nimmt ab und es gibt eine verstärkte Neigung zur Assoziatbildung [11].

Die Gesamtaciditätskonstante K_S für Lösungsmittel mit geringer Dielektrizitätskonstante setzt sich aus der Ionisationskonstante K_I und der Dissoziationskonstante K_D zusammen. Diese sind über folgende mathematische Beziehung miteinander verknüpft:



$$(3-6) \quad K_I = \frac{c_{A^-LH_2^+}}{c_{HA} \cdot c_{LH}}$$

$$(3-7) \quad K_D = \frac{c_{A^-} \cdot c_{LH_2^+}}{c_{A^-LH_2^+}}$$

$$(3-8) \quad K_S = \frac{K_I \cdot K_D}{1 + K_I}$$

$$(3-9) \quad \text{nur wenn } K_I \gg 1 \Rightarrow 1 + K_I \approx K_I \Rightarrow K_S = K_D$$

Rückreaktionen von konjugierten Säuren bzw. Basen können so vermindert werden.

Am Beispiel von Chininhydrochlorid soll der prinzipiell mögliche Einsatz von ausgewählten Lösungsmitteln überprüft werden.

3.2 Auswahl geeigneter Lösungsmittel

Organische Lösungsmittel sind durch das schlechte Ansprechverhalten der Elektroden als reine Lösungsmittel für die Titration ungeeignet. Geringe Wasseranteile lassen jedoch die für die Glaselektrode wichtigen H_3O^+ -Ionen entstehen und ermöglichen so eine potentiometrische Signalerfassung. Die Kombination von Wasser und organischem Lösungsmittel lässt ein Gemisch entstehen, welches die Vorteile des Wassers, mit denen der organischen Lösungsmittel insbesondere ihren niedrigen Dielektrizitäts- und Autoprotolysekonstanten, verbindet. Um Phasenbildungen vor und während der Titration zu vermeiden ist es wichtig, dass die eingesetzten organischen Lösungsmittel mit Wasser mischbar sind.

Durch diese Variante lassen sich so auch Säuren geringer Stärke ($pK_s > 8$) titrieren. Auch Wasseranteile von bis zu 50 % können lösungsmittelabhängig, aufgrund der resultierenden Misch- pK_{Auto} -Werte, noch toleriert werden [12].

Um bei der Testung neuer Lösungsmittel das Entstehen hoher Diffusionspotentiale und damit verbundener Probleme bei der Messung zu vermeiden, wurde versucht mit neuen Bezugselektrolyten zu arbeiten, wobei die Elektrolytsalze im dem Lösungsmittel gelöst wurden, welches anschließend für die eigentliche Titration verwendet wurde.

Bei polaren Lösungsmitteln erfolgt die Auflösung der Elektrolytsalze im Allgemeinen über Wasserstoffbrücken und Ladungs-Dipol-Anziehung. Polar protische Lösungsmittel können sowohl Kationen als auch Anionen gut solvatisieren. Polare Lösungsmittel mit einsamen

Elektronenpaaren ohne acides H (aprotisch polar) sind nicht in der Lage, Wasserstoffbrückenbindungen auszubilden und damit Anionen zu solvatisieren. Aus diesem Grund können sie nur Kationen über Ladungs-Dipol-Kräfte solvatisieren. Die entsprechenden Anionen des gelösten Salzes liegen demzufolge ohne schützende Solvathülle vor.

Stoff	Dielektrizitätskonstante (bei 25 °C) ^[13]	Dynamische Viskosität [mPa·s] (bei 25 °C) ^[13]	Autoprotolyse-Konstante (pKL) ^[12]
Wasser	80,18 ^[14] bei 20 °C	0,95 ^[14] bei 20 °C	14,00
Ethanol	24,3	1,13	18,94
Isopropanol	18,3	2,06	20,74
Methanol	32,6	0,56	16,56
Aceton	20,7	0,31	> 32,5

Tabelle 3-1: Eigenschaften ausgewählter Lösungsmittel

3.2.1 Verwendung von Isopropanol als Lösungsmittel

3.2.1.1 Versuchsanordnung

Isopropanol ist ein amphiprotisches Lösungsmittel. Durch die im Vergleich zu Wasser und Ethanol höhere Autoprotolysekonstante (siehe Tabelle 3-1) sollte es möglich sein Arzneistoffhydrochloride mit pKs-Werten >9 noch quantitativ zu bestimmen. Bei der Herstellung des Bezugs elektrolyts LiCl, gesättigt in Isopropanol, wird das Elektrolytsalz somit beim Auflösen vollständig solvatisiert. Bei der Herstellung gingen große Mengen an LiCl in Lösung, die gesättigte Lösung erwies sich als ölig viskos.

Für die Titration wurde eine Double Junction-Bezugselektrode [V] zunächst außen mit dem neuen Bezugselektrolyt befüllt. Im weiteren Verlauf wurde zum Standard elektrolyten LiCl/gesättigt in Ethanol gewechselt. Bei der Messelektrode handelt es sich weiterhin um eine T-Glaselektrode. Eine definierte Menge des Arzneistoff Chininhydrochlorid wurde in 50 ml Isopropanol (reinst) 99,5 % gelöst und mit 5,0 ml HCl (0,01 mol·l⁻¹) versetzt.

3.2.1.2 Versuchsdurchführung

Die Messungen wurden in Anlehnung an 3.2 mit Zugabe von HCl durchgeführt.

Bei anschließender Titration erwies sich die Messanordnung als so träge, dass der erste Potentialsprung kaum erfasst wurde. Daraufhin wurde in der Methode die Driftschwelle für die Messwertübernahme von 20 mV/min auf 10 mV/min herabgesetzt. Dies führt dazu, dass die Übernahme des Messwertes erst bei einer Potentialdrift von unter 10 mV/min erfolgt. Dadurch wird die Maximalwartezeit bis zur Messwertübernahme oft vollständig aus-

genutzt. Trägere Messsysteme können so trotzdem auswertbare Ergebnisse liefern. Allerdings hatte die Herabsetzung der Driftschwelle zur Folge, dass sich die Titrationsgeschwindigkeit drastisch verlangsamt. Diese Veränderung führte letztlich dazu, dass sich die Titrationszeit mehr als verdoppelte, die Kurven aber kaum auswertbarer wurden (Abbildung 3-1).

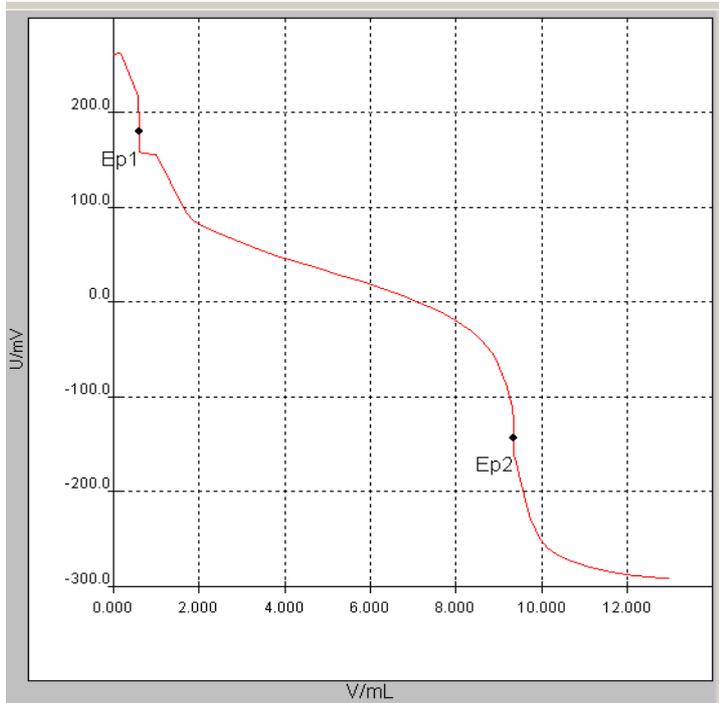


Abbildung 3-1: Titrationskurve von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) in Isopropanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$), Bezug: LiCl gesättigt in Isopropanol

Um die ölig-viskose Konsistenz des Elektrolyten als einen beeinflussenden Faktor auszuschließen, wurde als nächste Maßnahme der Standardelektrolyt für nichtwässrige Titrations, LiCl/gesättigt in Ethanol, verwendet. Unter diesen Bedingungen wurden nachfolgende Messungen durchgeführt. Es wurde versucht, unter den Bedingungen von 2.3 (T-Glas) eine Messreihe aufzunehmen und statistisch auszuwerten (Tabelle 3-2). Offensichtliche Fehlmessungen durch sichtbar unerwünschte Potentialsprünge wurden hierbei verworfen.

3.2.1.3 Versuchsergebnisse

Eine Auswertung war unter angegebenen Titrationsmodus möglich. Die Kurven der Messreihe waren größtenteils reproduzierbar, im Laufe der gesamten Titration kam es jedoch zu unvorhersehbaren Sprüngen und Schwankungen, wonach diese Titrationsergebnisse verworfen werden mussten (Abbildung 3-2).

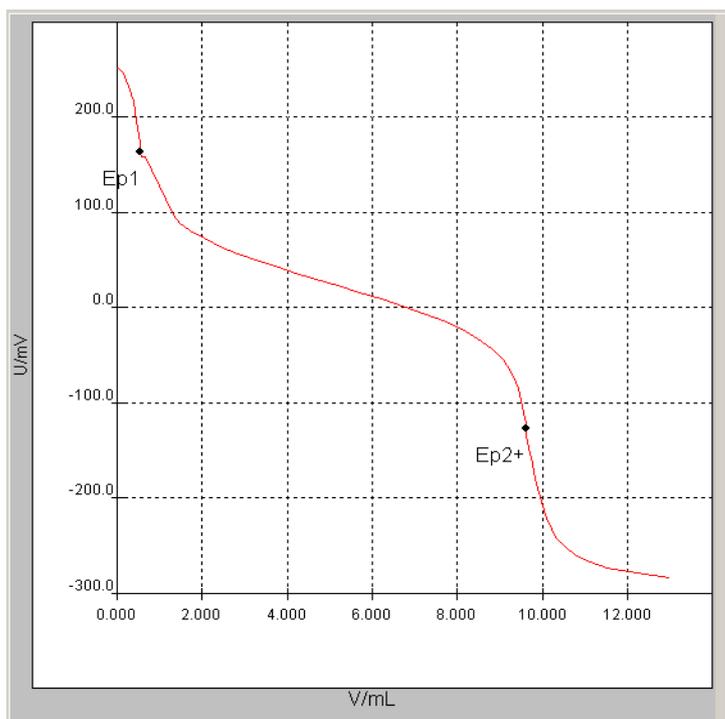


Abbildung 3-2: Titrationskurve von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Isopropanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$), Bezug: LiCl gesättigt in Ethanol

Einwaage Chininhydrochlorid [g] (bezogen auf die wasserfreie Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,988$	Gehalt Chininhydrochlorid [%]
0,3486	9,755	99,71
0,3234	9,047	99,59
0,3250	9,133	100,3
0,3571	10,019	100,16
0,3353	9,407	100,19
0,3189	8,967	100,38
0,3143	8,791	99,65
0,3336	9,307	99,51
Mittelwert:		99,94 %
Standardabweichung:		0,36 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$		0,29 %
Varianz:		$0,13 \%^2$

Tabelle 3-2: Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Isopropanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$)

Da bei der Titration in Isopropanol mit LiCl/gesättigt in Ethanol als Bezugselektrolyt die Kurven besser auswertbar waren als beim Elektrolyten LiCl/gesättigt in Isopropanol, liegt die

Annahme nahe, dass Isopropanol sowohl als Lösungsmittel, als auch als Elektrolytgrundlage für elektrochemische Titrationsen ungeeignet ist.

Die Ursache hierfür ist sowohl in der niedrigen Dielektrizitätskonstante von nur 18,3 zu sehen, als auch in der hohen dynamischen Viskosität von 2,43 mPa·s, welche eine nur unzureichende Durchmischung des Mediums während der Titration annehmen lässt.

Es ist festzustellen, dass eine Säure-Base-Titration von Chininhydrochlorid in Isopropanol prinzipiell möglich ist. Während der Erstellung der Titrationsreihe gab es Titrationsen, die durch unerwünschte Potentialsprünge aufgrund von äußeren Einflüssen abgebrochen werden mussten. Um reproduzierbare Messwerte zu erhalten, müssen demnach sehr hohe Anforderungen an die Messanordnung und die Umgebung zu stellen sein.

Da eine Titration aber meist sehr einfach und schnell zu realisieren sein soll, ist das Lösungsmittel Isopropanol für diese Zielsetzung weniger geeignet. Ohne die optimalen Titrationsparameter ist eine Messung hier wenig zuverlässig.

3.2.2 Verwendung von Aceton als Lösungsmittel

3.2.2.1 Probleme bei der Versuchsdurchführung

Aceton ist ein polar aprotisches Lösungsmittel [15]. Es kann demzufolge nicht dissoziieren und ist nicht zur Autoprotolyse fähig. Aus diesem Grunde hat es kaum einen Einfluss auf Säure-Base-Reaktionen. Da kein acids H vorhanden ist, können Anionen nicht gut solvatisiert werden.

Bei der Herstellung des entsprechenden Bezugselektrolyts, LiCl/gesättigt in Aceton, werden somit nur die Li^+ -Ionen solvatisiert. Die Löslichkeit des Salzes war im Vergleich zu Isopropanol deutlich schlechter.

Der Elektrolyt, LiCl/gesättigt in Aceton, wurde in eine Double Junction-Bezugselektrode gefüllt, hier sowohl in die innere Bezugselektrode, als auch in die äußere Schirmung. Dabei bildeten sich nach einiger Zeit Kristalle an der Glaswand. Dies könnte auf das Fehlen der schützenden Solvathülle der Chlorid-Ionen zurückgeführt werden. Durch das geringere Solvationsvermögen des Lösungsmittels, tritt eine Orientierung der freien Ionen, hier Chlorid, zur Elektrodenoberfläche auf, wo sie zum Teil absorbiert werden und auskristallisieren. Diese kleinen Kristalle können wie Impfkristalle fungieren und eine weitere Kristallbildung fördern.

Daraufhin wurde versucht, die innere Befüllung gegen wässrige KCl (3 mol/L) auszutauschen. Jedoch erwies sich das entstandene Diffusionspotential zwischen Innen- und

Außenelektrolyt als so groß, dass KCl durch das Diaphragma in den Außenelektrolyten trat und dort auskristallisierte.

Da sich das Bezugselektrolyt als ungeeignet erwiesen hat, wurde ebenfalls der Standard-elektrolyt, LiCl/gesättigt in Ethanol, verwendet.

Die Messanordnung wurde wie unter Punkt 2.3 (T-Glas) gewählt.

3.2.2.2 Versuchsergebnisse

Die Titrationskurve zeichnete sich durch einen flachen Übergang in den Potentialsprung und einen sprunghaften Übergang in den flachen Teil der Kurve nach dem Äquivalenzpunkt aus. Für die Elektrodenreaktion treten die Lösungseigenschaften des Wasser aufgrund der aprotischen Eigenschaften von Aceton anscheinend stark in den Vordergrund.

Der Titrationsverlauf war nicht reproduzierbar, die Messwerte schwankten während einer Messreihe sehr stark und ließen sich nicht vergleichen.

Gründe sind hier in der vergleichsweise geringen Dielektrizitätskonstante und der niedrigen dynamischen Viskosität (Tabelle 3-1) zu finden.

Die elektrostatischen Einflüsse der Umgebung sind wie bei Isopropanol ein entscheidender Faktor für die schlechte Reproduzierbarkeit. Mit Hilfe einer optimal abgeschirmten Elektrode kann hier, wie bei Isopropanol, eine größere Sicherheit erreicht werden. Die niedrige Viskosität von nur 0,31 mPa·s ist ein Hindernis für eine optimale Durchmischung im Titrationsgefäß. Es müssen tendenziell höhere Rührgeschwindigkeiten gewählt werden, was zu einer Veränderung im elektrischen Feld führt, und somit die Messung negativ beeinflusst.

Aceton ist als Lösungsmittel für eine potentiometrisch indizierte Säure-Base-Titration weniger geeignet.

3.2.3 Verwendung von Methanol als Lösungsmittel

3.2.3.1 Versuchsdurchführung

Methanol ist ein amphiprotisches Lösungsmittel mit einer Dielektrizitätskonstante von 32,6 (Tabelle 3-1). Die dynamische Viskosität beträgt 0,614 mPa·s. Methanol ist ein, im Vergleich zu den bisher erwähnten Lösungsmitteln, polareres Medium, daher können schwache Kationensäuren, aufgrund der auch protischen Eigenschaften des Methanols, nur sehr schlecht erfasst werden. Die Autoprotolysekonstante beträgt 16,65 (Tabelle 3-1) und ist somit von den bisher untersuchten Lösungsmitteln, der des Wassers am ähnlichsten.

Das Elektrolytsalz LiCl wurde bis zur Sättigung in Methanol gelöst. Die Lösung erwies sich als ölig viskos. Der Bezugselektrolyt wurde in eine Silber/Silberchlorid Referenzelektrode gefüllt.

Die Titration wurde analog den Bedingungen unter 2.3 (T-Glas) durchgeführt.

3.2.3.2 Versuchsergebnisse

Die Titrationskurve zeichnete sich durch ein sehr ruhiges Messsignal aus. Der verwendete Bezugselektrolyt scheint für die Titration geeignet, was vermutlich an den wasserähnlichen Eigenschaften des Methanols liegt. Elektrostatische Störgrößen waren hier von geringerer Bedeutung. Aufgrund dessen ist der Potentialsprung am Äquivalenzpunkt jedoch, im Vergleich zu anderen Lösungsmitteln, flach. Eine genaue Bestimmung des Äquivalenzpunktes ist nur schwer möglich. Da während der Titration der Wasseranteil ständig ansteigt, resultieren flache Potentialsprünge am Äquivalenzpunkt. Die Einsatzbreite als verwendbares Lösungsmittel beschränkt sich somit auf schwache Arzneistoffsäure mit vergleichsweise niedrigen pKs-Werten < 9 , da der Potentialsprung ansonsten zu gering ausfällt. Eine universelle Einsatzmöglichkeit von Methanol als Lösungsmittel für nichtwässrige Titrationsen von Arzneistoffhydrochloriden ist demnach nicht erkennbar.

4 Spezifische Aspekte der Störfaktorenminimierung

4.1 Folgeprobleme beim Einsatz organischer Lösungsmittel

Da die auftretenden Probleme beim Einsatz neuer Titrationsmedien unter anderem den ungeeignet scheinenden Bezugselektrolyten zuzuschreiben sind, wird versucht, diese Fehlerquelle zu eliminieren, indem eine Bezugselektrode ohne Überführung eingesetzt wurde.

Dies ist möglich, da in der Vorlage der Titrationslösung Chlorid-Ionen, welche zur Potentialkonstanz führen, enthalten sind. Während der Titration nimmt zwar aufgrund der Volumenzunahme deren Konzentration stetig ab, dies führt jedoch zu keinen nennenswerten Beeinträchtigungen, da ja Potentialdifferenzen gemessen werden.

Störungen während der Titration, wie z. B. plötzlich auftretende Diffusionsspannungen, auskristallisierender Bezugselektrolyt oder ungeeignetes Diaphragma, welche unmittelbar die Bezugselektrode betreffen, können so vermieden werden.

Weiterhin entstehen durch den Einsatz eines Magnetrührers verstärkt elektrische Störfelder, welche die potentiometrische Endpunkterkennung beeinflussen. Wie schon unter 3.2 erwähnt, ist besonders Isopropanol empfindlich gegenüber äußeren Störgrößen. Es wird der Versuch unternommen, diese Störfelder durch den Einsatz eines Faradaykäfigs abzuschirmen.

4.2 Arbeiten mit einer Ag/AgCl-Elektrode ohne Überführung

Zur Herstellung einer geeigneten Bezugselektrode wurde ein Silberstift [VI] mit AgCl beschichtet. Die Beschichtung erfolgte in Anlehnung an ein Applikation Bulletin der Firma Metrohm [16]. Dazu wurde der Silberstift in eine HCl ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) getaucht. Als Hilfselektrode diente eine Silber-Ringelektrode [VII]. Es wurde eine Spannung von 4 V angelegt und bei einer Ausgangsstromstärke von ca. 12 mA, wurde die Silberelektrode 3 Stunden im Elektrolysebad beschichtet.

Im Zuge der Beschichtung entstand auf dem Silberstift ein feiner, gleichmäßig verteilter, fest anhaftender Silberchloridüberzug.

Die entstandene Silber/Silberchlorid-Elektrode wird als Bezugselektrode nun direkt im Titrationsmedium eingesetzt.

Die bereits erwähnten Lösungsmittel Ethanol, Isopropanol, Aceton und Methanol wurden bei anschließenden Titrationsversuchen getestet. Da die entstandene Bezugselektrode keine Abschirmung

gegen äußere Einflüsse besitzt, wurde zusätzlich eine Hilfselektrode eingesetzt, um das Messsignal zu stabilisieren. Dabei zeigte sich, dass die Kurveneigenschaften für die jeweiligen Lösungsmittel im Vergleich zur verwendeten Standardbezugselektrode gleich blieben. Teilweise verstärkten sich die lösungsmitteltypischen Verläufe, was auf die fehlende Abschirmung der reinen Silber/Silberchlorid-Elektrode zurückzuführen ist (Abbildung 4-1 und 4-3). Die eingesetzte Hilfselektrode hatte hier anscheinend nur geringen stabilisierenden Einfluss.

Der Verlauf einer Titrationskurve ist also primär von dem verwendeten Lösungsmittel abhängig. Die verwendeten Bezugselektrolyte spielen, solange sie prinzipiell geeignet sind, nur eine untergeordnete Rolle. Dies zeigt sich auch bei dieser Versuchsanordnung, so dass Isopropanol, im Vergleich zu Ethanol, nur aufgrund seiner ungünstigen Lösungsmittelleigenschaften deutlich störanfälliger war.

Einflussfaktoren für einen optimalen Verlauf einer Titrationskurve in einem störanfälligen Lösungsmittel sind anscheinend die Eigenschaften der verwendeten Elektroden, bezüglich Glasart und Abschirmung.

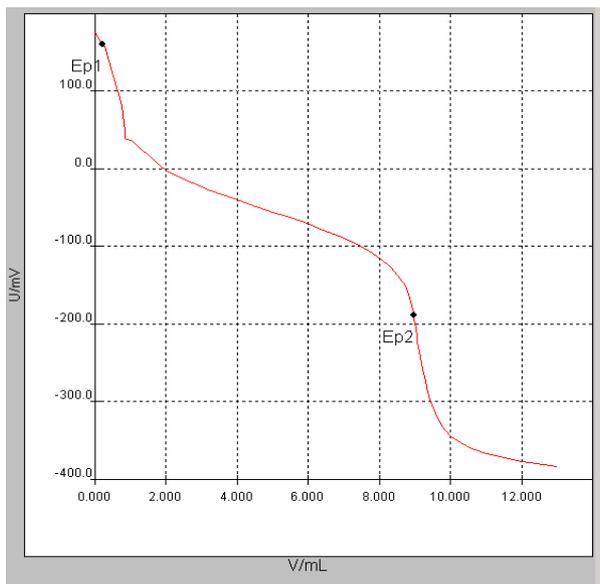


Abbildung 4-1: Titrationskurve von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Isopropanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$), Messung erfolgte mit T-Glaselektrode und Silber/Silberchlorid-Bezugselektrode

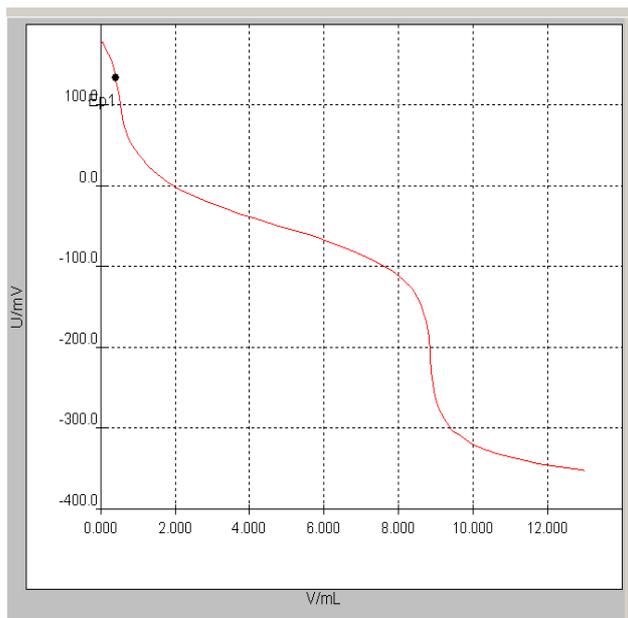


Abbildung 4-2: Titrationskurve von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$), Messung erfolgte mit T-Glaselektrode und Silber/Silberchlorid-Bezugselektrode

4.3 Abschirmung des Messmediums

Um das Messmedium von äußeren elektrostatischen Einflüssen abzuschirmen, wurde um das Titrationsgefäß ein Faradaykäfig errichtet. Um innere Felder durch den Einsatz eines Magnetrührers auszuschließen wurde dieser durch einen selbst konstruierten Rührstab aus Glas ersetzt.

Hierzu wurde ein Drahtgeflecht (Maschenweite ca. 1 cm) um das Titrationsgefäß angebracht und geerdet. Die Messelektroden sowie der Glasrührer wurden durch das Drahtgeflecht in die zu titrierende Lösung eingebracht (Abbildung 4-3).

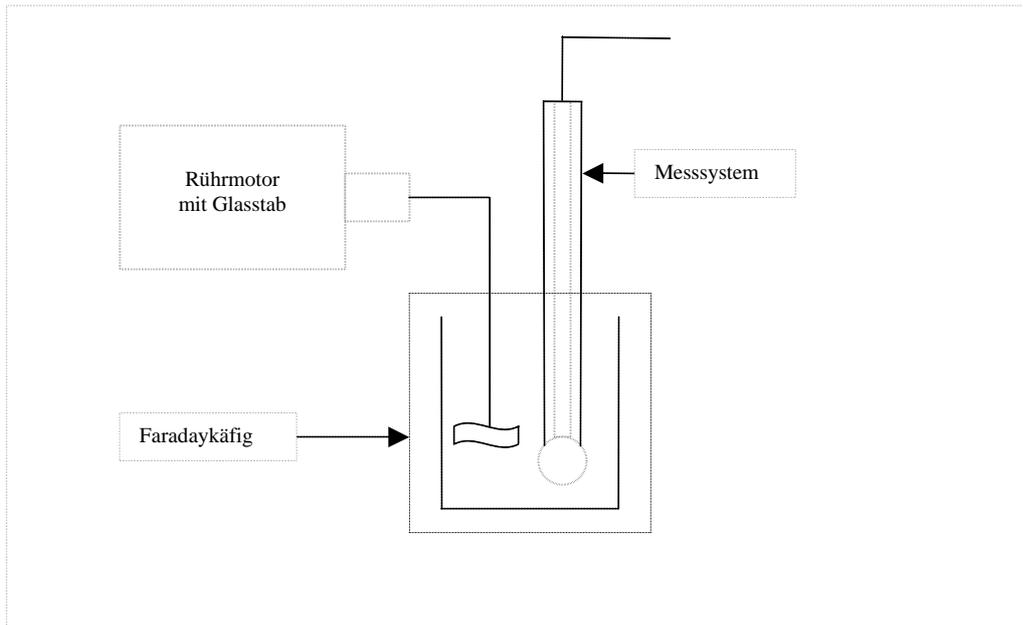


Abbildung 4-3: Schematische Versuchsanordnung für die Titration im Faradaykäfig

Für die nachfolgenden Titrationsen wurden die Bedingungen unter Punkt 2.3 (T-Glas) gewählt und mit den Lösungsmitteln Ethanol, Aceton und Isopropanol getestet.

Es zeigte sich, dass bei hoher Rührstufe, die durch den Einsatz des Rührstabes im Messmedium erzeugten Luftblasen die potentiometrische Messung so stark störten, dass keine auswertbare Titrationskurve zustande kam. Geringere Rührgeschwindigkeiten führten zur unvollständigen Durchmischung der Lösung und damit zu ungewollten Potentialsprüngen. Bei gewählter mittlerer Rührstufe stabilisierte sich das Messsignal und der Verlauf der resultierenden Titrationskurve war deutlich ruhiger als bei herkömmlicher Rührmethode. Beim Versuch der Aufnahme einer Titrationsreihe für statistische Relevanz, kam es aber immer wieder zu zufälligen Störungen des Messsignals durch Luftblasen.

Aceton erwies sich als problematisch im Hinblick auf die optimale Durchmischung. Dies äußerte sich in sprunghaften Potentialänderungen, die jede Auswertung unmöglich machten. Aufgrund seiner geringen dynamischen Viskosität (vgl. Punkt 3.1, Tabelle 3-1) ist die Rührbarkeit dieses Titrationsmediums durch einen Glasstab als unzureichend anzusehen.

Es ist festzustellen, dass sich durch Abschirmung des Messsystems durchaus eine gewisse Beruhigung des Messsignals erreichen lässt, aber nicht die entscheidende Verbesserung zur Stabilisierung der Messwerte erreicht wird. Der Einsatz von gut abgeschirmten Elektroden kann durch eine Verbesserung des Titrationsumfeldes nicht aufgegeben werden.

Der hohe Aufwand für Installation des Rührsystems und des Faradaykäfigs, verbunden mit der Störanfälligkeit durch zufällig entstehende Luftblasen, kann einen Praxiseinsatz nur schwer erkennbar machen.

Es müssen somit Elektroden eingesetzt werden, die so abgeschirmt sind, dass sie in nichtwässrigen Titrationsmedien störungsfreie Messergebnisse liefern.

5 Titration von Chininhydrochlorid unter optimierten Bedingungen

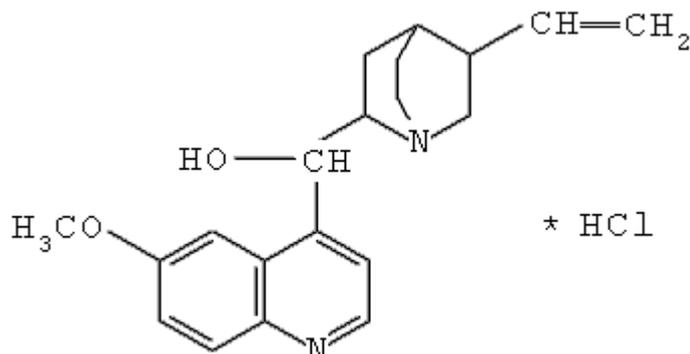


Abbildung 5-1: Chininhydrochlorid

5.1 Vorbetrachtungen

Da schlecht leitende Medien sehr anfällig für elektrostatische Einflüsse der Umgebung sind, besteht die Möglichkeit, die Elektroden zusätzlich abzuschirmen. Damit würden die Messungen stabilisiert. Diese Möglichkeit wurde mit der Solvotrode [VIII] realisiert. Diese kombinierte Elektrode ist mit LiCl gesättigt in Ethanol befüllt. Das Innenrohr ist mit einem speziellen Leiter beschichtet, welcher eine optimale Abschirmung gegen statische Elektrizität gewährleistet. Weitere Eigenschaften dieser Elektrode, wie z. B. das Vorhandensein eines Schliffdiaphragmas und T-Membranglas, sorgen für stabile Messwerte und gutes Ansprechverhalten.

5.2 Versuchsdurchführung

Nachfolgend wurde der Arzneistoff Chininhydrochlorid (pK_s : 8,5 [17]) mit den unter Punkt 2.3 beschriebenen Versuchsbedingungen quantitativ bestimmt und ausgewertet (Tabellen 5-1 bis 5-3). Als Elektrode wurde die unter Punkt 5.1 beschriebene Einstabmesskette verwendet. Als Lösungsmittel wurden Ethanol, Isopropanol und Aceton verwendet.

5.3 Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Die Messreihen wurde ausgewertet und miteinander verglichen. Es zeigte sich, dass alle 3 Lösungsmittel reproduzierbare Messergebnisse lieferten und die erhaltenen Mittelwerte praktisch identisch sind. Die Standardabweichungen bewegen sich in vergleichbaren Größenordnungen, wobei Ethanol etwas präzisere Werte liefert. Die Präzision bei Aceton und Isopropanol ist gleich. Beim F-Test zwischen den Standardabweichungen von Ethanol und Isopropanol ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Standardabweichungen (Gleichungen 5-1 bis 5-3) Der daraufhin durchgeführte Vergleich beider Mittelwerte (T-Test) ergab keinen signifikanten Unterschied.

F-Test [9]:

$$(5-1) \quad \hat{F} = \frac{s_1^2}{s_2^2} = 1,8187$$

$$(5-2) \quad F_a = 3,87, \text{ für } P = 0,95 [9]$$

$$(5-3) \quad F_a > \hat{F} \Rightarrow H_0 \text{ angenommen}$$

Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Standardabweichungen, ein Mittelwertsvergleich kann durchgeführt werden (Gleichung 5-4 bis 5-7).

Mittelwertsvergleich [9]:

$$(5-4) \quad s = \sqrt{\frac{s_1^2 \cdot f_1 + s_2^2 \cdot f_2}{f_1 + f_2}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 + n_2}{n_1 \cdot n_2}} = 0,08552$$

$$(5-6) \quad t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} = 2,0782$$

$$(5-7) \quad t_{(0,95)} = 2,36 [9]$$

$$(5-8) \quad t < t_{(0,95)}$$

⇒ Die Differenz zwischen den beiden Mittelwerten ist somit nicht beweiskräftig, die Messreihen gehören damit zum gleichen Mittelwert einer normalverteilten Grundgesamtheit.

Die Lösungsmittel Ethanol und Isopropanol liefern demnach Messwerte, die zu einer Grundgesamtheit gehören und sich nicht signifikant voneinander unterscheiden. Auf eine statistische Untersuchung von Aceton wurde hier verzichtet, da sich die Analysenwerte in vergleichbaren Größenordnungen bewegen.

Einwaage Chininhydrochlorid [g] (bezogen auf die wasserfreie Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,965$	Gehalt Chininhydrochlorid [%]
0,2942	8,475	100,33
0,3062	8,807	100,16
0,2752	7,902	99,99
0,3236	9,312	100,22
0,2935	8,443	100,19
0,3113	8,930	99,90
0,3106	8,931	100,14
0,2942	8,451	100,04
Mittelwert:		
		100,12 %
Standardweichung:		
		0,135 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$		
		0,11 %
Varianz:		
		0,018 % ²

Tabelle 5-1: Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$)

Einwaage Chininhydrochlorid [g] (bezogen auf die wasserfreie Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,965$	Gehalt Chininhydrochlorid [%]
0,3128	8,988	100,07
0,2783	8,000	100,12
0,2729	7,840	100,06
0,2979	8,558	100,05
0,3203	9,229	100,35
0,3113	8,964	100,28
0,3017	8,711	100,56
0,3265	9,398	100,25
Mittelwert:		
		100,22 %
Standardweichung:		
		0,18 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$		
		0,15 %
Varianz:		
		0,033 % ²

Tabelle 5-2: Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) in Isopropanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol l}^{-1}$)

Einwaage Chininhydrochlorid [g] (bezogen auf die wasserfreie Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,989$	Gehalt Chininhydrochlorid [%]
0,3216	9,013	99,95
0,3284	9,208	99,99
0,3229	9,057	100,16
0,3283	9,216	100,34
0,3255	9,109	99,96
0,3427	9,621	100,14
0,3365	9,455	100,22
0,3338	9,386	100,44
Mittelwert:		100,15 %
Standardabweichung:		0,18 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$		0,15 %
Varianz:		0,033 % ²

Tabelle 5-3: Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH (0,1 mol d^{-1}) in Aceton unter Zusatz von 5 ml HCl (0,01 mol d^{-1})

6 Titrations diverser Arzneistoffe mit den pKs-Werten

4,84; 6,4; 8,5; 9,0 und 11,5

6.1 Titration von Procainhydrochlorid unter optimierten Bedingungen

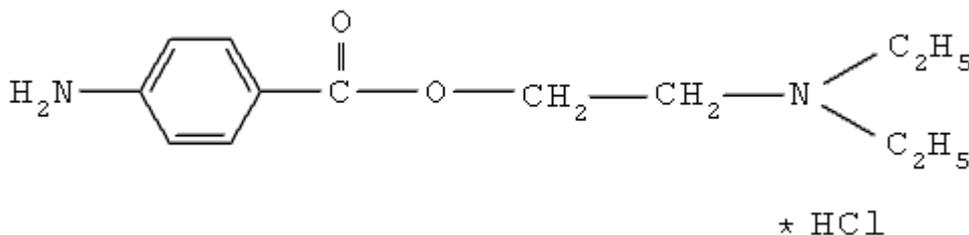


Abbildung 6-1: Procainhydrochlorid

6.1.1 Allgemeines

Die übliche Bestimmung für Procainhydrochlorid wird in den aktuellen Pharmakopöen nach der Methode „Stickstoff in primären aromatischen Aminen“ durchgeführt. Der Endpunkt wird biamperometrisch bestimmt.

Der pKs-Wert von Procainhydrochlorid beträgt 9,0 [18] und liegt damit im ideal tritierbaren Bereich von Arzneistoffhydrochloriden als Kationensäure (siehe auch Punkt 2.2).

Unter den Titrationsbedingungen von Punkt 5.2 wurde versucht, den Arzneistoff Procainhydrochlorid mit Hilfe der Alkalimetrie zu erfassen.

6.1.2 Versuchsdurchführung

Die Bestimmung wurde wie in Kapitel 5 in den Medien Ethanol, Isopropanol und Aceton durchgeführt. Der Titrationsverlauf ist vergleichbar, die Auswertung kann unter gleichen Gesichtspunkten erfolgen.

Als Elektrodensystem wurde die bereits unter Punkt 5.1 vorgestellte kombinierte Elektrode (Solvotrode) verwendet. Auf die Testung anderer Elektroden und Elektrolyte wurde verzichtet, da die oben aufgeführten Untersuchungen gezeigt haben, dass keine nennenswerten Verbesserungen zu erreichen sind.

6.1.3 Auswertung und Interpretation der Ergebnisse

Mit allen 3 verwendeten Lösungsmitteln kam es zu reproduzierbaren und vergleichbaren Ergebnissen. Der ermittelte Gehalt von Procain entsprach den Vorgaben der aktuellen Pharmakopöen und wich bei allen drei Lösungsmittelvarianten nicht nennenswert voneinander ab (siehe Tabellen 6-1 bis 6-3).

Auf statistische Untersuchungen wurde hier verzichtet. Die unter 5.2 durchgeführten Untersuchungen für Chininhydrochlorid zeigten bei vergleichbaren Messergebnissen keine signifikanten Abweichungen, weshalb die Übereinstimmung auch bei diesen Untersuchungen angenommen wird.

Eine alkalimetrische Titration von Procainhydrochlorid ist unter den genannten Bedingungen problemlos möglich und stellt gegenüber der allgemein üblichen Redox Titration eine robuste Alternative dar. Die preiswerte und einfache Herstellung der Maßlösung, sowie die Möglichkeit zur rechnergesteuerten Auswertung der Titrationskurve (für biamperometrisch indizierte Kurvenverläufe gibt es derzeit keine zuverlässigen rechnergestützten Auswertungsprogramme) ist ein weiterer Vorteil dieser Titrationsart.

Einwaage Procainhydrochlorid [g] (bezogen auf die getrocknete Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,988$	Gehalt Procainhydrochlorid [%]
0,2448	9,094	100,13
0,2415	8,954	99,93
0,2751	10,204	99,98
0,2585	9,628	100,39
0,2425	9,008	100,12
0,2424	9,019	100,29
0,2655	9,851	100,01
0,2860	10,629	100,17
Mittelwert:		100,13 %
Standardabweichung		0,16 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$		0,13 %
Varianz		0,025 % ²

Tabelle 6-1: Titration von Procainhydrochlorid mit NaOH (0,1 mol \cdot l⁻¹) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl (0,01 mol \cdot l⁻¹)

Einwaage Procainhydrochlorid [g] (bezogen auf die getrocknete Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,993$	Gehalt Procainhydrochlorid [%]	
0,2247	8,304	100,11	
0,2458	9,064	99,88	
0,2338	8,647	100,15	
0,2290	8,456	100,02	
0,2325	8,600	100,20	
0,2364	8,746	100,22	
0,2503	9,232	99,91	
0,2313	8,541	100,03	
Mittelwert:			100,07 %
Standardabweichung:			0,13 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,10 %
Varianz:			0,016 % ²

Tabelle 6-2: Titration von Procainhydrochlorid mit NaOH (0,1 mol L^{-1}) in Isopropanol unter Zusatz von 5 ml HCl (0,01 mol L^{-1})

Einwaage Procainhydrochlorid [g] (bezogen auf die getrocknete Substanz)	Verbrauch von 0,1m NaOH zwischen den Wendepunkten [ml] $f(\text{NaOH}) = 0,994$	Gehalt Procainhydrochlorid [%]	
0,2868	10,663	100,82	
0,2617	9,717	100,68	
0,2675	9,932	100,68	
0,2648	9,847	100,83	
0,2672	9,952	100,99	
0,2710	10,080	100,87	
0,2721	10,112	100,77	
0,2634	9,818	101,07	
Mittelwert:			100,85 %
Standardabweichung:			0,14 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,12 %
Varianz:			0,019 % ²

Tabelle 6-3: Titration von Procainhydrochlorid mit NaOH (0,1 mol L^{-1}) in Aceton unter Zusatz von 5 ml HCl (0,01 mol L^{-1})

6.2 Betrachtungen von Arzneistoffen mit ungünstigeren pKs-Werten

Nachfolgend wurde versucht, andere Arzneistoffe alkalimetrisch unter den in Punkt 5.2 angegebenen optimierten Bedingungen zu titrieren. Als Lösungsmittel diente Ethanol. Die erhaltenen Titrationskurven sind in Abbildung 6-4 bis 6-6 zu sehen. Weiterführende Titrationsreihen sollen hier nicht Bestandteil der Untersuchungen sein.

6.2.1 Titration von Papaverinhydrochlorid

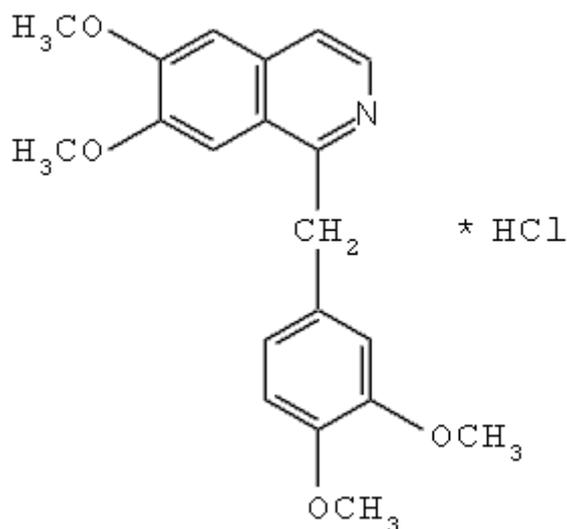


Abbildung 6-2: Papaverinhydrochlorid

Papaverinhydrochlorid wird in Ph.Eur. 5.0 schon mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Ethanol R unter Zugabe von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) titriert. Abbildung 6-3 zeigt den Verlauf der Titration. Im Bereich des Äquivalenzpunktes kommt es zu einem steilen Abfall der Titrationskurve, der Wendepunkt in diesem Bereich ist problemlos erfassbar. Auch hier nicht gezeigte Titrations in Isopropanol und Aceton zeigten einen ruhigen Kurvenverlauf und auswertbare Potentialsprünge. Schwierigkeiten treten bei der Bestimmung des ersten Wendepunktes auf.

Die Ursachen werden im Folgenden genauer betrachtet:

Der Signalabfall, welcher für die Bestimmung des ersten Wendepunktes erforderlich ist, ist nicht steil genug. Es kommt nur zu einem flachen Abfall der Kurve, eine Auswertung ist nur erschwert möglich. Das Äquivalenzpunktkriterium muss sehr hoch gesetzt werden, um diesen durch die Software erfassbar zu machen. Ein flacher Signalanstieg oder -abfall führt immer zu größeren Messunsicherheiten, da der Wendepunkt nicht mehr punktgenau bestimmt werden

kann. Je steiler ein Kurvenverlauf ist, umso geringer sind die Fehlermöglichkeiten bei der Bestimmung der Äquivalenzpunktes.

Papaverinhydrochlorid hat einen pKs-Wert von 6,4 [17] und ist somit eine stärkere Säure als die bisher betrachteten Arzneistoffe. Die Bestimmung des 2. Wendepunktes verlief daher problemlos. Der niedrige pKs-Wert hat zu Folge, dass sich die Säurestärken von HCl und Papaverin HCl annähern und sich durch Titration schlechter voneinander unterscheiden lassen. Unter Punkt 2.2 wird erwähnt, dass die Potentiometrie Substanzen mit 2 pK-Einheiten Differenz voneinander unterscheiden kann. Dies ist beim Einsatz von HCl gegeben. Wenn man aber das Stoffmengenverhältnis zwischen beiden Substanzen betrachtet, wird sichtbar, dass fast die zwanzigfache Menge an Papaverinhydrochlorid in der Lösung vorliegt. Die Höhe des Potentialsprungs am Äquivalenzpunkt ist nicht nur abhängig von der Stärke der Säure, sondern auch von deren Ausgangskonzentration. Die Titration beginnt deshalb hier bei deutlich niedrigeren Ausgangspotentialen, als es beim Einsatz einer starken Säure zu erwarten wäre [2]. Für die Titration wurden 5 ml einer 0,01 molaren HCl in ca. 50 ml Lösungsmittel gegeben. Die Konzentration der HCl in der Lösung ist so ca. $0,001 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Dies erklärt zusammen mit der Tatsache, dass sich Papaverinhydrochlorid (deutlich höher konzentriert und relativ stark sauer) dem Potentialbereich des Sprunges von HCl annähert, die deutlich abgeflachte Kurve zu Beginn der Titration.

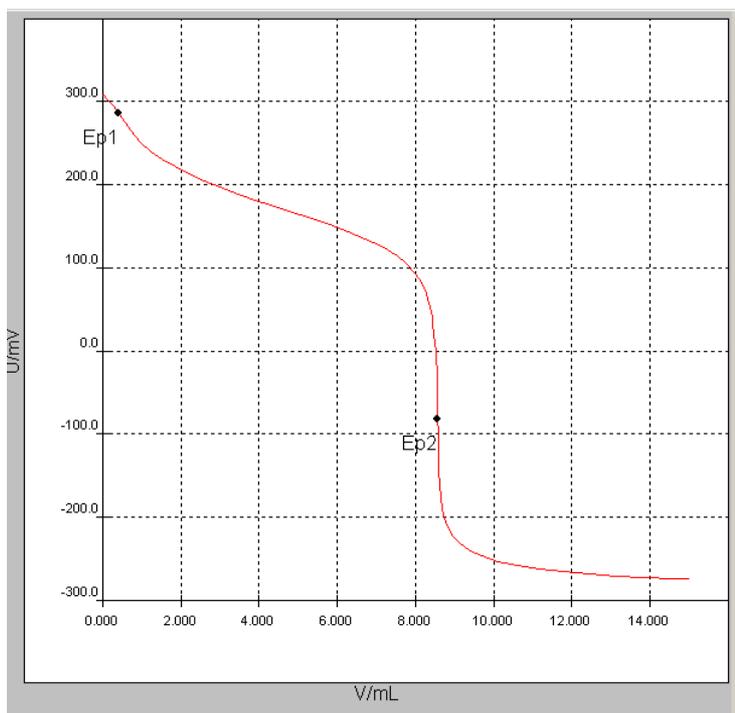


Abbildung 6-3: Titration von Papaverinhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$)

6.2.2 Titration von Guanethidinmonosulfat

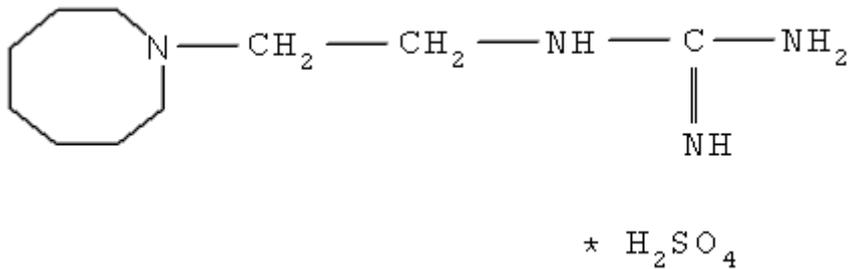


Abbildung 6-4: Guanethidinmonosulfat

Guanethidinmonosulfat wird in den aktuellen Pharmakopöen wasserfrei mit Perchlorsäure in Eisessig titriert. Die Nachteile dieser Methode wurden unter Punkt 1.5.2 bereits erläutert. Mit einem pKs-Wert von 8,5 [18] lässt sich der Arzneistoff problemlos unter den in Punkt 5.2 angegebenen Bedingungen titrieren. Alle 3 Lösungsmittel erwiesen sich im Einsatz als geeignet. In Abbildung 6-5 ist erkennbar, dass der Arzneistoff einen deutlichen Umschlagspunkt aufweist. Der Titrationsverlauf lässt einen sehr großen Sprung am Äquivalenzpunkt erkennen. Die Auswertung erwies sich demzufolge als problemlos. Durch den großen Potentialsprung könnte für weitere Messungen das Äquivalenzpunktkriterium deutlich nach oben gesetzt werden, die Gefahr der Anerkennung von unerwünschten Äquivalenzpunkten durch die Auswertungssoftware ist somit minimiert.

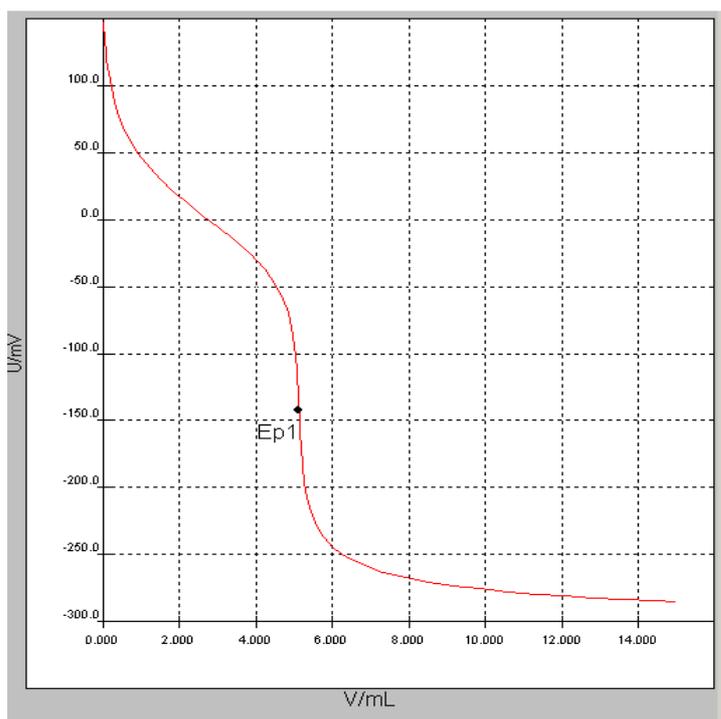


Abbildung 6-5: Titration von Guanethidinmonosulfat mit NaOH (0,1 molL⁻¹), in Ethanol unter Zusatz von 10 % Wasser

6.2.3 Titration von Metforminhydrochlorid

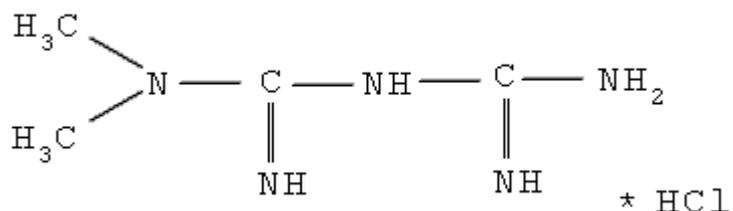


Abbildung 6-6: Metforminhydrochlorid

Metforminhydrochlorid ($pK_s = 11,5$ [18]) ließ sich unter diesen Bedingungen nicht erfassen, lediglich der erste Umschlagspunkt durch Zugabe von 5 ml 0,01 molarer HCl war erkennbar (Abbildung 6-7). In den gültigen Arzneibüchern wird Metforminhydrochlorid wasserfrei mit Perchlorsäure in Eisessig titriert. Es wurden die Lösungsmittel Ethanol, Isopropanol und Aceton untersucht. Keines der genannten Lösungsmittel war in der Lage, Metforminhydrochlorid zu erfassen. Es ist also festzustellen, dass dieser Arzneistoff für diese Titrationsmethode ungeeignet ist.

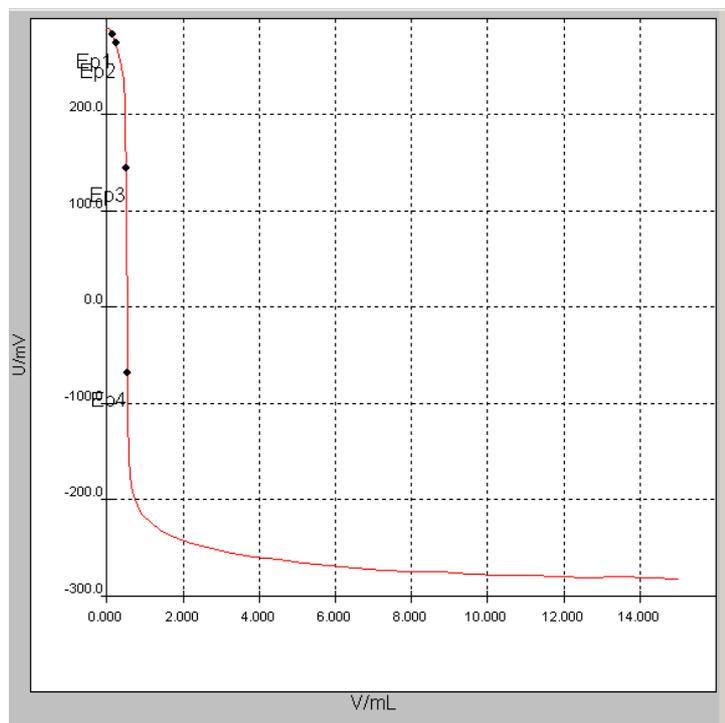
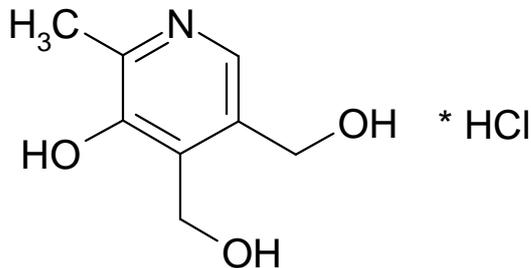


Abbildung 6-7: Titration von Metformin-HCl mit NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Ethanol unter Zusatz von 5 ml HCl ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$)

6.3 Titration von zweiprotonigen Kationensäuren am Beispiel von Pyridoxinhydrochlorid [19]



$M_R = 205,6$

Abbildung 6-8: Pyridoxinhydrochlorid

6.3.1 Versuchsdurchführung

Die Arbeitsvorschrift zur Bestimmung von Pyridoxin-HCl nach Ph.Eur. 4 [10] Grundwerk lautet:

„0,150 g Pyridoxin-HCl, in einer Mischung von 5,0 ml Salzsäure ($0,01 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) und 50 ml Ethanol 96 % R gelöst, werden mit Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) titriert. Das zwischen den beiden mit Hilfe der Potentiometrie (2.2.20) bestimmten Wendepunkten zugesetzte Volumen wird abgelesen. 1 ml Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) entspricht 20,56 mg Pyridoxin-HCl.“

6.3.2 Ergebnisproblematik

Gemäß der Vorschrift wird bis zum ersten Wendepunkt die überschüssige Säure titriert, zwischen dem ersten und zweiten Wendepunkt die Substanz erfasst. Die Aciditätskonstanten für Pyridoxin-HCl sind $pK_{s1} = 4,84$ (protonierter Stickstoff) und $pK_{s2} = 9,04$ (phenolische OH-Gruppe) [20]. Die Hydroniumionen der Salzsäure mit einem $pK_s = 0$ bieten aufgrund der geringen Konzentration der Säure ($0,909 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$) im Vergleich zu Pyridoxin-HCl ($13,265 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$), keine ausreichende Differenz zu pK_{a1} und damit keinen auswertbaren Potentialsprung. Ein Bestimmungsversuch bestätigte die vorangestellte Annahme, dass bei einem Verbrauch von 0,5 ml Maßlösung kein auswertbarer Potentialsprung zu verzeichnen ist, welcher aber als Berechnungsgrundlage für die quantitative Umsetzung der Salzsäure erforderlich ist (Abbildung 6-9). Der erste Potentialsprung nach einem Verbrauch von ca. 8 ml stellt sich hier als Summe des Umsatzes von zugegebener HCl und vom protonierten Stickstoff ($pK_s = 4,84$) dar. Die phenolische OH-Gruppe ist hier noch nicht miterfasst und ist

als zweiter Potentialsprung der Substanz bei einem Verbrauch von ca. 16 ml Maßlösung zu erwarten. Die Arbeitsvorschrift nach Ph. Eur. 4.0 ist somit in dieser Form nicht auswertbar.

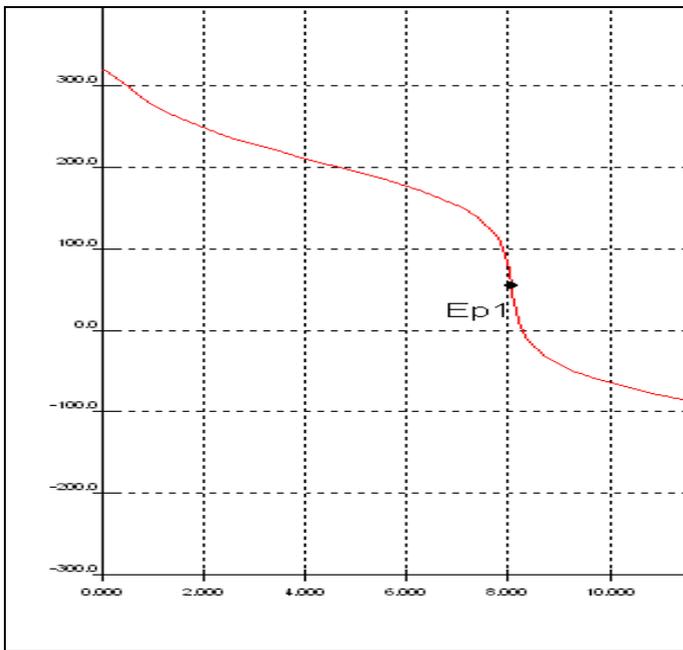


Abbildung 6-9: Titrationskurve der Bestimmung von Pyridoxin HCl nach Ph. Eur. [10]

6.3.3 Alternative Bestimmungsmethode

Eine andere Möglichkeit zur Titration ergibt sich aus dem Fakt, dass Pyridoxin-HCl, wie unter Punkt 6.3.2 erwähnt, zwei acide Gruppen enthält und der Unterschied zwischen den Aciditätskonstanten groß genug ist, um sie per Simultantitration zu erfassen. Auf die Zugabe der Salzsäure kann verzichtet werden, da die Auswertung auf dem zugesetzten Volumen zwischen beiden Wendepunkten basiert und bis zum ersten Wendepunkt sowohl freie Säure, als auch der protonierte Stickstoff erfasst wird. Um den Verbrauch an Maßlösung klein zu halten, wurde die Einwaage halbiert. Aus Gründen der besseren Löslichkeit und Indikation wurden 5 ml Wasser dazugegeben. Die praktische Titration bestätigt die Überlegungen (Abbildung 6-10).

Eine alternative Arbeitsvorschrift könnte wie folgt lauten:

75,0 mg Substanz in einer Mischung von 5 ml Wasser und 50 ml Ethanol 96 % gelöst, werden mit Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) bei potentiometrischer Indikation titriert. Das zwischen den in den jeweiligen steilen Bereichen der Kurve liegenden beiden Wendepunkten verbrauchte Volumen wird abgelesen. 1 ml Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) entspricht 20,56 mg Pyridoxin-HCl.

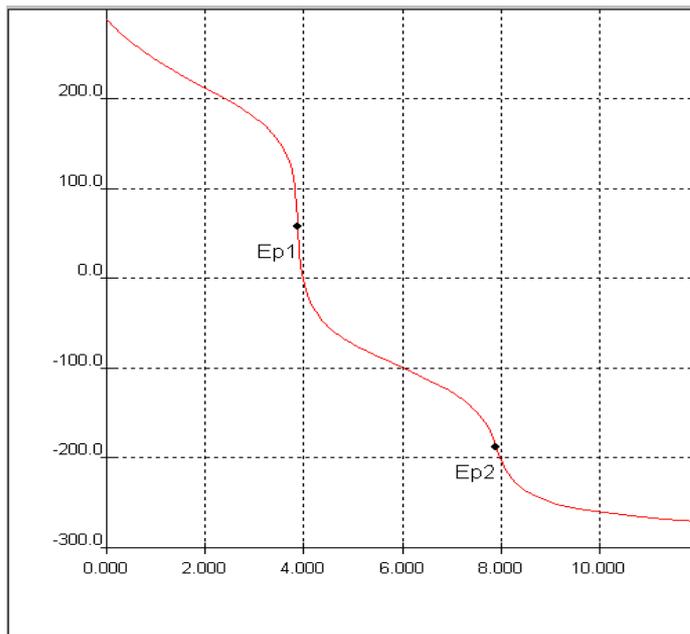


Abbildung 6-10: Titrationskurve von Pyridoxin HCl nach alternativer Bestimmungsvorschrift

7 Optimierungsergebnisse

7.1 Zusammenfassung

Während der Untersuchungen wurden eine Reihe von Störfaktoren und Einflussgrößen aufgezeigt, welche die erfolgreiche Auswertung einer Titration mit potentiometrischer Endpunktanzeige behindern können.

Es wurden weniger gut geeignete, geeignete und optimale Elektroden untersucht und die Ergebnisse verglichen. Die Versuchsbedingungen für Titrationsen mit potentiometrischer Endpunktanzeige wurden spezifiziert, Störfaktoren minimiert.

Weiterhin wurden neue Lösungsmittel getestet und auf ihre Leistungsfähigkeit im Einsatz als Lösungsmittel für nichtwässrige Titrationsen mit potentiometrischer Endpunktanzeige geprüft.

Weitere Arzneistoffhydrochloride wurden zur Absicherung von Analyseergebnissen untersucht, Arzneibuchmethoden kritisch bewertet und nachgebessert.

Dabei kam es zu folgenden Schlussfolgerungen:

7.2 Schlussfolgerung

7.2.1 Allgemeines

Die aktuellen Arzneibücher setzten bei den Gehaltsangaben enge Grenzen. Meist liegen diese zwischen 99 – 101 %. Wie unter Punkt 1.5.3 gezeigt, ist dies schon bei mittleren Gehaltsabweichungen von 0,5 % unter Einbeziehung von Standardabweichung und Vertrauensintervall nicht mehr realisierbar. Da bei vielen Bestimmungsmethoden für Arzneistoffhydrochloride durch die Zugabe von HCl 2 Wendepunkte entstehen, wird die Präzision zusätzlich erschwert.

Alle Titrationsen unter den optimierten Bedingungen von Punkt 5.2 erreichten Standardabweichungen unter 0,2 %. Diese Ergebnisse genügen den unter Punkt 1.5.3 angesprochenen Grenzen. Es wurden jedoch umfangreiche Voruntersuchungen zur optimalen Einstellung des Titrationssystems angestellt.

Problematisch ist weiterhin die Erfassung des ersten Wendepunktes. Die Titrationsbedingungen müssen optimal gewählt werden, um eine Messung zu ermöglichen. Arzneistoffhydrochloride mit pKs-Werten von < 7 begrenzen durch die unter Punkt 6.2.1 besprochenen Probleme, diese Bestimmungsmethode nach unten.

Zweiprotonige Arzneistoffe bieten bei ausreichend großer pKs-Differenz beider Gruppen den Vorteil, dass die Zugabe von HCl entfallen kann und so der erste Wendepunkt nicht bei einem Verbrauch 0,5 ml Maßlösung sondern deutlich später auftritt. Da gerade der erste Wendepunkt Probleme aufgrund der schlechten Ansprechbarkeit der Elektroden, verursacht durch das nichtwässrige Lösungsmittel, aufzeigt, ist dies eine deutliche Verbesserung der Robustheit der Methode.

Eine einheitliche Bestimmungsmethode für Arzneistoffhydrochloride wäre, insofern der Stoff diese Titrationsart zulässt, sinnvoll. So können Abläufe in der Industrie und in öffentlichen Prüfinstituten vereinfacht und besser validiert werden. Da der Materialaufwand und der zeitliche Aufwand deutlich reduziert werden, ist mit finanziellen Einsparungen zu rechnen.

Alle in den Kapiteln 5 und 6 verwendeten Lösungsmittel erwiesen sich unter den verbesserten Versuchsbedingungen als gut geeignet um eine Titrationsreihe aufzunehmen. Aceton und Isopropanol zeigten unter Punkt 5.3 keinerlei Unterschied hinsichtlich der Präzision der einzelnen Messwerte.

Es ist also für eine erfolgreiche Titration weniger entscheidend, in welchem Messmedium sie durchgeführt wird, als das, welche Elektrode verwendet wird. Wichtig ist nur, dass die Elektrode dem Messmedium optimal angepasst wird. Je schlechter das verwendete Lösungsmittel aufgrund seiner Eigenschaften für eine potentiometrische Titration geeignet ist, desto genauer muss auf die folgenden Rahmenbedingungen geachtet werden:

7.2.2 Glasmembran

Man sollte großflächige Glaskugeln verwenden, welche aus mittelohmigem Glas gefertigt sind und somit den Membranwiderstand senken. Somit wird der Gesamtwiderstand des Messsystems gesenkt und die Messergebnisse sind stabiler.

Es wurde gezeigt dass eine Formierung der Glasmembran notwendig ist, wobei die Anwesenheit von Wasser als Lieferant von H^+ für den Ionenaustausch in der Glasmembran während der Formierung und insbesondere während der Messung für ein ausreichendes Ansprechverhalten der Glasmembran erforderlich ist. Es bleibt offen, ob polar amphiprotische Lösungsmittel als reines Lösungsmittel ebenfalls als Protonenspender fungieren können, da die verwendeten Lösungsmittel meist geringe Wasseranteile enthielten, welche die Rolle als Protonenlieferant übernehmen konnten.

Aceton als aprotisches Lösungsmittel würde ohne die Anwesenheit von Wasser eine Formierung nur unzureichend gewährleisten können. Für Formierung und Titration wurden deshalb immer Wasseranteile hinzugegeben.

7.2.3 Abschirmung

Da eine äußere Abschirmung des Messsystems nicht möglich ist, müssen die verwendeten Elektroden eine eigene Abschirmung besitzen, um die Messwerte zu stabilisieren. Auch die Verwendung einer Hilfselektrode kann erwogen werden, welche aber als drittes Messelement eine zusätzliche Fehlerquelle darstellen kann und den apparativen Aufwand weiter erhöht.

Für die Bezugselektrode ist es wichtig, die Diffusionspotentiale möglichst klein, wichtiger aber, konstant zu halten, welches bei Titrations, die im Gegensatz zu potentiometrischen Direktmessungen, nur Potentialänderungen erfassen, ausreichend ist. Dies kann am besten mit einem Schliffdiaphragma realisiert werden, da dies einen konstanten Elektrolytausfluss garantiert. Die Verwendung von Double-Junction-Elektroden, bei denen die Verwendung von unterschiedlichen Innen- und Außenelektrolyten möglich ist, ist ebenfalls von Vorteil. Damit kann die Diffusionsspannung weiter abgesenkt werden, es ist außerdem möglich, im Messmedium unlösliche Bezugselektrolyte zu verwenden.

Mit zunehmender Optimierung des Messsystem kam es zur stetigen Verbesserung der Messwerte, wobei der entscheidende Punkt die Einführung eines kombinierten Elektroden-systems war, welches alle genannten Verbesserungen in sich vereinte. Es war erkennbar, dass ein getrenntes Elektroden-system, mit allen Eigenschaften wie das auch verwendete kombinierte System, schlechter abschnitt. Dies kann nur auf den einzigen Unterschied zwischen beiden Systemen zurückzuführen sein: die Abschirmung. Nichtwässrige Lösungsmittel sind, wie bereits erwähnt, empfindlich gegenüber äußeren elektrostatischen Einflüssen. Eine getrennte Messkette kann, auch wenn die einzelnen Elektroden eine Abschirmung besitzen, nicht die Qualität der Abschirmung eines kombinierten Systems bieten und liefert so schlechtere Ergebnisse.

Kombinierte Systeme haben zwar den Nachteil, dass sie viele Elektrodeneigenschaften starr vorgeben, sind aber in der Signalqualität klar im Vorteil. Wenn es also darum geht die richtige Elektrode für eine bestimmte Titration zu finden, sind getrennte Systeme immer variabler. Nachdem aber die optimalen Elektrodeneigenschaften verifiziert sind, ist eine kombinierte Elektrode zu verwenden. Eine universell einsetzbare Elektrode konnte hier nicht entwickelt werden.

Es zeigte sich, dass es durchaus möglich ist, Ethanol als Lösungsmittel auch ohne eine optimal abgeschirmte Elektrode zu verwenden. Isopropanol und Aceton hingegen, können nur mit idealen Versuchsbedingungen verwendet werden. Wenn ein Arzneistoff hinsichtlich seiner Lösungseigenschaften also ein anspruchloseres Lösungsmittel, wie z.B. Ethanol, zulässt, dann ist es naheliegend dieses zu verwenden. Die vorangegangenen Untersuchungen zeigen aber auch, dass in Einzelfällen Alternativen zu Ethanol vorhanden sind, diese aber stets kritisch zu bewerten sind.

8 Photometrische Titrationsen

8.1 Einführung

Bei photometrischen Titrationsen wird die Änderung der Lichtabsorption in der Titrationslösung in Abhängigkeit von der Reagenzzugabe registriert.

Dies kann visuell durch selbstindizierende Farbigeit (z. B. Jodometrie), oder durch den Umschlag eines geeigneten Indikators erfolgen. Diese Methode war in den früheren Pharmakopöen die übliche Vorgehensweise. Nachteile dieser Methode sind die individuellen Farberkennungsfehler, welche die Genauigkeit des Messergebnisses einschränken.

Um die Auswertung zu objektivieren gibt es, unter Beibehaltung offizieller Vorschriften, die Möglichkeit ein Photometer zu verwenden, welches in Abhängigkeit von der Reagenzzugabe die Eigenabsorption der Lösung (auch UV-photometrisch!), oder die Farbänderung eines zugegebenen Indikators registriert und damit diesen individuellen Fehler eliminiert.

Man erhält, wie bei der Potentiometrie, Titrationskurven, welche anschließend ausgewertet werden. Problematisch sind die oft sehr unterschiedlichen Kurvenformen von optisch indizierten Titrationsen, welche eine optimale Auswertung erschweren können.

In diesem Teil der Arbeit soll überprüft werden, ob die Photometrie eine echte Alternative zur Potentiometrie sein kann. Besonders die Einsatzmöglichkeit zukunftsweisender preiswerter Diodentechnik soll in diesem Hinblick näher betrachtet werden. Dazu wird ein Photodiodenarray eingesetzt, welches eine Auswertung über verschiedene Wellenlängen ermöglicht und so Optimierungsmöglichkeiten offen lässt. Außerdem kann geprüft werden, inwieweit unterschiedliche Auswertungsmethoden für die verschiedenen Wellenlängen geeignet sind.

8.2 Grundlagen photometrischer Indizierung

Die Grundlage sowohl für die visuelle als auch die instrumentelle Indizierung einer photometrischen Titration ist das BOUGUER-LAMBERT-BEER'sche Gesetz (Gleichung 8-1).

Danach ist die Absorption von monochromatischem Licht proportional abhängig von der Schichtdicke der durchstrahlten Lösung und ihrer Konzentration. Man beachte, dass sich die Absorptionsänderungen immer auf das Licht einer bestimmten Wellenlänge (monochromatisch) beziehen.

$$(8-1) \quad A = \epsilon(I) \cdot c \cdot d$$

Bei instrumenteller Signalregistrierung ist zu erwähnen, dass Photometer die Transmission als Messgröße registrieren. Diese errechnet sich aus dem Verhältnis der Intensität des absorbierten Lichtes zum eingestrahlt Licht (Gleichung 8-2). Die Absorption und die Transmission haben einen logarithmischen Zusammenhang, woraus der Absorptionswert errechnet werden kann (Gleichung 8-3).

$$(8-2) \quad T = \frac{I}{I_0}$$

$$(8-3) \quad A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = -\log(T)$$

Analog zur potentiometrischen Indikation sind bei der photometrischen Indikation die Absolutwerte von Absorptionen nicht von Bedeutung. Es werden in Abhängigkeit von der Reagenzzugabe die Relativwerte der Absorptionen zueinander erfasst und als Titrationskurve aufgetragen. Je nach Indikator hat die resultierende Titrationskurve einen charakteristischen Verlauf, welcher nicht ideal S-förmig sein muss. Daraus ergeben sich Besonderheiten bei der Auswertung. Dieses wird unter Kapitel 9 besprochen.

Für das menschliche Auge wird ein Farbumschlag sichtbar bei:

$$c_{HI} \geq 10 \cdot c_{In^-} \quad \text{bzw.} \quad c_{In^-} \geq 10 \cdot c_{HI}$$

Nach der Henderson-Hasselbalch-Gleichung (8-4) lässt sich ein sichtbares Umschlagsintervall von 2 pH-Einheiten abschätzen.

$$(8-4) \quad \text{pH} = \text{pK}_s + \lg \frac{c_{A^-}}{c_{HA}}$$

Dieses kann je nach Empfindlichkeit des menschlichen Auges für die Grenzfarben und deren unterschiedlicher Farbstärke variieren [23]. Durch die instrumentelle Auswertung von photometrisch indizierten Titrationsen kann das Spektrum der Titrationsmöglichkeiten deutlich erweitert werden. Es können schleppende Farbumschläge sichtbar gemacht werden.

Für das menschliche Auge schwer erkennbare Farbveränderungen sind durch ein Photometer problemlos erfassbar. Durch das Auswerten an variablen Wellenlängen sind mehr Informationen zugänglich. Auch das Arbeiten mit stark verdünnten Lösungen und kleinsten Indikatormengen (Indikatorfehler!) ist möglich.

8.3 Aufbau eines Dioden-Array Spektrophotometers

Der schematische Aufbau eines solchen Photometers wird in Abbildung 8-1 dargestellt. Der Unterschied zu einem herkömmlichen Photometer besteht darin, dass bei jeder Messung der gesamte UV/VIS Bereich abgedeckt werden kann. Es existiert, abweichend zum Monochromator eines normalen Photometers, ein Polychromator, der das Licht des gesamten Spektralbereiches, welches die Probe durchstrahlt hat, in seine Bestandteile zerlegt und über Photodioden registrieren lässt. So ist es möglich, alle Wellenlängen gleichzeitig zu erfassen. Eine Anordnung von Photodioden bezeichnet man auch als Diodenarray, wobei jede Diode einen eigenen Spektralbereich annimmt. Je größer die Anzahl der einzelnen Photodioden ist, desto höher ist das Auflösungsvermögen des gesamten Diodenarrays.

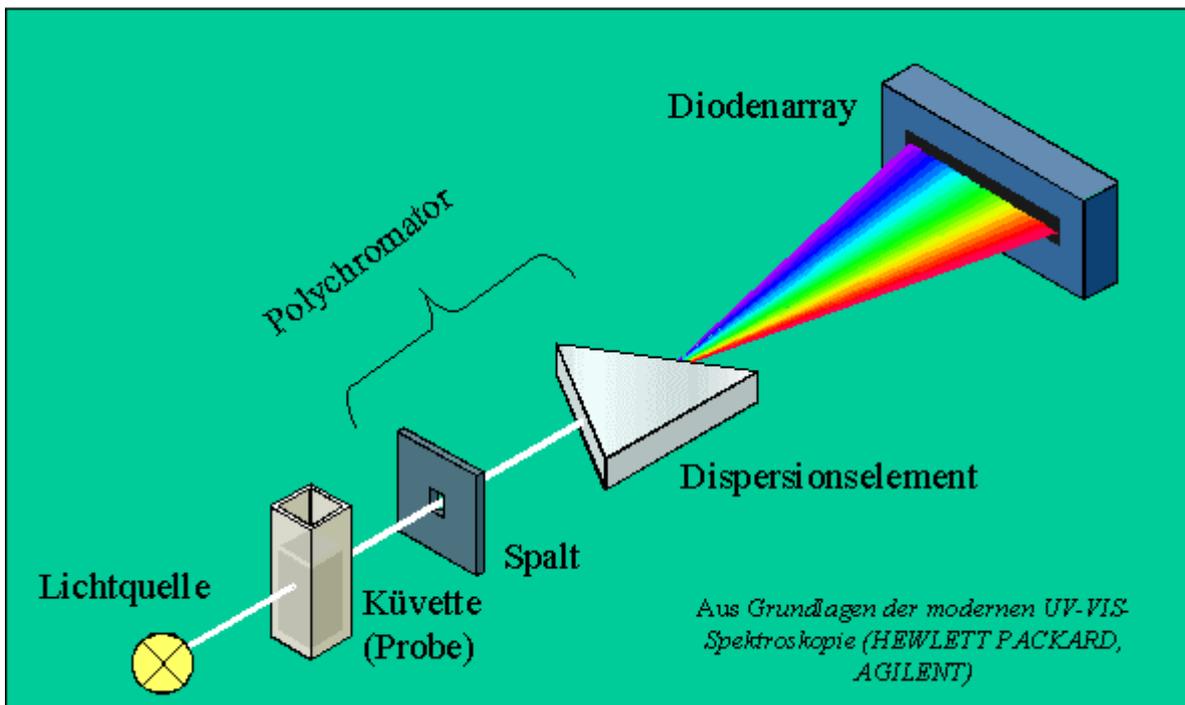


Abbildung 8-1 Schematischer Aufbau eines Dioden-Array Spektrophotometers

Bei photometrischen Titrationsen werden zur Erkennung des Endpunktes hauptsächlich Indikatoren eingesetzt. Indikatoren absorbieren nicht bei einer bestimmten Wellenlänge, sondern besitzen einen breiten Bereich in dem sich das Absorptionsmaximum befindet. Bei zweifarbigen Indikatoren existieren 2 Bereiche mit den entsprechenden Maxima. Diese Bereiche können durch Einflussfaktoren wie Lösungsmittel, pH-Wert und Temperatur verschoben werden. Es ist daher von Vorteil ein Photometer zu verwenden, welches nicht nur

eine Wellenlänge registrieren kann, sondern mit jeder Messung einen möglichst breiten Spektralbereich abdeckt.

Durch den Einsatz eines Dioden-Array-Spektrophotometers kann man während der gesamten Titration für jeden einzelnen Dosierungsschritt ein vollständiges Spektrum aufnehmen. Die Farbänderungen der Lösung sind so detailgenau nachvollziehbar. Spektrale Verschiebungen durch eingeschleppte Verunreinigungen von Indikatoren oder eingesetztem Lösungsmittel sind besser erkennbar. Mögliche Fehler und Störungen während der Titration sind so meist gut zu erkennen. Der Einsatz von Indikatorgemischen ist problemlos möglich.

8.4 Möglichkeiten der Durchführung photometrisch indizierter Titrationsen

Maßgeblich für den Aufbau bei photometrisch indizierten Titrationsen ist, dass Licht durch die Titrationslösung gestrahlt und am Detektor registriert werden muss. Dazu gibt es zwei Möglichkeiten:

8.4.1 Lichtleiter

Diese Titration findet außerhalb des Photometers statt. Die Titration kann analog zu den offiziellen Vorschriften durchgeführt werden. Der Strahlengang wird mittels eines Glasfaserlichtleiters in die Titrationslösung gebracht. Dazu werden durch reflektierende Spiegel die vom Gerät ausgestrahlten Wellenlängen über die Glasfaseroptik in die Messzelle geleitet. Dieser Messstab wird in das Titrationsgefäß getaucht und von der Titrationslösung durchströmt. Über einen konkaven Spiegel in der Messzelle wird das Licht in die Glasfaseroptik zurückreflektiert und gelangt so in die Detektorzelle des Photometers (Abbildung 8-2). Der Lichtleiter kann direkt eingesetzt werden und muss nicht vorbehandelt werden. Da das Titrationsgefäß nicht abgeschirmt ist, ist mit auftretendem Streulicht zu rechnen. Auch Strömungseffekte durch die ständig gerührte Lösung, was u.a. zu Verwirbelungen an der Tauchsonde führen kann, müssen beachtet werden.

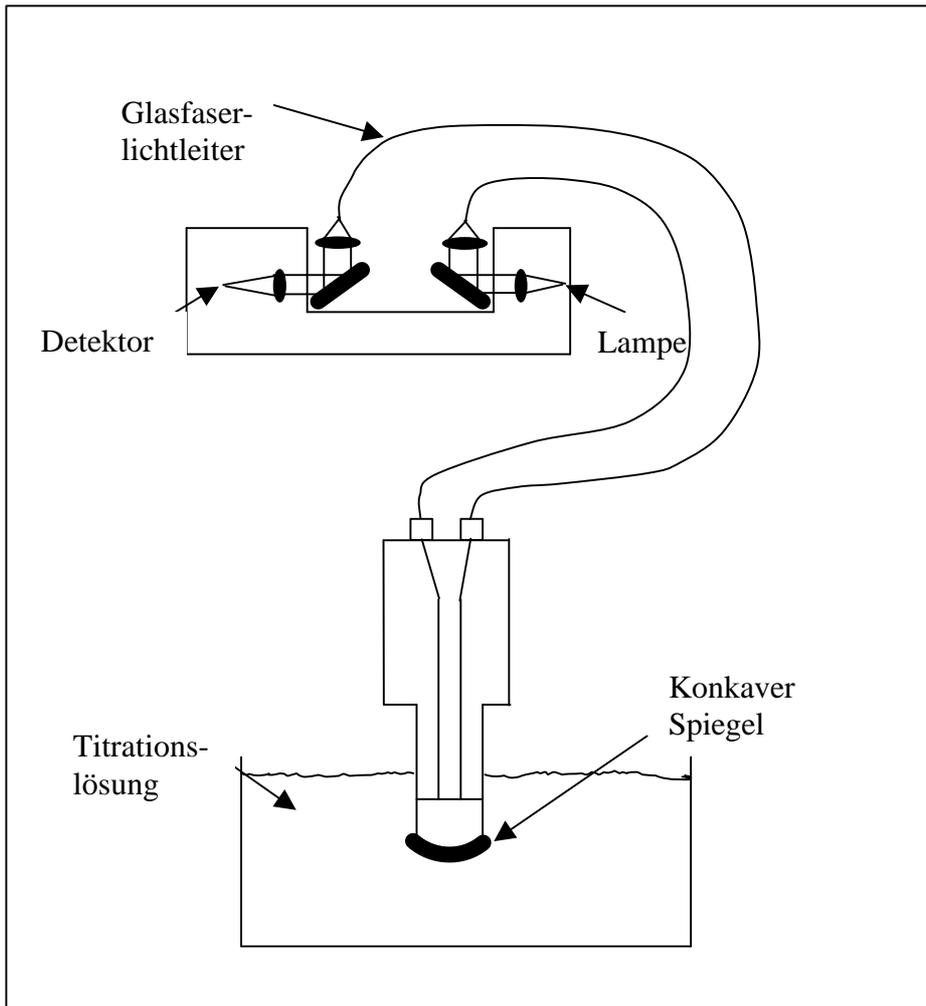


Abbildung 8-2: Schematischer Aufbau einer Versuchsanordnung für photometrisch indizierte Titrationsen mittels eines Lichtleiters

8.4.2 Mikrotitration

Bei dieser Form der Signalregistrierung wird die Titrationslösung direkt in den Strahlengang des Photometers eingebracht. Um dies gewährleisten zu können, wird diese Titration in Form einer Mikrotitration direkt in der Küvette durchgeführt, welche sich im Photometer befindet (Abbildung 8-1). Für eine gute Durchmischung der Lösung während der Titration wird ein Mikro-Magnetrührer unter die Küvette gebracht und ein Mikrorührkern in die Küvette eingebracht. Da die Titrationsvolumina aufgrund des geringen Fassungsvermögens der Küvette begrenzt sind, müssen im Vorfeld genaue Berechnungen angestellt werden. Reagenzdosierungen müssen durch eine vollautomatische Bürette erfolgen, da mit Dosierschritten im Mikroliterbereich gearbeitet wird.

9 Kurvenformen photometrischer Titrationskurven

9.1 Historische Ansätze

Bereits in den fünfziger Jahren gab es mit der Einführung von Spektralphotometern erste Versuche, photometrische Titrationskurven auszuwerten. Dabei galt der Grundsatz, dass photometrisch indizierte Titrationskurven immer aus 2 sich schneidenden Geraden bestehen [43 und 44]. Diese Kurvenform entsteht jedoch nur unter ganz bestimmten Bedingungen (siehe Abschnitt 10.3). STILL und RINGBOM werteten 1965 den Wendepunkt von photometrischen Titrationskurven aus und versuchten den Indikatorfehler mit einzubeziehen [50]. EBEL versuchte in den sechziger Jahren Titrationskurven unter Einbeziehung der vorliegenden Versuchsbedingungen zu berechnen [46 und 47].

9.2 Berechnung photometrischer Titrationskurven

Photometrische Titrationskurven haben, im Unterschied zu potentiometrischen Kurven, je nach verwendetem Indikator unterschiedliche Kurvenverläufe. Bei den hier betrachteten Säure-Base-Titrationskurven hat das Verhältnis der Dissoziationskonstanten von zu bestimmender Substanz und des zugegebenen Indikators die größte Bedeutung.

Eigenschaften der Lösungsmittel (Dielektrizitätskonstante, Ionenstärke, Dissoziation), Ausgangskonzentration der zu bestimmenden Substanz, Konzentration der eingesetzten Maßlösung sowie deren Verbrauchsvolumen (Verdünnungseffekt) nehmen weiterhin Einfluss auf den Kurvenverlauf [46 und 47]. Das stöchiometrische Reaktionsverhältnis ist ebenfalls maßgeblich für den Kurvenverlauf.

Bei photometrischen Messungen gilt das Lambert-Beer'sche Gesetz, wonach die Absorption einer Lösung proportional zur Konzentration der absorbierenden Substanz ist (vgl. Punkt 8.2).

Bei den eingesetzten Indikatorsäuren oder -basen ändert sich in Abhängigkeit vom Titrationsgrad und den Aciditätskonstanten durch Protonierung oder Deprotonierung deren Absorption.

Bei alkalimetrischen Titrationskurven nimmt beim Einsatz von zweifarbigen Indikatoren die Absorption der sauren Indikatorform ab, während die Absorption der deprotonierten Form zunimmt.

In einer photometrischen Titrationskurve wird die Absorption A als Funktion des zugefügten Reagenzvolumens dargestellt. Die Absorption errechnet sich nach Lambert-Beer aus der Konzentration c der absorbierenden Substanz (Indikator) mit ihrem spezifischen Absorptionskoeffizienten $\epsilon(\lambda)$ und der Schichtdicke. Die Konzentrationen der jeweiligen Indikatorform ergeben sich aus den Acididitätskonstanten und der Massenerhaltung der Indikatoren (Gleichung 9-1 bis 9-8).

$$(9-1) \quad c_{0\text{Ind}} = c_{\text{HIn}} + c_{\text{In}}$$

$$(9-2) \quad K_S^{\text{In}} = \frac{c_{\text{In}} \cdot a_{\text{H}_3\text{O}^+}}{c_{\text{HIn}}} = \frac{c_{\text{In}} \cdot a_{\text{H}_3\text{O}^+}}{c_{0\text{Ind}} - c_{\text{In}}} \quad (9-2 \text{ a}) \quad \text{oder} \quad \frac{(c_{0\text{Ind}} - c_{\text{HIn}}) \cdot a_{\text{H}_3\text{O}^+}}{c_{\text{HIn}}} \quad (9-2 \text{ b})$$

$$(9-3) \quad \text{aus 10 - 2 a) folgt: } c_{\text{In}} = \frac{K_S^{\text{In}} \cdot c_{0\text{Ind}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+} + K_S^{\text{In}}}$$

$$(9-4) \quad \text{aus 10 - 2 b) folgt: } c_{\text{HIn}} = \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot c_{0\text{Ind}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+} + K_S^{\text{In}}}$$

$$(9-5) \quad A_{\text{HIn}} = c_{\text{HIn}} \cdot \epsilon_{\lambda, \text{HIn}} \cdot d$$

$$(9-6) \quad A_{\text{In}} = c_{\text{In}} \cdot \epsilon_{\lambda, \text{In}} \cdot d$$

$$(9-7) \quad A_G = \epsilon_{\lambda, \text{HIn}} \cdot \frac{a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot c_{0\text{Ind}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+} + K_S^{\text{In}}} \cdot d + \epsilon_{\lambda, \text{In}} \cdot \frac{K_S^{\text{In}} \cdot c_{0\text{Ind}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+} + K_S^{\text{In}}} \cdot d$$

$$(9-8) \quad A_G = f(a_{\text{H}_3\text{O}^+}) = \left(\epsilon_{\lambda, \text{HIn}} \cdot a_{\text{H}_3\text{O}^+} + \epsilon_{\lambda, \text{In}} \cdot K_S^{\text{In}} \right) \frac{c_{0\text{Ind}}}{K_S^{\text{In}} + a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot d$$

Für die Berechnung einer Titrationskurve ist die Funktion $A = f(V_R)$ notwendig. Die oben entwickelten Gleichungen liefern den Zusammenhang $A = f_1(a_{\text{H}_3\text{O}^+})$. Um zur gewünschten Funktion zu gelangen, ist der Zusammenhang $V_R = f_2(a_{\text{H}_3\text{O}^+})$ erforderlich. Dieser lässt sich wie folgt darstellen:

Aus der Gleichung $\text{HA} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{A}^- + \text{H}_3\text{O}^+$ ergibt sich

$$(9-9) \quad K_S = \frac{c_{\text{A}^-} \cdot a_{\text{H}_3\text{O}^+}}{c_{\text{HA}}}$$

Für die Elektroneutralität gilt:

$$(9-10) \quad a_{\text{H}_3\text{O}^+} + c_{\text{Na}^+} = c_{\text{OH}^-} + c_{\text{A}^-}$$

Der Massenerhalt ist darstellbar durch:

$$(9-11) \quad c_{\text{Na}^+} = \frac{c_{\text{R}} V_{\text{R}}}{V_0 + V_{\text{R}}} \quad (9.11 \text{ a}) \quad \text{und} \quad c_{\text{A}^-} + c_{\text{HA}} = c_0^* = \frac{c_0 V_0}{V_0 + V_{\text{R}}} \quad (9.11 \text{ b})$$

Für c_{A^-} gilt so:

$$(9-12) \quad c_{\text{A}^-} = \frac{K_{\text{S}}}{K_{\text{S}} + a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot c_0^* = \frac{K_{\text{S}}}{K_{\text{S}} + a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot \frac{c_0 V_0}{V_0 + V_{\text{R}}}$$

So kann man mit $K_{\text{W}} = a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot c_{\text{OH}^-}$ die Elektroneutralität darstellen durch:

$$(9-13) \quad a_{\text{H}_3\text{O}^+} + \frac{c_{\text{R}} V_{\text{R}}}{V_0 + V_{\text{R}}} = \frac{K_{\text{W}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+}} + \frac{K_{\text{S}}}{K_{\text{S}} + a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot \frac{c_0 V_0}{V_0 + V_{\text{R}}}$$

$$(9-14) \quad (V_0 + V_{\text{R}}) a_{\text{H}_3\text{O}^+} + c_{\text{R}} V_{\text{R}} = \frac{K_{\text{W}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+}} (V_0 + V_{\text{R}}) + \frac{K_{\text{S}}}{K_{\text{S}} + a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot c_0 V_0$$

$$(9-15) \quad V_{\text{R}} \cdot \left(a_{\text{H}_3\text{O}^+} + c_{\text{R}} - \frac{K_{\text{W}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \right) = \frac{K_{\text{W}}}{a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot V_0 + \frac{K_{\text{S}}}{K_{\text{S}} + a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot c_0 V_0 - a_{\text{H}_3\text{O}^+} \cdot V_0$$

Es gilt so:

$$(9-16) \quad V_{\text{R}} = f(a_{\text{H}_3\text{O}^+}) = \frac{V_0 \cdot \left(K_{\text{W}} + \frac{K_{\text{S}}}{K_{\text{S}} + a_{\text{H}_3\text{O}^+}} \cdot c_0 a_{\text{H}_3\text{O}^+} - a_{\text{H}_3\text{O}^+}^2 \right)}{a_{\text{H}_3\text{O}^+}^2 - K_{\text{W}} + c_{\text{R}} a_{\text{H}_3\text{O}^+}}$$

Um zur eigentlichen Funktion $A_{\text{G}} = f(V_{\text{R}})$ zu kommen, muss $V_{\text{R}}(a_{\text{H}_3\text{O}^+})$ nach $a_{\text{H}_3\text{O}^+}$ aufgelöst werden. Dies ist in geschlossener Form nicht möglich. Damit liegt der Zusammenhang nicht in der gewünschten expliziten Form, sondern in der Parameterdarstellung $A_{\text{G}} = f_1(a_{\text{H}_3\text{O}^+})$ und $V_{\text{R}} = f_2(a_{\text{H}_3\text{O}^+})$ vor. Die grafische Darstellung $A_{\text{G}} = f(V_{\text{R}})$ ist mit entsprechenden Programmen jedoch möglich [24 und 25].

9.3 Beeinflussung des Kurvenverlaufs durch den Indikator

Bei der Titration von Arzneistoffhydrochloriden, welche sehr schwache Säuren darstellen ($\text{pK}_{\text{S}} > 8$), mit starken Basen, hier NaOH ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$), ist der pH-Sprung am

Äquivalenzpunkt sehr klein. Wasser als reines Titrationsmedium ist hier nicht mehr einsetzbar.

Nichtwässrige Lösungsmittel mit kleineren Autoprotolysekonstanten sind die alternativ einzusetzenden Medien (vgl. Kapitel 3, z. B. Ethanol, Isopropanol, Aceton). Bei der Titration in nichtwässrigen Lösungsmitteln, wobei der Wasseranteil durch Reagenzzugabe von wässriger NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) ständig steigt, ist der pH-Wert am Äquivalenzpunkt nur schwer vorhersagbar. Die thermodynamischen Größen von Titrations- und Indikatorreaktion sind nur abzuschätzen, so dass keine genaue Vorhersage zur Kurvenform gegeben werden kann. Prinzipiell kann man sicher voraussagen, dass die Kurve einen ähnlichen Verlauf wie eine potentiometrisch indizierte Titrationskurve hat, wenn am Äquivalenzpunkt etwa die Hälfte der Indikatorsäure deprotoniert ist, also $\text{pK}_{\text{In}} \approx \text{pH}(\text{Äquivalenzpunkt}) \approx \frac{1}{2}(\text{pK}_{\text{au}} + \text{pK}_{\text{s}} + \lg c_0)$.

Ist der $\text{pK}_{\text{In}} \triangleright \text{pK}_{\text{s}}$ wird bis zum Äquivalenzpunkt eine Horizontale, dann eine ansteigende oder abfallende Gerade die Titration beschreiben, welche der Knickpunktauswertung zugeführt würde.

Der Satz berechneter Titrationskurven bestätigt im folgenden diese prinzipielle Aussage. Die Abbildungen 9-1 bis 9-12 zeigen die berechneten Titrationskurven [25] zweier Stoffe mit den pK_{s} -Werten 9 bzw. 10 in Lösungsmitteln mit den Autoprotolysekonstanten 14 bzw. 16. Es ist die Entwicklung der Kurvenform in Abhängigkeit vom pK_{In} -Wert des eingesetzten Indikators zu erkennen. Gezeigt wird die Entwicklung einer sauren und einer basischen Indikatorform.

a) Betrachtung einer sauren Indikatorform

$$\text{pK}_{\text{s}} = 9$$

$$\text{pK}_{\text{au}} = 14$$

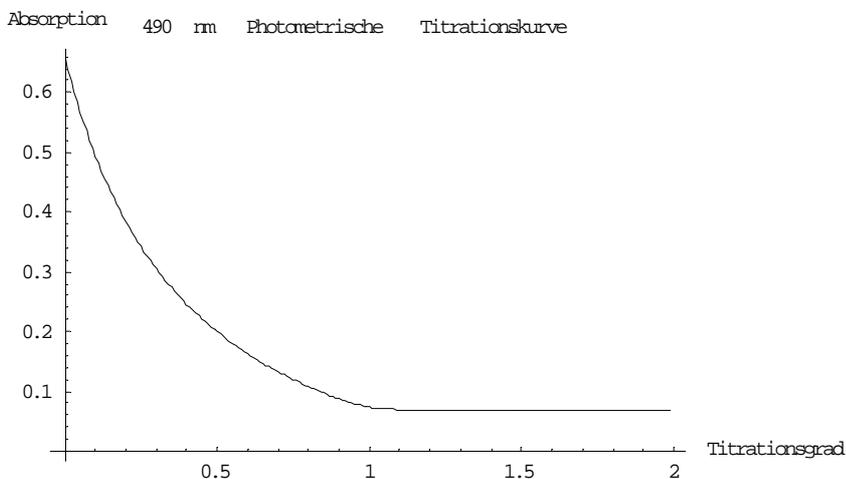


Abbildung 9-1: $\text{pK}_{\text{In}} = 8,5 < \text{pK}_{\text{s}}$

Der pK_{In} des eingesetzten Indikator ist kleiner als der pK_s -Wert der eingesetzten Substanz. Dies hat zur Folge, dass bereits vor dem Äquivalenzpunkt der Indikator mit umgesetzt wird, und am Äquivalenzpunkt vollständig umgesetzt ist. Ein Wendepunkt im Kurvenverlauf ist nicht erkennbar. Eine Auswertung dieser Kurvenform ist nicht möglich.

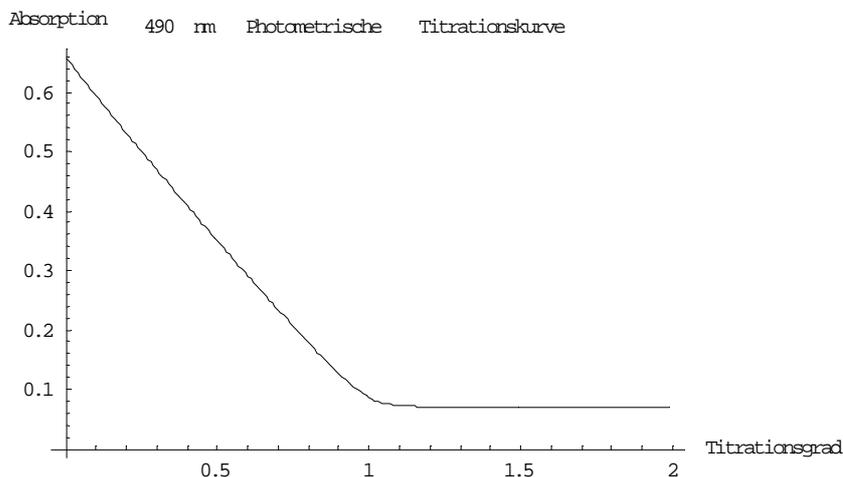


Abbildung 9-2: $pK_{In} = 9,0 = pK_s$

In Abbildung 9-2 ist der pK_{In} -Wert des eingesetzten Indikators genauso groß, wie der pK_s -Wert der eingesetzten Substanz. Der Indikator wird parallel zur Substanz im Laufe der Titration mit umgesetzt und ist am Äquivalenzpunkt vollständig deprotoniert. Der resultierende Kurvenverlauf lässt keinen Wendepunkt erkennen, welcher eine graphische Auswertung nach TUBBS ermöglichen würde. Eine Äquivalenzpunktermittlung ist in diesem Fall nur durch 2 sich schneidende Geraden als Verlängerungen der beiden Kurvenäste möglich [22].

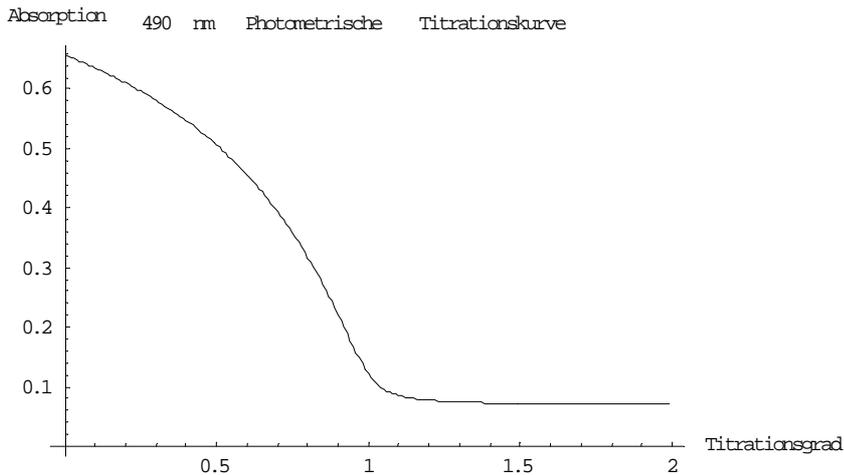


Abbildung 9-3: $pK_{In} = 9,5 \geq pKs$

In Abbildung 9-3 ist eine graphische Auswertung durch TUBBS prinzipiell schon möglich. Begründet durch den nur sehr geringen Unterschied der pKs -Werte kommt es auch hier noch zum allmählichen Abfallen der Kurve bis zum Äquivalenzpunkt. Durch den problematischen Kurvenverlauf in der Kreisanzpassung wird die Bestimmung des Äquivalenzpunktes fehlerbehaftet sein und ist so eher kritisch zu bewerten und als Grenzfall anzusehen.

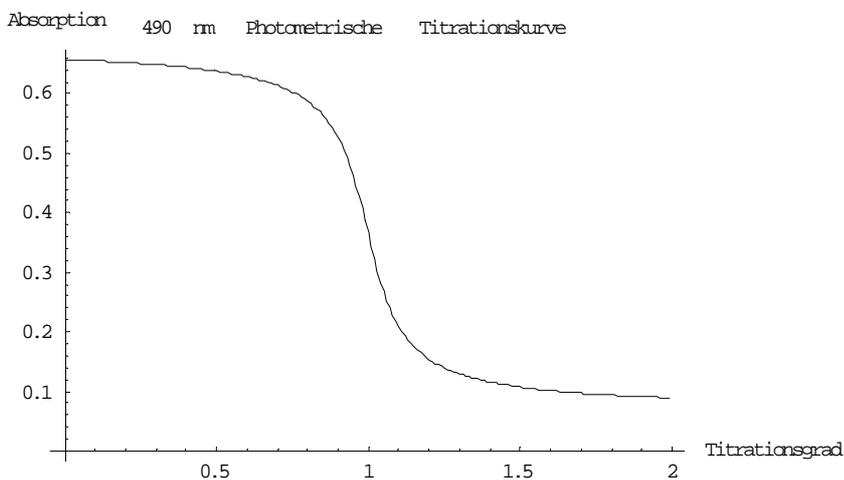


Abbildung 9-4: $pK_{In} = 10,5 > pKs$

In Abbildung 9-4 ist die Differenz von 1,5 pK -Einheiten groß genug, um eine S-förmige Kurve zu erhalten, welche sich grafisch problemlos auswerten lässt.

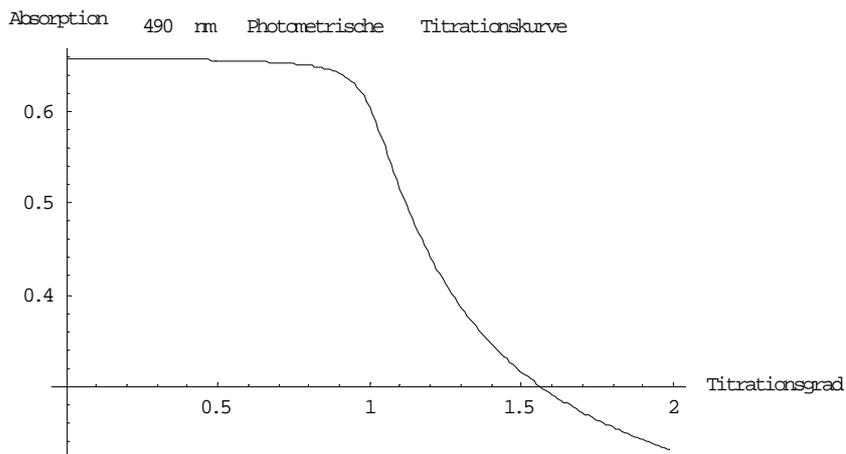


Abbildung 9-5: $pK_{In} = 11,5 \triangleright pK_s$

In Abbildung 10-5 ist der pK_{In} des Indikators deutlich größer als der pK_s -Wert der Substanz (2,5 pK Einheiten). Der pK_{In} des Indikator nähert sich dem pK_{au} des Lösungsmittels. Die Kurvenform entspricht gespiegelt etwa der Kurvenform aus Abbildung 9-3 und ist genauso problembehaftet.

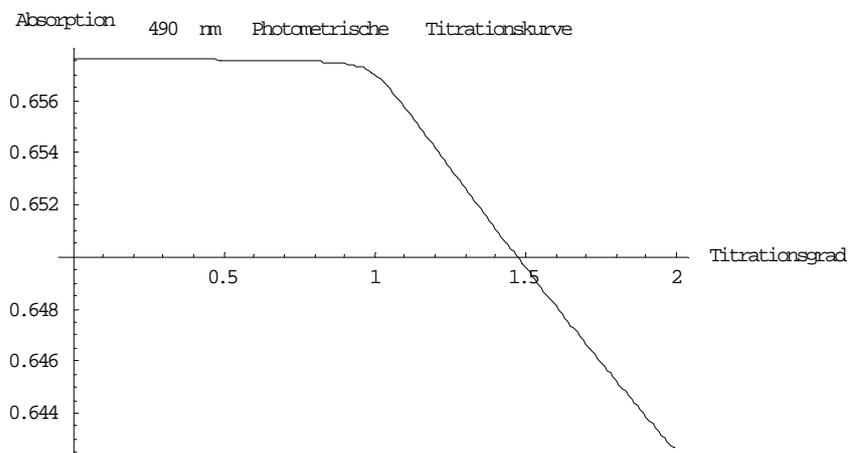


Abbildung 9-6; $pK_{In} = 13,5$

In Abbildung 9-6 ist wie in Abbildung 9-2 eine grafische Auswertung nach TUBBS nicht möglich. Wie in Abbildung 9-2 ist nur eine Auswertung der Geradenschnittpunkte möglich. Der pK_{In} entspricht fast dem pK_{au} des Lösungsmittels, welches die allmähliche Umsetzung des Indikator nach dem Äquivalenzpunkt erklärt.

b) Betrachtung einer basischen Indikatorform

$$pK_s = 10$$

$$pK_{au} = 16$$

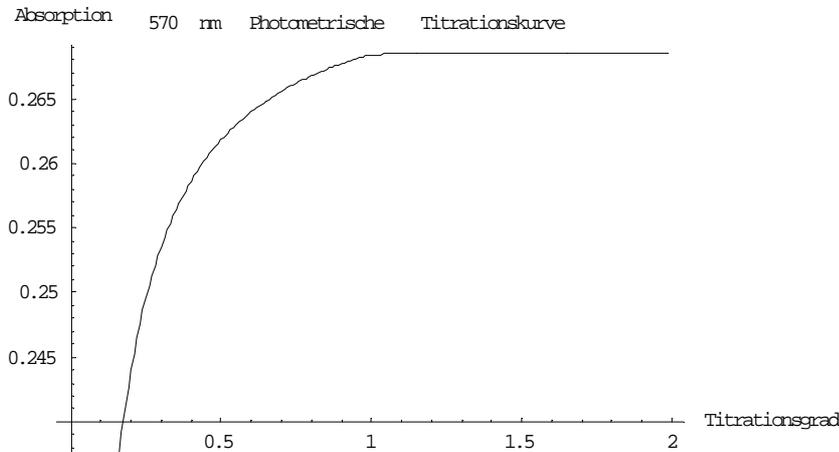


Abbildung 9-7: $pK_{In} = 8,5 < pK_s$

Analog zur Abbildung 9-1 ist in Abbildung 9-7 kein Wendepunkt erkennbar, da bereits vor dem Erreichen des Äquivalenzpunkts der Indikator vollständig protoniert wurde. Eine Auswertung ist nicht möglich.

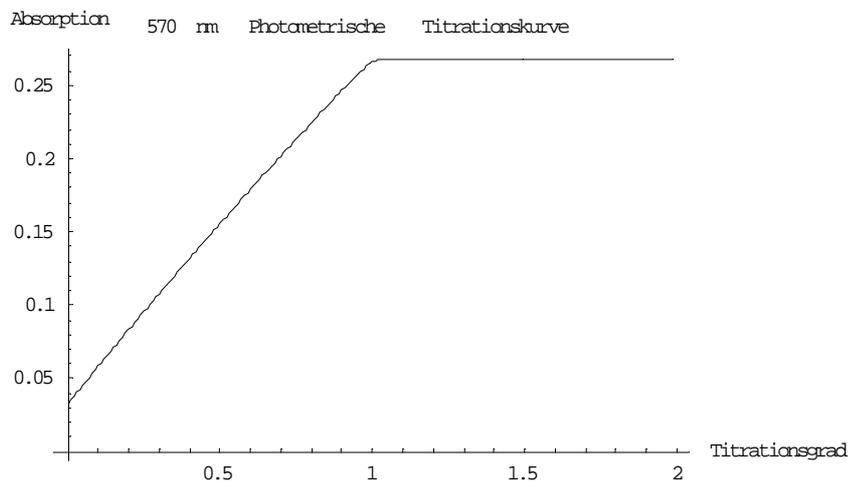


Abbildung 9-8: $pK_{In} = 10,0 = pK_s$

Bezug nehmend auf die Ausführungen unter Abbildung 9-2 ist auch hier ein grafisches Auswertungsverfahren wie TUBBS nicht anwendbar. Weitere Möglichkeiten wurden unter Abbildung 9-2 bereits aufgeführt.

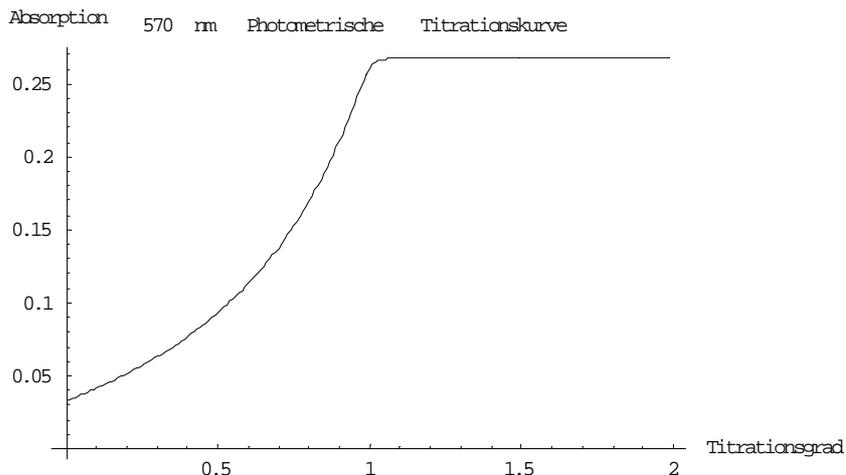


Abbildung 9-9: $pK_{In} = 10,5 \geq pK_S$

Wie in Abbildung 9-3 ist auch in Abbildung 9-9 nur eine sehr kleine Differenz zwischen den pK-Werten vorhanden. Der problematische Kurvenverlauf führt zu den bereits angesprochenen Problemen.

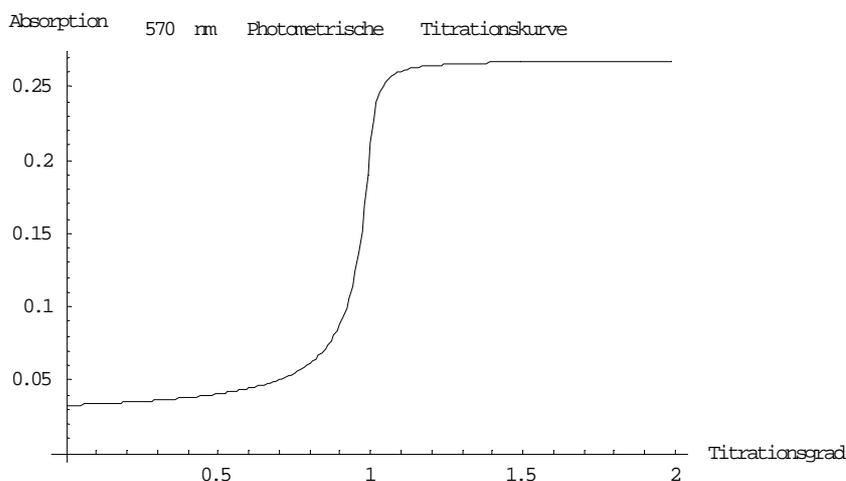


Abbildung 9-10: $pK_{In} = 11,5 > pK_S$

In Abbildung 9-10 ist analog zur Abbildung 9-4 eine ausreichend große Differenz zwischen den pK-Werten von Substanz und Indikator vorhanden. Die S-förmige Kurve lässt problemlos grafische Auswertungen zu.

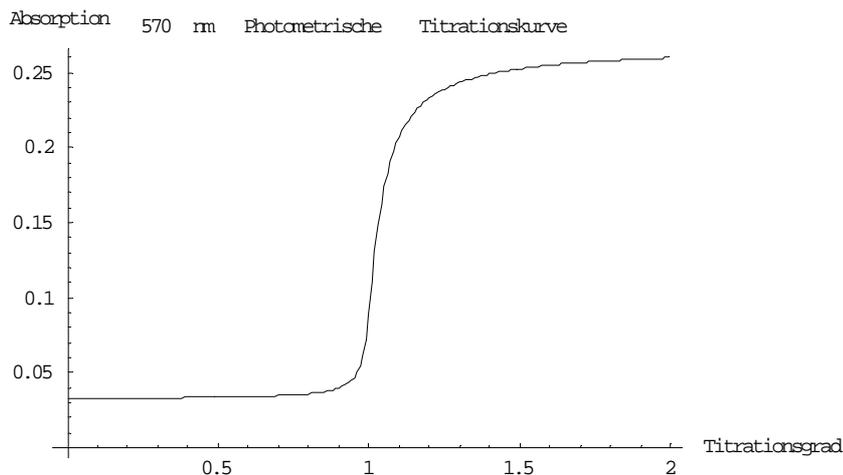


Abbildung 9-11: $pK_{In} = 12,5$

In Abbildung 9-11 beträgt die Differenz der pK -Werte wie in Abbildung 9-5 auch 2,5 Einheiten. Der trotzdem günstigere, weil steilere, Kurvenverlauf ist durch den größeren Abstand zu pK_{au} zu erklären. Hier sind es 3,5 Einheiten, in Abbildung 9-5 nur 2 Einheiten.

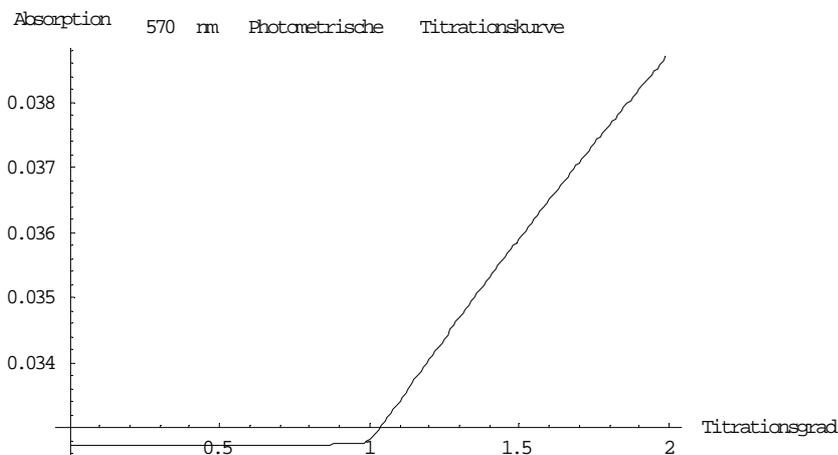


Abbildung 9-12: $pK_{In} = 15$

Analog zu den Abbildungen 9-2, 9-6 und 9-8 ist diese Kurvenform nicht auszuwerten, siehe dazu auch Abbildung 9-2. Der pK_{In} des Indikators nähert sich dem pK_{au} an und führt zu einer Protonierung des Indikator nach dem Äquivalenzpunkt.

9.4 Auswertungsmöglichkeiten photometrischer Titrationskurven

9.4.1 Vorüberlegungen zu Auswertungsverfahren

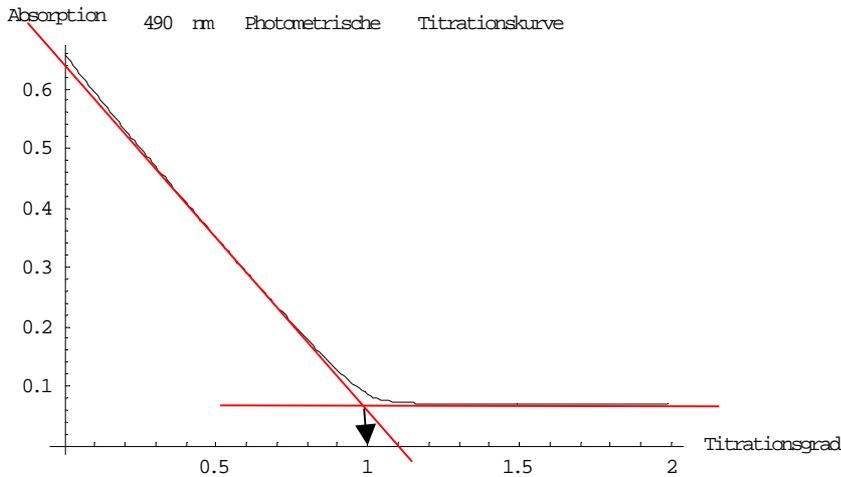
Wie unter Punkt 9.2 gezeigt, kann es bei photometrischen Titrationskurven je nach gewähltem Indikator und Lösungsmittel bei ansonsten identischem Titrationsumsatz, zu unterschiedlichen Kurvenverläufen kommen. Im Allgemeinen ist es üblich, je nach Kurvenform eine bestimmte Form der Auswertung zu wählen [22].

Eine Möglichkeit für die Auswertung ist die Knickpunktauswertung. Im Unterschied zu den im Folgenden genannten Verfahren wird hier nicht der Wendepunkt ermittelt. Zur Ermittlung des Wendepunktes einer Titrationskurve können analog zur Potentiometrie unterschiedliche Auswertungsverfahren herangezogen werden. Zu den klassischen grafischen Auswertungsverfahren zählt man die Auswertung nach der Kreismethode und das Tangentenverfahren. Eine moderne Art der Wendepunktermittlung ist die Bildung der Ableitung.

In Folgenden werden Möglichkeiten und Grenzen gesetzt und Vergleiche zur Potentiometrie aufgezeigt. Ein Ausblick auf Vereinheitlichung der Auswertung von Titration mit unterschiedlicher Indikation soll gegeben werden.

9.4.2 Knickpunktauswertung

Diese rein grafische Form der Auswertung ist geeignet für unsymmetrische Kurvenverläufe. Abbildung 9-13 zeigt die Auswertung des errechneten unsymmetrischen Kurvenverlaufs aus Abbildung 9-2, bei welchem eine Knickpunktauswertung erfolgt. Dabei werden Tangenten an die beiden Kurvenäste gelegt, und der durch Extrapolation ermittelte Schnittpunkt wird im Lot als Äquivalenzpunkt auf der Abszisse dargestellt. Für diese Methode ist es erforderlich, viele Messpunkte im steilen Bereich der Kurve zu erhalten. Das Messsignal sollte ein nur geringes Grundrauschen aufweisen, da die Tangenten möglichst genau an die Kurvenäste gelegt werden und dabei viele Messpunkte schneiden sollen. Je stärker die beiden Kurvenäste gekrümmt sind, um so schwieriger gestaltet sich die Auswertung, da die einbezogene Datenmenge immer geringer wird und die Auswahl der Daten willkürlich erscheint. Diese Form der Auswertung ist für die Kurven aus den Abbildungen 9-2, 9-6, 9-8 und 9-12 geeignet.



**Abbildung 9-13: Knickpunktauswertung des unsymmetrischen nicht S-förmigen Kurvenverlaufes aus
Abbildung 9-2**

9.4.3 Tangentenverfahren

Bei diesem ebenfalls grafischen Verfahren legt man an die obere und untere Krümmung der Titrationskurve parallele Tangenten an. Spezielle Lineale können hier die Auswertung erleichtern. Zwischen diesen Tangenten wird in der Mitte eine weitere Tangente, die so genannte Mittelparallele gelegt. Deren Schnittpunkt mit der Titrationskurve stellt den Wendepunkt dar [31]. Das Anlegen von Tangenten ist in der Praxis ein sehr ungenaues Verfahren, da verrauschte Messsignale das Anlegen präziser Tangenten erschweren können. Ungenauigkeiten durch Verdünnungseffekte müssen bei dieser Form der Auswertung sehr genau ausgeglichen werden.

Dieses Verfahren ist nur für rein symmetrische Kurven geeignet, bei welchen der Wendepunkt der Kurve identisch mit dem Äquivalenzpunkt ist. Unsymmetrische Kurven weichen von diesem idealisierten Verhalten ab und würden zu großen Ungenauigkeiten führen [27]. Da bei der photometrischen Titration von schwachen Säuren mit starken Basen sehr unterschiedliche Kurvenformen entstehen, soll es hier bei der Erwähnung bleiben und nicht näher betrachtet werden.

9.4.4 Auswertung nach der Kreismethode (TUBBS)

Dieses 1954 von TUBBS [30] empirisch gefundene und publizierte grafische Verfahren der Kurvenauswertung kann für symmetrische und unsymmetrische Kurvenverläufe angewendet

werden. Für symmetrische Kurven führen Tangentenverfahren und TUBBS-Verfahren zu identischen Ergebnissen, die Unterschiede werden bei unsymmetrischen Kurven deutlich [27], [32]. Dazu werden zwei passende Kreise in die jeweiligen Krümmungen der Kurve gelegt. Kommerziell angebotene Schablonen können das Anlegen von passenden Kreisen erleichtern. Die Mittelpunkte der Kreise werden durch eine Gerade miteinander verbunden. Der Schnittpunkt der Gerade mit der Kurvenfunktion stellt den Äquivalenzpunkt, hier Wendepunkt der Kurve dar [27]. Da der Ausgangspunkt der Wendepunktermittlung die Kreisanpassung in den Krümmungen der Kurve ist, ist es nicht erforderlich, viele Messwerte im Sprung der Titrationskurve zu ermitteln. Insbesondere flache Titrationskurven mit kleinem Sprung sind für diese Form der Auswertung geeignet, da an den Krümmungen meist genügend Messpunkte vorhanden sind. Auch verrauschte Messsignale können durch entsprechende Kreisanpassung ausgeglichen werden. Alle unter Punkt 9.2 errechneten Kurventypen (Ausnahme Kurventypen 9-2, 9-6, 9-8 und 9-12) sind nach dieser Methode behandelbar. Abbildung 9-14 zeigt die Titrationskurve von Abbildung 9-3 ausgewertet nach dem TUBBS-Verfahren, hier durch den unsymmetrischen Kurvenverlauf mit extrem unterschiedlich großen Kreisen. Der ermittelte Wendepunkt ist in diesem Fall nicht mit dem Äquivalenzpunkt identisch. Oft führen diese grenzwertigen Kurvenverläufe zu Problemen und Abweichungen bei der Ermittlung des Äquivalenzpunktes.

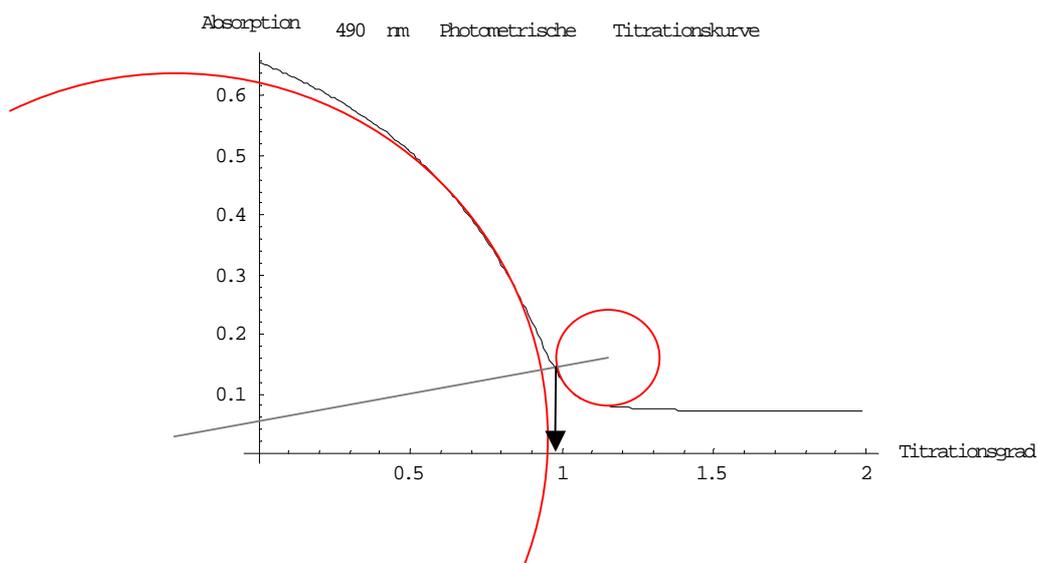


Abbildung 9-14: unsymmetrischer Kurvenverlauf aus Abbildung 10.3, Auswertung nach TUBBS.

Da das TUBBS-Verfahren empirisch entwickelt wurde, fehlt bis heute in der Literatur eine Normierung der grafischen Auswertung. Es ist nicht festgelegt, welche Skalierung Abzisse

und Ordinate aufweisen müssen, bzw. ob eine Änderung zu identischen oder fehlerhaften Ergebnissen führt. Da bei der Potentiometrie meist die pH-Skala 0-14 mit einem Verbrauch von 5- 30 ml skaliert wurde, trat dieses Problem nie so deutlich zutage. Die Photometrie ist hier durch variable Absorptionswerte und den Einsatz von Mikrotitrationen deutlich variabler und macht dieses Problem aktuell.

Weiterhin ist die Auswertung nach TUBBS ist als rein grafisches Verfahren nicht mehr zeitgemäß. Eine Computerauswertung ist angestrebt und im Prinzip machbar [25]. Insbesondere dieser Umstand macht eine Normierung dieser Auswertungsmethode notwendig. Folgende Ausführungen sollen die Problematik veranschaulichen.

9.4.4.1 Variationen der TUBBS-Methode

Fragestellung

In folgenden Kapiteln wird sich zeigen, dass die TUBBS-Methode, für geeignete Kurvenformen, zuverlässige Ergebnisse liefert. Es stellt sich die Frage, wie zuverlässig die Ergebnisse bei Variation der Kreise innerhalb einer Messung sind. Als grafische Methode führen Änderungen in der Skalierung zu einer Änderung der Kreisdurchmesser. Bei angedachter programmierter Auswertung über TUBBS muss diese Fragestellung bedacht werden. Hier können durch Änderungen in der Skalierung durch Rechenschritte auch elliptische Körper entstehen. Die Zuverlässigkeit solcher Auswertungsvarianten soll getestet werden. Dazu wurde aus den Untersuchungen von Punkt 10.2 die Wellenlänge 420 nm gesondert betrachtet. Zuerst wurde die Wellenlänge in üblicher Form ausgewertet (Abbildung 9-15). Nach Änderung der Skalierung wurden erneut Kreise angelegt und deren Mittelpunkte verbunden (Abbildung 9.16). Abschließend wurde die erhaltene Grafik aus Abbildung 9-15 mit den bereits angelegten Kreisen auseinandergesogen, bei den so entstandenen Ellipsen die Mittelpunkte gesucht und miteinander verbunden (Abbildung 9-17).

Ergebnisse

Bei allen 3 untersuchten Grafiken lag der ermittelte Äquivalenzpunkt bei 6,3 ml. Besonders bei der elliptischen Kurvenform ist dies interessant und aufgrund der Vorüberlegungen wichtig. Es ist ein Potential für automatische Auswertungsprogramme erkennbar, welche für die TUBBS-Methode auf dem Markt so noch nicht existieren. Wenn das Vorhandensein von Kreisen strenggenommen nicht mehr erforderlich ist, kann hinsichtlich programmierter Auswertungssysteme viel erleichtert und automatisiert werden. Weiterführende Untersuchungen mit statistischer Absicherung im Hinblick auf programmierte Titrationssysteme

mit integrierter Auswertungssoftware wären hier sinnvoll und sollten sich an diese Arbeit anschließen.

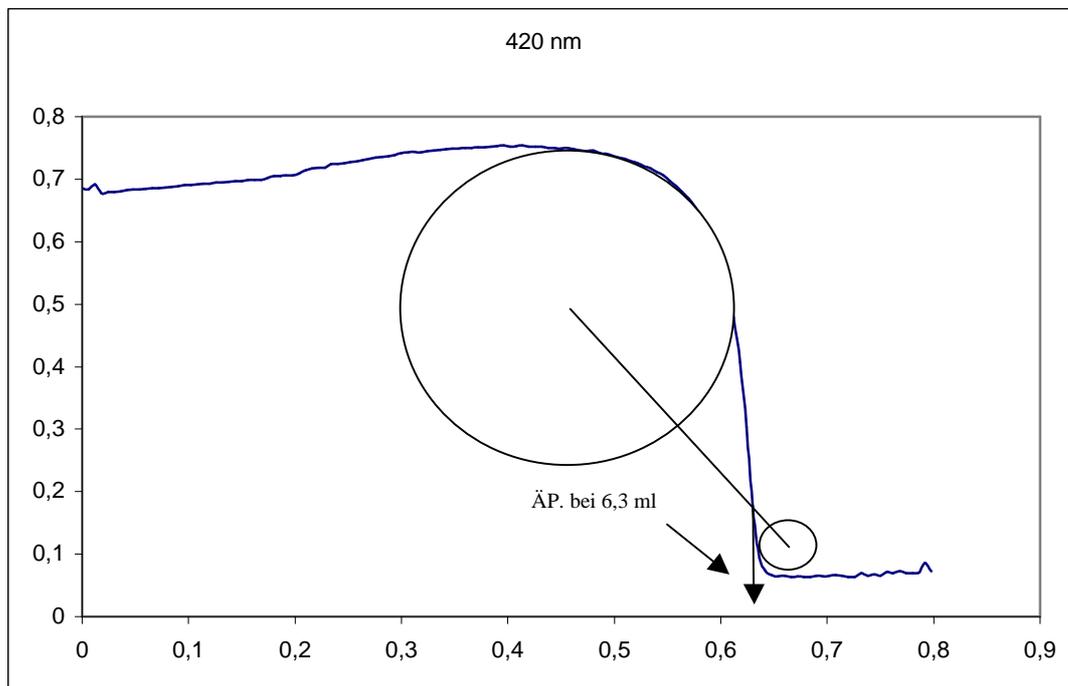


Abbildung 9-15: Übliche TUBBS Auswertung einer Titrationskurve

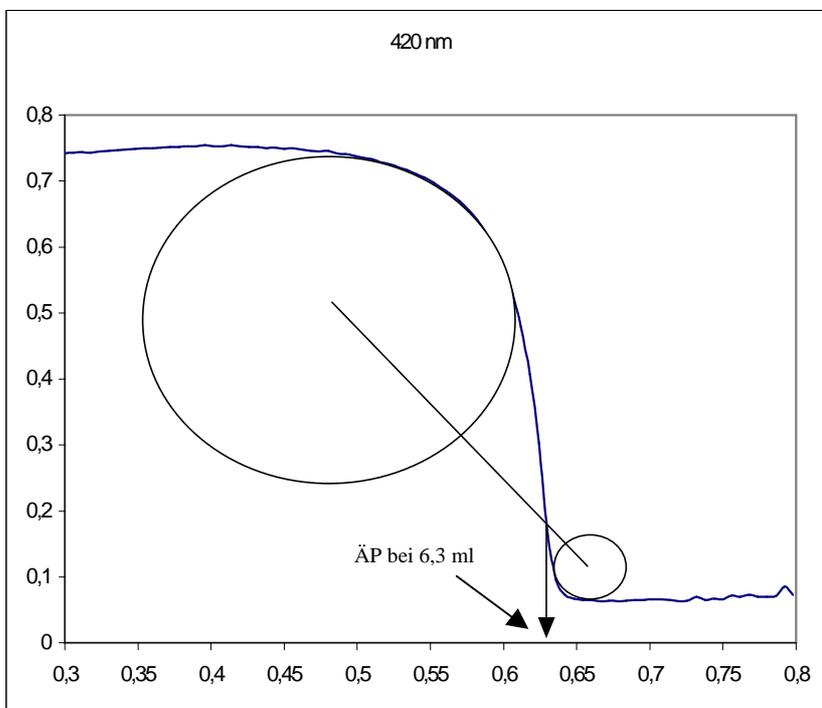


Abbildung 9-16: Änderung der Skalierung, Kreise anschließend neu angelegt

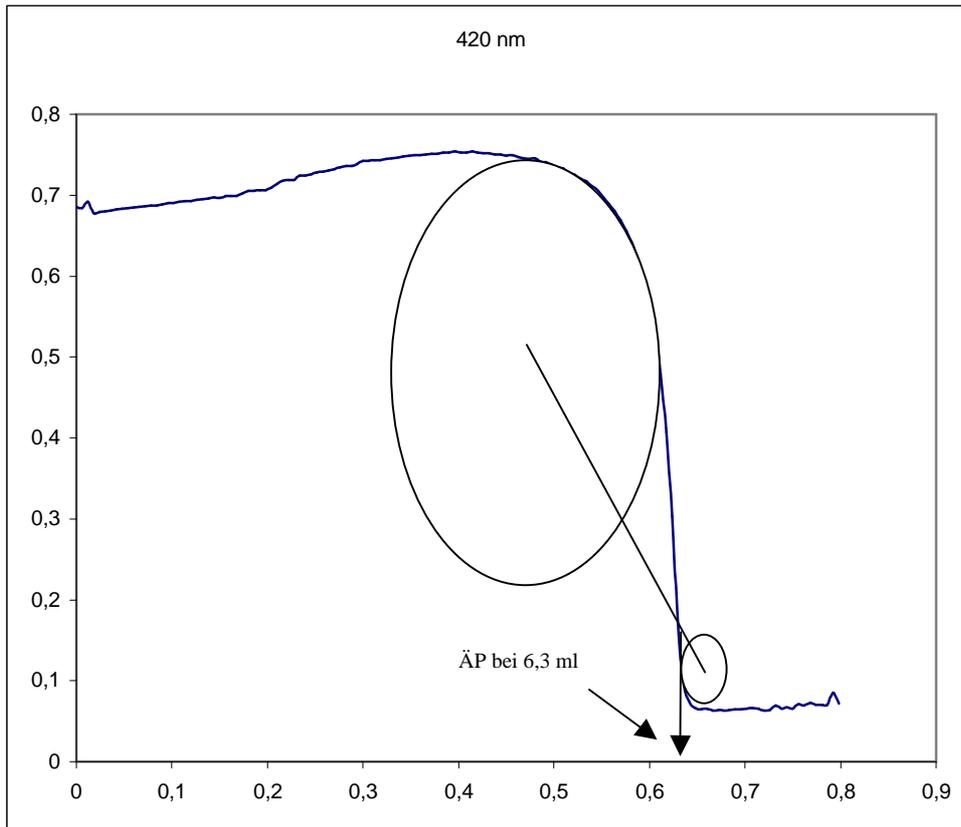


Abbildung 9-17: Änderung der Skalierung von Abbildung 13-15 mit bereits angelegten Kreisen.

9.4.5 Differenzierte Titrationskurven

Eine digitale Möglichkeit der Auswertung besteht in der Bildung der 1. Ableitung der Kurvenfunktion mit Hilfe des Differenzenquotienten (hier nicht dargestellt). HAHN hat hier bereits 1926 erste Ansätze zur Auswertung gegeben [45]. Jede Titrationskurve, die am Äquivalenzpunkt einen Anstieg oder Abfall des Messsignals verzeichnet, ist differenziell auswertbar. Nach der Erfassung der Rohdaten kann die Ermittlung des Äquivalenzpunkts problemlos rechnerisch in dafür geeigneten Programmen erfolgen. Die Lage der Maxima bzw. Minima wird als Äquivalenzpunkt interpretiert.

Vorraussetzung für eine hohe Präzision bei der Wendepunktermittlung durch die numerische Ableitung ist eine möglichst große Messpunktdichte am Wendepunkt. Problematisch sind verrauschte Messsignale, da diese vollständig in die Wendepunktermittlung mit einfließen. Eine Glättung des Messsignals kann, falls möglich und sinnvoll, erwogen werden, senkt jedoch die Zuverlässigkeit des Ergebnisses. Unsymmetrisches hochfrequentes Rauschen ist für eine Glättung geeignet und beeinflusst das Messergebnis nicht. Symmetrisch wellenförmige Kurvenunruhen verursacht durch die Rührtätigkeit sind schwierig zu glätten.

Eine Differenzierung von photometrischen Kurven kann unabhängig von der Kurvenform erwogen werden.

9.5 Ergebnisdiskussion

Wie bereits besprochen, gibt es bisher für photometrische Titrationskurven, je nach Kurventyp unterschiedliche Auswertungsverfahren [22]. Da, wie unter Punkt 9.2 besprochen, die Kurvenverläufe sehr unterschiedlich sind, sind vor der Automatisierung solcher Titrations Vorversuche für deren Verlauf, sowie der Auswertungsmöglichkeiten, erforderlich.

Diese Tatsache macht es, anders als bei potentiometrisch indizierten Säure-Base-Titrations mit S-förmigen Kurvenverläufen, schwierig, eine universelle Auswertung für photometrisch indizierte Titrations zu entwickeln. Besonders Kurven im Grenzbereich, wie unter Punkt 9.2 und 9.3 betrachtet, führen zu Problemen bei der Auswertung. Unter Anderem aus diesem Grund konnte sich die instrumentelle Photometrie als ein Standardverfahren zur Bestimmung des Endpunktes von Säure-Base-Titrations bisher nicht etablieren.

Wie schon unter Punkt 1.4 angesprochen ist bei photometrischen Titrations der geschwindigkeitsbestimmende Schritt die optimale Durchmischung der Lösung, welche nach jedem Dosierschritt erfolgt. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist bei Säure-Base-Titrations zu vernachlässigen, Wartezeiten sowie eine Titrationsdynamik sind nicht erforderlich. Dies ist im Vergleich zur Potentiometrie ein entscheidender Vorteil.

Die Potentiometrie setzt als universell einzusetzendes Verfahren bei Säure-Base-Titrations mit instrumenteller Auswertung aktuell den Maßstab der Anwendungsmöglichkeiten. Die zahlreichen Probleme der Potentiometrie, insbesondere bei nichtwässrigen Titrations welche oft für Titrations von Arzneistoffhydrochloriden eingesetzt werden, sind bekannt.

Um die Präzision dieser nichtwässrigen Titrations zu erhöhen und um eine Alternative zu den herkömmlichen Bestimmungsmöglichkeiten zu schaffen, soll versucht werden, eine universelle Auswertungsmethode für photometrisch indizierte Titrationskurven zu entwickeln.

10 Auswerteverfahren und Kurvenformen

10.1 Vorbetrachtungen

Die unter Punkt 9.4 angeführten Überlegungen sollen nun durch die Anwendung der Auswertungsvarianten auf verschiedenen Kurvenformen überprüft sowie deren Ergebnisse verglichen werden.

Zwei aus den nachgehenden Titrationreihen in Kapitel 11 entstandenen unterschiedlichen Kurvenformen sollen stellvertreten mit den in Abschnitt 9.4 angesprochenen Auswertungsmöglichkeiten an je einer Wellenlänge der protonierten bzw. deprotonierten Indikatorform (siehe Abbildung 10-1 und 10-9) untersucht, sowie deren Resultate verglichen werden (Abbildung 10-2 bis 10-4 sowie 10-10 und 10-11).

Um die universelle Auswertungsmöglichkeit an beliebigen Wellenlängen des gesamten Titrationspektrums aufzuzeigen, werden 6 unterschiedliche Wellenlängen der protonierten Indikatorform und 7 Wellenlängen der deprotonierten Indikatorform parallel aufgetragen (Abbildung 10-5 bis 10-8 sowie 10-12 bis 10-15) und wie in Gleichung 10-1 beschrieben durch numerische Differenzierung ausgewertet.

$$(10-1) \quad \left(\frac{A_{i+1} - A_i}{V_{Ri+1} - V_{Ri}} = \frac{\Delta A_i}{\Delta V_{Ri}} \right)$$

10.2 Titration von Procainhydrochlorid gegen Kresolrot

10.2.1 Durchführung

Titriert wurde in einer Küvette mit einem Anfangsvolumen von 1 ml Arzneistofflösung und 10 µl einer 0,1 % Indikatorlösung (Kresolrot).

Verwendet wurde ein Dioden-Array-Photometer mit integrierter Auswertungssoftware [IX]. Dieses Dioden-Array-Spektralphotometer (HP 8452A) kann die Absorption im Bereich von 190 bis 820 nm messen, wobei jede Diode einen Wellenlängenbereich von 2 nm abdeckt. Es existiert demnach eine Bank von 316 Dioden.

In Abständen von 9 Sekunden wurden mit einer automatischen Bürette [I] 6 µl NaOH-Maßlösung (0,1 mol·l⁻¹) in die mit einem Minirührfisch ausgestattete Küvette dosiert. Vor jeder Reagenzzugabe erfolgte die Aufnahme des Vis-Spektrums im Bereich von 350-800 nm. Nach

Beendigung der Titration wurden aus dem erhaltenen vollständigen Titrationspektrum beliebige Wellenlängen, hier annähernd die Maxima, ausgewählt und die so erhaltenen Absorptionswerte den entsprechenden Volumina Reagenzzugabe tabellarisch zugeordnet, sowie der Verdünnungsfehler korrigiert (Gleichung 10-2).

$$(10-2) \quad A_{\text{korr}} = A \cdot \frac{V_0 + V_R}{V_0}$$

Abbildung 10-1 zeigt die Spektren im Verlauf einer PC-gesteuerten photometrisch indizierten Mikrotitration von Procain HCl mit 0,1 molarer NaOH in Aceton mit Hilfe von Kresolrot. Die in der Grafik ersichtlichen senkrechten roten Striche markieren die ausgewählten Wellenlängen 420 und 580 nm.

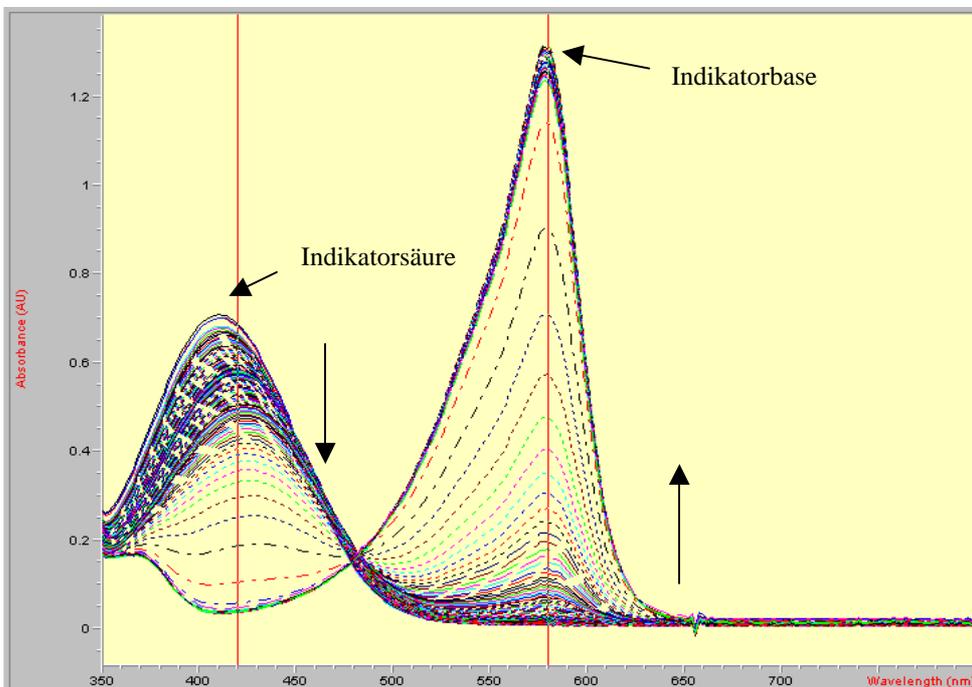


Abbildung 10-1: Spektren im Verlauf der Titration von Procain HCl mit NaOH 0,1 mol · l⁻¹, LM: 1 ml Aceton/10 % Wasser, Indikator: 10 µl Kresolrot- Lösung 0,1 %

10.2.2 Varianten der Kurvenauswertung

Die aus den Wellenlängen des Titrationspektrums der Abbildung 10-1 entwickelte Titrationskurve in Abbildung 10-2 lässt keinen S-förmigen Kurvenverlauf erkennen, dennoch wurde der Versuch einer Auswertung nach TUBBS vorgenommen. Die Kreisdurchmesser sind unterschiedlich groß und werden über ihre Mittelpunkte miteinander verbunden.

In Abbildung 10-3 wurde die Möglichkeit genutzt die 1. Ableitung zu bilden und die Maxima bzw. Minima der Kurven zu bestimmen.

Als letzte Möglichkeit erfolgte in Abbildung 10-4 die Knickpunktauswertung derselben Titrationskurve.

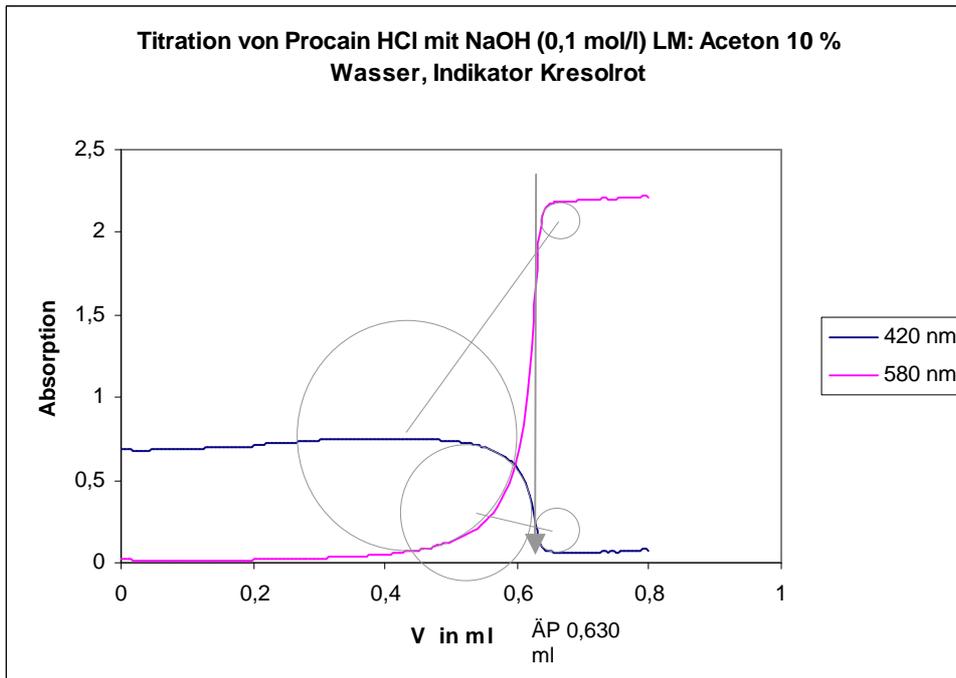


Abbildung 10-2: Zwei Ausgewählte Wellenlängen aus Abbildung 10-1 wurden im Titrationsverlauf verfolgt und ausgewertet

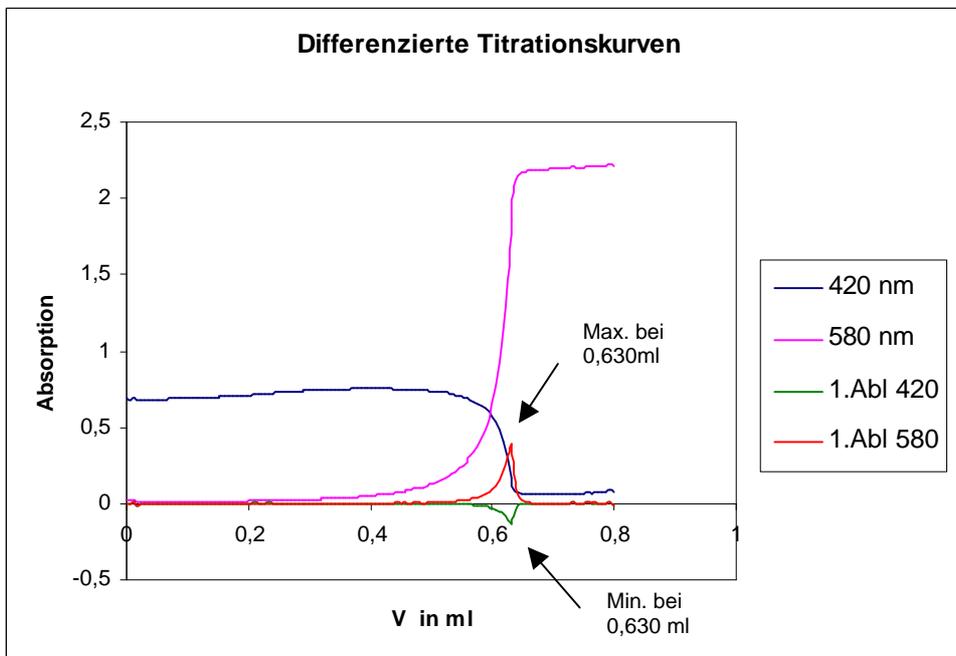


Abbildung 10-3: Differenzierte Titrationskurven aus Abbildung 10-2

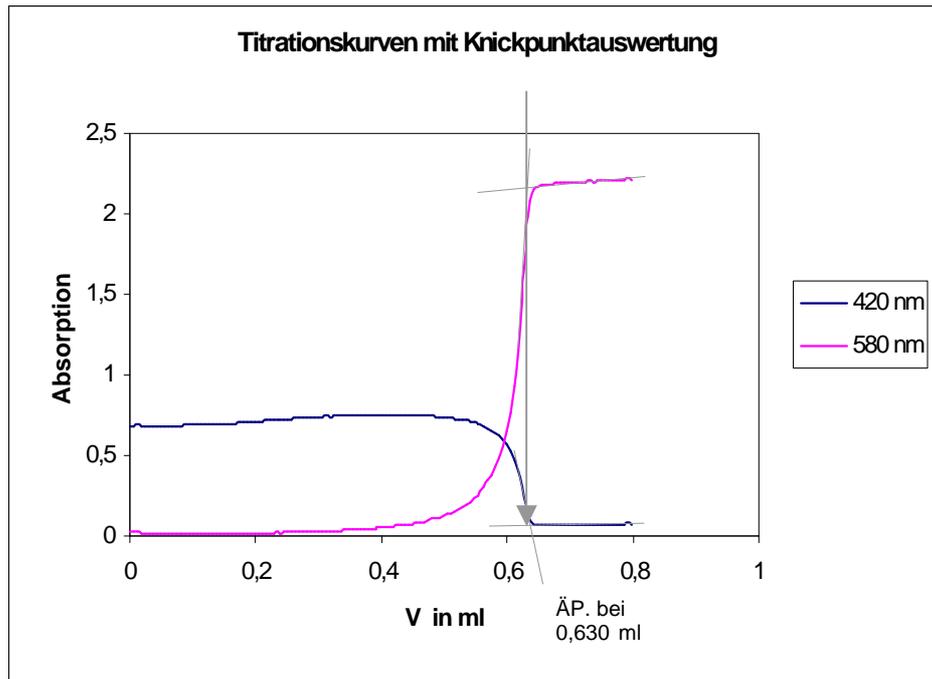


Abbildung 10-4: Knickpunktauswertung der Titrationskurve aus Abbildung 10-2

10.2.2.1 Testung verschiedener Wellenlängen

Allgemein üblich wird zur Auswertung einer photometrischen Titrationskurve der Bereich des Maximums bzw. Minimums ausgewählt. Um zukunftsweisend universell verwendbare Diodentechnologie einsetzen zu können, ist es erforderlich, willkürlich Wellenlängen aus dem Spektralbereich des bei der Titration eingesetzten Indikators wählen zu können.

Die Abbildung 10-5 zeigt die entstandenen Titrationskurven von den aus Abbildung 10-1 ausgewählten Wellenlängen (390 nm, 400 nm, 410 nm, 420 nm, 430 nm, 440 nm) der protonierten Indikatorform. Diese wurden in Abbildung 10-6 abgeleitet. Das Minimum lag für alle ausgewerteten Wellenlängen bei 0,630 ml.

Die Abbildung 10-7 zeigt die Titrationskurven von beliebigen Wellenlängen der deprotonierten Indikatorform (540 nm, 550 nm, 560 nm, 570 nm, 580 nm, 590 nm, 600 nm) aus dem Spektrum in Abbildung 10-1. Die nachfolgende Differenzierung in Abbildung 10-8 führte für alle Wellenlängen zu einem Maximum bei 0,630 ml.

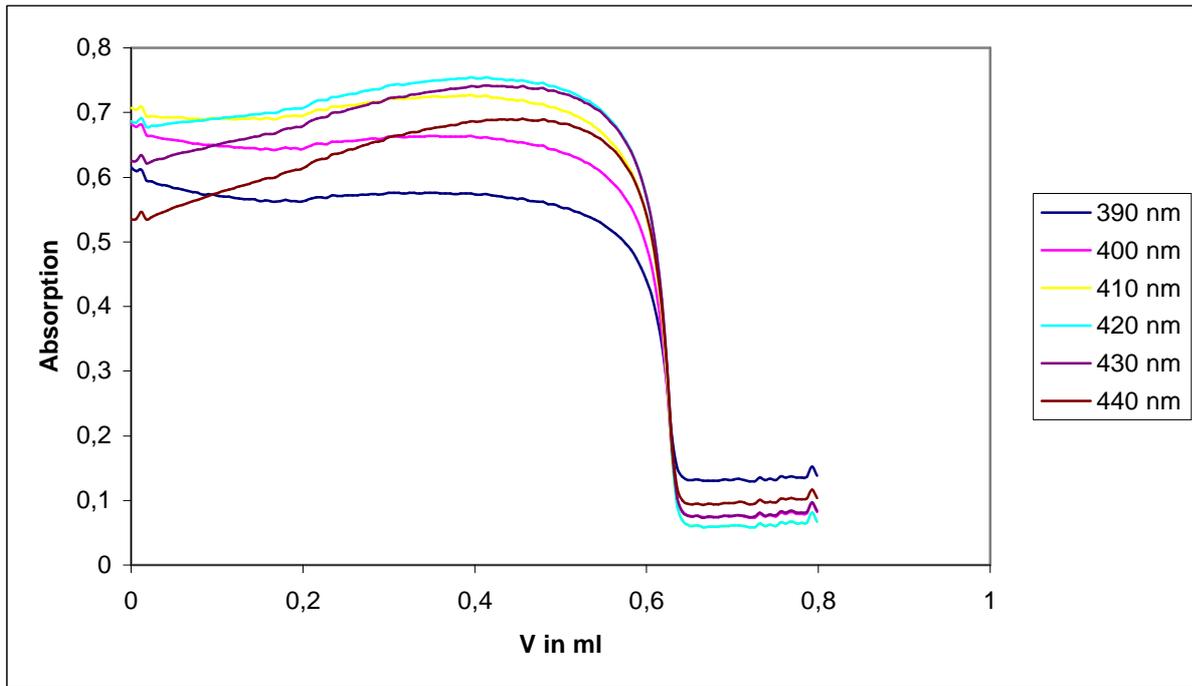


Abbildung 10-5: 6 Wellenlängen (protonierte Indikatorform) aus dem Spektrum aus Abbildung 10-1 wurden volumenkorrigiert aufgetragen

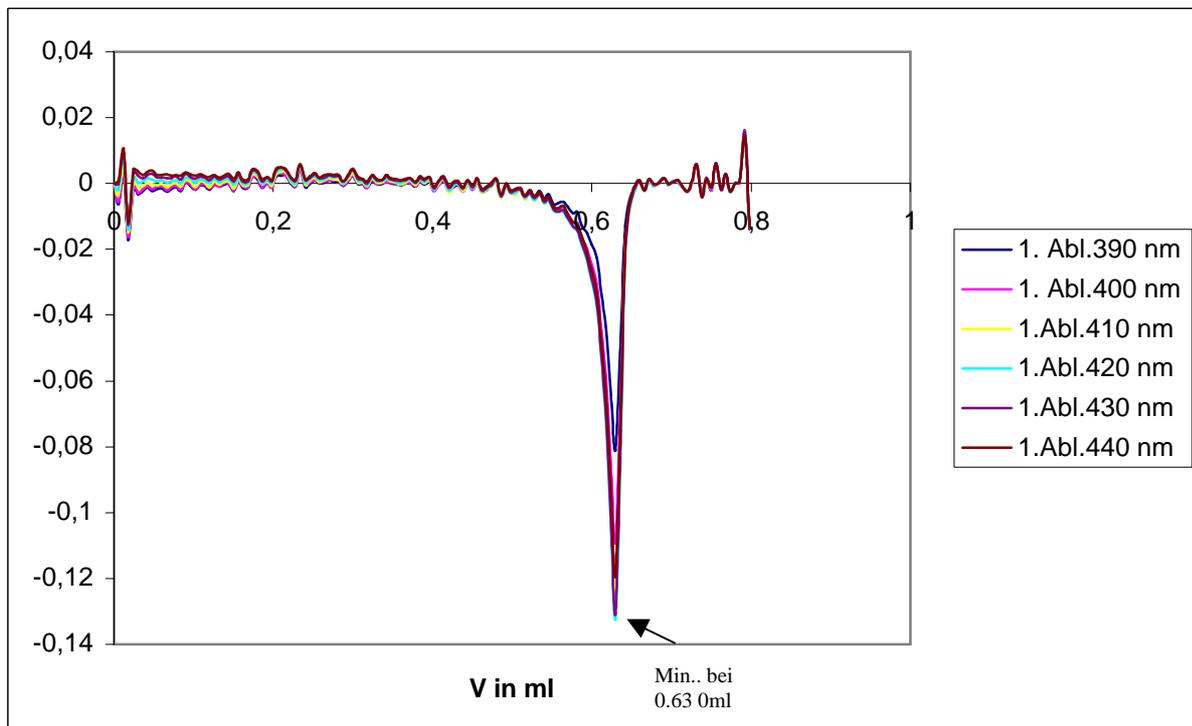


Abbildung 10-6: die in Abbildung 10-5 erhaltenen Titrationskurven wurden differenziert

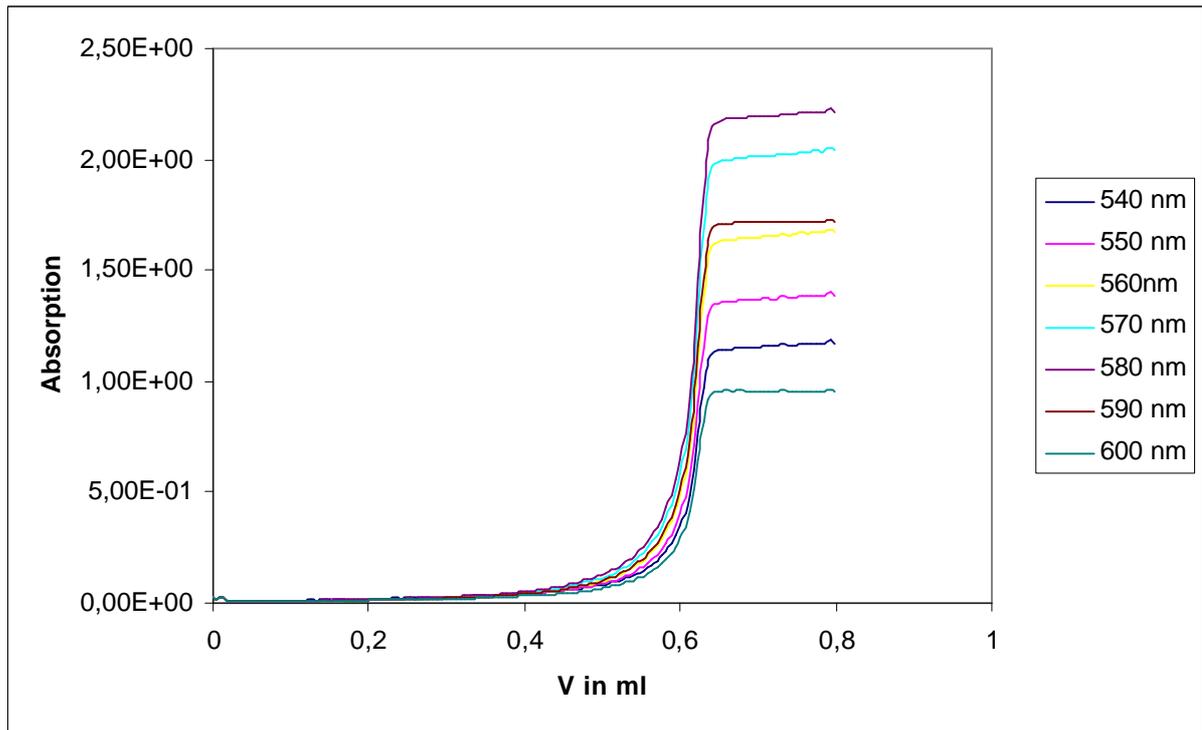


Abbildung 10-7: 7 Wellenlängen (deprotonierte Indikatorform) aus dem Spektrum aus Abbildung 10-1 wurden volumenkorrigiert aufgetragen

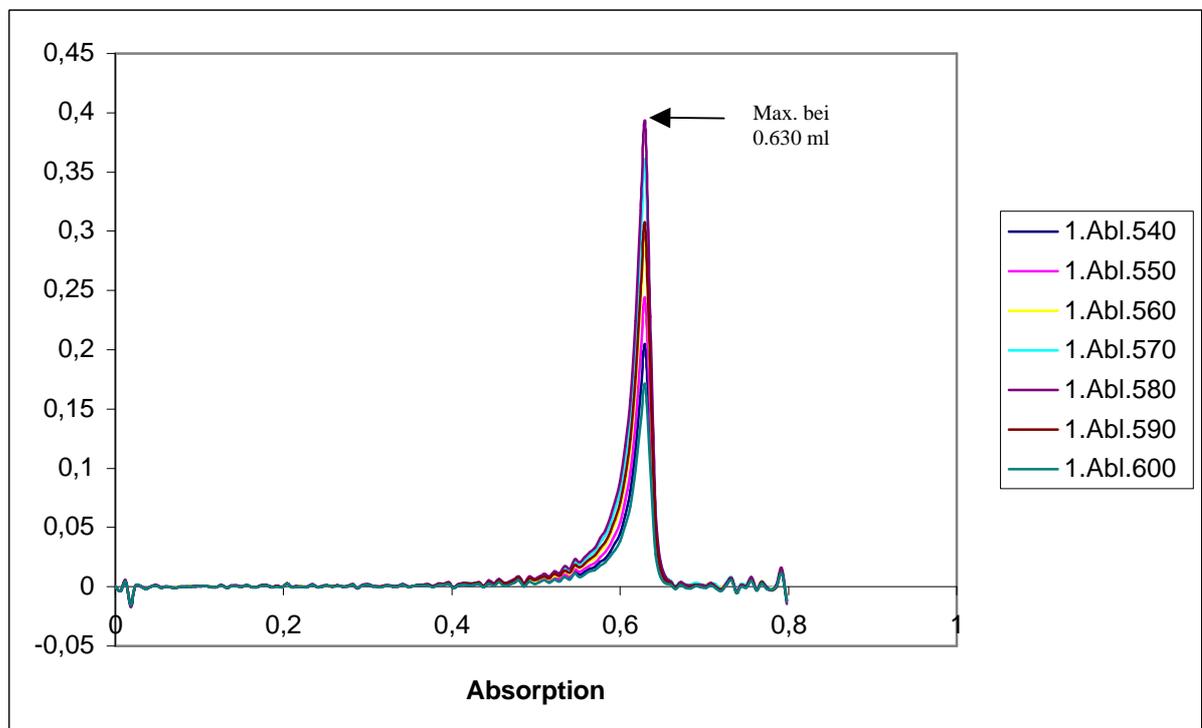


Abbildung 10-8: Die in Abbildung 10-7 erhaltenen Titrationskurven wurden differenziert

10.3 Titration von Procainhydrochlorid gegen Thymolblau

10.3.1 Durchführung

Analog zu den Bedingungen in Punkt 10.1 wurde der Arzneistoff Procain HCl mit variierten Lösungsmittel und Indikator noch mal titriert. Verwendet wurden nun je 15 μl einer Indikatorlösung von Thymolblau (0,1 %), Lösungsmittel für die Titration war Ethanol/10 % Wasser.

Abbildung 10-9 zeigt die Spektren während der PC-gesteuerten photometrisch indizierten Mikrotitration von Procain HCl mit 0,1 m NaOH in Ethanol mit Hilfe von Thymolblau. Die erhaltenen Spektren wurden annähernd an den Maxima von protonierter (425 nm) und deprotonierter (610 nm) Indikatorform ausgewertet, erkennbar an den senkrechten roten Strichen im Spektrum der Abbildung 10-9.

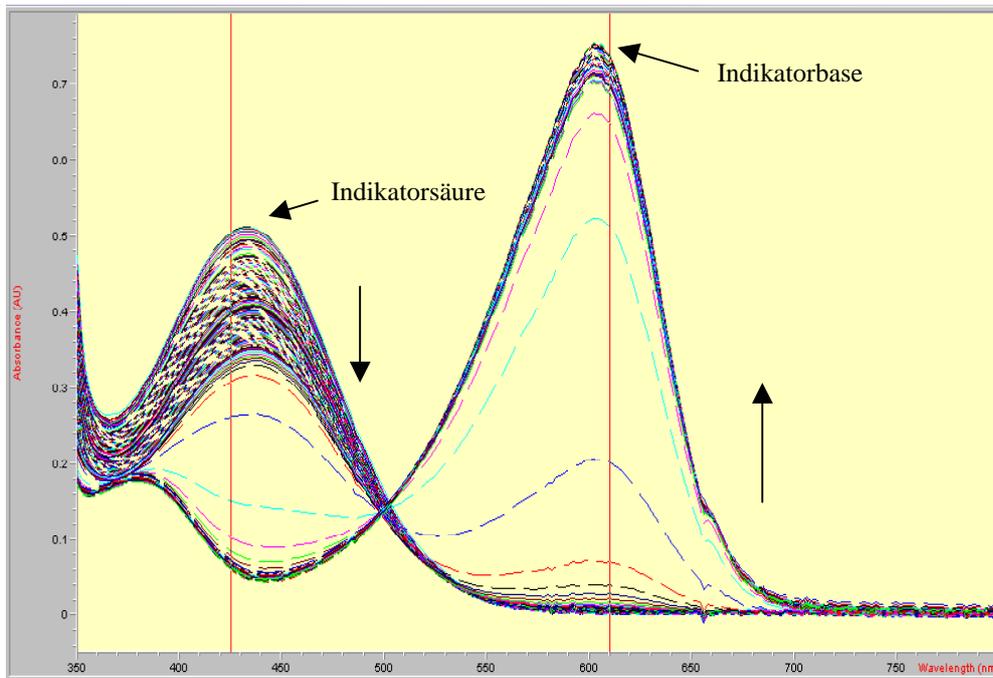


Abbildung 10-9: Spektren im Verlauf der Titration von Procain HCl mit NaOH $0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, LM: 1 ml Ethanol/10 % Wasser, Indikator: 15 μl Thymolblau-Lösung 0,1 %

10.3.2 Varianten der Kurvenauswertung

Abbildung 10-10 zeigt die aus Abbildung 10-9 gebildeten S-förmigen Titrationskurven der Wellenlängen 425 nm und 610 nm, welche einer Auswertung nach TUBBS unterzogen wurden. Die Kreisdurchmesser sind hier ähnlich groß und werden über ihre Mittelpunkte miteinander verbunden. Abbildung 10-11 zeigt die Grafik nach vorgenommener Differenzierung der Titrationskurven aus Abbildung 10-10.

Auf Knickpunktauswertung wurde aufgrund des stark symmetrischen S-förmigen Kurvenverhaltens verzichtet, da dies zu keinen Verbesserungen hinsichtlich der Präzision der Äquivalenzpunktbestimmung führen würde.

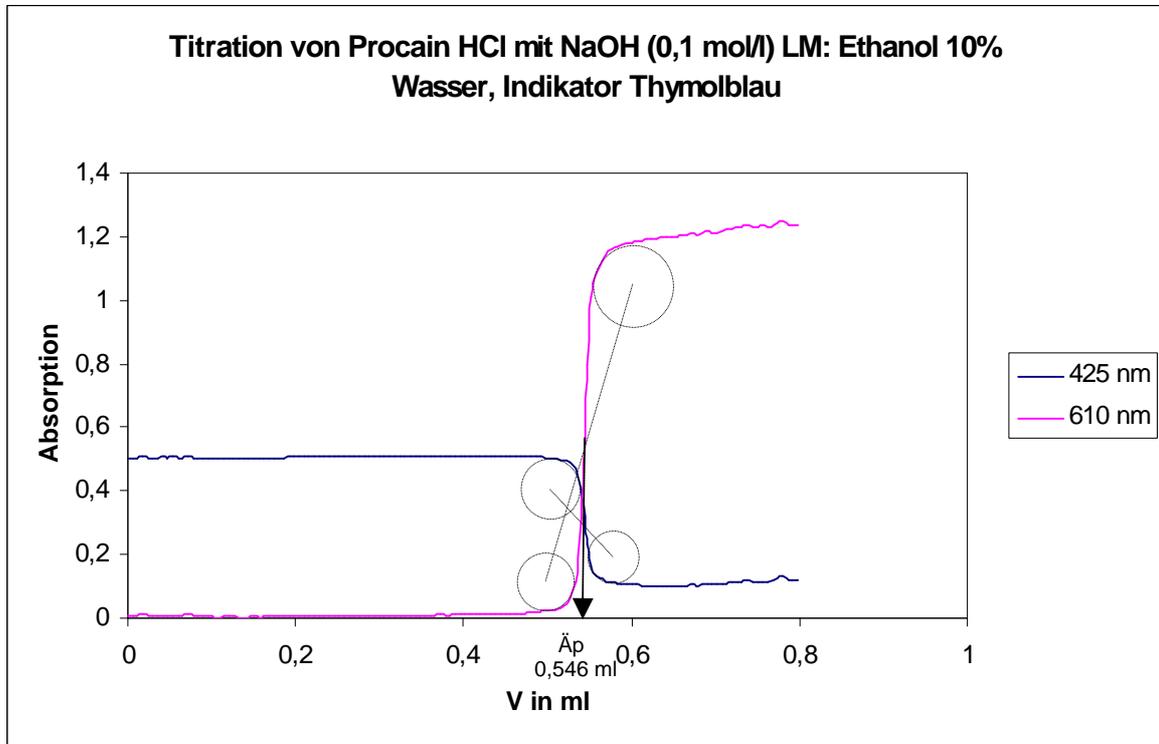


Abbildung 10-10: Zwei Ausgewählte Wellenlängen aus Abbildung 10-9 wurden im Titrationsverlauf verfolgt und ausgewertet

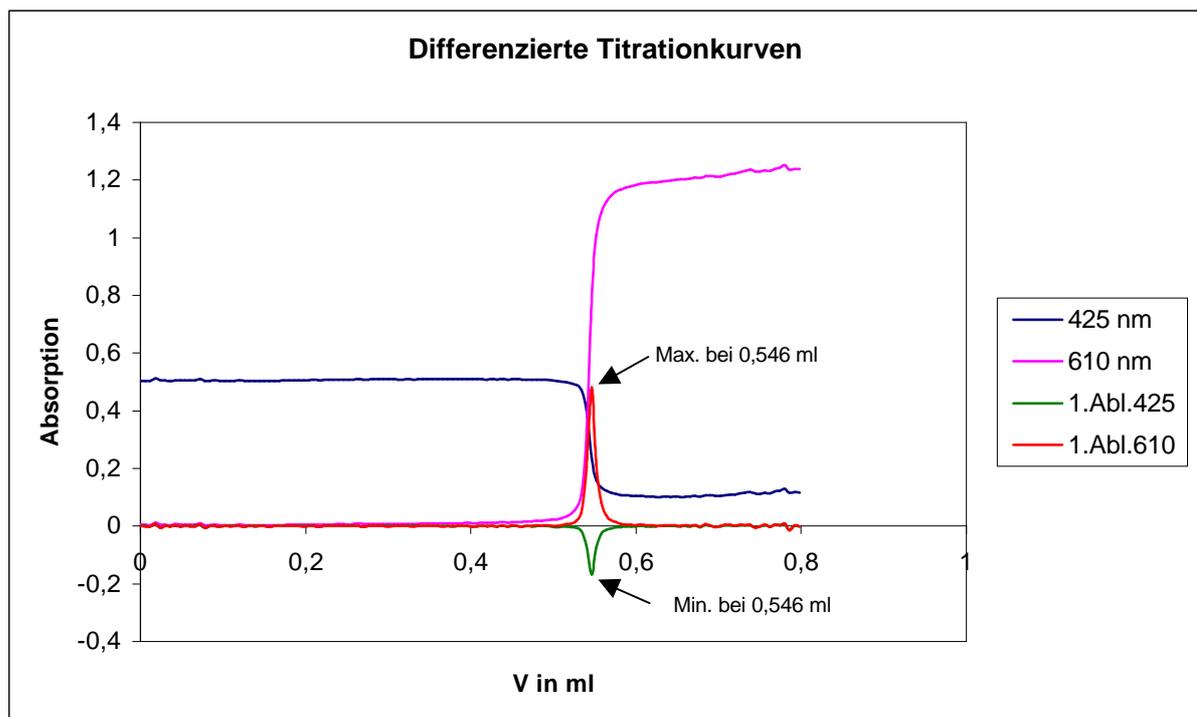


Abbildung 10-11: Differenzierte Titrationskurven aus Abbildung 10-10

10.3.2.1 Testung verschiedener Wellenlängen

Wie bereits unter Punkt 10.2.2.1 erläutert, erfolgt auch hier eine willkürlich Auswahl von Wellenlängen der protonierten und deprotonierten Indikatorform aus dem Spektrum in Abbildung 10-9, welche ausgewertet und verglichen werden sollen. Abbildung 10-12 zeigt die Titrationskurven der Wellenlängen (410 nm, 420 nm, 430 nm, 440 nm, 450 nm, 460 nm) der protonierten Indikatorform. In Abbildung 10-13 werden diese numerisch abgeleitet.

Abbildung 10-14 zeigt die Titrationskurven der Wellenlängen (570 nm, 580 nm, 590 nm, 600 nm, 610 nm, 620 nm, 630 nm) der deprotonierten Indikatorform. In Abbildung 10-15 wird durch Differenzierung das Maximum ermittelt.

Zur Veranschaulichung wurden aus Abbildung 10-13 und 10-15 die erhaltenen Maxima bzw. Minima der angegebenen Wellenlängen tabellarisch (Tabelle 10-1) aufgelistet. Es zeigt sich, dass sich trotz unterschiedlicher Intensität der Maxima die Lage nicht verändert. Es ist also nicht wichtig welche Wellenlängen des erhaltenen Titrationspektrums zur Auswertung herangezogen werden.

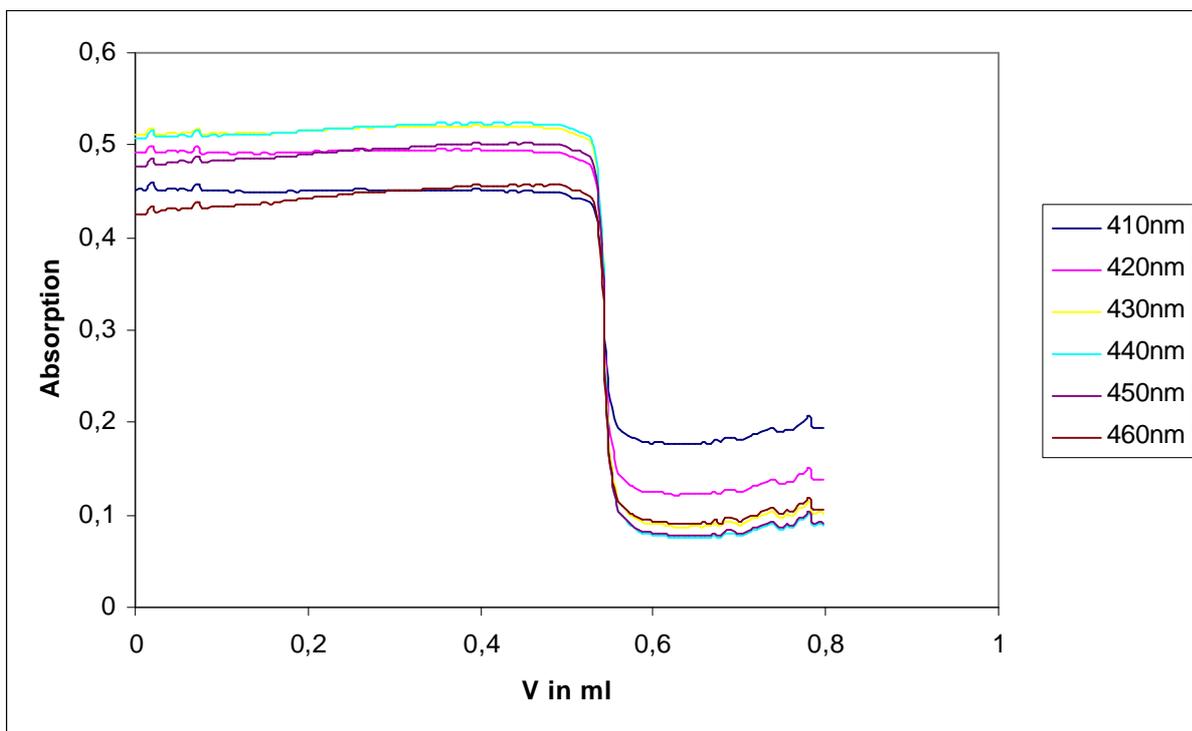


Abbildung 10-12: Wellenlängen (protonierte Indikatorform) aus dem Spektrum aus Abbildung 10-9 wurden volumenkoriert aufgetragen

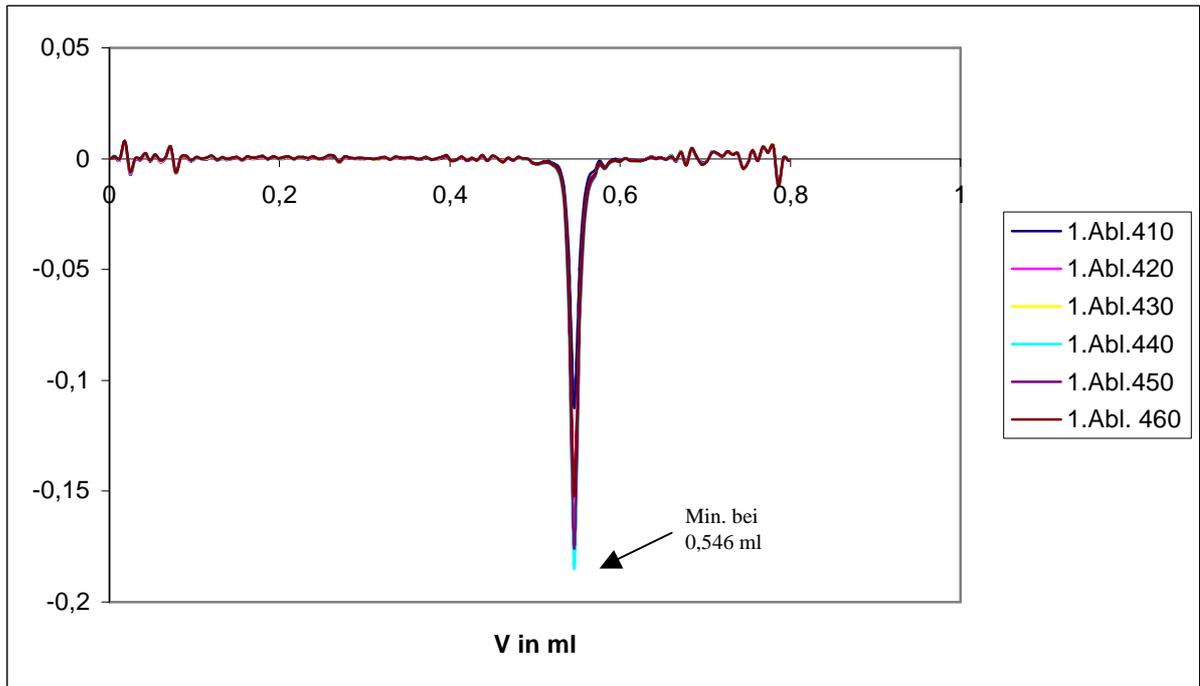


Abbildung 10-13: Die in Abbildung 10-12 erhaltenen Titrationskurven wurden differenziert

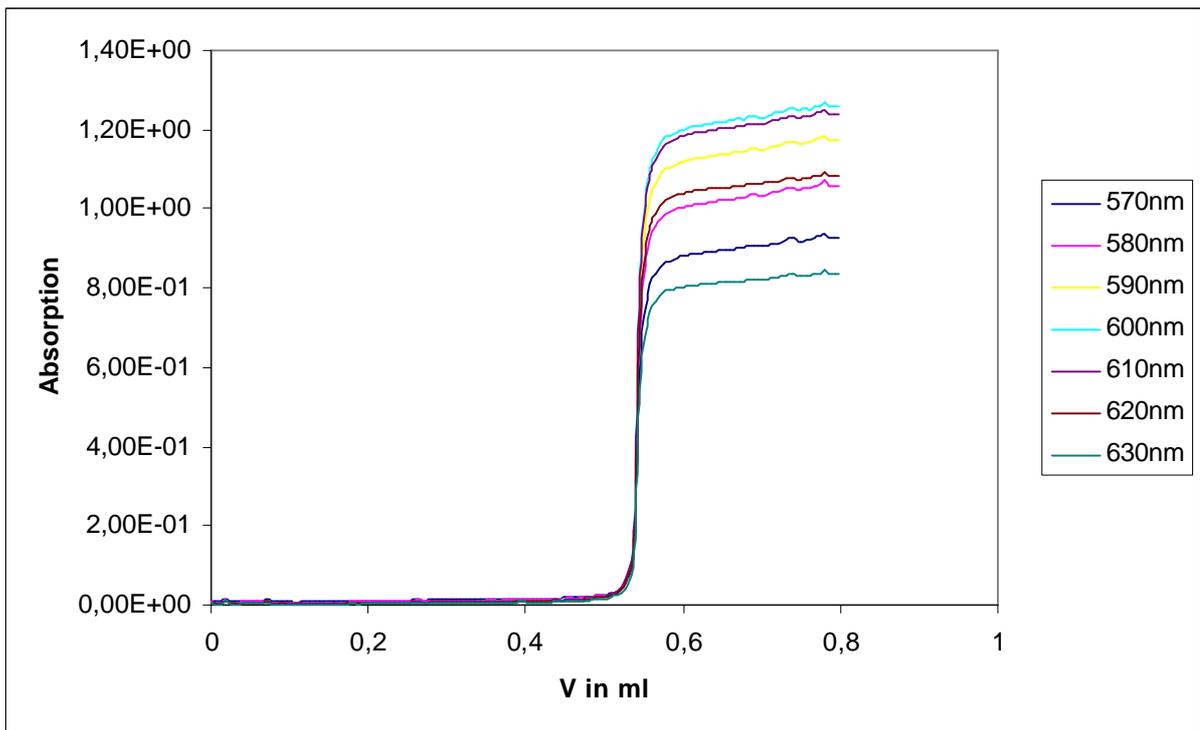


Abbildung 10-14: Wellenlängen (deprotonierte Indikatorform) aus dem Spektrum aus Abbildung 10-9 wurden volumenkoriert aufgetragen

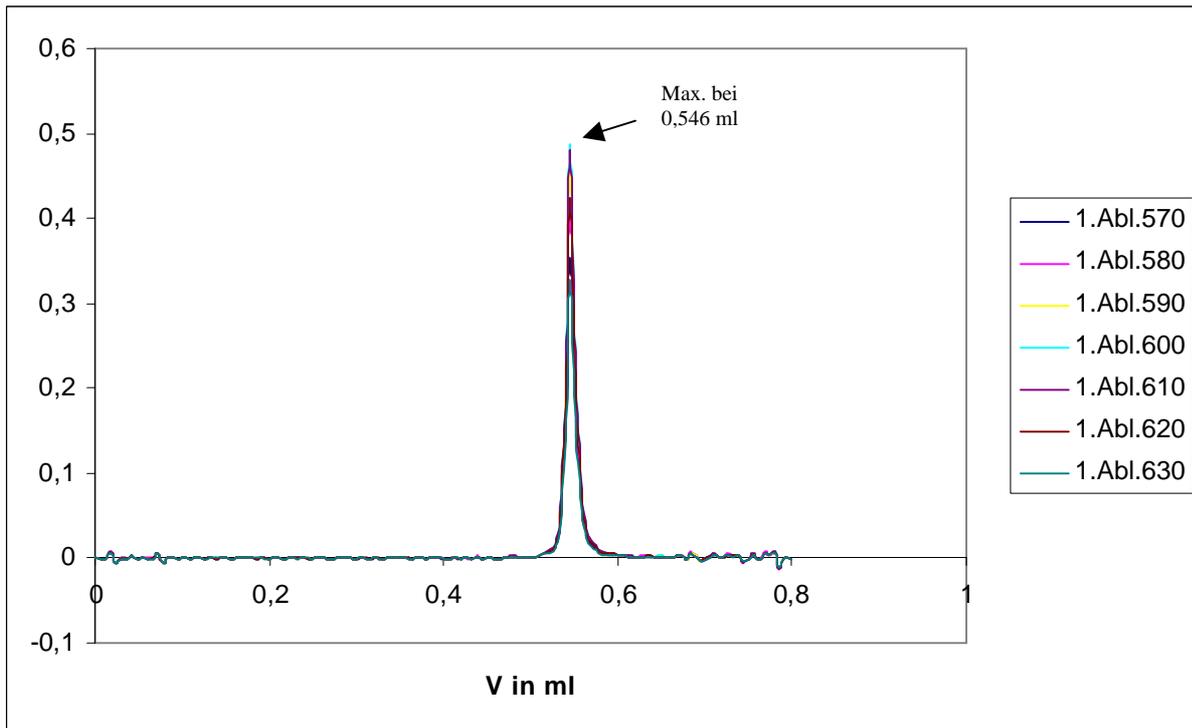


Abbildung 10-15: Die in Abbildung 10-14 erhaltenen Titrationskurven wurden differenziert

Wellenlänge	Max bzw. Min bei	Wert im Max bzw. Min
410 nm	0,546 ml	-0,1125
420 nm	0,546 ml	-0,1529
430 nm	0,546ml	0,1782
440 nm	0,546 ml	-0,185
450 nm	0,546 ml	-0,1757
460 nm	0,546 ml	-0,152
570 nm	0,546 ml	0,354
580 nm	0,546 ml	0,406
590 nm	0,546 ml	0,455
600 nm	0,546 ml	0,488
610 nm	0,546 ml	0,481
610 nm	0,546 ml	0,424
630 nm	0,546 ml	0,328

Tabelle 10-1: Auflistung aller ermittelten Maxima und Minima mit ihrer dazugehörigen Intensitäten

10.4 Auswertung der Ergebnisse

Es zeigt sich, dass unter Punkt 10.2 alle 3 Auswertungsverfahren einen identischen Äquivalenzpunkt erkennen ließen. Dies war bei der Knickpunktauswertung und der Differenzierungsmethode zu erwarten.

Die Auswertung nach TUBBS bestätigte die Annahme, dass diese Methode durchaus für verschiedene Kurventypen einsetzbar ist. Es wäre also möglich, mit dementsprechend programmierter Software eine Titration inklusive der hier untersuchten Auswertungsvariante nach TUBBS vollautomatisch ablaufen zu lassen.

Eine praktische Überprüfung der Methode durch Titration und Auswertung einer ideal S-förmigen Kurve wurde unter Punkt 10.3 vorgenommen und ergab auch hier eine Übereinstimmung von differenzierter und nach TUBBS ausgewerteter Kurve.

Ein Vergleich der TUBBS-Methode mit der Wendepunktbestimmung über die Bildung der 1. Ableitung lässt also beim reinen Analysenergebnis keinen Unterschied erkennen, wurde hier aber statistisch nicht abgesichert. Die manuelle Handhabung der Auswertung nach TUBBS erwies sich jedoch als aufwendiger, da kein geeignetes Programm zur rechnerischen Auswertung zur Verfügung stand. Berechnete Titrationskurven unter Punkt 9.3 zeigten mit nachgestellter programmierter TUBBS-Auswertung Möglichkeiten und Grenzen dieser Methode. Eine universelle Einsetzbarkeit für alle Kurventypen konnte nicht erreicht werden. Insbesondere im Grenzbereich von Indikatorumschlägen kam es zu Ungenauigkeiten bei der Bestimmung des Äquivalenzpunktes. Nur für scharfe Indikatorumschläge ist TUBBS eine sinnvolle Alternative zu Differenzierung der Titrationskurve. Die Notwendigkeit der Korrektur des Verdünnungsfehlers durch die stetige Volumenzunahme während der Titration ist bei TUBBS erforderlich, welches bei entsprechender Programmierung der eingesetzten Software aber unproblematisch ist.

Weiterhin wurden für beide Kurvenvarianten (Kresolrot, Thymolblau) unter Punkt 10.2 und 10.3 je 11 verschiedene Wellenlängen von protonierter und deprotonierter Indikatorform miteinander verglichen.

Es wurde nachgewiesen, dass unabhängig von gewählter Wellenlänge und Indikatorform die Ergebnisse bei der Bestimmung des Wendepunktes mittels Differenzierung identisch sind. Es ist also nicht notwendig ein gesamtes Spektrum aufzunehmen und auszuwerten. Es genügen maximal 3 Wellenlängen in Absorptionsbereich der Indikatoren, um eine Titration zu verfolgen und auszuwerten.

Um diese Wellenlängen zu erzeugen ist es nicht erforderlich, spezielle photometrische Lampen einzusetzen. Eine bestimmte Anzahl Dioden, welche in regelmäßigen Wellenlängenabständen angeordnet sind, könnten so den gesamten Vis-Bereich abdecken und durch gezieltes Ein- und Ausschalten, je nach eingesetztem Indikator, jede Titration indizieren.

Mit dieser Möglichkeit bietet die Photometrie eine echte Alternative zur Potentiometrie, da sie schneller (keine Potentialeinstellung erforderlich), preiswerter (Einsatz preiswerter Photodioden) und weniger störanfällig (keine elektrostatischen Einflüsse) ist.

11 Photometrische Mikrotitration

11.1 Vorbetrachtung

Um die unter Kapitel 10 beschriebene Auswertungsvariante der Wendepunktsermittlung mittels 1. Ableitung statistisch abzusichern und mit den Bestimmungen der potentiometrischen Endpunktbestimmung zu vergleichen, wurden verschiedenen Indikator-Lösungsmittel- Arzneistoffkombinationen photometrisch titriert, differentiell ausgewertet und statistisch untersucht.

Dazu wurden Procainhydrochlorid und Chininhydrochlorid gegen die Indikatoren Thymolblau und Kresolrot jeweils in Ethanol, Isopropanol und Aceton mit NaOH titriert. Die genannten Indikatoren wurden so gewählt, dass sie unterschiedliche Kurvenverläufe vermuten lassen. Kresolrot (pK_{In} 8,3 [33]) und Thymolblau (pK_{In} 9,2 [34]) decken bei wässrigen Titrationsen den neutralen bis schwach basischen Bereich ab. Die in Kapitel 9 dargestellten Berechnungen zur Kurvenform lassen abschätzen, dass Kresolrot mit seinem pK_{In} ähnlich den pK - Werten der eingesetzten Arzneistoffe, eine unsymmetrische Kurve erwarten lässt. Der Einsatz von Thymolblau kann einen symmetrischeren Kurvenverlauf vermuten lassen, da seine pK_{In} -Werte etwas größer als die der Arzneistoffe sind.

Bei photometrischen Titrationsen ist es notwendig, dass vor jeder Spektrenaufnahme die Färbung der Titrationslösung absolut homogen ist. Um dies zu gewährleisten, ist es wichtig ausreichende Zeitabstände zwischen den einzelnen Dosierschritten einzuhalten. Die hier gewählte Wartezeit wurde empirisch ermittelt. Nach Ablauf dieser festgesetzten Zeit konnte eine gleichmäßige Durchmischung der Lösung gewährleistet werden. Durch die Dosierschritte in gleichen Zeitabständen und konstanten Volumina, konnte der Titrationsmodus MET (**M**onotone **E**quivalenzpunkt **T**itration) gewählt werden.

“Bei dieser Art der Titration wird das Titriermittel während der gesamten Titration in gleich großen Volumen-Inkrementen zugegeben. Nach Zugaben eines Volumen-Inkrementes wird der Messwert übernommen, wenn entweder eine vorgegebene Driftschwelle unterschritten oder eine Wartezeit abgelaufen ist. Dieser Modus eignet sich für langsame Titrationsreaktionen (z. B. Diazotierungen, Kupplungsreaktionen) oder für Titrationsen mit unsymmetrischen oder flachen und leicht unsymmetrischen Kurven.“ [5]

11.2 Photometrische Bestimmung von Procainhydrochlorid

11.2.1 Titration gegen den Indikator Thymolblau

11.2.1.1 Durchführung

Analog der Vorgehensweise unter Punkt 10.2 wurde der Arzneistoff Procainhydrochlorid alkalimetrisch bestimmt. Die Titration wurde analog zur Potentiometrie in den Lösungsmitteln Ethanol, Isopropanol und Aceton mit einem Wasseranteil von 10 % durchgeführt. Um eine ausreichende Füllhöhe der Küvette insbesondere zu Beginn der Titration zu gewährleisten, wurde mit einem Ausgangsvolumen von 1 ml Lösungsmittel gearbeitet. Um das Fassungsvermögen der gewählten Quarzküvette von ca. 2 ml nicht zu überschreiten, wurde die Einwaage so gewählt, dass der Äquivalenzpunkt nach Zugabe von ca. 0,5 ml Titriermittel erreicht ist und somit ein maximales Zugabevolumen von 0,8 ml Maßlösung, welches für eine graphische Auswertung der Titrationskurve erforderlich ist, ausreichend ist.

Der Endpunkt wurde durch den Indikator Thymolblau angezeigt. Hierzu wurde eine 0,1 %-ige Lösung hergestellt, 15 μ l dieser Lösung wurde für jede Titration in den Titrationsansatz dosiert. In Schritten von 0,6 μ l wurde die Maßlösung in das Titrationsgefäß dosiert. Es wurden 10 aufeinanderfolgende Messungen durchgeführt.

11.2.1.2 Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte wie unter Punkt 10.3 beschrieben. Die vom Photometer aufgenommenen Spektren (siehe z. B. Abbildung 10-9, in Ethanol) der einzelnen Dosierschritte wurden bei den unter Punkt 10.3 gewählten Wellenlängen (425 nm, 610 nm) der protonierten und deprotonierten Indikatorform ausgewertet, sowie mit Hilfe der 1. Ableitung die Äquivalenzpunkte bestimmt. Dabei zeigte sich, dass wie schon in Punkt 10.3 besprochen die Lage der Maxima bzw. Minima unabhängig von der gewählten Wellenlänge gleich ist. Deshalb wird auf eine Unterscheidung dieser verzichtet. Es wird lediglich vom tatsächlichen Verbrauch an NaOH gesprochen.

In den Tabellen 11-1 bis 11-3 sind für die entsprechenden Lösungsmittel die Titrationsergebnisse aufgelistet.

Einwaage Procainhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in [ml] $f = 0,09826$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in [ml] $f = 0,09826$	Gehalt Procainhydrochlorid in [%]
0,0147	0,5484	0,546	99,56
0,0152	0,5671	0,564	99,45
0,0146	0,5447	0,540	99,14
0,0146	0,5447	0,546	100,24
0,0152	0,5671	0,564	99,45
0,0148	0,5521	0,546	98,90
0,0147	0,5484	0,546	99,56
0,0143	0,5335	0,534	100,09
0,0146	0,5447	0,546	100,24
0,0150	0,5596	0,558	99,71
Mittelwert			
			99,63 %
Standardabweichung			
			0,45 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			
			0,32 %
Varianz			
			0,20 % ²

Tabelle 11-1: Titration Procainhydrochlorid in Küvette, Indikator Thymolblau 15 μl (0,1 %), Lösungsmittel Ethanol

Einwaage Procainhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in [ml] $f = 0,09864$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in [ml] $f = 0,09864$	Gehalt Procainhydrochlorid in [%]
0,0143	0,5351	0,534	99,79
0,0148	0,5500	0,552	100,36
0,0142	0,5277	0,528	100,06
0,0146	0,5426	0,540	99,52
0,0152	0,5649	0,564	99,13
0,0157	0,5834	0,582	99,76
0,0149	0,5537	0,552	99,69
0,0152	0,5649	0,564	99,84
0,0155	0,5760	0,570	98,96
0,0150	0,5574	0,558	100,11
Mittelwert			
			99,72 %
Standardabweichung			
			0,47 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			
			0,33 %
Varianz			
			0,2253 % ²

Tabelle 11-2: Titration Procainhydrochlorid in Küvette, Indikator Thymolblau 15 μl (0,1 %), Lösungsmittel Isopropanol

Einwaage Procainhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) in [ml] f = 0,09864	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) in [ml] f = 0,09864	Gehalt Procainhydrochlorid in [%]
0,0146	0,5426	0,540	99,52
0,0157	0,5797	0,582	100,39
0,0153	0,5686	0,570	100,25
0,0149	0,5537	0,552	99,69
0,015	0,5574	0,558	100,11
0,0146	0,5426	0,540	99,52
0,0145	0,5389	0,540	100,20
0,0147	0,5463	0,540	98,85
0,0146	0,5426	0,540	99,52
0,0154	0,5723	0,570	99,60
Mittelwert			99,77 %
Standardabweichung			0,47 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,33 %
Varianz			0,2205 % ²

Tabelle 11-3: Titration Procainhydrochlorid in Küvette, Indikator Thymolblau 15 µl (0,1 %), Lösungsmittel Aceton

11.2.2 Titration gegen den Indikator Kresolrot

11.2.2.1 Durchführung

Analog zur Methode unter Punkt 11.2.1 wurden die Titrationsen gegen den Indikator Kresolrot durchgeführt. Gearbeitet wurde ebenfalls mit einer 0,1 %-igen Indikatorlösung, wobei eine Zugabe von 10 µl in den Ansatz ausreichend war.

11.2.2.2 Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte wie unter Punkt 10.3 beschrieben. Die vom Photometer aufgenommenen Spektren (siehe z. B. Abbildung 10-1, in Aceton) der einzelnen Dosierschritte wurden bei den unter Punkt 10.2 gewählten Wellenlängen (420 nm, 580 nm) der protonierten und deprotonierten Indikatorform ausgewertet, sowie mit Hilfe der 1. Ableitung die Äquivalenzpunkte bestimmt. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte analog zu Punkt 11.2.1.2.

In den Tabellen 11-4 bis 11-6 sind für die entsprechenden Lösungsmittel die Titrationsergebnisse aufgelistet.

Einwaage Procainhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,098605$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,098605$	Gehalt Procainhydrochlorid in [%]
0,0143	0,5316	0,528	99,32
0,0142	0,5279	0,528	100,02
0,0150	0,5576	0,552	99,00
0,0153	0,5688	0,564	99,16
0,0149	0,5539	0,552	99,66
0,0165	0,6134	0,606	98,79
0,0144	0,5353	0,534	99,75
0,0146	0,5428	0,540	99,48
0,0143	0,5316	0,534	100,45
0,0150	0,5576	0,552	99,00
Mittelwert			99,46 %
Standardabweichung			0,52 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,37 %
Varianz			$0,27 \%^2$

Tabelle 11-4: Titration Procainhydrochlorid in Küvette, Indikator Kresolrot 10 μl (0,1 %), Lösungsmittel Ethanol

Einwaage Procainhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,09862$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,09862$	Gehalt Procainhydrochlorid in [%]
0,0151	0,5613	0,558	99,41
0,0159	0,5910	0,588	99,49
0,0140	0,5203	0,510	98,02
0,0158	0,5873	0,582	99,10
0,0141	0,5241	0,522	99,60
0,0151	0,5575	0,552	99,01
0,0155	0,5761	0,576	99,98
0,0143	0,5352	0,534	99,78
0,0152	0,5575	0,552	99,01
0,0153	0,5687	0,564	99,17
Mittelwert			99,26 %
Standardabweichung			0,55 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,38 %
Varianz			$0,30 \%^2$

Tabelle 11-5: Titration Procainhydrochlorid in Küvette, Indikator Kresolrot 10 μl (0,1 %), Lösungsmittel Isopropanol

Einwaage Procainhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) f = 0,098605	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) f = 0,098605	Gehalt Procainhydrochlorid in [%]
0,0170	0,6319	0,63	99,69
0,0145	0,5390	0,534	99,07
0,0144	0,5353	0,534	99,75
0,0151	0,5613	0,558	99,41
0,0150	0,5576	0,558	100,07
0,0149	0,5539	0,552	99,66
0,0144	0,5316	0,528	99,32
0,0154	0,5725	0,576	100,60
0,0146	0,5428	0,540	99,48
0,0145	0,5390	0,540	100,19
Mittelwert			99,73 %
Standardabweichung			0,45 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,32 %
Varianz			0,21 % ²

Tabelle 11-6: Titration Procainhydrochlorid in Küvette, Indikator Kresolrot 10 µl (0,1 %), Lösungsmittel Aceton

11.3 Photometrische Bestimmung von Chininhydrochlorid

11.3.1 Titration gegen den Indikator Thymolblau

11.3.1.1 Durchführung

Analog der Vorgehensweise unter Punkt 11.2 wird der Arzneistoff Chininhydrochlorid alkalimetrisch bestimmt, wobei auch hier die Lösungsmittel Ethanol, Isopropanol und Aceton mit einem Wasseranteil von 10 % verwendet werden. Wie in Punkt 11.2.1 wird der Analysenansatz vorbereitet und titriert. Der Endpunkt wird unter Verwendung des Indikators Thymolblau (0,1 %) bestimmt. Es wurden 10 aufeinanderfolgende Messungen durchgeführt.

11.3.1.2 Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte wie unter Punkt 10.3 beschrieben. Als grafisches Beispiel dient hier eine Bestimmung aus der Titrationsreihe von Ethanol als Lösungsmittel. Die vom Photometer aufgenommenen Spektren (siehe z. B. Abbildung 11-1) der einzelnen Dosierschritte wurden bei den dargestellten Wellenlängen des Titrationspektrums von protonierter (425 nm) und deprotonierter (610 nm) Indikatorform ausgewertet, sowie mit

Hilfe der 1. Ableitung die Äquivalenzpunkte bestimmt (Abbildung 11-2). Weitere Wellenlängen sind für die Auswertung nicht herangezogen worden, da sich die Wendepunkte in ihren Werten nicht unterscheiden (siehe auch Punkt 10.3). In den Tabellen 11-7 bis 11-9 sind für die entsprechenden Lösungsmittel die Titrationsergebnisse aufgelistet.

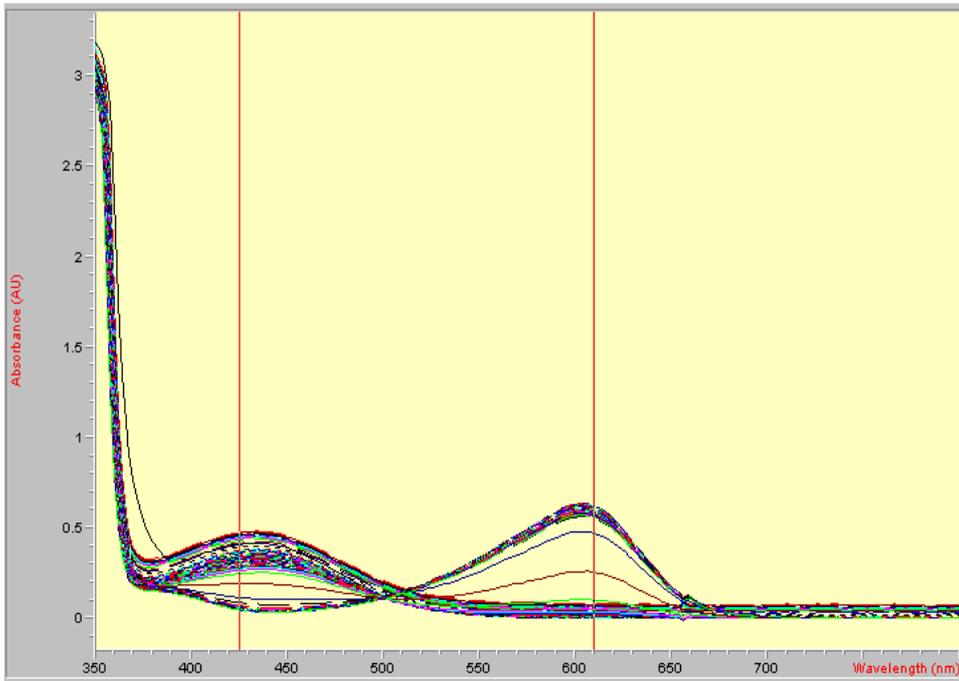


Abbildung 11-1: Titration von Chininhydrochlorid in Ethanol, Indikator Thymolblau

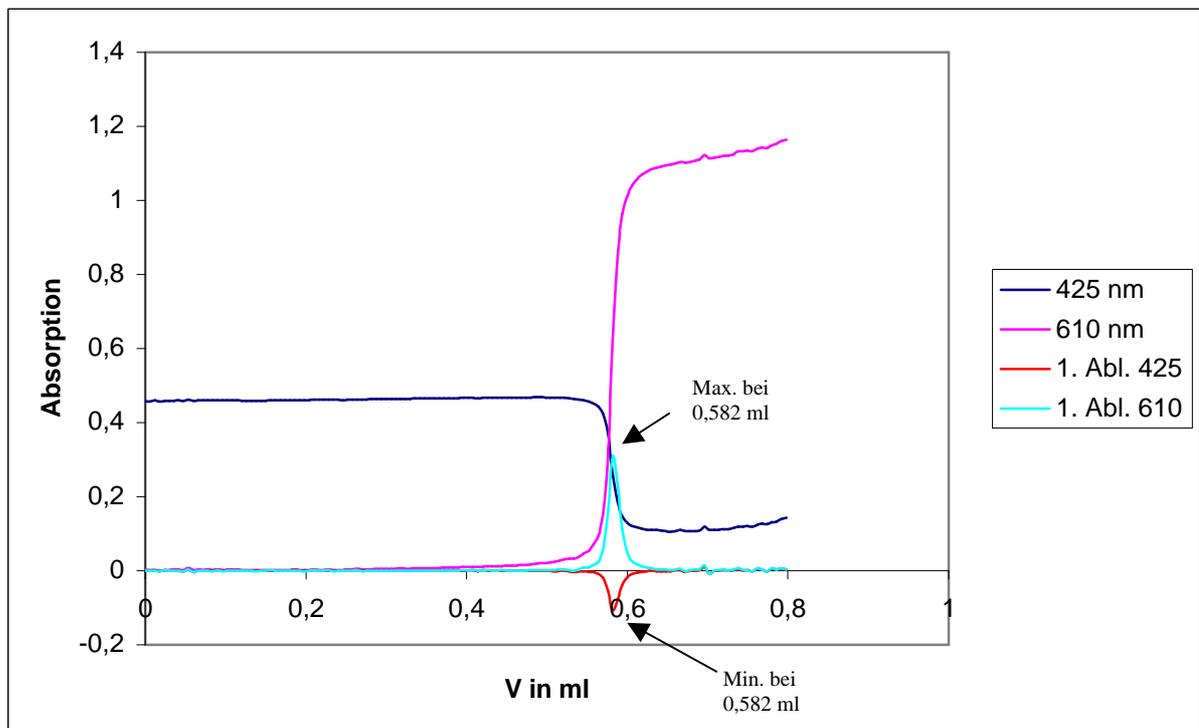


Abbildung 11-2: Titrationskurven und Maxima aus den Wellenlängen der Abb. 11-1

Einwaage Chininhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,0988$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,0988$	Gehalt Chininhydrochlorid in [%]
0,0185	0,5198	0,516	99,27
0,0204	0,5733	0,570	99,42
0,0188	0,5274	0,528	100,11
0,0207	0,5809	0,576	99,16
0,0198	0,5555	0,558	100,45
0,0195	0,5503	0,552	100,31
0,0184	0,5147	0,510	99,09
0,0192	0,5374	0,534	99,37
0,0185	0,5173	0,516	99,75
0,0195	0,5453	0,546	100,13
Mittelwert			99,71 %
Standardabweichung			0,51 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,36 %
Varianz			0,26 % ²

Tabelle 11-7: Titration von Chininhydrochlorid in Küvette, Indikator 15 μl Thymolblau(0,1%), Lösungsmittel Ethanol

Einwaage Chininhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,0957$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,0957$	Gehalt Chininhydrochlorid in [%]
0,0176	0,4947	0,492	99,45
0,0188	0,5256	0,522	99,32
0,0181	0,5088	0,504	99,05
0,0204	0,5734	0,570	99,41
0,01819	0,5112	0,516	100,94
0,0197	0,5538	0,552	99,68
0,0188	0,5285	0,528	99,91
0,0193	0,5425	0,546	100,65
0,0187	0,5267	0,522	99,11
0,0188	0,5267	0,528	100,25
Mittelwert			99,78 %
Standardabweichung			0,54 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,38 %
Varianz			0,29 % ²

Tabelle 11-8: Titration von Chininhydrochlorid in Küvette, Indikator 15 μl Thymolblau(0,1%), Lösungsmittel Isopropanol

Einwaage Chininhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) f = 0,0957	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) f = 0,0957	Gehalt Chininhydrochlorid in [%]
0,0188	0,5285	0,528	99,91
0,0202	0,5673	0,57	100,48
0,0197	0,5538	0,552	99,67
0,0198	0,5566	0,552	99,17
0,0194	0,5453	0,546	100,13
0,0196	0,5509	0,546	99,11
0,0207	0,5819	0,582	100,02
0,0184	0,5172	0,516	99,77
0,0199	0,5594	0,558	99,75
0,0210	0,5903	0,588	99,61
Mittelwert			99,76 %
Standardabweichung			0,41 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,29 %
Varianz			0,17 % ²

Tabelle 11-9: Titration von Chininhydrochlorid in Küvette, Indikator 15 µl Thymolblau(0,1%), Lösungsmittel Aceton

11.3.2 Titration gegen den Indikator Kresolrot

11.3.2.1 Durchführung

Analog der Vorgehensweise unter Punkt 11.2 wird der Arzneistoff Chininhydrochlorid alkalimetrisch bestimmt, wobei auch hier die Lösungsmittel Ethanol, Isopropanol und Aceton mit einem Wasseranteil von 10 % verwendet werden. Wie in Punkt 11.2.1 wird der Analysenansatz vorbereitet und titriert. Der Endpunkt wird unter Verwendung des Indikators Kresolrot bestimmt. Es erfolgte ein Zugabe von 10 µl Indikatorlösung mit einer Konzentration von 0,1 %. Es wurden 10 aufeinanderfolgende Messungen durchgeführt.

11.3.2.2 Ergebnisse

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte wie unter Punkt 11.3 beschrieben. Als grafisches Beispiel dient hier ebenfalls eine Bestimmung aus der Titrationsreihe von Ethanol als Lösungsmittel. Die vom Photometer aufgenommenen Spektren (siehe z. B. Abbildung 12-3) der einzelnen Dosierschritte wurden bei den dargestellten Wellenlängen des Titrationspektrums von protonierter (420 nm) und deprotonierter (580 nm) Indikatorform ausgewertet, sowie mit Hilfe der 1. Ableitung die Äquivalenzpunkte bestimmt (Abbildung 12-4). Weitere

Wellenlängen sind für die Auswertung nicht herangezogen worden, da sich die Wendepunkte in ihren Werten nicht unterscheiden (siehe auch Punkt 10.3).

In den Tabellen 11-10 bis 11-13 sind für die entsprechenden Lösungsmittel die Titrations-ergebnisse aufgelistet.

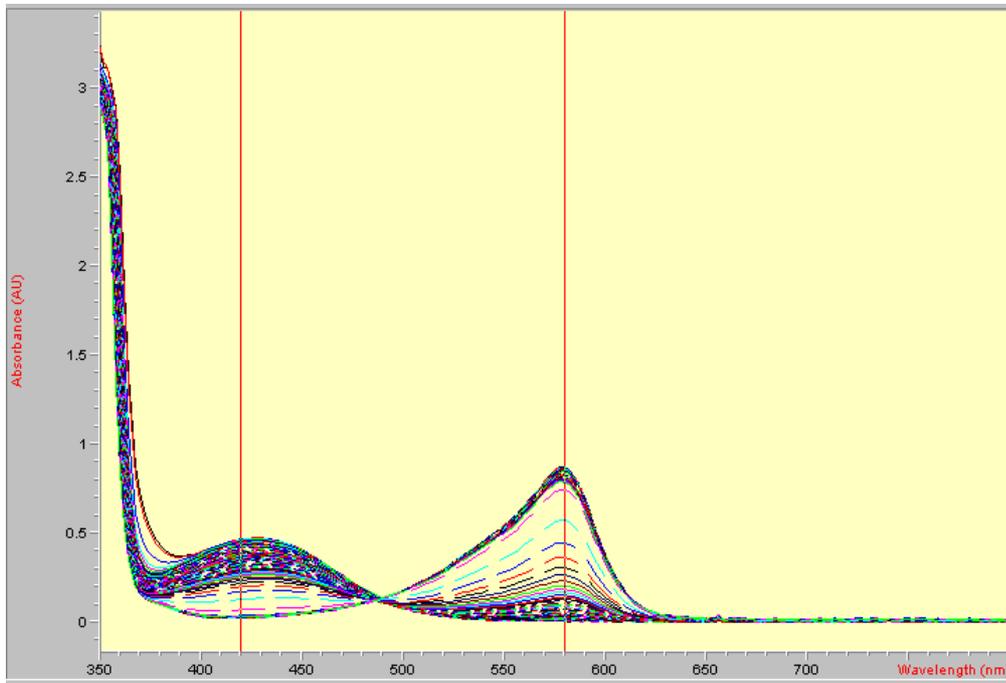


Abbildung 11-3: Titration von Chininhydrochlorid in Ethanol, Indikator Kresolrot

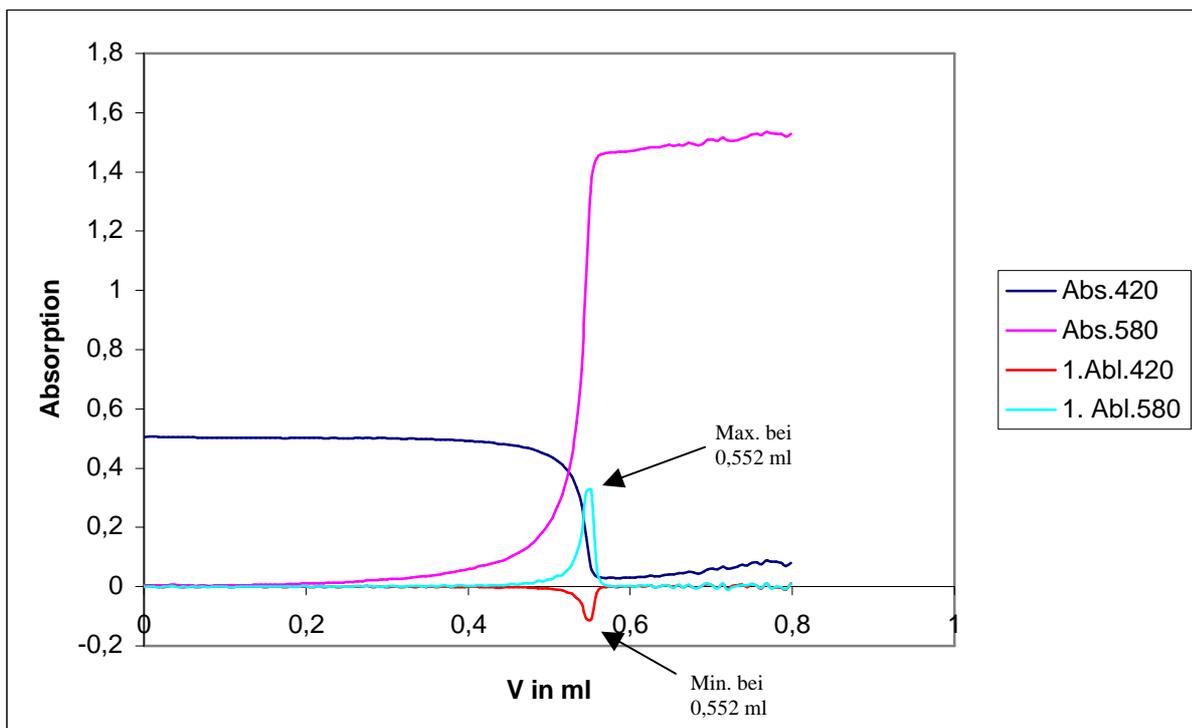


Abbildung 11-4: Titrationskurven und Maxima aus den Wellenlängen der Abbildung 11-3

Einwaage Chininhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,0985$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,0985$	Gehalt Chininhydrochlorid in [%]
0,0194	0,5457	0,546	100,05
0,0195	0,5485	0,546	99,54
0,0182	0,5119	0,510	99,63
0,0188	0,5286	0,528	99,89
0,0180	0,5063	0,504	99,54
0,0203	0,5710	0,570	99,82
0,0187	0,5260	0,528	100,38
0,0177	0,4979	0,498	100,02
0,0184	0,5176	0,516	99,69
0,0201	0,5654	0,564	99,75
Mittelwert			99,83 %
Standardabweichung			0,26 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,19 %
Varianz			$0,069 \%^2$

Tabelle 11-10: Titration von Chininhydrochlorid in Küvette, Indikator 10 μl Kresolrot (0,1%), Lösungsmittel Ethanol

Einwaage Chininhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,09867$	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) $f = 0,09867$	Gehalt Chininhydrochlorid in [%]
0,0198	0,5560	0,552	99,28
0,0195	0,5476	0,546	99,71
0,0189	0,5307	0,528	99,49
0,0201	0,5645	0,564	99,91
0,0188	0,5279	0,528	100,02
0,0183	0,5139	0,516	100,41
0,0187	0,5251	0,522	99,41
0,0181	0,5083	0,504	99,15
0,0204	0,5729	0,570	99,49
0,0201	0,5645	0,564	99,91
Mittelwert			99,68 %
Standardabweichung			0,38 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,27 %
Varianz			$0,14 \%^2$

Tabelle 11-11: Titration von Chininhydrochlorid in Küvette, Indikator 10 μl Kresolrot (0,1%), Lösungsmittel Isopropanol

Einwaage Chininhydrochlorid in [g], bezogen auf die wasserfreie Substanz	Theoretischer Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) f = 0,09867	Tatsächlicher Verbrauch an NaOH (0,1 mol·l ⁻¹) f = 0,09867	Gehalt Chininhydrochlorid in [%]
0,0183	0,5139	0,510	99,24
0,0184	0,5167	0,510	98,70
0,0180	0,5055	0,504	99,70
0,0182	0,5111	0,510	99,78
0,0184	0,5167	0,516	99,86
0,0182	0,5111	0,510	99,78
0,0193	0,5420	0,540	99,63
0,0189	0,5307	0,528	99,49
0,0183	0,5195	0,516	99,33
0,0191	0,5364	0,534	99,55
Mittelwert			99,51 %
Standardabweichung			0,35 %
$s_{\bar{x}} \cdot t_{(0,05;n-1)}$			0,24 %
Varianz			0,12 % ²

Tabelle 11-12: Titration von Chininhydrochlorid in Küvette, Indikator 10 µl Kresolrot (0,1%), Lösungsmittel Aceton

11.4 Auswertung der Ergebnisse

Alle unter Punkt 11.2 und 11.3 durchgeführten Titrations sind hinsichtlich der statistischen Analyseergebnisse vergleichbar. Die bestimmten Gehalte von Procainhydrochlorid und Chininhydrochlorid waren unabhängig vom gewählten Lösungsmittel und vom verwendeten Indikator. Auf weiterführende statistische Untersuchungen wurde verzichtet. Die Erfahrungen aus den statistischen Untersuchungen bei der Potentiometrie lassen auch hier keine signifikanten Unterschiede erkennen.

Die Standardabweichungen lagen hier etwa bei 0,5 %, einzig die Bestimmung von Chininhydrochlorid gegen Kresolrot konnte geringfügig bessere Ergebnisse aufweisen.

Bis auf die Bestimmungen unter Punkt 11.2.2 liegen die Abweichungen noch knapp tolerierbar in den unter Punkt 1.5.3 gesetzten Grenzen. Die Gehaltsbestimmungen sind damit Bezugnehmend auf die Vorgaben des Arzneibuches als richtig anzusehen. Ein Vergleich mit CRS-Substanzen zur Überprüfung der Richtigkeit wurde hier nicht vorgenommen.

Eine Gegenüberstellung der ermittelten Standardabweichungen aus potentiometrischer Makrotitration und photometrischer Mikrotitration in Abbildung 11-5 zeigt deutlich den

Vorteil, welchen die optimierte potentiometrische Bestimmung liefert. Die Standardabweichungen als Maß für die Präzision innerhalb der photometrischen Bestimmungen sind vergleichbar. Die Präzision der potentiometrischen ist deutlich größer. Diese Grafik dient aber lediglich zur Veranschaulichung, ein direkter statistischer Vergleich der Standardabweichungen ist hier nicht möglich, da unterschiedliche Titrationsansätze und Verfahren verwendet wurden und die erhaltenen Datendichten der jeweiligen Verfahren abweichen.

Für den Titrationsansatz bei der potentiometrischen Bestimmung von Chininhydrochlorid wurden durchschnittlich 0,280 g eingewogen. Da eine dynamische Titrationsmethode gewählt wurde, konnte ein minimales Volumeninkrement von 5 μl gewählt werden (vgl. Abbildung 2-3). Für die photometrische Mikrotitration wurden bei ca. 1/15 Einwaage Dosierschritte von 6 μl gewählt. Diese gleichmäßige Zugabe von 6 μl Maßlösung pro Dosierschritt stellt eine weitere Unsicherheit und Grenze für die präzise Ermittlung des Äquivalenzpunktes dar. Die Erfüllung der Vorgaben des Arzneibuches unter diesen Bedingungen lassen aber das Potential dieser Bestimmung erkennen. Besonders im steilen Teil der Titrationskurve wäre eine geringere Dosierung sicher von Vorteil. Dies würde jedoch zu einer drastischen Verlängerung der Titrationsdauer führen (für 2 μl ca. 45 Minuten Titrationsdauer) welche nicht praktikabel ist. Der Einsatz einer angepassten dynamischen Titrationsvariante war aufgrund der verwendeten externen registrierenden Photometerquelle mit nachfolgender Auswertung nicht möglich. Nur die Entwicklung einer photometergekoppelten dynamischen Titrationsmethode kann hier Aufschluss zur wahren Präzision im Vergleich zur Potentiometrie liefern.

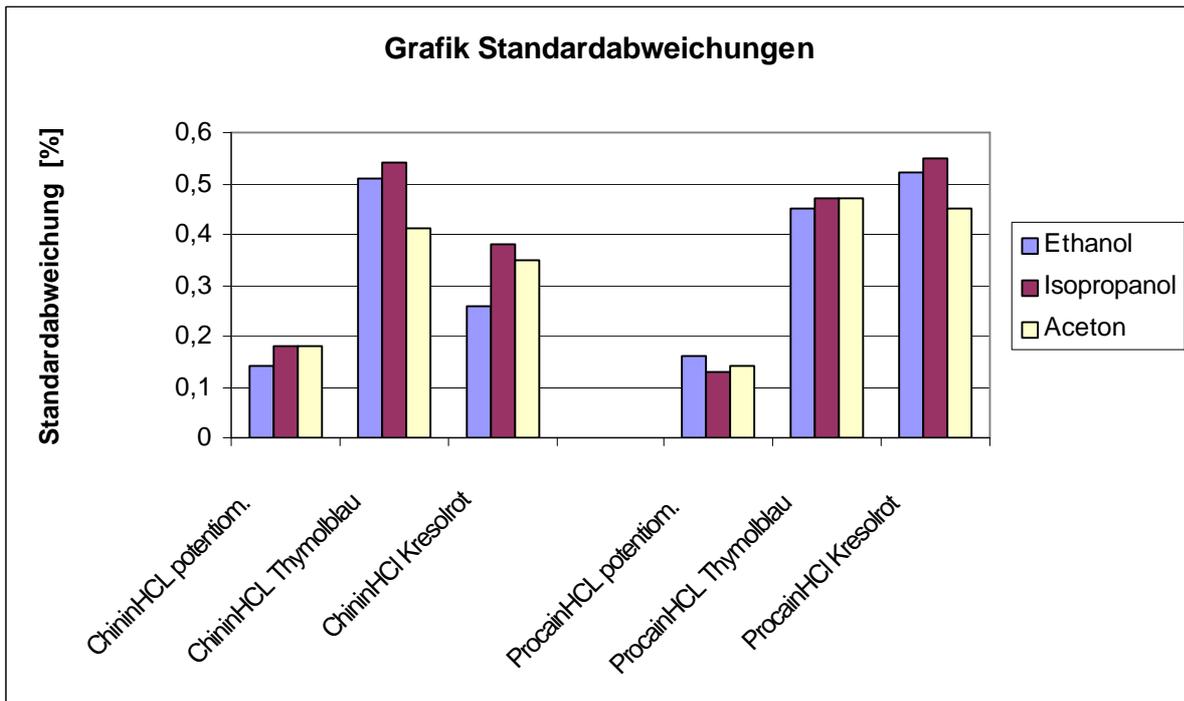


Abbildung 11-5: Standardabweichungen aus den verschiedenen Bestimmungsmethoden

Bei allen Titrationen in der Küvette konnte beim Auftragen der Titrationskurve einer Wellenlänge eine leichte Unruhe im Messsignal festgestellt werden.

Um statistische Schwankungen als Ursache für die Messunruhen bei photometrischen Titrationen auszuschließen, wurde im Folgenden in Punkt 12.3.3 eine Mittelung von Wellenlängen getestet. Dies führte jedoch zu keinen Verbesserungen in der Signalqualität.

Die hier besprochenen Mikrotitrationen wurden in einer Küvette durchgeführt in die eine Dosierfritte getaucht wurde. Durch die quadratische Form der Küvette und die eingetauchte Dosierfritte kommt es durch den Rührvorgang zu Verwirbelungen in der Titrationslösung, sowie zur Gefahr einer ungleichmäßigen Durchmischung. Diese können eine photometrische Messung negativ beeinflussen.

Da jedoch ein Rühren der Lösung unumgänglich ist und eine Unterbrechung zu einer erheblichen Verlängerung der Titrationsdauer führt, sind diese Signalunruhen bei photometrischen Mikrotitrationen schwer zu beeinflussen.

12 Photometrische Titrationsen mit Hilfe eines Lichtleiters

12.1 Vorteile der Messung mittels Lichtleiter

Der Versuchsaufbau einer Titration mit Hilfe eines Lichtleiters [X] wurde unter Punkt 8.4.1 schematisch dargestellt.

Im Unterschied zur Titration in Küvetten, ist die Probenvorbereitung mit einer normalen Titration mit visueller Indikation gegen einen Indikator zu vergleichen.

Für die Signalregistrierung wird eine Tauchsonde, welche über ein Glasfaserkabel mit dem Photometer verbunden ist, in die Titrationslösung gehalten. Verwendet wurde ein Lichtleiter des Herstellers Photonetics, der Spectrofib 8452 [X].

Der Titrationsablauf entspricht dem einer normalen Titration und ist visuell mit zu verfolgen.

12.2 Probleme bei der Signalaufnahme durch Lichtleiter

12.2.1 Aufbau einer Tauchsonde

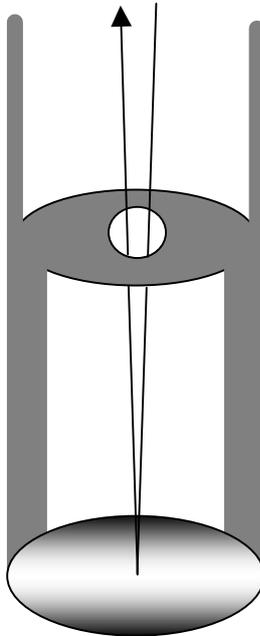


Abbildung 12-1: Schematischer Aufbau der Tauchsonde

Die in Anlehnung an Abbildung 8-2 schematisch dargestellte Tauchsonde (Abbildung 12-1), zeigt den Teil, der in die Titrationslösung eingebracht wird. Man kann erkennen, dass der

Strahlengang vom Glasfaserkabel durch eine kleine Öffnung in den durchströmten Teil der Sonde gebracht wird und von einem reflektierenden Spiegel zurückgeworfen wird, die Öffnung passiert und in das Glasfaserkabel zurückgeleitet wird. Die Öffnung der Tauchsonde wird in die Strömung gehalten.

12.2.2 Grafische Darstellung einer Titration mit Indizierung durch einen Lichtleiter

Im Folgenden wurde der Versuch einer Titration unternommen.

Chininhydrochlorid wurde mit NaOH-Maßlösung ($0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) in Ethanol gegen Kresolrot titriert. Die Öffnung der Tauchsonde wurde im Strömungsverlauf der kontinuierlich gerührten Lösung fixiert, die Bürettenspitze wurde im Abstand von ca. 2 cm gegenüber zur Tauchsonde im Strömungsverlauf positioniert.

In Schritten von 0,1 ml erfolgte die Zugabe an Maßlösung. Bis zur Messwertübernahme und dem nächsten Dosierungsschritt wurde eine Wartezeit von 10 Sekunden eingerichtet. Die für jeden Dosierungsschritt aufgenommenen Spektren (Abbildung 12-2) wurden annähernd im Maximum ausgewertet (Abbildung 12-3). In Abbildung 12-3 zeigt sich, dass das erhaltene Messsignal sehr unruhig ist und dadurch eine exakte Bestimmung des Äquivalenzpunktes schwierig ist. Im steilen Teil der Kurve kann man aufgrund des großen Signalsprunges bestehende Schwankungen nur schwer erkennen, diese können aber für die Präzision der Messung von entscheidender Bedeutung sein.

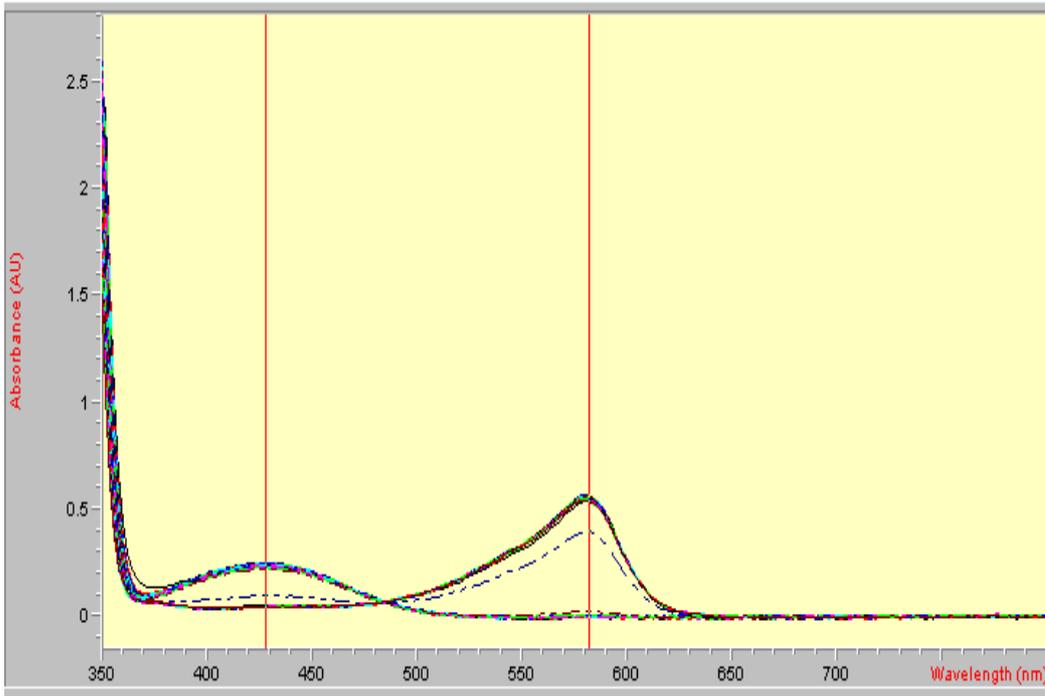


Abbildung 12-2: Vollständiges Titrationsspektrum der Titration von Chininhydrochlorid mit NaOH ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) gegen Kresolrot, ohne optische Abschirmung

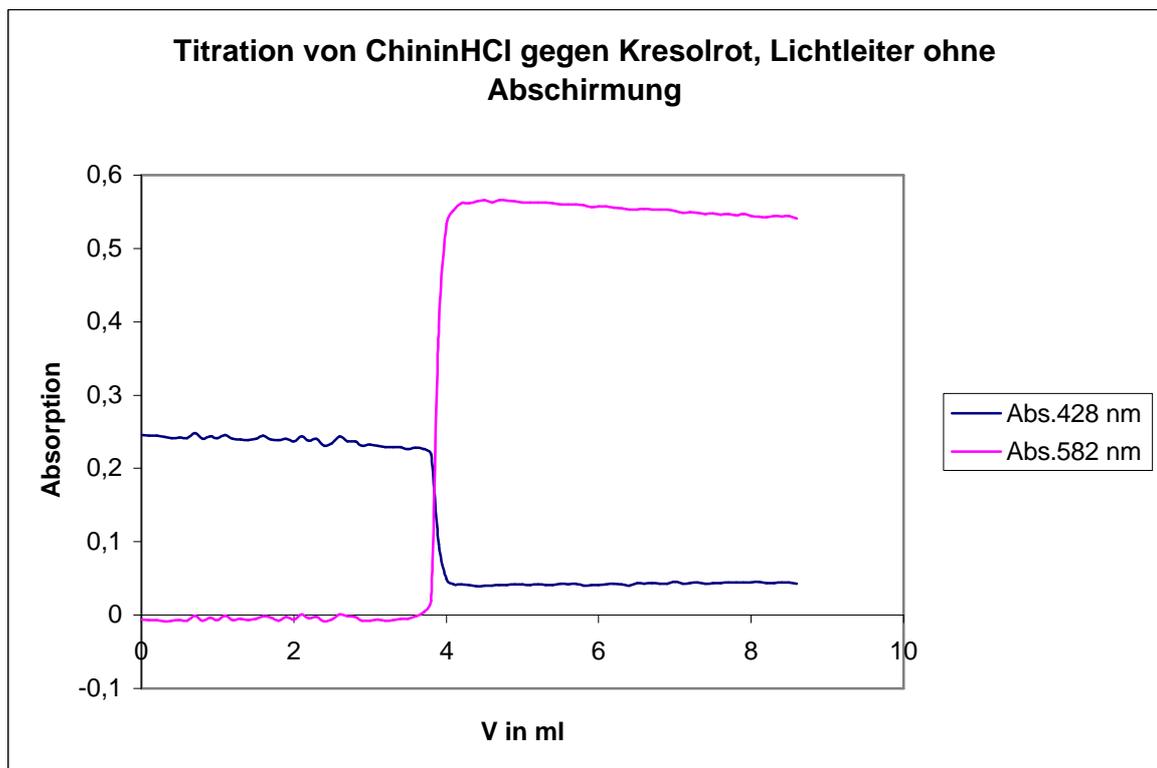


Abbildung 12-3: Titration ohne optische Abschirmung von Strahlengang und Titrationsgefäß

12.3 Maßnahmen zur Verbesserung der Signalqualität

12.3.1 Analyse der Messprobleme

Der Strahlengang ist vom Umgebungslicht nur durch zwei seitlich angebrachte Schutzbalken geschützt und nicht vollständig abgeschirmt (siehe auch Abbildung 12-1). Umgebungslicht kann ungehindert auf den Spiegel treffen und als Streulicht die Messung stören. Dies ist gerade unter Laborbedingungen, wo selten mit reinem Tageslicht, sondern zusätzlich unter weiteren künstlichen Lichtquellen gearbeitet wird, problematisch.

Die Verbindungszelle für die am Photometer angeschlossenen Glasfaserleiter ist im Strahlengang des Gerätes fixiert (siehe auch Abbildung 8-2). Auch hier besteht keine ausreichende Abschirmung des Strahlenganges zum Außenlicht, welches so in den Strahlengang der Probe gelangen kann.

Die Messsignale werden also vom Außenlicht gestört und führen so zu einem verrauschten Messsignal. Bewegungen im Labor beeinflussen zusätzlich die Qualität der entstehenden Titrationskurven.

Die unter Punkt 11.4 angesprochenen Verwirbelungen, verursacht durch das Rühren der Lösung, kommen auch hier bedingt zum Tragen. Durch die runde Form des Titrationsgefäßes können Verwirbelungen an Ecken ausgeschlossen werden. Das Eintauchen der Messsonde kann aber als Strömungshindernis zu Verwirbelungen führen und Lichtstreuung verursachen.

12.3.2 Optische Abschirmung des Strahlenganges

Unter Punkt 12.3.1 wurden Ursachen für Störungsmöglichkeiten lokalisiert. Nachfolgend wurde versucht, eine mögliche Störungsquelle zu beseitigen.

Dazu wurde der Raum des Photometer, in welchem sich die Verbindungszelle für das ankommende Glasfaserkabel befindet, mit einer selbst konstruierten Abdeckplatte geschlossen.

Das Titrationsgefäß wurde in einen schwarzen Becher gestellt, welcher insbesondere seitliche Lichteinflüsse abschirmt. Eine Abschirmung oberhalb des Titrationsgefäßes ließ sich nur schwer realisieren, da auch der Lichtleiter und die Dosiereinheit der automatischen Bürette ins Titrationsgefäß gebracht werden mussten. Zur Überprüfung, ob die vorgenommenen Optimierungen erfolgreich waren, wurde unter analogen Bedingungen von Punkt 11.2.2 ein Titrationsversuch unternommen. Die Spektren der einzelner Wellenlängen wurden wie Punkt 12.2.2 ausgewertet und in Abbildung 12-4 grafisch dargestellt.

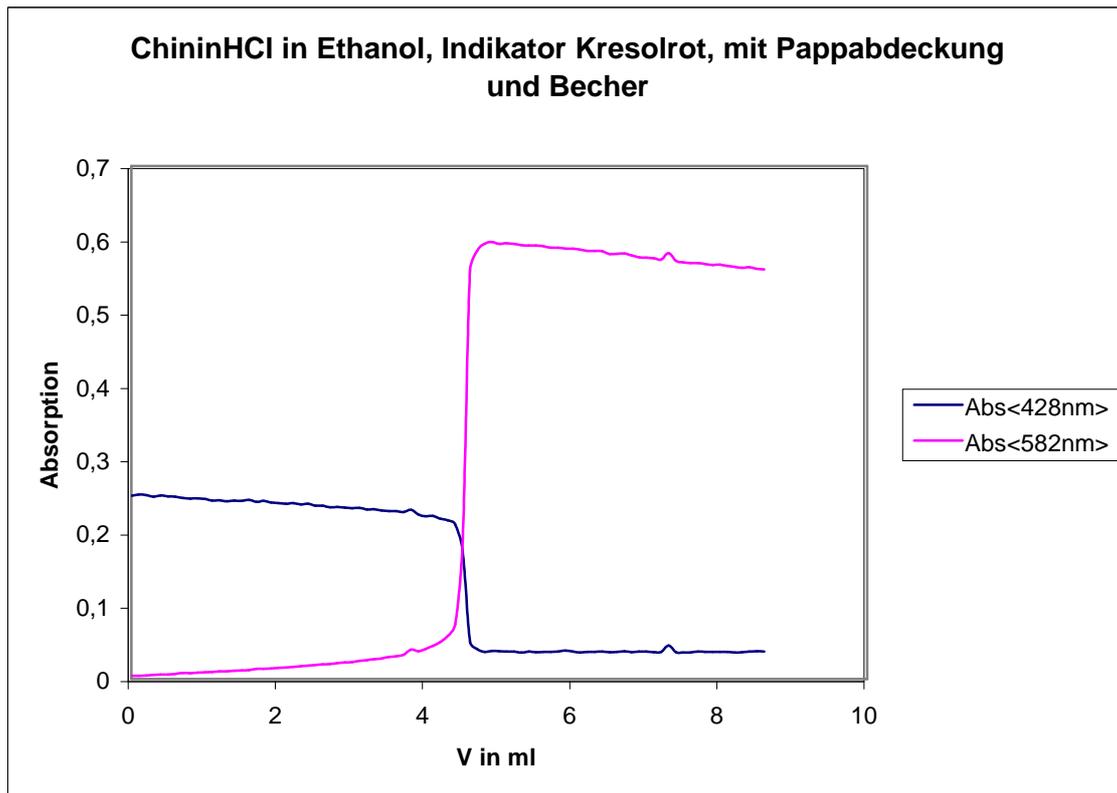


Abbildung 12-4: Titration mit optischer Abschirmung von Strahlengang und Titrationsgefäß

Im Vergleich zu Abbildung 12-3 ist eine sichtbare Beruhigung des Messsignals erkennbar. Eine optische Abschirmung des Systems ist also erforderlich. Trotz Abschirmung lassen sich die Signalschwankungen jedoch nicht vollständig beheben. Im nachfolgenden Punkt wird dieses Phänomen näher untersucht.

12.3.3 Untersuchung der Messunruhen auf statistische Schwankungen

12.3.3.1 Vorüberlegungen

Um festzustellen, ob die vorhandenen Schwankungen rein statistisch sind, oder wirklich durch das Rühren der Lösung verursacht sind, werden eng benachbarte Wellenlängen erst parallel und anschließend gemittelt aufgetragen. Führt die Mittelung zu einer Glättung der Titrationskurve, sind die Schwankungen statistisch, da sich Messunsicherheiten in ihrer Intensität größtenteils aufheben würden. Das gemittelte Kurvensignal würde sich weitaus ruhiger darstellen. Ist die Kurvenschwankung im Mittelwert unverändert stark, so ist tatsächlich das Rühren der Lösung die Ursache, da sich dies bei benachbarten Wellenlängen gleich stark auswirken müsste.

12.3.3.2 Durchführung

Die Titration unter Punkt 12.3.2 wurde nun für die jeweils protonierte und deprotonierte Indikatorform an 6 Wellenlängen im Abstand von 1 nm ausgewertet. Die jeweiligen Titrationskurven wurden parallel aufgetragen (Abbildung 12-5 und 12-7). Anschließend wurden die 6 Wellenlängen gemittelt und erneut eine Titrationskurve gebildet (Abbildung 12-6 und 12-8). Um das Ergebnis noch deutlicher sichtbar zu machen, wurde die erhaltenen Titrationskurven an den interessanten Kurvenabschnitten aufgespreitet (Abbildung 12-7a und 12-8a). Eine weitere Absicherung erfolgte durch das Ableiten von Abbildung 12-7 und 12-8 und anschließendem Aufspreiten, sichtbar gemacht in Abbildung 12-7b und 12-8b.

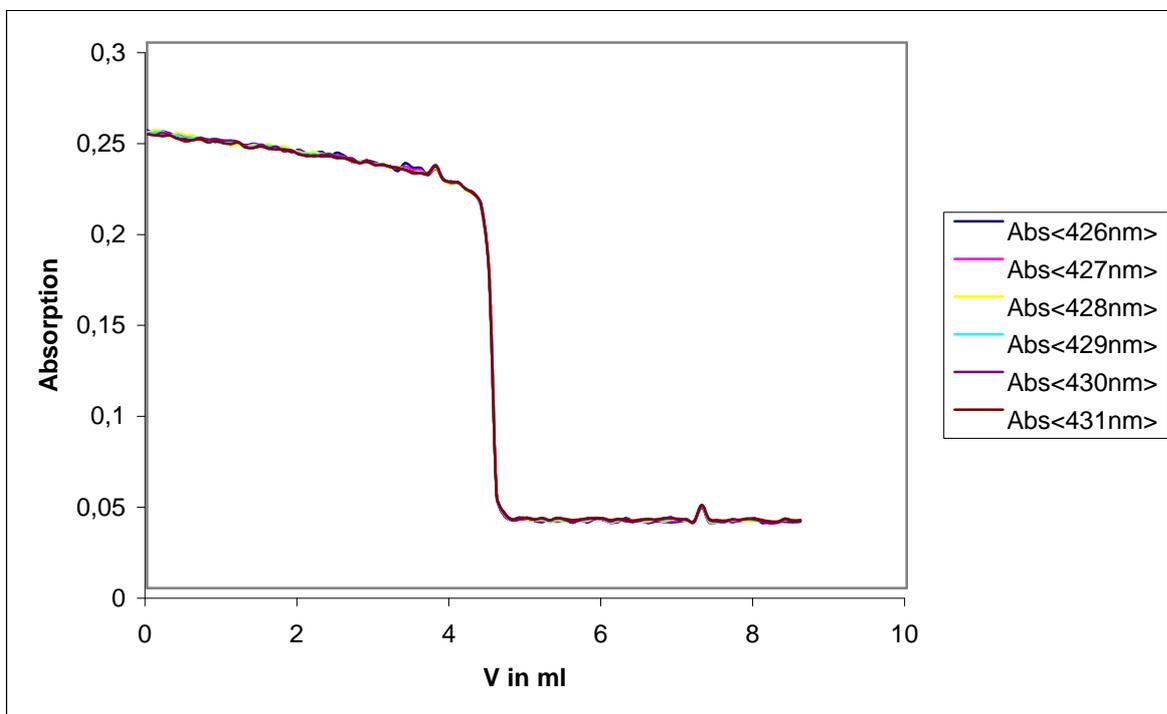


Abbildung 12-5: 6 Wellenlängen der protonierten Indikatorform

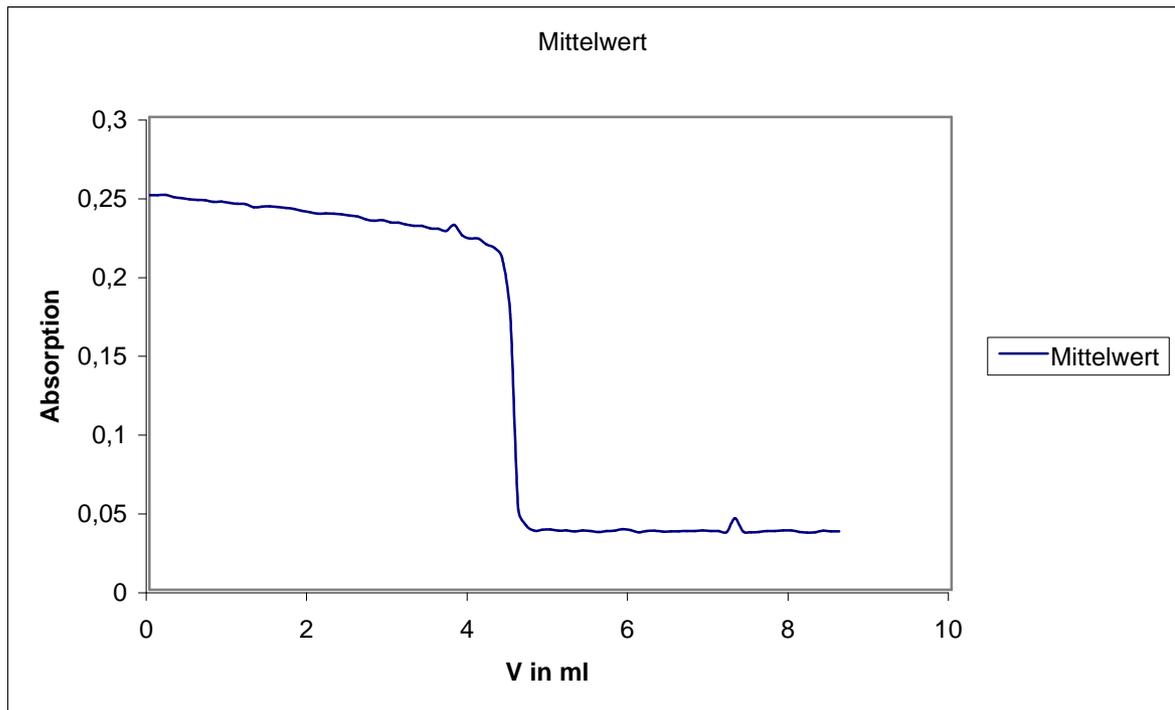


Abbildung 12-6: Gemittelte Titrationskurve aus Abbildung 12-5

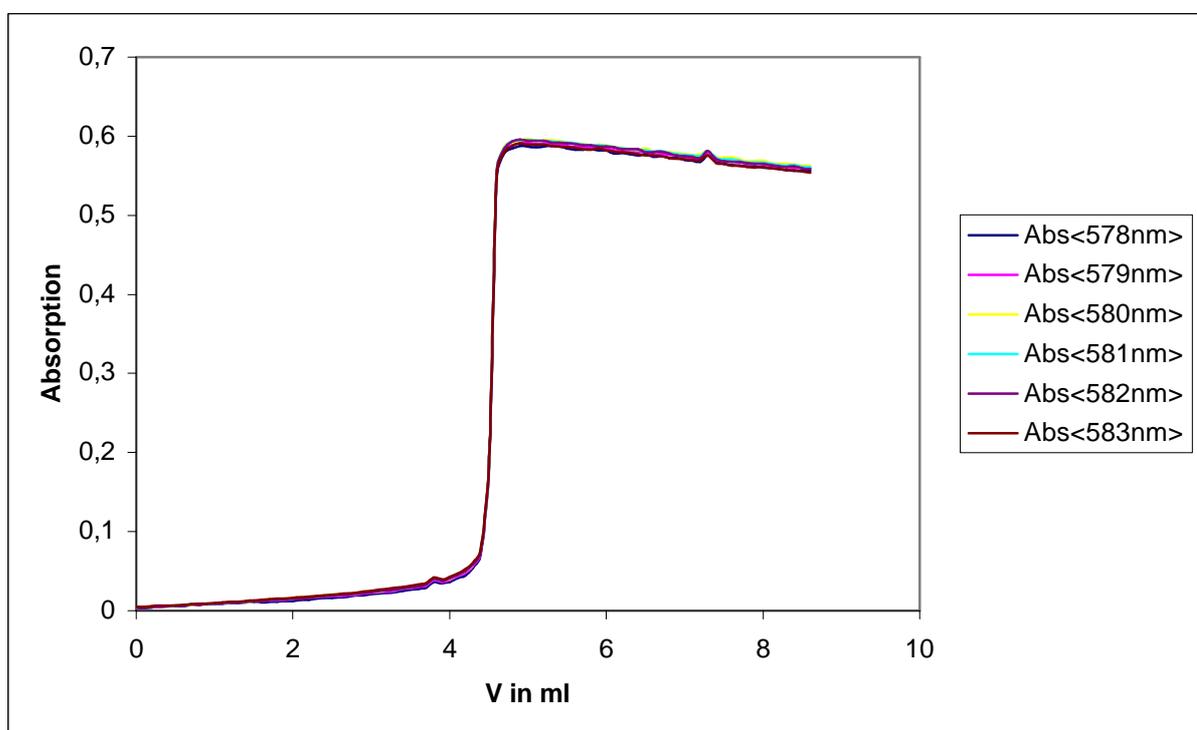


Abbildung 12-7: 6 Wellenlängen der deprotonierten Indikatorform

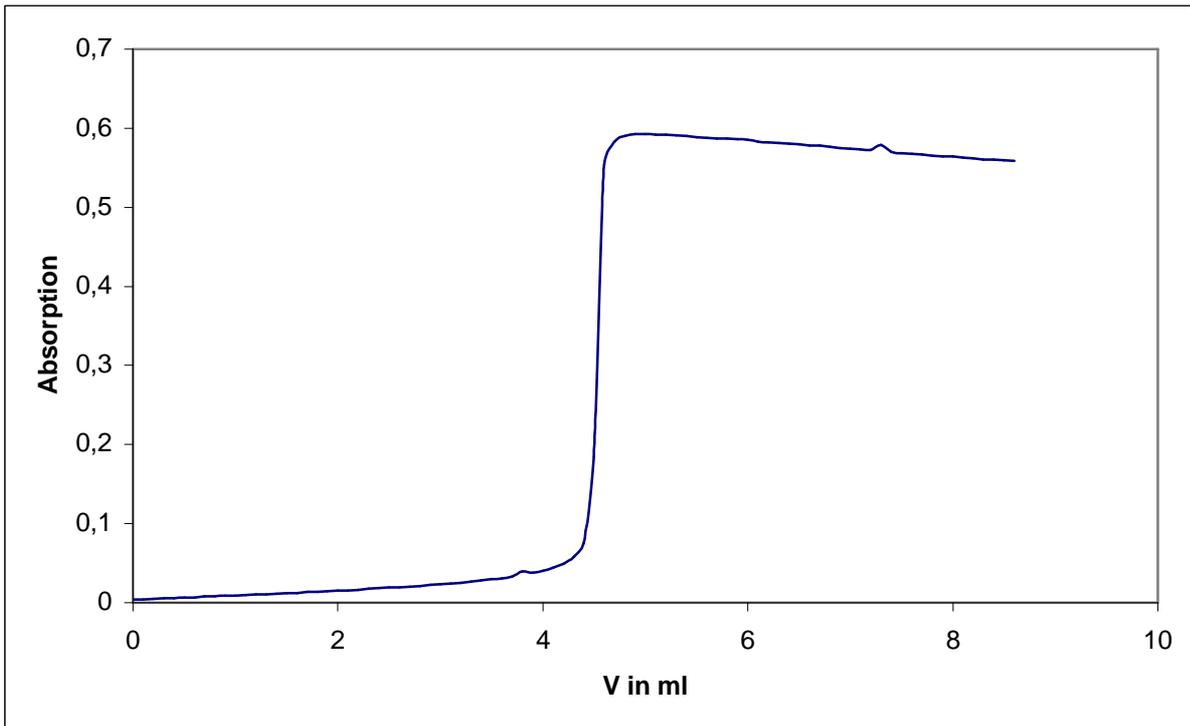


Abbildung 12-8: Gemittelte Titrationskurve aus Abbildung 12-7

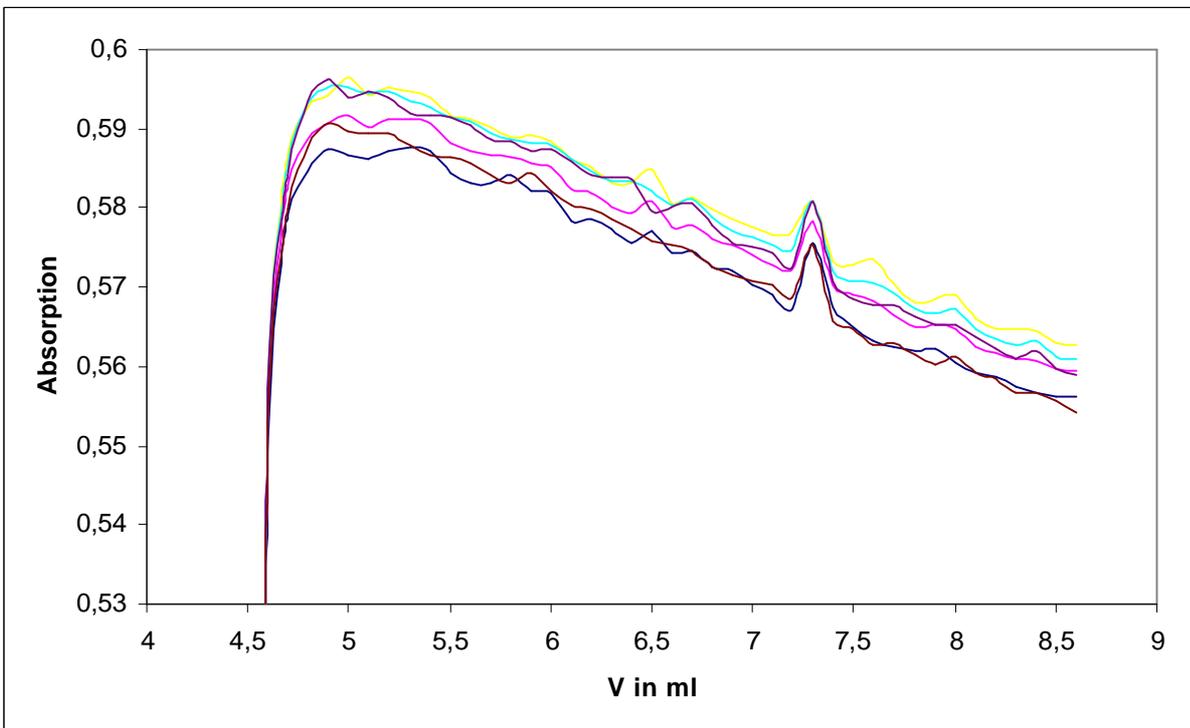


Abbildung 12-7a: Spreitung des oberen Kurvenabschnitts aus Abbildung 12-7

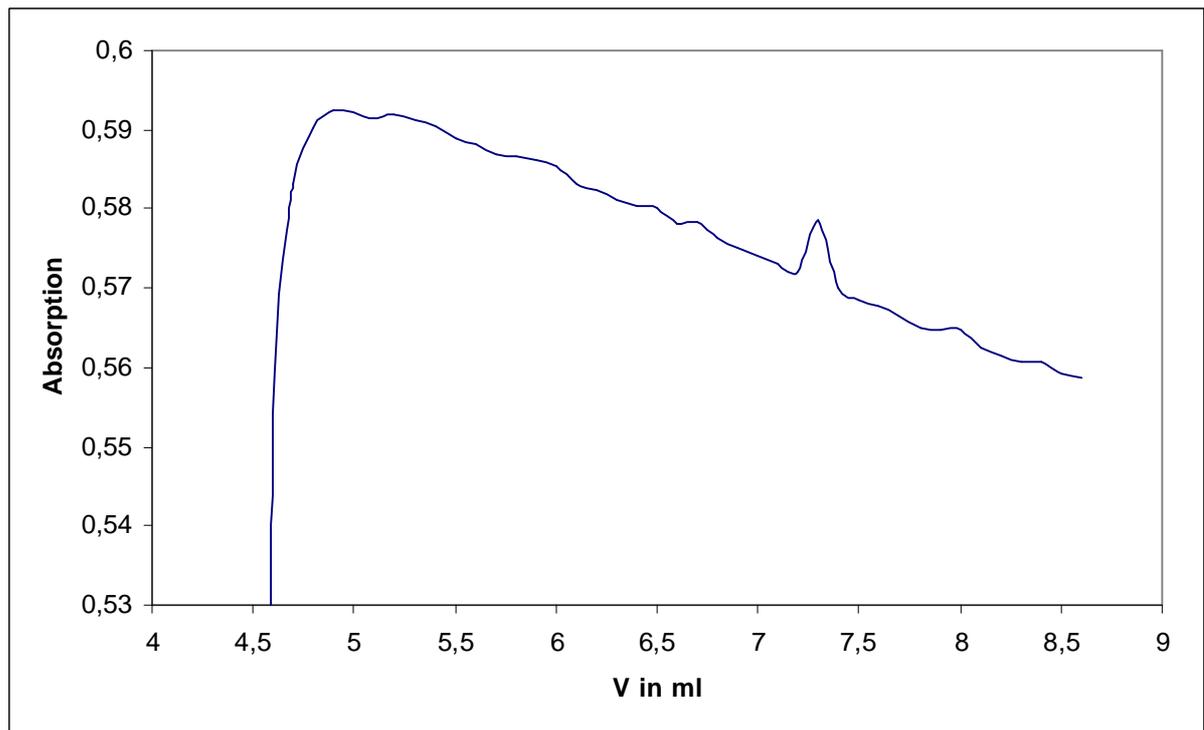


Abbildung 12-8a: Spreitung des oberen Kurvenabschnitts aus Abbildung 12-8

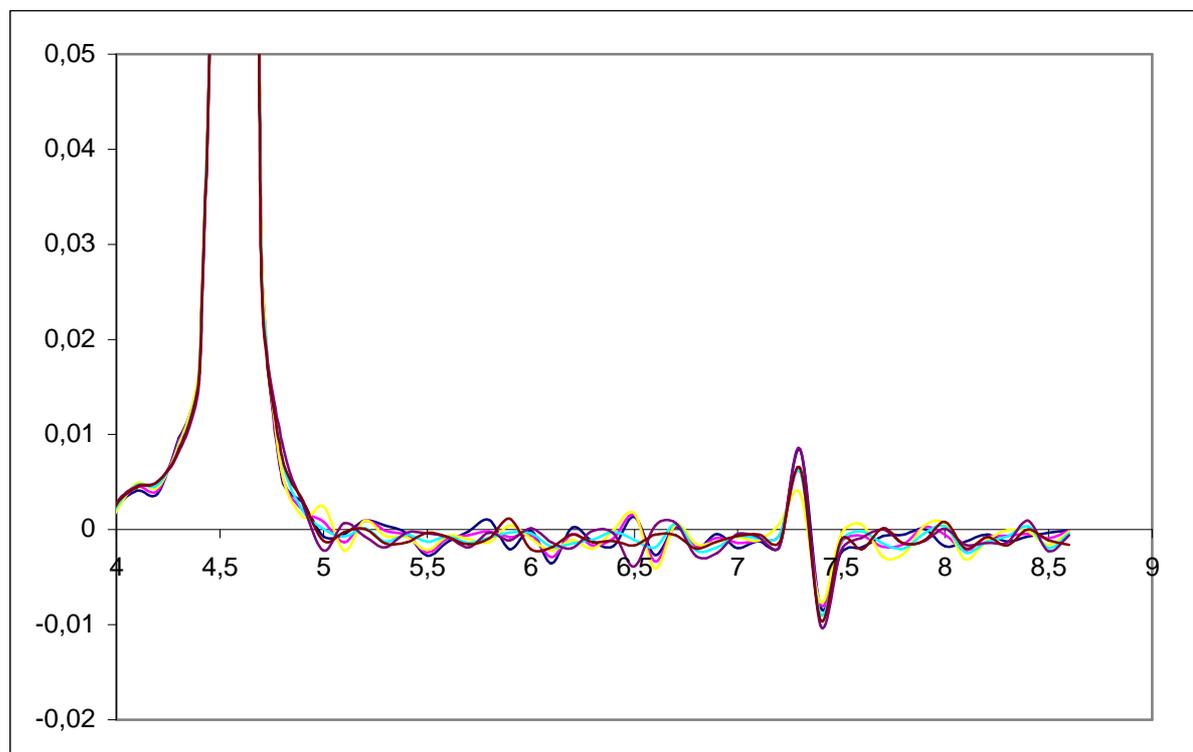


Abbildung 12-7b: Abgeleitete und gespreitete Titrationskurven aus Abbildung 12-7a

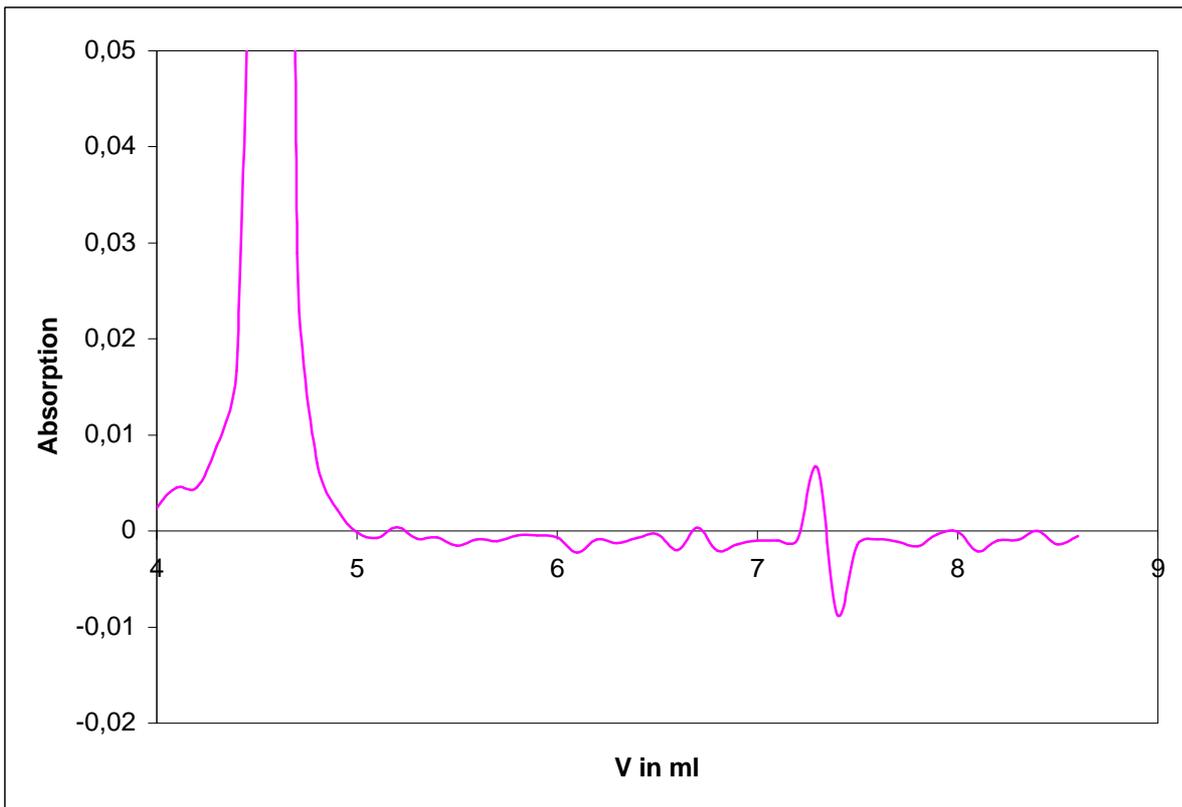


Abbildung 12-8b: abgeleitete und gespreitete Kurvenmittelung aus Abbildung 12-8a

12.3.3.3 Auswertung der Ergebnisse

Die Titrationskurven der Abbildungen 12-6 und 12-8 wurde mit den Kurven aus Abbildung 12-4 verglichen. Es zeigt sich, dass sich die Signalqualität durch die Mittelung von 6 benachbarten Wellenlängen zwar verbessert aber bestimmte Schwankungen nicht verschwinden. Insbesondere das Signal sichtbar in allen 6 Einzelwerten bei ca. 7,25 ml findet sich auch beim Mittelwert wieder und unterliegt keinen zufälligen statistischen Schwankungen. Das Aufspreiten der Titrationskurven in den Abbildungen 12-7a und 12-8a und deren Ableitungen unter 12-7b und 12-8b zeigt noch deutlicher, dass abgesehen von leichten Signalunruhen, große Signalschwankungen bei allen Wellenlängen identisch sind. Statistische Schwankungen konnten gemittelt werden, die großen Signalunruhen aber bleiben bestehen. Die Ursachen der Signalunruhen sind demnach im Messprinzip oder in der Lösung selbst zu suchen und werden unter 12.3.4 genauer betrachtet.

12.3.4 Auswertung der Optimierungsmaßnahmen

Die Titrationskurven in Abbildung 12-4 zeigen im Vergleich zu Abbildung 12-3 eine sichtbare Beruhigung des Messsignals. Dies lässt auf eine erfolgreiche Abschirmung des

Titrationssysteme schließen und bestätigt die Annahme, dass externe Strahlungsquellen zu Störungen führen können. Trotz der Abschirmungsmaßnahmen ist die Kurve etwas unruhiger als bei Titrationsen in der Küvette.

Um mit Hilfe von externen faseroptischen Systemen qualitativ gute Messergebnisse zu erzielen, müssen umfangreiche Maßnahmen zur optischen Abschirmung getroffen werden. Dies kann entweder durch die oben beschriebenen Maßnahmen erfolgen, oder aber durch Verwendung von hochspezialisierten Tauchsonden, welche den Probenraum durch ihre spezielle Bauweise gut abschirmen. Weiterhin müssten die Verbindungen zum Photometer werkseitig besser abgeschirmt werden.

Da sowohl die Titration in der Küvette als auch die Titration im Becherglas ständig einem Rührprozess unterlagen, kann der Ursache am Lichtleiter selbst liegen, was jedoch durch das Prinzip der Weiterleitung im Glasfaserkabel durch Totalreflektion eher unwahrscheinlich ist.

Die zweite Möglichkeit ist die Tauchsonde, welche in die Strömung der gerührten Lösung gehalten wird, und so zu Verwirbelungen führt. Diese sind besonders nach einem erfolgten Dosierschritt durch sich kurzzeitig bildende Farbschlieren gut sichtbar. Da die Dosierschritte aufgrund der Notwendigkeit einer zeitlich vertretbaren Titrationsdauer relativ kurz hintereinander erfolgen, kann es möglicherweise zu Intensitätsschwankungen durch unvollständige Mischprozesse kommen, welche für das Auge nicht mehr wahrnehmbar sind. Um diese Problematik zu minimieren wurde der Dosierschlauch immer in Strömungsrichtung zum Lichtleiter positioniert.

Um diese Strömungsverwirbelungen und Indikatorschlieren zu minimieren, müsste der Einsatz von Rührkernen hinterfragt werden. Dies hätte jedoch eine manuell gesteuerte Durchmischung der Titrationslösung zur Folge. Die angestrebte Automatisierung von photometrischen Titrationsen ist unter diesen Bedingungen nicht mehr umsetzbar.

Die Überlegung, die Dosierschritte in größeren zeitlichen Intervallen erfolgen zu lassen und vor jeder Messung das Rühren der Lösung zu unterbrechen, würde das Messsignal wahrscheinlich beruhigen, hätte jedoch eine drastische Verlängerung der Titrationsdauer zur Folge. Dieses ist für Gehaltsbestimmungen durch Titration nicht erwünscht.

Die Maßnahmen zur Verbesserung der Signalqualität waren in Bezug auf die vorgenommene Abschirmung erfolgreich. Statistische Schwankungen konnten ebenfalls minimiert werden. Die Messunruhen verursacht durch Rührfehler sind jedoch durch die hier durchgeführten Maßnahmen nicht zu beseitigen.

12.4 Versuch der Kurvenauswertung bei Indizierung durch einen Lichtleiter

12.4.1 Vorüberlegung

Um festzustellen, ob bei photometrisch indizierten Titrationsen eine genaue Auswertung trotz der Signalunruhen möglich ist, wurden ausgewählte Titrationsen, welche bereits im Vorfeld unter Punkt 11.2 und 11.3 in Form von Mikrotitrationsen durchgeführt wurden, praktisch durchgeführt und betrachtet.

Die Wendepunktermittlung erfolgte über eine differentielle Auswertung, wobei auch das TUBBS-Verfahren auf seine Anwendbarkeit geprüft wurde.

12.4.2 Titration von Chininhydrochlorid in Isopropanol, Indikator: Kresolrot

12.4.2.1 Durchführung

In Anlehnung an Punkt 11.3.2 wurde der Arzneistoff Chininhydrochlorid photometrisch bestimmt. Die Einwaage wurde in 50 ml Isopropanol/10 % Wasser gelöst. Nach Zugabe von 200 µl Kresolrot-Lösung (0,1 %) erfolgte die Titration, wie in Abschnitt 12.3.2 beschrieben, in einem abgeschirmten Becherglas, in welchem der Lichtleiter in der Lösung fixiert wurde. In Dosierschritten von 0,1 ml wurde die Titration durchgeführt, wobei auch hier nach jedem Dosierschritt nach einer festgelegten Wartezeit ein komplettes Spektrum aufgenommen wurde. Abbildung 12-9 zeigt alle während der Titration aufgenommenen Spektren.

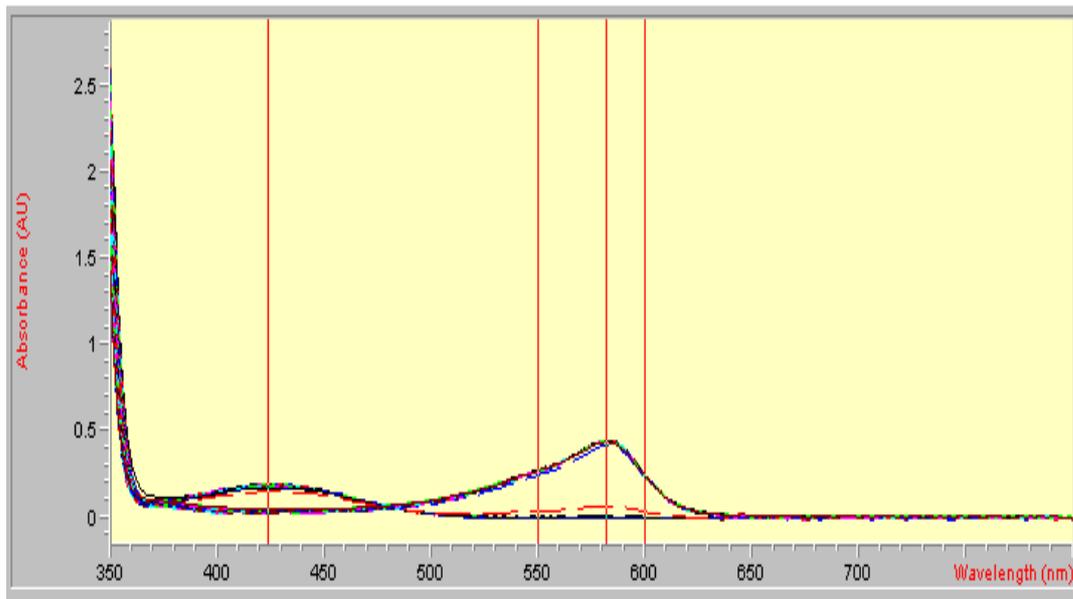


Abbildung 12-9: Vollständiges Titrationsspektrum der Bestimmung von Chininhydrochlorid in Isopropanol gegen Kresolrot mit Hilfe eines Lichtleiters

12.4.2.2 Auswertung

Aus dem Titrationsspektrum aus Abbildung 12-9 wurden 4 Wellenlängen, erkennbar an den senkrechten roten Linien, zur Auswertung herangezogen: 424 nm, 550 nm, 582 nm und 600 nm. In Abbildung 12-10 sind die Titrationskurven für die gewählten Wellenlängen gezeigt. In dieser Grafik wurde für die Wellenlänge 582 nm gleichzeitig die Auswertung nach TUBBS vorgenommen. Auf eine Volumenkorrektur wurde in diesem Fall absichtlich verzichtet, da die theoretische Volumenzunahme nur ca. 10 % beträgt, effektiv sicher noch weniger da Verdampfungseffekte von Isopropanol hier unberücksichtigt blieben. Damit soll untersucht werden, ob eine Volumenkorrektur, welche zwar nicht für die Differenzierung, wohl aber für die Auswertung nach TUBBS bisher angewendet wurde, bei dieser Form der photometrischen Titrationsindizierung unterbleiben kann. In Abbildung 13-11 erfolgten die Differenzierungen der einzelnen Titrationskurven aus Abbildung 13-10.

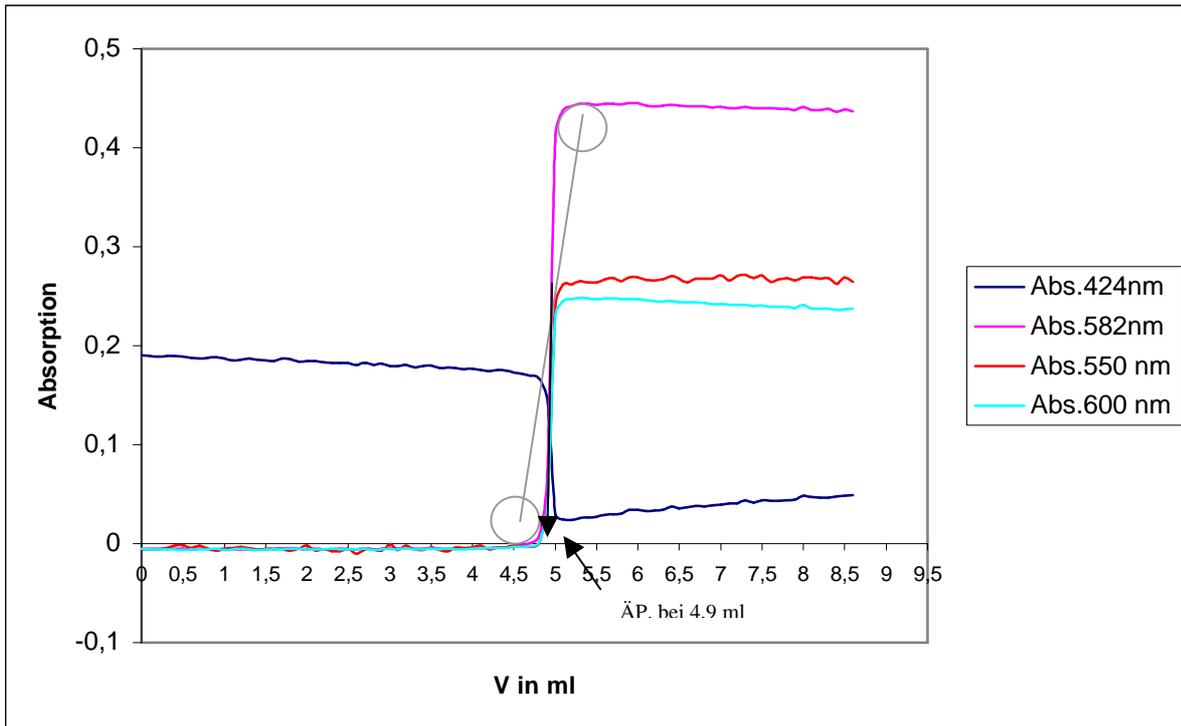


Abbildung 12-10: Resultierende Titrationskurven aus den Spektren der Abbildung 12-9

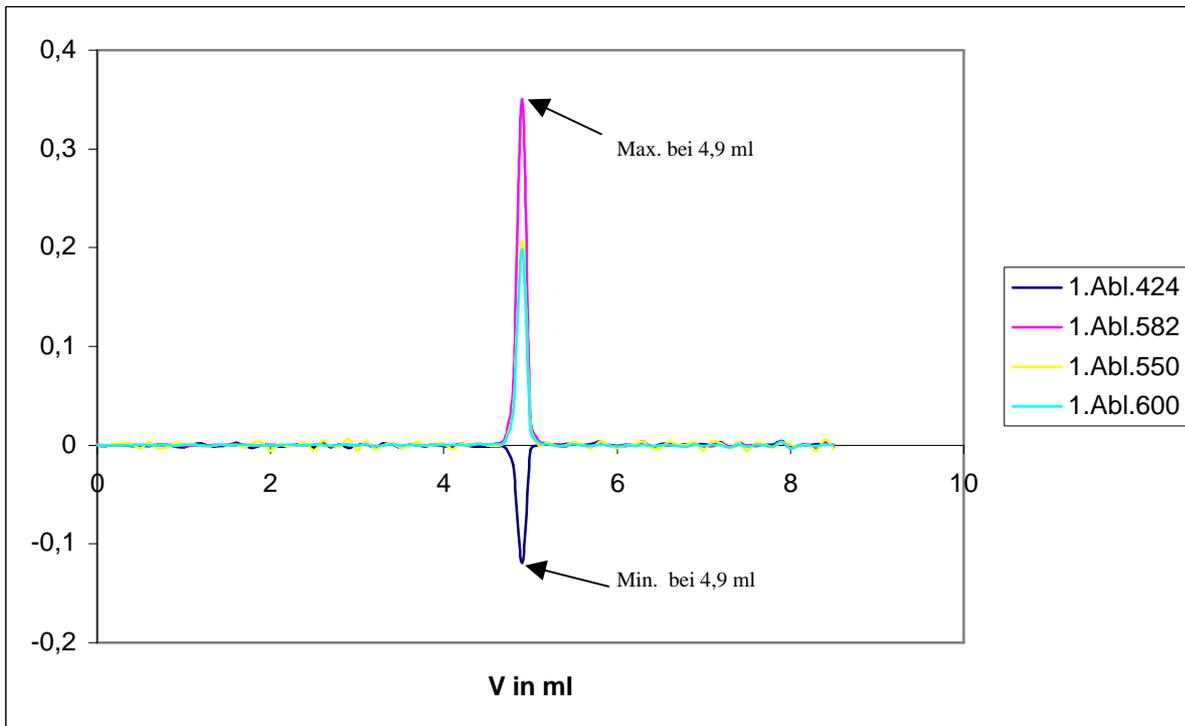


Abbildung 12-11: Differenzierte Titrationskurven aus Abbildung 12-10

12.4.2.3 Ergebnisse

Abbildung 12-11 lässt bei allen Wellenlängen ein scharfes Maximum bzw. Minimum erkennen, welche sich in ihrer Lage nicht unterscheiden. Es ist also auch bei verrauschten Titrationskurven unabhängig von der gewählten Wellenlänge eine genaue Bestimmung des Wendepunktes möglich. Eine Auswertung nach TUBBS war wie in Abbildung 12-10 zu erkennen, aufgrund der resultierenden Kurvenform auch ohne Volumenkorrektur möglich. Der ermittelte Wendepunkt bei dieser grafischen Methode liegt etwa bei 4,9 ml verbrauchter Maßlösung und ist mit dem rechnerischen Wendepunkt identisch. Da gerade verrauschte Kurven günstig für eine Auswertung nach TUBBS sind, könnte eine rechnergesteuerte Auswertungssoftware, welche das TUBBS-Verfahren anwendet, für die photometrische Indizierung mit Hilfe eines Lichtleiters von Vorteil sein.

12.4.3 Titration von Chininhydrochlorid in Aceton, Indikator: Kresolrot

12.4.3.1 Durchführung

Es erfolgt die Bestimmung von Chininhydrochlorid in 50 ml Aceton/10 % Wasser unter Zugabe von 200 µl Kresolrotlösung (0,1 %). Die Dosierschritte wurden bei dieser Titration im Vergleich zu Punkt 12.4.2 deutlich kleiner gewählt: alle 0,02 ml erfolgte eine Aufnahme des kompletten Spektrums. Da die Lage der Kurvenmaxima bzw. -Minima der gewählten Wellenlängen (siehe Kapitel 10) auch bei der Verwendung eines Lichtleiters gleich sind, wurde je eine Wellenlänge aus dem Spektrum der protonierten (414 nm) bzw. deprotonierten (580 nm) Indikatorform für die Auswertung herangezogen. Die entstanden Titrationskurven sind unter Abbildung 12-12 gezeigt. Die Abbildung 12-13 zeigt die differenzierten Titrationskurven aus Abbildung 12-12.

12.4.3.2 Auswertung

Die Kurvenform ist vergleichbar mit denen aus Versuch 12.3.2. Lediglich die gebildeten Maxima bzw. Minima sind deutlich schärfer bestimmt, was sich durch die deutliche Reduzierung der Volumeninkremente von 0,1 auf 0,02 ml erklären lässt. Obwohl durch Verringerung der Einwaage der Verbrauch an Maßlösung auf annähernd die Hälfte reduziert wurde, verlängerte sich die Titration von vorher ca. 15 Minuten auf ca. 30 Minuten. Dies ist für eine Gehaltsbestimmung durch Titration, welche als einen Vorteil ihre schnelle Durchführbarkeit aufweist, als zu lange anzusehen.

Um die Präzision der Titration dennoch zu erhöhen, müsste man dynamisch gesteuerte photometrische Titrationssysteme programmieren, welche im Bereich des Äquivalenzpunktes die Dosierschritte anpassen, weiterhin ist ein Vordosieren zu erwägen.

Da hier die Dosierung unabhängig vom registrierenden Photometer über einen Titriero erfolgte, konnte dies nicht realisiert werden.

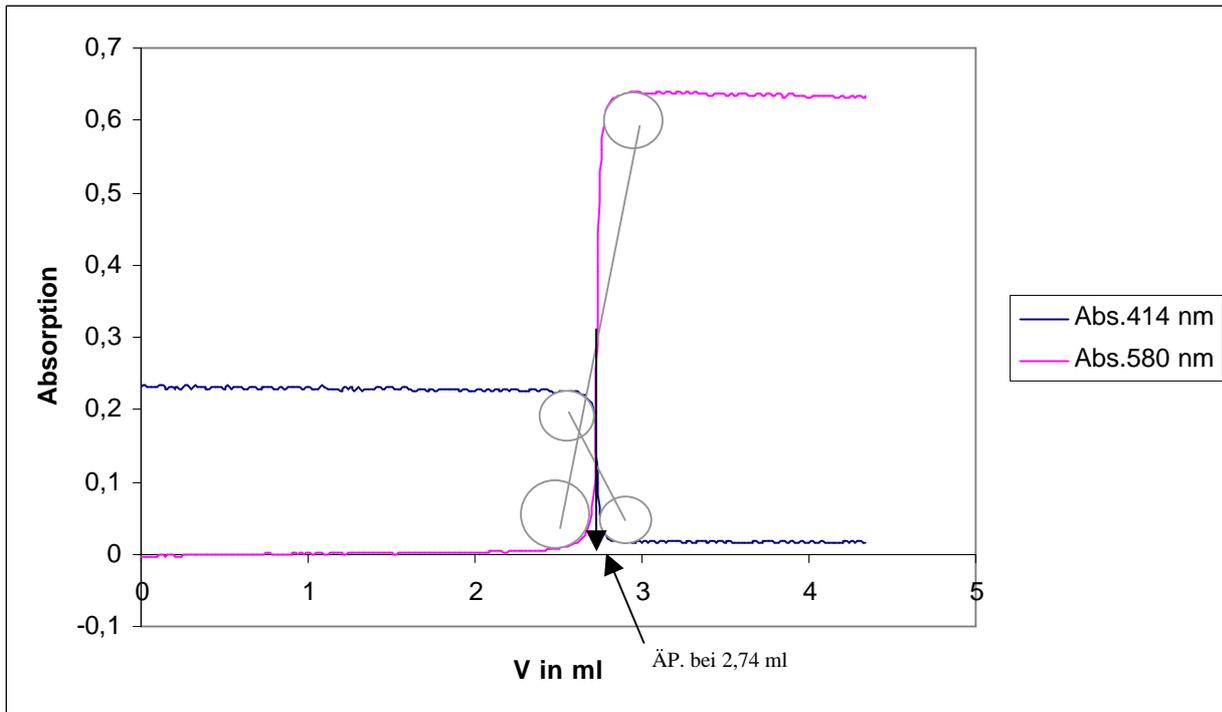


Abbildung 12-12: Resultierende Titrationskurven bei der Auswertung bei 414 nm und 580 nm

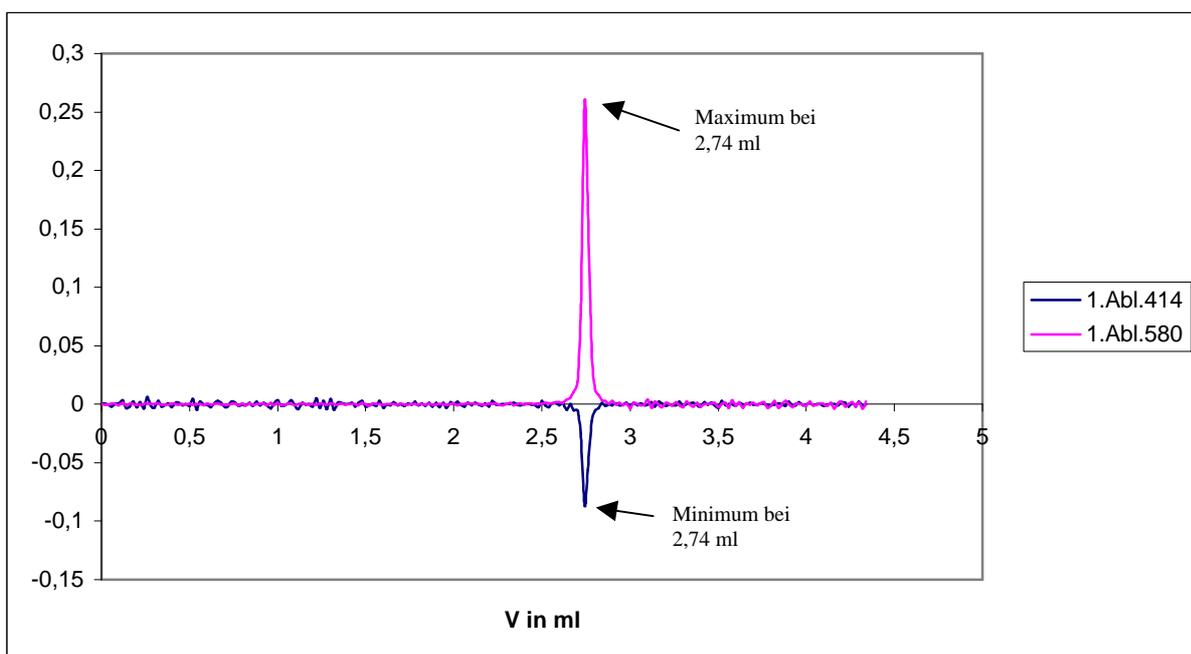


Abbildung 12-13: Differenzierte Titrationskurven aus Abbildung 12-12

12.4.4 Titration von Procainhydrochlorid, Indikator: Thymolblau

12.4.4.1 Vorüberlegung

Die Bestimmung von Procainhydrochlorid gegen Thymolblau ergab vergleichbare Titrationskurven für die Lösungsmittel Ethanol und Isopropanol. Deshalb sollen diese hier zusammen betrachtet werden.

12.4.4.2 Durchführung

In Anlehnung an die Bestimmung unter Punkt 12.4.3 erfolgte die Bestimmung von Procainhydrochlorid in Ethanol/ 10 % Wasser, analoges gilt für Isopropanol. Als Indikator wurde Thymolblau verwendet. Für die Titration wurden 200 μ l einer 0,1 % Lösung eingesetzt. Da die Titrationskurve sehr unsymmetrisch verläuft (Abbildung 12-15), wurden auch hier Dosierschritte von 0,02 ml Maßlösung gewählt.

Da sich je nach Wellenlänge die Lage der Maxima nicht voneinander unterscheiden, wurden auch hier je eine Wellenlänge der protonierten bzw. deprotonierten Indikatorform für die Auswertung herangezogen. Gezeigt sind hier in Abbildung 12-14 alle Spektren der Bestimmung in Ethanol, die senkrechten roten Linien markieren die gewählten Wellenlängen 425 nm und 610 nm.

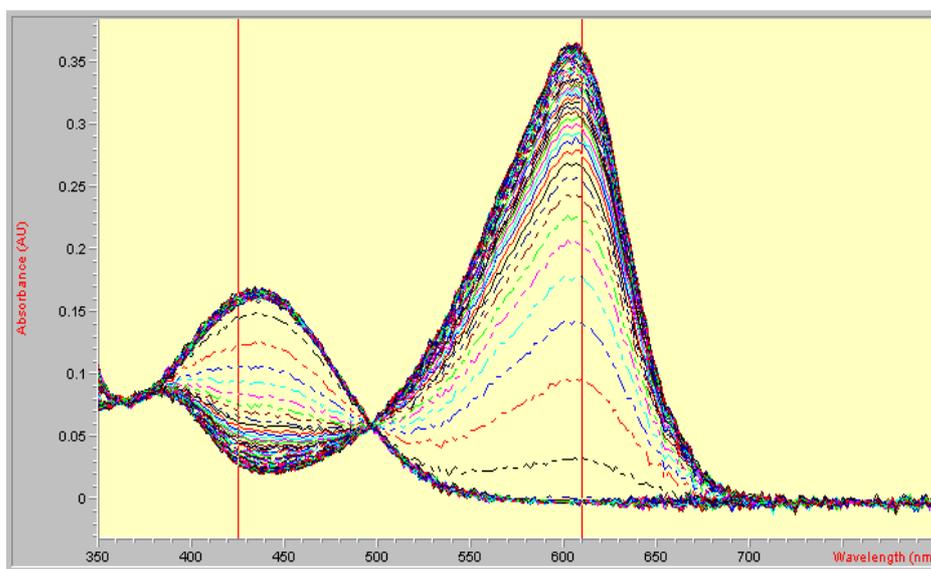


Abbildung 12-14: Vollständiges Titrationsspektrum der Bestimmung von Procainhydrochlorid in Ethanol gegen Thymolblau mit Hilfe eines Lichtleiters

12.4.4.3 Auswertung

Die Kurvenformen der aus Abbildung 13-14 resultierenden Titrationskurven bei den Wellenlängen 425 nm und 610 nm erwiesen sich als stark unsymmetrisch (Abbildung 12-15). Dies

gilt gleichermaßen für das hier nicht dargestellte Titrationspektrum für die Bestimmung in Isopropanol aus welchem die Titrationskurven in Abbildung 12-17 resultierten.

Die Titration im Lösungsmittel Isopropanol zeigte schwächeres Signalrauschen und hatte leicht symmetrischere Kurvenformen aufzuweisen. Trotz dieser problematischen Kurvenformen waren die rechnerisch ermittelten Maxima bzw. Minima der Titrationskurven sehr gut auswertbar. Dies lag unter anderem auch an den sehr klein gewählten Dosierschritten von 0,02 ml.

Die vorgenommenen Auswertungen nach TUBBS in den Abbildungen 12-15 und 12-17 wurden, begründet durch die Ausführungen in Kapitel 10, ebenfalls vorgenommen. Die Ergebnisse bei der grafischen Ermittlung des Wendepunktes waren mit denen der Differenzierung vergleichbar. Es bestätigt sich auch hier die Überlegung, TUBBS auch bei nicht S-förmigen Kurventypen einzusetzen. Besonders das starke Signalrauschen, welches bei der Differenzierung aufgrund der vergleichsweise kleinen Signaldifferenz am Äquivalenzpunkt deutlich sichtbar wird, ist bei der TUBBS-Auswertung nur von untergeordneter Bedeutung. Die günstigere Kurvenform für die Titration in Isopropanol kann man sich durch die Autoprotolysekonstanten der Lösungsmittel erklären. Isopropanol besitzt im Vergleich zu Ethanol eine kleinere Autoprotolysekonstante und ist somit für die Bestimmung von schwächeren Säuren geeigneter (siehe auch Kapitel 4).

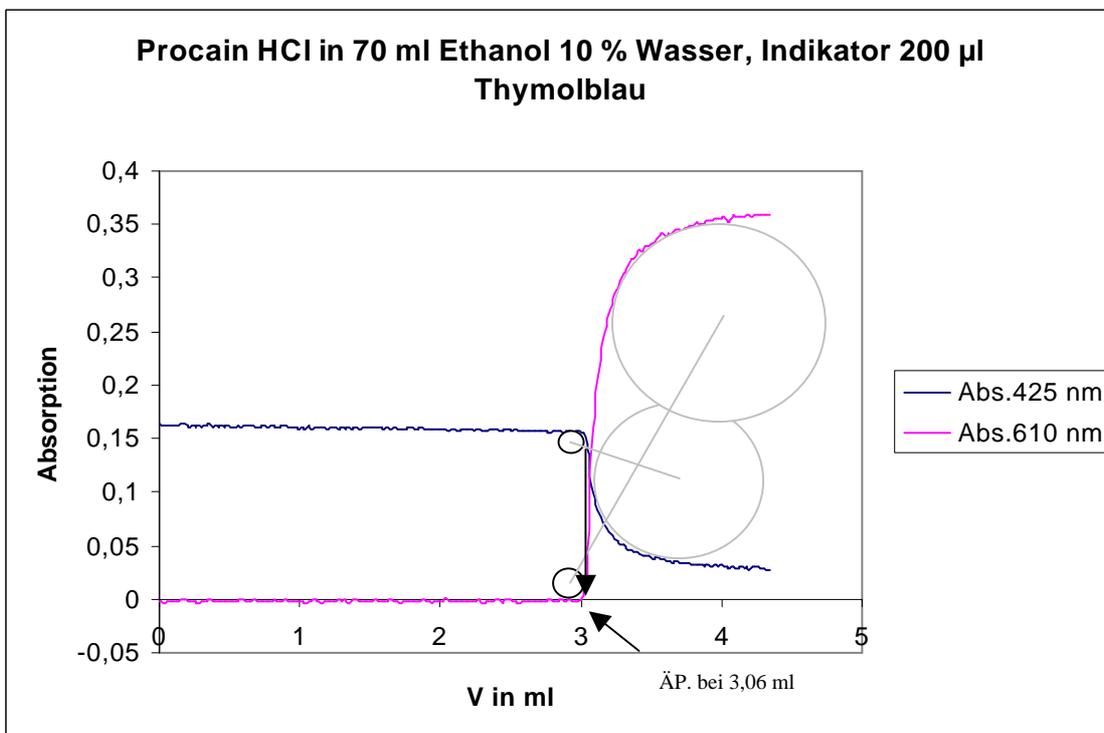


Abbildung 12-15: Resultierende Titrationskurven bei der Auswertung bei 424 nm und 610 nm

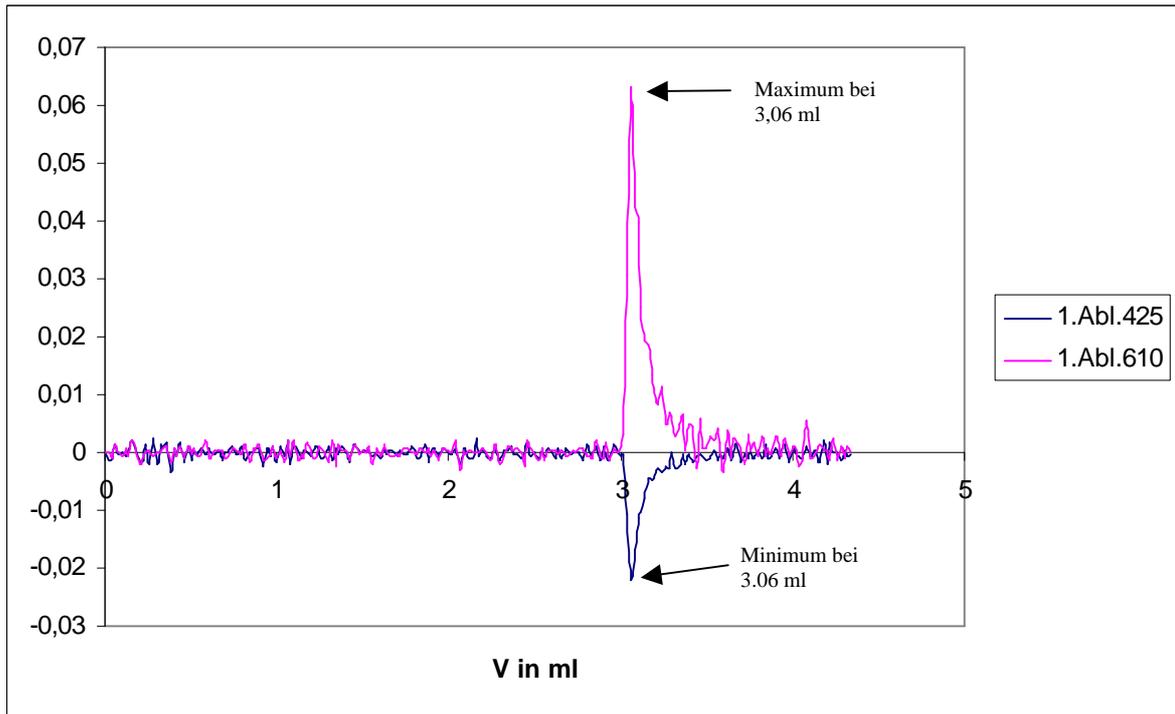


Abbildung 12-16: Differenzierte Titrationskurven aus Abbildung 12-15

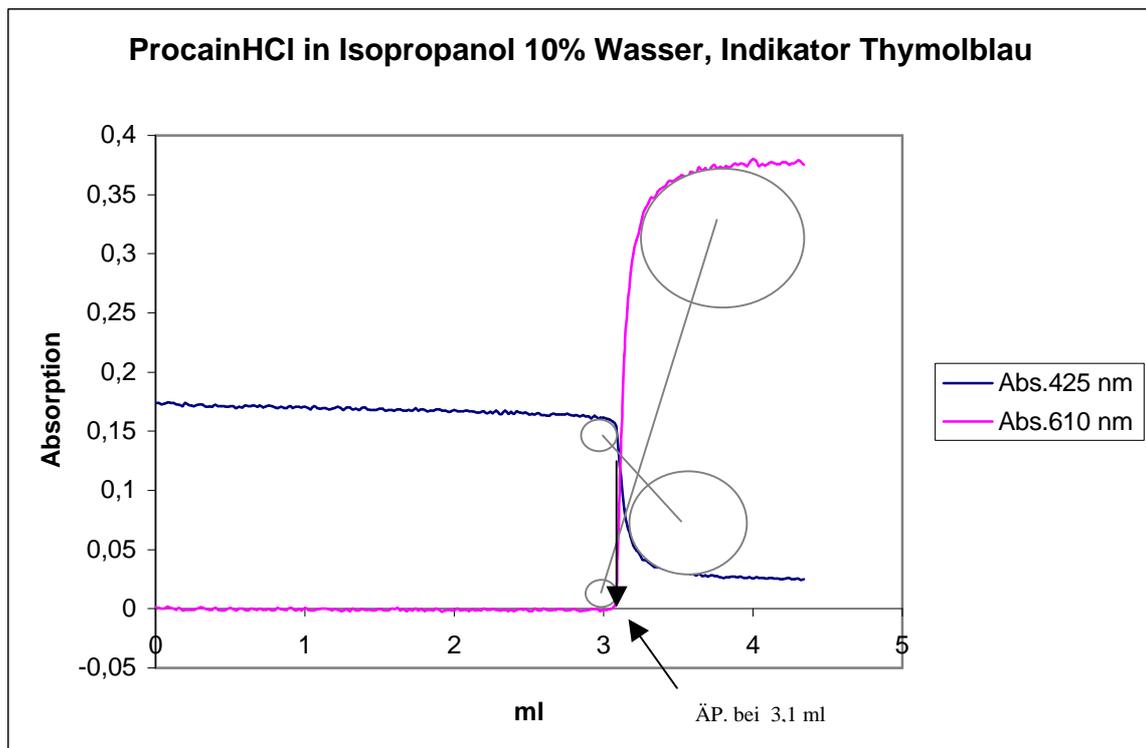


Abbildung 12-17: Resultierende Titrationskurven bei der Auswertung bei 424 nm und 610 nm

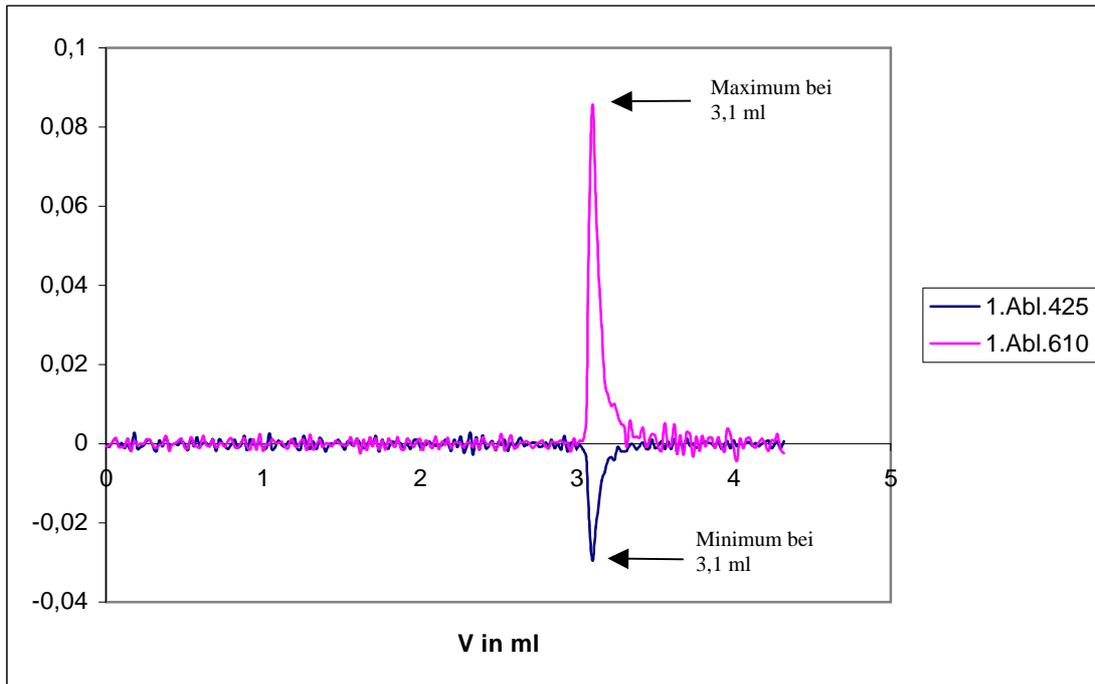


Abbildung 12-18: Differenzierte Titrationskurven aus Abbildung 12-17

12.4.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

12.4.5.1 Diskussion der Auswertungsverfahren

Alle unter Punkt 12.4 erhaltenen Kurvenformen wurden differenziert und nach TUBBS ausgewertet.

Die Titration von Chininhydrochlorid gegen Kresolrot ergab eine annähernd symmetrische Titrationskurve und zeigte bei beiden Lösungsmitteln einen steilen Sprung am Äquivalenzpunkt. Sowohl die Bildung der 1. Ableitung als auch das Auswertungsverfahren nach TUBBS lieferten gute Ergebnisse hinsichtlich der Bestimmung des Äquivalenzpunktes. Die Verringerung der Dosierschritte von 0,1 auf 0,02 ml brachte für die nachfolgenden Auswertungsvarianten schärfere Umschlagspunkte, ist aber, aufgrund der deutlich längeren Titrationsdauer in der Praxis kritisch zu betrachten.

Die Kurvenformen, welche sich bei der Titration von Procainhydrochlorid gegen Thymolblau ergaben, zeigten, dass auch bei problematischen Kurvenformen mit beiden Verfahren eine gute Bestimmung des Äquivalenzpunktes möglich ist. Die differenzierten Titrationskurven lassen vermuten, dass die Verkleinerung der Dosierschritte hier von Vorteil sein kann, da der Signalanstieg sehr sprunghaft erfolgt. Eine Abwägung von Aufwand und Nutzen muss hier im Einzelfall erfolgen. Die Auswertungsmethode nach TUBBS ist hier aufgrund der Kurvenform

gut anzuwenden, da die verrauschten Messsignale weniger stark stören als bei der Differenzierung.

Mit besser abgeschirmten Tauchsonden welche in optimal abgeschirmten Messmedien eingesetzt werden können, sollte es möglich sein Titrationsreihen durchzuführen, diese statistisch auszuwerten und mit der Potentiometrie zu vergleichen. Die zu Verfügung stehenden Materialien waren noch sehr störanfällig und daher für statistische Verfahren nicht geeignet. Das Potential einer photometrisch indizierten Titration im Becherglas ist jedoch erkennbar und weiter voranzutreiben.

12.4.5.2 Überlegungen zur Kurvenform

Bei den Titrationsen von Chininhydrochlorid gegen Kresolrot in Aceton und Isopropanol (siehe Punkt 12.4.2 und 12.4.3) konnte man feststellen, dass sich die Kurvenformen für beide Lösungsmittel stark ähnelten. Dieses wurde unter Punkt 12.4.4 bei den Titrationsen von Procainhydrochlorid in Isopropanol und Ethanol gegen Thymolblau ebenfalls festgestellt. Daraufhin wurden beide Titrationsen in der Auswertung gemeinsam betrachtet. Sowohl die Form der Maxima als auch die Anordnung der unter TUBBS gebildeten Kreise (Abbildung 12-15 bis 12-18) zeigte die klaren Übereinstimmungen, welche schon in den vorherigen Abschnitten festgestellt wurden. Diese festgestellten Tatsachen führen zu folgender Hypothese:

Die Entstehung der eigentlichen Kurvenform bei photometrischen Titrationsen wird durch den Indikator bestimmt, der bei der Bestimmung des Arzneistoffs eingesetzt wird. Diese grundlegende Kurvenform bleibt unabhängig von gewählten Lösungsmittel erhalten. An den in Kapitel 9 berechneten theoretischen Titrationskurven und den darauf folgenden praktischen Untersuchungen wurde gezeigt, dass von ausschlaggebendem Einfluss das Verhältnis der pKa-Werte von Substanz und Indikator ist (Kresolrot (pK_{In} 8,3 [33]) Thymolblau (pK_{In} 9,2 [34])).

Die gewählten Lösungsmittel beeinflussen durch ihre Lösungsmiteleigenschaften wie z. B. Autoprotolysekonstante und Dielektrizitätskonstante die Steilheit der Kurve und die Qualität des Messsignals, haben aber eher geringeren Einfluss auf die Kurvenform.

Dadurch ist es für viele Arzneistoffe möglich, durch sinnvolle Kombination von Indikator und Lösungsmittel ein sehr gut auszuwertende photometrische Titrationskurve zu entwickeln, welche den Anforderungen einer universell auszuwertenden Titrationskurve genügen.

Für optimale, d.h. annähernd S-förmige Titrationskurven gilt abgeleitet von den berechneten Kurven aus Kapitel 9 und den nachfolgenden praktischen Untersuchungen daher:

$$(12-1) \quad pK_{Au} + pK_a - 2 \cdot pK_{In} = 2$$

13 Abschlussbetrachtungen

13.1 Zusammenfassung

Zielstellung dieser Arbeit war es, Titrationsverfahren mit potentiometrischer Endpunktbestimmung zur Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden auf ihre Anwendbarkeit in der Analysepraxis zu untersuchen und Verbesserungen zu entwickeln. Aus der sich ergebenden Problematik von Störfaktoren bei potentiometrischen Bestimmungen wurde die Möglichkeit der photometrischen Endpunktbestimmung untersucht.

Grundsätzlich liefert die Bestimmung von Arzneistoffhydrochloriden mit Hilfe potentiometrischer Endpunktanzeige sehr genaue Analysenwerte, welche auch statistischen Untersuchungen hinsichtlich gesetzter Gehaltsgrenzen in den aktuellen Pharmakopöen standhalten. Dieses wurde jedoch nur durch optimierte Versuchsbedingungen erreicht. Wurde beispielsweise das Elektrodensystem nicht optimal gewählt, erwies sich die potentiometrische Endpunktanzeige als sehr störanfällig und verursachte bei der Aufnahme von Titrationsreihen zahlreiche Ausreißerbestimmungen, die eine Auswertung unmöglich machten.

Diese Versuchsbedingungen und Grenzen wurden im Rahmen dieser Arbeit untersucht und aufgezeigt. In den aktuellen Pharmakopöen sind die Bedingungen für Titrationsverfahren mit potentiometrischer Endpunktanzeige nur allgemein gehalten und unvollständig bezüglich des Ziels, die präzisen Messwerte zu erzielen, wie sie in den entsprechenden Monographien gefordert sind.

Eine allgemein gültige Vorgehensweise für potentiometrische Bestimmungen konnte nicht entwickelt werden. Dies ist aufgrund von verschiedensten Stoffeigenschaften auch begrenzt für Arzneistoffhydrochloride nicht zu realisieren. Titrationsbedingungen müssen speziell angepasst werden, um statistisch aussagefähige Analysenwerte zu erhalten.

Da diese Bedingungen sehr variieren können, ist zu überlegen, passend zum jeweiligen Arzneistoff die Gehaltsbestimmung direkt in der Monographie präzise zu beschreiben. Ähnliches ist bei anderen Gehaltsbestimmungen, z. B. durch HPLC gängige Praxis, da auch hier ohne genaue Angaben eine Bestimmung unmöglich ist.

Die in den entsprechenden Kapiteln angesprochenen Störfaktoren bei der potentiometrischen Endpunktbestimmung einer Titration konnten über eine Methodenoptimierung zwar deutlich gemindert, aber nicht vollständig behoben werden. Siehe dazu auch Kapitel 7 Optimierungsergebnisse.

Um eine robuste Alternative zur potentiometrischen Endpunktbestimmung bei Titrationsen zu entwickeln, wurde die Photometrie als Analysenverfahren ausführlich betrachtet. Die Mikrotitration als eine Variante der photometrischen Indizierung lieferte robuste Analysenwerte, die sich als störungsärmer als die potentiometrischen Verfahren darstellten. Die statistischen Untersuchungen waren jedoch, oft bedingt durch größere Volumenzinkremente, mit einem stetigen Grundrauschen des Messsignals weniger präzise. Als primäres Problem während der Messungen ergaben sich speziell bei der Lichtleitertechnik Messungenauigkeiten aufgrund von Streulicht. Diese Messungenauigkeiten, welche in den entsprechenden Kapiteln ausführlich untersucht wurden, traten beim Einsatz eines Lichtleiters noch deutlicher hervor und konnten in ihrer Ursache spezifiziert werden. Die Streulichteffekte konnten durch spezielle Abschirmungsmaßnahmen gemildert werden, waren aber aufgrund der ständigen Durchmischung der Analysenlösung nie ganz abzustellen. Eine Glättung der Kurven kann hier als eine Möglichkeit Abhilfe schaffen, ist aber aufgrund der externen Photometerdaten nicht umsetzbar gewesen.

Eine universelle Auswertungsmöglichkeit des Äquivalenzpunktes wurde untersucht. Um Kurvenverläufe in Abhängigkeit von verwendeten Indikatoren vorherzusagen wurden in Kapitel 10 theoretische Untersuchungen angestellt. Die Auswertungsmöglichkeiten der unterschiedlichen Kurvenformen wurden aufgezeigt und am praktischen Beispiel nachvollzogen. Die beiden daraus resultierenden Möglichkeiten, die Differenzierung und die Kreismethode, bieten jede für sich Vor- und Nachteile. Die Differenzierung ist universeller einzusetzen, die Auswertung nach TUBBS macht jedoch auch stark verrauschte Kurven einer Wendepunktbestimmung zugänglich.

13.2 Ausblick

Die potentiometrische Endpunktbestimmung von Titrationsen ist unter optimalen Bedingungen ein breit einsetzbares Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Arzneistoffen. Die Grenzen wurden aufgezeigt.

Bei den photometrischen Auswertungsverfahren wurde festgestellt, dass die Auswertung verschiedenster Wellenlängen, welche durch die Aufnahme eines kompletten Spektrums vorgegeben, immer zu gleichen Analysewerten führte. Um einen Titrationsverlauf zu verfolgen, sollte es für jede Titration unabhängig vom Indikator ausreichen, maximal 3 Wellenlängen aus dem sichtbaren Bereich zu betrachten. Die Entwicklung und der Einsatz von universellen Mischindikatoren, welche für verschiedenste Titrationsen verwendet werden können, schließt

sich an diese Untersuchungen an. Der daraufhin mögliche Einsatz von Diodensystemen mit speziell festgelegten Wellenlängen ist ein weiteres Thema, welches diese Arbeit fortführen kann. Durch diese Weiterentwicklungen kann eine echte Alternative zur potentiometrischen Endpunktbestimmung entstehen, welche insbesondere bei schwierigen Titrationsbedingungen robuste Werte liefert, die einfach und schnell erhalten wurden. Die Entwicklung einer rechnergestützten universellen Kurvenauswertung ist hier erforderlich. Diese sollte neben einer zuverlässigen Glättung eine echte Differenzierung beinhalten. Die Einsatzmöglichkeiten und Grenzen der TUBBS-Methode wurden gezeigt, aber auch hier sind Innovationen bezüglich einer rechnergesteuerten Titration möglich und sinnvoll.

Da die Titration als Absolutmethode ohne den Einsatz einer Referenzsubstanz auskommt und sie auch in kleineren Laboren, welche nicht apparativ teure und hochwertige Geräte einsetzen können, weiterhin als Standardverfahren eingesetzt wird, sollte sie in der Entwicklung von Monographien mehr Beachtung finden. Der erheblich geringere Kosten- und Materialaufwand, sowie die im Vergleich zu anderen Analyseverfahren zeitliche Ersparnis, sprechen für dieses Analyseverfahren.

Abstract

During the analysis quite a few influencing and disturbing factors were identified, that can handicap the successful titration with potentiometric endpoint indication.

Suitable, less suitable and optimal electrodes were tested. The obtained results were compared with each other. The test conditions for titrations with potentiometric endpoint indication were specified and disturbing factors minimised.

Furthermore, new solvents were tested in view of their suitability and conduction properties to be used as solvents for non-aqueous titrations with potentiometric endpoint indication. Other hydrochloride compounds of drugs were also analysed to support the results and the methods used in pharmacopoeas critically evaluated and touched up.

The current pharmacopoeas have set quite narrow limits with regards to declaration of content. They are mainly between 99 and 101%. As shown, this is not feasible anymore with only moderate variations in content of 0.5%, taking into consideration the standard deviation and confidence interval. Obtaining accurate results is even harder, because in many methods to determine the content of the hydrochloride compound of a drug, there are two turning points when adding HCL.

Under optimised conditions, the results of all titrations were within the standard deviation of 0.2%. These results are within the required limits. Extensive preliminary investigations to find optimal settings for the titrations system were undergone.

All solvents used proved suitable to record a titration series under improved test conditions. There was no difference between acetone and isopropyl alcohol in view of accuracy of the results.

The less suitable the used solvent is for a potentiometric titration in view of its properties, the more attention must be put on choice of glass membranes used and shielding.

Voluminous glass bowls should be used, which consist of middle-ohmic glass and therefore lower the all over resistance of the system and lead to more consistent results.

As a protection of the system from the outside is not possible, the electrodes used have to have a certain shield in order to stabilise the test results. As already mentioned, non-aqueous solvents are sensitive to electrostatic influences from the outside. Even if the electrodes have a shield, a separated test series can not offer the quality of shielding of a combined system, and therefore the results obtained are not as good.

Combined systems have the disadvantage, that many properties of the electrodes are predetermined, but they are favourable in view of signal quality. Separated systems are more flexible for preliminary investigations. But if the optimal properties of an electrode are verified, a combined electrode may be used. An all-purpose electrode could not be developed. To develop a robust alternative for potentiometric determination of the endpoint of titrations, the photometry as an analytical method was analysed in detail. As a variant of the photometric indexing, the microtitration brought up consistent analytic results, with less disturbance than potentiometric methods.

The statistical analyses were not very accurate with a permanent background noise, often because of higher volume increments. Inaccuracies because of scattered light were identified as the primary problem, especially when using light optical fibers. The inaccuracies, which are analysed in depth in the according chapters, were more obvious when using light conductors and could be specified in their cause. It was possible to reduce the scattered light effects with special shielding technique, but they could not be eliminated completely, because of the continuous mixing of the solution to be analysed. Curve smoothing could help here, but was not feasible because of external photometry data.

The universal evaluation of the equivalence point was analysed. To predict the curve progression in dependence of the indicators used, theoretical analyses were described in chapter 10. The options of evaluation of different curve shapes are shown and simulated using a practical example. The two resulting options, differentiation and the circle method both have advantages and disadvantages, whereas the use of differentiation is more flexible and the evaluation using TUBBS makes it feasible to determine the end point of even curves with a strong background noise.

As the titration is an absolute method without the need for a reference substance, it can also be used as the standard method in smaller laboratories, which do not have expensive and high-standard equipment. This is why the titration deserves more attention when developing new monographies. In comparison to other analytical methods, the titration stands out because it is a time saving method with much lower costs and complexity.

Anhang

Literaturverzeichnis

- [1] B. Göber, P. Surmann
Arzneimittelkontrolle- Drug Control
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 2005
- [2] H.J. Roth, G. Blaschke
Pharmazeutische Analytik, 3. überarbeitete Auflage
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1989
- [3] U. Tinner
Monographie: Elektroden in der Potentiometrie
Metrohm AG CH- 9101 Herisau, Schweiz
- [4] G. Rücker, M. Neugebauer, G.G. Willems
Instrumentelle pharmazeutische Analytik, 2. überarbeitet und erweiterte Auflage
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1992
- [5] Deutsche Metrohm, Herisau, Schweiz
Handbuch EasyCap 2.1, Dokumentation,
Stand 13.09.2000, Bearbeiter: as
- [6] W. Huber
Titrations in nichtwässrigen Lösungsmitteln
Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt am Main 1964
- [7] H. Galster
PH-Messung (Grundlagen, Methoden, Anwendungen, Geräte)
VCH 1990
- [8] Metrohm Ionenanalytik
Gesamtkatalog Metrosensor- Elektroden
Metrohm AG Herisau Schweiz, 1999
- [9] K. Doerffel,
Statistik in der Analytischen Chemie
Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie GmbH, Leipzig 1990
- [10] Europäisches Arzneibuch 4, Grundwerk 2002
Bd. 2, S. 1483 u. 2780
Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart/ Govi Verlag/ Pharm. Verlag GmbH Eschborn
- [11] I. Gvenes
Titrations in nichtwässrigen Medien
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 1970

- [12] M. Rosses, C. Rafoles, E. Bosch,
Autoprotolysis in Aqueous Organic Solvent Mixtures
Analytical Chemistry 1993, 65 2294-2299
- [13] Beilstein 1, 292, 369, 273, 635
- [14] Römpp, 8.Auflage, 1988, 4583 [3]
- [15] H.J.Roth, G.Blaschke
Pharmazeutische Analytik
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1989
- [16] Metrohm Ionenanalytik
Überzüge auf Silberelektroden, Applikation Bulletin Nr.25/3 d
Metrohm AG Herisau Schweiz
- [17] Hartke/ Mutschler
Kommentar DAB 9
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart 1986
- [18] K. Hartke et.al.
Kommentar zum Europäischen Arzneibuch Bd.5,6 und 7
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart / Govi Verlag/ Pharm. Verlag
GmbH Eschborn 2006
- [19] N. Kos, P. Surmann
Die Gehaltsbestimmung von Pyridoxinhydrochlorid (Vitamin B₆) nach Ph.Eur. 4.
Ausgabe, Grundwerk 2002
Pharmazie 61 , S. 414-416 (2006)
- [20] Pohl B (2002), Pyridoxin-HCl. In Bracher F, Heisig P, Langguth P, Mutschler E,
Rücker G, Scriba G, Stahl-Biskup E (ed)
Kommentar zum Europäischen Arzneibuch NT 2001, wissenschaftliche
Verlagsgesellschaft Stuttgart
- [21] E. Ehlers
Analytik II, 8. Auflage, 1996
Jungjohann Verlagsgesellschaft Neckarsulm, Lübeck, Ulm
- [22] B. Meyer
Auswertung und Automatisierung photometrisch indizierter Titrationsen
Dissertation, Würzburg (1995)
- [23] G. Jander, K.F.Jahr
Maßanalyse, 14.Auflage
Walter de Gruyter Verlag Berlin, New York 1986
- [24] Mathematika[®] 5
Wolfram Research Europe Ltd.
UNITED KINGDOM

- [25] unveröffentlichte Ergebnisse aus dem AK Prof. Surmann, FU Berlin
- [26] P. Surmann
Titrationsen mit visueller Indikation
Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, Bd. 2, 5. Auflage
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1991
- [27] S. Ebel/ W. Parzefall
Experimentelle Einführung in die Potentiometrie
Verlag Chemie GmbH, Weinheim, 1975
- [28] H. Schneemann, L.Y.Young, M.A.Koda-Kimble
Angewandte Arzneimitteltherapie
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 2001
- [29] B. Drechsler, J. Salzner, H.J. Bader
Resorption von Arzneistoffen
NiU- Chemie 11, 2000, Nr. 55
- [30] C. F. Tubbs
Determination of Potentiometric Titration Inflection Point by Concentric Arcs Method
Anal. Chem. 26, 1670, 1954
- [31] F. L. Hahn
pH- und potentiometrische Titrierungen
Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt, 1964
- [32] S. Ebel
Habilitationsschrift
Marburg, 1968
- [33] P. Kurzweil
Das Vieweg Formel-Lexikon
Friedr. Vieweg & Sohn Verlagsgesellschaft mbH, Braunschweig/Wiesbaden, 2002
- [34] <http://www.chemieunterricht.de/dc2/phph/fotom-tk-1.htm>
Dagmar Wiechoczek, Mai 2009,
- [35] W. Böttger
The use of the electrometer in the titration of acid and bases
Z. Physik. Chem., 24, 253 (1897)
- [36] E. Müller
Die elektrometrische (potentiometrische) Maßanalyse
Verl. Theodor Steinkopff, Dresden/Leipzig, 7. Auflage, 1944
- [37] T. Paixao, L. Kominsky, M. Bertotti
Use of electrochemically pretreated glassy carbon electrodes as pH-sensores in potentiometric Titrations
Sensors and Actuators B 87 (2002) 41-46

- [38] V. Maslarska, J. Tencheva, O. Budevsky
New approach in the treatment of data from an acid-base potentiometric titration
Anal. Bioanal. Chem. (2003) 375:217-222
- [39] F. Rived et. Al
Acidity in methanol- water
Analytica Chimica Acta 439 (2001) 315-333
- [40] T. Higuchi, C. Rehm, C. Barnstein
Photometric Determination of Indikator End Points
Anal. Chem. 28, S. 1506-1510 (1956)
- [41] T. L. Marple, D.N. Hume
Automatic Photometric Titrations
Anal. Chem. 28, S. 1116-1119, (1956)
- [42] J.P. Wolff
Acidimétrie dans les solvants organiques
Anal. Chim. Acta, 1, 90 (1947)
- [43] M. L. Nichols, B. H. Kindt
Titrations with a Photoelectric Titrimeter
Anal. Chem. 22, S. 785-790 (1950)
- [44] R. F. Goddu, D. N. Hume
Photometric Titrations
Anal. Chem. 26, S. 1740-1746 (1954)
- [45] F. L. Hahn, G. Weiler
Wie bestimmt man Endpunkt und Umschlagspotential bei Potentiometrischen Titrierungen
Z. anal. Chem. 69, S. 417 (1926)
- [46] S. Ebel
Berechnung von Titrationskurven
Z. anal. Chem. 245, S. 353-358, (1969)
- [47] S. Ebel
Berechnung der Titrationskurven schwacher Säuren oder Basen
Arch. Pharmaz. 302, Weinheim, S. 856-862 (1969)
- [48] S. Wolf
Berechnung des Äquivalenzpunktes potentiometrischer Titrationsen und Programmiermöglichkeit
Z. anal. Chem. 250, S.13 (1970)
- [49] H. Keller, W. Richter
Metrohm Bulletin 3, S.174, (1971)

- [50] E. Still, A. Ringbom
Photometric Titrations with Indicators
Anal. Chim. Acta 33, S. 50-54 (1964)

Geräteverzeichnis

- [I] Titrino GP 736 mit Software EasyCap 2.1.0.11, Deutsche Metrohm
- [II] Deutsche Metrohm, Nr. 6.0123.100
- [III] Deutsche Metrohm, Nr. 6.0733.100
- [IV] Deutsche Metrohm, Nr. 6.0133.100
- [V] Deutsche Metrohm, Nr. 6.0729.100
- [VI] Deutsche Metrohm, Nr. 6.0331.010
- [VII] Deutsche Metrohm, Nr. 6.0350.100
- [VIII] Deutsche Metrohm, Nr. 6.0229.100
- [IX] HP 8452 A Dioden- Array Spectrophotometer
- [X] Photonetics, Spectrofib 8452

Abkürzungsverzeichnis

2.303	Umrechnungsfaktor vom natürlichen auf den Zehner- Logarithmus
a_1	Anstieg der Geraden
a_0	Schnittpunkt mit der y-Achse
A	Absorption
A_G	Gesamtabsorption der Lösung
a_i	Aktivität des zu bestimmenden Ions
A_{In}	Absorption der Indikatorbase
A_{HIn}	Absorption der Indikatorsäure
c	Konzentration der zu messenden Lösung $[\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}]$
c_0	Ausgangskonzentration c_{0Ind} Gesamtkonzentration des Indikators $[\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}]$
c_{In}	Konzentration der Indikatorbase $[\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}]$
$c_{H_3O^+}$	Konzentration der Hydroniumionen $[\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}]$
c_{HIn}	Konzentration der Indikatorsäure $[\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}]$
c_R	Konzentration der Maßlösung ($a \sim c$)
d	Schichtdicke [cm]
$\epsilon(\lambda)$:	molarer Absorptionskoeffizient $[\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$, für Licht der Wellenlänge λ
F	Faraday-Konstante (96484,56 Cmol^{-1})
I	Intensität des austretenden Lichtes
I_0	Intensität des eingestrahnten Lichtes
K_D	Dissoziationskonstante
K_I	Ionisationskonstante
K_L	Autoprotolysekonstante
K_S	Gesamtaciditätskonstante
K_S^{In}	Gesamtaciditätskonstante des Indikators
M_R	molare Masse der Substanz
n	Anzahl der Messungen
pK_{au}	Autoprotolysekonstante des Lösungsmittels
pK_{In}	Autoprotolysekonstante des Indikators

R	Gaskonstante ($8,31441 \text{ JK}^{-1}\text{mol}^{-1}$)
s	Standardabweichung
$s_{\bar{x}}$	Standardabweichung des Mittelwertes
T_0	Absolute Temperatur in K ($273,15 \text{ K} + t \text{ in } ^\circ\text{C}$)
T	Transmission
U	Gemessene Spannung zwischen Mess- und Bezugselektrode
U_0	Standardpotential des Messsystems
V_0	Ausgangsvolumen
V_R	Volumen Reagenz
\cdot	Gehalt
\bar{x}	Mittelwert
z_i	Ladung des zu bestimmenden Ions

Publikationsverzeichnis

Posterpräsentation

Nadja Kos, Peter Surmann

„Photometrisch indizierte Titrationsen“

DPhG - Landesgruppe Berlin - Brandenburg: Der wissenschaftliche Nachwuchs stellt sich vor

14. Juli 2006 Berlin

Veröffentlichungen

Nadja Kos, Peter Surmann

„Die Gehaltsbestimmung von Pyridoxinhydrochlorid (Vitamin B₆) nach Ph.Eur. 4. Ausgabe, Grundwerk 2002“

Pharmazie 61: 414-416 (2006)

Lebenslauf

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.