



# Vervanging van "doss-titratie" door een potentiometrische titratie met de "nio-elektrode"

Door: Khalid Asouit (MBO-stagiaire), Bert Rietdijk, Margot Bakker  
Apotheeklaboratorium Ziekenhuis Rijnstate, Arnhem

In de farmaceutische laboratoria worden bepaalde, specifieke niet-ionogene, analyten nog steeds bepaald met de traditionele "DOSS-titratie". Een titratie met DiOctylSulfo-Succinaat (= DOSS) is een titratie waarbij gebruik gemaakt wordt van een tweefase-systeem van water en chloroform, dat met azijnzuur wordt aangezuurd tot een zure pH-waarde. In deze tijd, waar milieu- en ARBO-aspecten een belangrijke rol spelen in onze maatschappij, vonden wij, als analisten van het apotheeklaboratorium van Ziekenhuis Rijnstate, dat het werken met chloroform tot een minimum beperkt zou moeten worden. Zodoende hebben wij deze wens geconcretiseerd in het 'Jaarplan 2000' van onze apotheek. Enerzijds zouden wij de hoeveelheid chloroform terugdringen door voor de extractie van geneesmiddelen in serum naar andere methodieken en vloeistoffen uit te kijken en anderzijds zouden we een onderzoek starten naar de vervanging van de DOSS-titratie door een potentiometrische titratie met als indicator-elektrode de non-ionic-surfactant-elektrode van de firma Metrohm.

Naar ons idee zou het werken met deze elektrode een aantal aspecten van de tot dan toe gebruikte DOSS-titratie kunnen verbeteren. Eén aspect is hiervoor al genoemd nl. de vermindering van het gebruik van het oplosmiddel chloroform, bij het gebruik van deze elektrode wordt het gebruik van chloroform totaal overbodig. De titraties met de NIO-elektrode vinden plaats in een aangezuurd waterig milieu. Een

ander belangrijk aspect bij het gebruik van de NIO-elektrode is de automatische, potentiometrisch, waarneming van het equivalentiepunt van de titratie. Zoals een ieder weet is de visuele waarneming van het equivalentiepunt van de DOSS-titratie erg lastig en vergt veel oefening, de titratie wordt dan ook gekenmerkt door een relatief grote spreiding. Wij hadden de verwachting dat dit met het gebruik van de NIO-elektrode aanmerkelijk zou (kunnen) verbeteren.

Er is in eerste instantie een kort onderzoek(je) gestart door één van onze analisten om te kijken of het gebruik van deze elektrode echt datgene zou kunnen opleveren als wat wij ervan verwacht hadden. Gelukkig bleek dit het geval te zijn. Daarna hebben wij een inventarisatie gemaakt van de producten die wij normaliter kwantificeren met een DOSS-titratie, een HPLC-STIP-analyse of een andere niet specifieke of omslachtig uit te voeren analysemethode. Met behulp van deze inventarisatie hebben we een plan opgesteld voor de BPV-opdracht van onze MBO-stagiaire.

In de BPV-opdracht van onze stagiaire werd voor de volgende producten een onderzoek gevraagd naar de haalbaarheid van de toepassing van de NIO-elektrode:

- Lidocaine HCl 0,5% FNA oordruppels, 10 ml
- Lidocaine HCl 4% nebulisator, 15 ml
- Primogel/Lidocaine HCl 0,5% pasta, 100 g
- Alimemazinedrank 1 ml = 10 mg, 50 ml
- Methadondrank 1 ml = 2 mg, 100 ml
- Promethazine stroop zonder suiker, 1 ml = 1 mg

Voor de lidocaineproducten en de alimemazinedrank werd tot dan toe gebruik gemaakt van een uitvoerige HPLC-STIP-analyse, de methadondrank werd geanalyseerd met behulp van een niet-specifieke spectrofotometrische analyse en de promethazinedrank werd geanalyseerd met de bekende DOSS-titratie. Door deze selectie van producten werd het voor ons ook mogelijk om een inschatting te maken van de mogelijke winst in analysetijd en een beperking in analysekosten. Daarnaast werd ook inzicht verkregen in de mogelijke storende factoren van een aantal andere substituenten in de producten. Als de analyse van deze producten een bevredigend resultaat zou opleveren zouden wij kunnen gaan kijken naar het omzetten van de tot dan toe gebruikte analyse van een aantal andere, afgeleide en/of soortgelijke, producten.

## Principe van de analyse

Het potentiometrisch kwantificeren van componenten in farmaceutische producten met de NIO-elektrode in een waterig milieu, zonder gebruik te maken van organische oplosmiddelen en/of een uitgebreide monster voorbereiding.

De principes die ten grondslag liggen aan deze titratie zijn dezelfde als welke ten grondslag liggen aan de DOSS-titratie. Er zijn echter een aantal belangrijke verschillen, hierover hopen we in een volgend artikel nader terug te kunnen komen (wordt vervolgd!).

Deze potentiometrische titratie behoort tot de groep neerslagtitraties. Tijdens de titratie reageert de te analyseren component in het farmaceutische product met het titrans en vormt een neerslag. De verandering van potentiaal in de oplossing

is een indicatie voor het bereiken van het equivalentiepunt.

## De Non-ionic-(NIO)-surfactant-elektrode

De firma Metrohm heeft enige tijd geleden deze NIO-elektrode op de markt gebracht. Met deze elektrode is het mogelijk om naast niet-ionogene oppervlak-actieve-stoffen ook een aantal veel gebruikte, niet-ionogene, farmaceutische grondstoffen titrimetrisch te analyseren.

De NIO-elektrode wordt als indicator-elektrode gebruikt in combinatie met het titrans natriumtetrafenylboraat (NaTBF) en een Ag/AgCl-referentie-elektrode. De non-ionic-sensor is ontwikkeld door de firma Th. Goldschmidt AG in Essen (D). Daarna is in samenwerking met de firma Metrohm de NIO-elektrode verder ontwikkeld. De NIO-elektrode is qua gebruik en bouw te vergelijken met een ion-selectieve-elektrode en deze elektrode is een uitstekende aanvulling op het elektroden-programma van de firma Metrohm. Volgens opgave van de firma Metrohm kunnen diverse farmaceutische grondstoffen geanalyseerd worden met deze nieuwe elektrode, hieronder volgt een summier opsomming van een aantal van deze grondstoffen:

– Ambroxol

– Bromohexine hydrochloride

– Chloorhexidine

– 8-Chlorotheophylline

– Dihydramine

– Hexitidine

– Lidocaïne

– Papaverine

– Promethazine

– Alimemazine

– Methadon

Het onderhoud, en dan met name het schoonmaken, van de NIO-elektrode is heel eenvoudig dankzij de

uitvoering van de elektrode. Het meetmembraan is een tetrafenylboraat (TFB)-gevoelig-membraan. Dit membraan is niet bestand tegen langdurige blootstelling aan organische oplosmiddelen, omdat de basis van het membraan uit PVC bestaat. Het schoonmaken van het membraan moet echter gebeuren met methanol, als het membraan kortstondig met methanol in aanraking komt is dit echter geen probleem (daarna goed spoelen met demiwater).

## Uitvoering van de analyses

In ons laboratorium werd voor de uitvoering van de analyses gebruik gemaakt van de volgende apparatuur en benodigheden:

### Apparatuur

– 682 Titroprocessor (Metrohm

nr. 100287)

– 665 Dosimat (Metrohm )

– 649 Magneetroerder

– Opzetunit met natriumtetrafenylboraat (NaTBF) 0,05 molair

– Referentie elektrode Ag/AgCl (Metrohm nr. 6.0726.100)

– Indicator elektrode non-ionic-surfactant (Metrohm nr. 6.0507.010)

NB. De Metrohm-titroprocessor wordt het komende jaar vervangen door een Metrohm Titrino titreeropstelling, deze titratie is ook met deze nieuwe opstelling uit te voeren.

### Reagentia

Natriumtetraphenylboraat (Merck L334369.905)

Polyvinylalkohol (Merck ZA269666.912)

Papaverine HCl

Methanol

Azijnzuur 30%

– breng 30 ml ijsazijn over in een maatcilinder van 100 ml en vul aan met demiwater tot 100 ml en meng.

Boraatbuffer pH-10

– 1,24 g boorzuur oplossen in 50 ml demiwater, 10 ml natronloog 1 molair toevoegen, en aanvullen tot 100 ml met demiwater, meng en controleer de pH en stel desgewenst bij.

Demiwater

## Titrans NatriumTetraFenylBoraat (NaTBF)

Voor de uitvoering van deze analyse moet als titratievloeistof (titrans) het natriumtetrafenylboraat opgelost en gesteld worden. Het oplossen en stellen gebeurt op de volgende wijze:

### Bereiding NaTBF 0,05 molair

Weeg 7,95 g natriumtetrafenylboraat af in een bekersglas van 250 ml en los op in 150 ml demiwater. Weeg in een ander bekersglas van 250 ml 5 g polyvinylalkohol af en los op in 150 ml demiwater onder verwarmen. Na afkoelen van deze oplossing worden de beide oplossingen kwantitatief overgebracht in een maatkolf van 500 ml. Voeg 40 ml boraat-bufferoplossing pH-10 toe, meng, en vul aan tot volume.

### Stellen van NaTBF 0,05 molair

Weeg 80 mg papaverine HCl nauwkeurig af in een bekersglas van 100 ml en los op in ongeveer 40 ml demiwater, voeg 1 ml azijnzuur 30 % toe en titreer met de NaTBF 0,05 molair.

### Berekening

$$\text{titer} = \frac{C_{0_0}}{EP_1} \times C_{0_2}$$

$C_{0_0}$  : inweeg Papaverine HCl in mg

$EP_1$  : getitreerd volume in ml bij equivalentiepunt

$C_{0_2}$  : molmassa Papaverine HCl

## Analyses

Zoals hiervoor al aangegeven is hebben we voor dit onderzoek voor onze stagiaire een aantal specifieke producten uitgezocht. Het zou te ver voeren om al deze analyses hier te bespreken. We willen ons beperken tot één voorbeeld en wel de analyse van de alimemazinedrank 1 ml = 10 mg, 50 ml.

### Algemene werkwijze

Weeg in of pipetteer de hoeveelheid te analyseren grondstof of product (overeenkomend met 50-60 mg van de analyseren stof) in een bekersglas van 100 ml. Vul aan met demiwater tot ± 40 ml en voeg 1 ml azijnzuur



30% toe, doe een roervlo in de oplossing en meng op een roermotor. Plaats de elektroden in de oplossing en wacht 30 seconden alvorens met titreren te beginnen. Voer de titratie uit met behulp van de titroprocessor. Tik de gewenste methode in en stel de benodigde constanten in. **Titreer** m.b.v. de NIO-indicator-elektrode en de Ag/AgCl-referentie-elektrode met NaTFB 0,05 molair.

*Alimemazinedrank 1 ml = 10 mg*  
Voor de analyse van de Alimemazine-drink werd deze algemene werkwijze op de volgende wijze uitgevoerd:

Pipetteer 5,00 ml Alimemazine drank in een bekersglas van 100 ml, voeg 35 ml demiwater en 1 ml azijnzuur 30% toe, meng op de roermotor. Plaats de elektroden in de oplossing en wacht 30 seconden alvorens met titreren te beginnen. **Titreer** met NaTFB 0,05 molair.

*Berekening voor het bepalen van het gehalte aan alimemazine:*

$$\begin{aligned} \text{mol alimemazine} &= \text{mol NaTFB} = > \\ &\text{mol NaTFB} = \\ V_{EP} \times C_{\text{NaTFB}} &= \text{mol alimemazine} \end{aligned}$$

$$V_{EP} = \text{verbruik titrans bij equivalentiepunt (ml)}$$

$$C_{\text{NaTFB}} = \text{titer NaTFB (mol/l)}$$

$$V_{EP} \times C_{\text{NaTFB}} = \text{ml} \times \text{mol/l} = \text{mmol alimemazine}$$

$$\text{mmol alimemazine} \times M_{\text{alimemazine}} = \text{mg alimemazine}$$

$$M_{\text{alimemazine}} = 298,45 \text{ g/mol}$$

$$\frac{\text{mg alimemazine}}{\text{inweeg (ml)}} =$$

$$\text{mg alimemazine / ml} = >$$

$$\frac{\text{mg alimemazine/ml}}{10 \text{ mg/ml}} \times 100\% =$$

$$\% \text{ alimemazine}$$

$$\begin{aligned} \text{inweeg} &= 5,00 \text{ ml} \\ &(\text{overeenkomend} \\ &\text{met } 50 \text{ mg}) \end{aligned}$$

Samenvattend wordt de berekeningsformule dan:

$$\begin{aligned} - \text{percentage alimemazine} &= \\ &\frac{V_{EP} \times C_{\text{NaTFB}} \times M_{\text{alimemazine}}}{100\% / \text{inweeg (ml)} \times 10} \end{aligned}$$

Zie tabel hieronder.

### Conclusie:

In vergelijking met de DOSS-titratie zijn de titraties met het NaTFB, met als indicator-elektrode de NIO-elektrode, snel en eenvoudig uit te voeren. De analyse blijkt (evenals de andere door ons uitgevoerde analyses snel, robuust en betrouwbaar te zijn). Het titrans NaTFB 0,05 molair blijkt redelijk stabiel te zijn, frequente titerstelling is dan ook niet nodig. De NIO-elektrode wordt door de door ons geteste producten niet vervuild en kan na de analyse afgenomen worden met een tissue die bevochtigd is met wat methanol en moet daarna afgespoten worden met demiwater. De NIO-elektrode kan daarna droog opgeslagen worden. Aanbevolen wordt om het membraan na een dertigtal analyse wel even goed schoon te maken met een tissue met methanol en daarna weer goed af te spoelen met demiwater om mogelijke verontreinigingen (door oppervlakte actieve stoffen) te verwijderen.

Alvorens de eigenlijke titratie uit te voeren wordt geadviseerd om een korte wachttijd te introduceren om het membraan aan de analysematrix te laten wennen.

Voor de standaardanalyse van dit product hebben we de monsterhoeveelheid verhoogd van 5,00 ml naar

10,00 ml. De hoeveelheid titrans neemt dan ook met een factor twee toe, waardoor de betrouwbaarheid van het analyseresultaat wordt verhoogd.

Het doel dat wij ons gesteld hadden, het terugdringen van het gebruik aan chloroform, is met de invoer van deze analysemethodiek bereikt. De uitvoering van deze analyses is op deze wijze minder (tot haast niet) milieubelastend, is eenvoudig, is niet persoonsafhankelijk (visuele waarneming!) en is relatief goedkoop. Ook de andere genoemde producten laten zich op deze wijze goed analyseren. Voor sommige analyten moet een compromis gevonden worden tussen hoeveelheid in te wegen stof en hoeveelheid titrans dat verbruikt wordt bij het equivalentiepunt, dit geldt m.n. voor de laag gedoseerde producten. Een laag verbruik (<5 ml) zal dan nog wel eens het compromis moeten zijn, de betrouwbaarheid (door een iets grotere spreiding) wordt dan iets minder.

Vooralsnog zijn wij tevreden met de uitvoering van deze analyse(s) en kunnen wij de introductie van deze techniek bij één ieder aanbevelen.

### Resultaten van een triplo-analyse alimemazinedrank:

Nr.	Inweeg (ml)	Volume EP (ml)	Berekend percentage	Gerapporteerd percentage
1	5,00	6,808	98,35	98
2	5,00	6,921	99,97	100
3	5,00	6,785	98,01	98