

Ersatz der „colorimetrischen“ Sulfid-Fällung

Neue USP-Verfahren der Element-Bestimmung

Die klassische Methode der summarischen „Schwermetall-Bestimmung“ mit Hilfe der Sulfid-Fällung und anschließender visueller bzw. photometrischer Auswertung wird durch modernere und genauere Methoden abgelöst. Die etablierte Methode ergibt letztendlich keine zuverlässige Aussage über Schwermetall-Konzentrationen in Proben. Durch die unterschiedlichen Färbungen der einzelnen Metall-Sulfide entsteht ein Störfaktor, der praktisch nicht zu korrigieren ist.



Abb. 1: Synthetische Standards

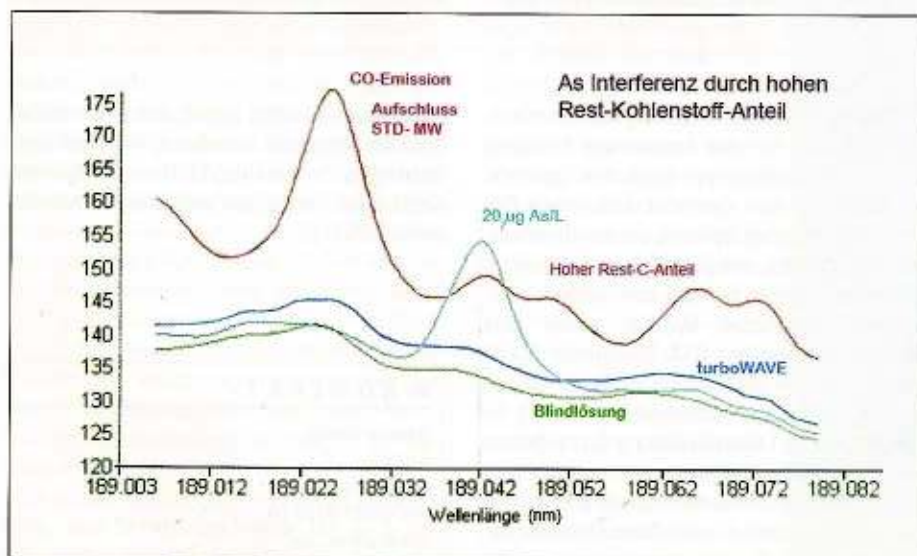


Abb. 2: Arsen-Bestimmung ICP-OES 189,042 nm

Einleitung

Eine Experten-Kommission in Zusammenarbeit mit der USP (U.S. Pharmacopeia) [1, 2] hat eine neue Methode erstellt, um bekannte und weitere Elemente mit Hilfe moderner Methoden wie Atom-Absorptions- (AAS), Plasma-Emissions- (ICP-OES) und Plasma-Massen-Spektroskopie (ICP-MS) selektiv und zuverlässiger bestimmen zu können. Die zu erfassenden Elementkonzentrationen beruhen nun auf der Tagesdosis und können je nach Einnahmemengen um mehrere Größenordnungen variieren. Um diesen Anforderungen gerecht zu werden, müssen zur Verfahrensüberprüfung hohe und sehr geringe Konzentrationen zuverlässig erfasst werden.

Die modernen und leistungsfähigen spektroskopischen Verfahren setzen eine zuverlässige Probenvorbereitung voraus. Die organische Matrix muss vollständig zerstört werden, damit alle Elemente in einer löslichen Ionenform und in homogener Verteilung vorliegen. Das von USP vorgeschlagene Aufschlussverfahren mit Königswasser (KW „Aqua Regia“) zeigt bei verschiedenen Elementen und spektroskopischen Methoden größere Probleme, insbesondere in geringen Konzentrationsbereichen. Diese Störungen sind vom Anwender nur schwer zu erkennen und deshalb nicht hinreichend beherrschbar.

Ziel dieser Arbeit ist es, verschiedene Aufschlussverfahren zu testen, um möglichst in einem einzigen Arbeitsschritt alle Elemente in einem großen Konzentrationsbereich vollständig wiederzufinden. Als Vergleich wurde der KW-Aufschluss herangezogen und ebenfalls optimiert durch Anwendung höherer Temperaturbedingungen. Die Untersuchung, zusammen mit der Elementanalytik, (AAS, ICP-OES und ICP-MS) dient dem Anwender als Hilfe, um eine einfache und zuverlässige analytische Validierung durchführen zu können [3]. Für diese umfangreichen Tests wurden synthetische Standards hergestellt, die von der Matrixbeschaffenheit allen gängigen pharmazeu-

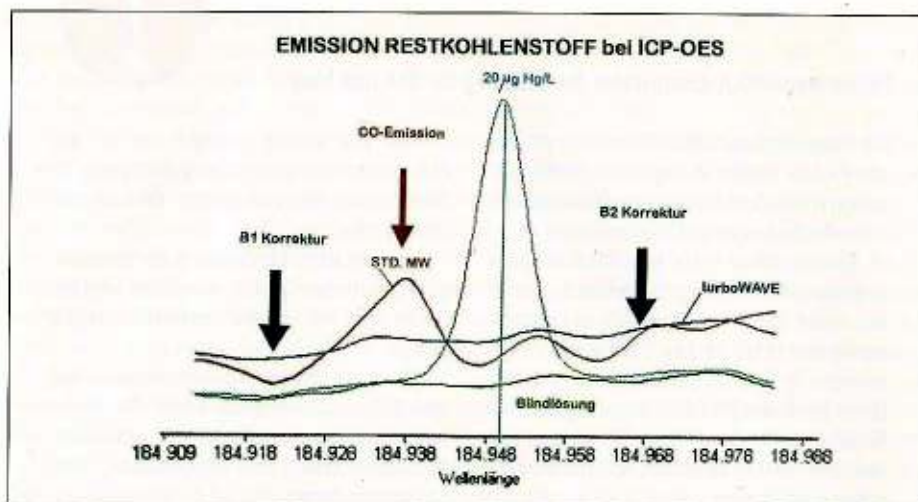


Abb. 3: Quecksilber-Bestimmung ICP-OES 184,948 nm

tischen Anforderungen gerecht werden. Es zeigte sich, dass mit den richtigen Aufschlussmethoden sämtliche Anforderungen der sich in Vorbereitung befindlichen neuen USP-Verordnung voll erfüllt werden [4, 5].

Die spektroskopischen Verfahren und ihre Grenzen

a) Atom-Absorptions-Spektroskopie

Vorteil des Verfahrens ist die kostengünstige Technik für die Schwermetallanalytik. Die Geräte sind einfach aufgebaut und mit bewährten optischen Systemen (Monochromatoren, Poly-Chromatoren) ausgestattet. Nachteilig sind die geringen Atomisierungstemperaturen. Die Atomabsorptionstechnik kann nicht für alle zu untersuchenden Elemente erfolgreich eingesetzt werden. Die geringen Anregungstemperaturen von bis 3000 °C bieten keine ausreichenden Empfindlichkeiten für schwer atomisierbare Elemente.

Damit verbunden ist eine unzureichende Aufspaltung thermisch stabiler Elementverbindungen, die zu Fehlmessungen führen können. Bei höheren Temperaturen, wie bei der ICP-Technik, entsteht

eine große Anzahl an Elementlinien, die Interferenzen wie z.B. durch unzureichende spektrale Auflösung hervorrufen. Weitere Probleme wie unspezifische Absorptionen (z.B. Untergrundeffekte) können zu zusätzlichen Messfehlern führen.

b) Plasma-Emissions-Spektroskopie (ICP-OES)



Bei der ICP-Technik wird der Effekt der hohen Anregungsenergie in der Plasma-Fackel (Temperaturen von 6.000 bis 12.000 °K) ausgenutzt. Um der großen Elementlinien-Anzahl gerecht werden zu können, sind aufwändigere Trennsysteme (Polychromatoren/Echelle-Systeme) mit hoher optischer Auflösung von ca. 0,005 nm erforderlich. Diese Technik ist mit höheren Geräte-Anschaffungskosten verbunden. Im Gegensatz zum ICP-MS-Verfahren zeigt die ICP-OES-Technik Vorteile bei Anwendungen mit hoher Salzlaster.

c) Plasma-Massen-Spektroskopie (ICP-MS)

Die Nachweisstärken liegen gegenüber der ICP-OES-Technik etwa 1000x höher. Nachteilig beim ICP-MS-Verfahren ist die größere Anfälligkeit bei hohen Salzlaster (Matrixbelastung) der Proben. In der Regel werden deshalb Aufschlussproben um den Faktor 10–100 verdünnt. Bei beiden ICP-Techniken können viele Elemente in einem einzigen Arbeitsschritt bestimmt werden. Die Leistungsfähigkeit der ICP-MS-Geräte hat sich in den letzten Jahren wesentlich verbessert. Zudem sind die Anschaffungskosten deutlich gefallen und liegen heute bereits im Bereich von sehr gut ausgestatteten Atomabsorptions-Messplätzen.

Optimale Aufschluss-Verfahren

In Zusammenarbeit zwischen MLS und der Naturwissenschaftlich-Technischen Akademie in Isny wurden Referenzstandards hergestellt und Aufschlussmethoden optimiert, um alle Elemente in einem einzigen Arbeitsschritt zuverlässig bestimmen zu können. Die Elementbestimmungen mit den verschiedenen spektroskopischen Verfahren wurden mit Unterstützung von Thermo Fisher Scientific durchgeführt. Die ersten Vorversuche zeigten bereits, dass für zuverlässige Resultate sehr hohe Aufschlusstemperaturen erforderlich sind. Das ist bei geschlossenen Systemen mit hohen Drücken von über 100 bar verbunden. Weiter müssen Säuren mit hoher Reinheit („subboiling“-Qualität) eingesetzt werden. Durch geringere Säuremengen pro Aufschluss sind dadurch die Kosten gegenüber der KW-



GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

GDCh-Fortbildung 2011



Unverzichtbare Bausteine Ihrer Karriere

Informationen zu den einzelnen Veranstaltungen sowie einen Link für Ihre Anmeldungen finden Sie unter

www.gdch.de/fortbildung2011

oder rufen Sie uns an!

AUSGEWÄHLTE TERMINE:

Präparative Chemie in Mikroreaktoren (024/11)

21. – 22. September 2011 · Prof. Dr. Wladimir Reschetilowski · Dresden

Biofilme: Schaden · Nutzung und Charakterisierung (594/11)

7. November 2011 · Prof. Dr. rer. nat. Harald Horn · Frankfurt am Main

Multidimensionale und Comprehensive Chromatographie (GCxGC, LCxLC, LCxGC) – Einführung und Anwendungsbeispiele (364/11)

9. – 10. November 2011 · Dr. Margit Geißler · Frankfurt am Main

Selektive Oxidationsreaktionen (014/11)

17. – 18. November 2011 · Prof. Dr. Albrecht Berkessel · Frankfurt am Main

Online-Chromatographie – Chromatographisches Prozessmonitoring (393/11)

21. – 22. November 2011 · Prof. Dr. Astrid Rehorek · Köln

Health Claims-Verordnung 1924/2006 – Anforderungen der EFSA richtig umsetzen (678/11)

23. November 2011 · Prof. Dr. Alfred Hagen Meyer · Frankfurt am Main

Methodenvalidierungen in der Analytischen Chemie unter Berücksichtigung verschiedener QS-Systeme (523/11)

25. November 2011 · Dr. Barbara Pohl · Frankfurt am Main

Polymere – von den Grundlagen bis zur Anwendung (732/11)

5. – 6. Dezember 2011 · Prof. Dr. Werner Mornann · Frankfurt am Main



Technik (Aqua Regia) vergleichsweise gering. Zu beachten ist, dass die eingesetzten Säuren keine chemischen oder physikalischen Interferenzen bei den spektroskopischen Verfahren erzeugen. Als vorteilhaft für alle Verfahren hat sich ein Gasladedruck von 40–60 bar erwiesen, der vor dem Heizprozess aufgebaut wird. Durch diese Siedepunkterhöhung werden Verschleppungen und Verluste leichtflüchtiger Elementverbindungen von Quecksilber (Hg), Arsen (As), Selen (Se), Osmium (Os) usw. verhindert.

Beim KW-Aufschluss sind Störungen durch organische Matrixreste und stabile Elementverbindungen nicht zu eliminieren und führten dadurch zu Analysefehlern. Ebenfalls nachteilig sind hohe Elementblindwerte durch den Einsatz größerer Chemikalienmengen. Grundsätzlich werden alle Pt-Elemente beim modifizierten KW-Aufschluss als Chloridkomplexe sehr gut in lösliche Formen überführt. Bei hohen Chlorid-Konzentrationen sind jedoch Verluste an leichtflüchtigen Verbindungen wie AsCl_3 und AsCl_5 zu beachten. Durch das bereits erwähnte Druckaufladen des Reaktors vor dem Aufschluss-Start (Heizprozess) im Turbowave-System, wird das vollständig verhindert. Ein weiteres Problem beim Einsatz von Aqua Regia ist die Bildung toxischer, organischer Chlorverbindungen, insbesondere beim Zusatz von Schwefelsäure. Das bedeutet letztendlich, dass eine stöchiometrische Säuremischung (Aqua Regia) für die allgemeine Anwendung in der Praxis nicht gut geeignet ist. Bei der ICP-MS-Technik kann die Analytik durch Chlor-Isotope und deren Verbindungen erschwert und gestört werden. Sämtliche ICP-MS-Messungen wurden deshalb mit der Kollisionstechnik durchgeführt, um die beschriebenen Störungen zu verhindern oder wenigstens zu reduzieren.

Standardreferenzmaterial für die Methodevaluierung

Um möglichst vielen Pharmaprodukten gerecht zu werden wurde eine Mischung aus leicht und extrem schwer aufzuschließenden Substanzen zusammengestellt (Laktose-Anteile und Biphenyl). Der Mischung wurden unterschiedliche Mengen der zu analysierenden Elemente zugesetzt.

Nach erfolgter Homogenisierung und Trocknung dieser Proben wurde die Elementverteilung anhand von Quecksilber als Leitelement überprüft. Diese Tests erfolgten mit einem Dual-Atomabsorptions-Spektrometer Modell DMA-80-III (MLS). Die Verbrennung der Proben bei über 800 °C in Sauerstoff gewährleistet eine extrem empfindliche und störungsfreie Quecksilber-Analyse. Hierzu wurden verschiedene Feststoffeinwaagen von 5–100 mg für jede Analyse eingesetzt. Durch Mehrfachmessungen verschiedener Probensektionen konnte eine verlustfreie Wiederfindung und perfekte homogene Elementverteilung festgestellt werden. Bemerkenswert war, dass durch die hohe Konzentration der Platin-Elemente beim Mischen und vorsichtigen Trocknen der Proben bereits

Pharmazeutisch-chemische Ausbildung an der nta Isny

Die Naturwissenschaftlich-Technische Akademie Prof. Dr. Grübler in Isny bietet seit 66 Jahren ein breites Spektrum an naturwissenschaftlichen Ausbildungen und Studiengängen an.

Ein besonderer Fokus liegt dabei auf dem pharmazeutisch-chemischen Sektor. So wurde der Beruf der Pharmazeutisch-technischen Assistenten (PTA) im Jahr 1967 von dem Firmengründer Prof. Dr. Harald Grübler und dem Isnyer Apotheker Prof. Paul Bauer aus der Taufe gehoben. Heute ist dieser Berufsstand aus den über 20.000 deutschen Apotheken nicht mehr wegzudenken.

Seit fast vierzig Jahren kann an der nta Hochschule Isny, bislang einzigartig in Deutschland, Pharmazeutische Chemie studiert werden.

Im Zuge der Globalisierung, der international geforderten Qualitätskontrollen wird ein hoher Wert auf die Instrumentelle Analytik gelegt.

Durch die intensive Zusammenarbeit mit den Partnerunternehmen erhält die Hochschule wichtige Impulse für die praxisnahe Weiterentwicklung und Ausgestaltung Ihres Studienangebotes.

Test	Synt. STD	Einwaagen (mg Ref. STD)	Hg-Gehalt (µg/kg)	Mittelwert (Hg/kg)	Wiederfindung in %
1	Blindwert	33,6	1,90 µg Hg/kg		
2	Blindwert	110,8	2,10 µg Hg/kg	2,07 (1-3)	
3	Blindwert	118,2	2,20 µg Hg/kg		
4	2	45,5	275,0 µg Hg/kg		
5	2	65,2	273,9 µg Hg/kg	274,9 (4-6)	92,0 %
6	2	56,0	275,9 µg Hg/kg		
7	2b	52,3	278 µg Hg/kg		
8	2b	42,2	280,3 µg Hg/kg	277,2 (7-9)	92,4 %
9	2b	54,8	273,2 µg Hg/kg		
10	1	4,9	29 216 µg Hg/kg		
11	1	5,9	30 945 µg Hg/kg	29780 (10-12)	99,3 %
12	1	5,9	29 170 µg Hg/kg		

katalytisch unterstützte Reaktionen mit der organischen Matrix stattfanden. Das führte zu einer starken Verfärbung der Proben. Besonders reaktiv war der synthetische Standard mit je 2 mg Ir und Os pro 10 g. Das zeigt weiter, dass zu hohe Konzentrationen an Pt-Elementen Veränderungen in organischen Matrices auslösen. Auch der Standard 2 mit 100fach geringeren Konzentrationen zeigt bereits eine deutlich erkennbare Farbänderung gegenüber einer undotierten Probe (Abb. 1).

Optimale Aufschluss-Methoden verhindern Messfehler

Die Aufschlussqualität ist problemlos anhand des Restkohlenstoffgehaltes der Proben nachzuweisen. Der Restkohlenstoff macht sich besonders bei der ICP-OES-Technik im Bereich um und unter 200 nm bemerkbar und erzeugt im Plasma störende CO-Emissionslinien. Bei Aufschlüssen über 290 °C kann praktisch kein störender Kohlenstoff-Restgehalt mehr festgestellt werden. Im Spektrum sind keine nennenswerten CO-Banden mehr sichtbar (Abb. 2).

Ein schnelles, zuverlässiges Aufschlussverfahren mit Totaloxidation der gesamten organischen Matrix ist unbedingt erforderlich. Beim Einsatz von Salpetersäure bei 300 °C wurden selbst die Pt-Elemente ohne Chlorid-Zusatz vollständig wiedergefunden. Bei höheren Konzentrationen der Platinelemente ist ein Zusatz geringer Mengen an Chlorid in Form von 20 %-iger HCl unbedingt erforderlich. Sowohl die Chemikalien als auch die Aufschlusstemperaturen spielen eine wichtige Rolle. Wird der Aufschluss mit Aqua Regia in 2 Stufen durchgeführt, so führt diese Methode bei Konzentrationen zwischen 0,1 und 100 mg zu vergleichbaren Resultaten.

Dabei muss in der ersten Stufe die organische Matrix oxidiert werden. Nachfolgend werden die Pt-Elemente durch HCl-Zusatz in eine lösliche Form gebracht. Bei den ersten Versuchen wurden die Aufschlussmethoden überarbeitet und die Reaktionszeiten verlängert. Danach wurden höhere Temperaturen und verschiedene Säureansätze eingesetzt.

Optimale Qualitäten wurden mit dem Aufschluss b) und c) erhalten unter gleichzeitiger

Eliminierung der chemischen und spektroskopischen Interferenzen. Die einfachen einstufigen Verfahren bei mindestens 290°C führen zu besten Messwerten für alle Elemente. Diese Aufschluss-Methoden sind selbst bei Elementkonzentrationen weit unter den geforderten Grenzwerten mit 100%iger Ausbeute einsetzbar. Vorteilhaft ist zudem, dass praktisch kein merklicher Verschleiß an dem Aufschluss-System gegenüber dem Königswasser-Einsatz feststellbar ist.

Eine Zusammenfassung der Messresultate finden Sie auf www.git-labor.de.

Vergleich verschiedener Aufschluss-Verfahren

- a) KW-Aufschluss nach USP (Mehrstufen-Aufschluss bei 220–240°C)
- b) Aufschluss mit Salpetersäure (HNO₃) bei 300°C
- c) Aufschluss mit HNO₃ und 0,1 ml HCl bei 290°C
- d) Aufschluss mit HNO₃ und 1 ml HCl bei 290°C

Interferenz-Beispiele

Die Kontrolle der Aufschlussqualität erfolgte über die Erfassung des Restkohlenstoffgehalts. Im tiefen UV-Bereich zeigen organische Reste (Kohlenstoffreste und Aromaten) Störungen im Bereich der Elementlinien. Diese Probleme zeigen sich deutlich bei Arsen, Selen, Quecksilber und weiteren Elementen mit Emissionslinien im Bereich von 200 nm. Arsen selbst liegt häufig in Form von extrem stabilen organischen Arsenverbindungen vor. Für die Prüfung der Leistungsfähigkeit der Aufschlussverfahren wurden leichtflüchtige Verbindungen von Quecksilber (Hg) und Selen (Se) eingesetzt. Zudem wurden diese Elemente zusätzlich mit der Hydrid- und Kaltdampf-Technik mit Hilfe der AA- und ICP-Spektroskopie untersucht. Diese grundlegende Arbeit dient als Basis für eine Verbesserung bei der Bestimmung dieser Elemente nach USP und den zukünftigen EN-Normverfahren.

Instrumentelle Ausrüstung

- Probenhomogenisierung: Start-rotaprep- Mikrowellensystem (MLS) und Moulinex Mixer

- Aufschluss-System: Turbowave Hochdruck-Mikrowellensystem (MLS)
- Atomabsorption: ICE 3000 Serie (Thermo Fisher Scientific)
- DMA 80 III Hg-Analysator für Feststoffproben und Flüssigkeiten (MLS)
- ICP-OES: iCAP 6000 Serie (Thermo Fisher Scientific)
- ICP-MS: XSeries2 (Thermo Fisher Scientific)

Zusammenfassung

Für die tägliche Routine sind Probleme durch Matrix-Störungen beim KW-Aufschluss nicht zu vermeiden und führen zu beträchtlichen Messfehlern. Die neu in die Analyseanforderungen aufgenommenen Platin-Elemente bereiten bei Analyse-Methoden mit geringerer Nachweisstärke wie Atomabsorptions- und optische ICP-Spektroskopie Probleme. Die nachweisstarke ICP-Massenspektroskopie (ICP-MS) ist somit für zukünftige Aufgaben deutlich besser gerüstet. Optimale Aufschlussverfahren gewährleisten zuverlässige Resultate. Drücke von 100 – 160 bar mit Temperaturen zwischen 290 und 310°C sind wichtig, um schwierige Elementverbindungen vollständig, ohne Restkohlenstoffanteile aufzuschließen. Das eingesetzte Aufschlussverfahren (Turbowave, MLS) ist für diesen Zweck gut geeignet. Ein hoher Gasvordruck vermeidet Elementverluste und Querkontaminationen und ermöglicht die direkte Mikrowellenbeheizung der Proben sowie den Einsatz eines internen Standards. Der hohe Automationsgrad erleichtert die Gerätebedienung und gewährleistet dem Analytiker eine einfache Methodvalidierung. Quecksilber bereitet bei der ICP-MS-Technik Schwierigkeiten. Hierfür stehen jedoch extrem nachweisstarke und störungsfreie Verfahren wie die Hg-Feststoffanalyse (DMA-80) zur Verfügung.

Um alle 16 Elemente in nur einem einzigen Arbeitgang zuverlässig analysieren zu können, kristallisierten sich zwei Verfahren heraus. Beim ersten Verfahren mit reiner Salpetersäure bei 300°C konnten sogar alle Pt-Elemente vollständig wiedergefunden werden. Beim zweiten Verfahren wurden der Salpetersäure geringe Mengen an Salzsäure (0,1 ml) zugesetzt, um die Platin-Elemente als Chlorid-Komplexe besser in Lösung

zu halten. Der Aufschluss erfolgte bei 290°C. Es zeigte sich somit, dass geringe HCl-Zusätze vorteilhaft sind und keine Probleme (Störungen) bei den spektroskopischen Verfahren hervorrufen. Nur bei sehr hohen Konzentrationen der Platin-Elemente ist ein etwas höherer Chlorid-Zusatz empfehlenswert. Allerdings sollten derart hohe Konzentrationen nicht auftreten. Diese grundlegende Arbeit soll als Basis dienen, die Bestimmung der geforderten 16 Elemente nach USP und den zukünftigen EN-Normverfahren einfacher und zuverlässiger zu gestalten.

Literatur

- [1] Pharmacopeial Forum Vol 36(1) [Jan.-Feb. 2010]
- [2] USP (<231>) Current Revisions on Elemental Impurities [Frankfurt May 24, 2011]
- [3] Vortrag Alex Fichtner USP-Manager Basel 25. May 2011
- [4] Thermo Scientific Messtage AAS, ICP-OES, ICP-MS [Dreieich May 25–26, 2011]

- Praktische Übungen Probenvorbereitung + spektrosk. Messungen mit Pharmazeutischen Firmen
- [5] Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Volume 35, Issue 4, 29 Juni 2004, Pages 739752

Danksagung

Für die technische Unterstützung bedanken sich die Autoren bei der Fa. MLS GmbH, Leutkirch i. Allgäu und Fa. Thermo Fisher Scientific.

Autoren

Prof. Dr. Gerald Grübler, Prof. Dr. Heiner Quast, Dipl. Ing. (FH) Katharina Fenk

KONTAKT

Prof. Dr. Grübler
Naturwissenschaftlich – Technische Akademie gGmbH Hochschule und Berufskollegs
University of Applied Sciences
Isny i. Allgäu
griebler@nta-isny.de

Ausbildung + Studium nta Isny

Wir bilden Techn.

Assistenten aus:
Biotechnologie (BioTA)
Chemie (CTA)
Informationstechnik (AIK)
Pharmazie (PTA)
Physik (PhyTA)

2 Jahre Ausbildung am Berufskolleg. Sie können zugleich die **Fachhochschulreife** erwerben!

Wir bieten das Studium:

Chemie
Pharmazeutische Chemie
Informatik
Physik-Ingenieurwesen

Alle Studiengänge bieten Schwerpunkte! Förderung über BAföG oder Stipendien. Vorbereitungsemester Wohnheime und Mensa

Informieren Sie sich!

Naturwissenschaftlich-Technische Akademie Prof. Dr. Grübler gGmbH, Isny
Staatlich anerkannte Fachhochschule und Berufskollegs
University of Applied Sciences

Seidenstraße 12–35
88316 Isny im Allgäu
Telefon 07562 97070
Telefax 07562 970771
info@nta-isny.de
www.nta-isny.de

