

6.5 Validieren einer Titrationsmethode

Dr. Jürgen Peters

1 Inhaltsangabe

1	Inhaltsangabe.....	1
2	Einleitung	1
3	Übersicht Validierungsmerkmale	1
4	Voraussetzungen für eine Titration	2
5	Prüfmittelüberwachung	5
6	Praktisches Vorgehen.....	9
7	Validieren einer Säure-Base-Titration	14
8	Validieren einer Karl Fischer Titration	19
9	Übertragen auf andere Beispiele	21
10	Zusammenfassung und Hinweise.....	22

2 Einleitung

Die Titration ist ein Analysenverfahren, das schon seit „Jahrhunderten“ eingeführt ist. Francios Descroicilles titrierte schon 1791 den Indigogehalt mit Chlorwasser. Die Präzision von Gay-Lussac, der 1835 mit einer Genauigkeit von 0.05 % den Silbergehalt einer Münze bestimmen konnte, ist auch heute nur mit viel Aufwand zu übertreffen. Eine solche Zahl für die Genauigkeit einer Analysenmethode ist dabei heute mit großer Vorsicht zu genießen. Um heute sicher zu sein, mit einer Genauigkeit von zum Beispiel 0.05 % ein Analysenergebnis erhalten zu haben, muß der Anwender den Nachweis in Form von statistischen Berechnungen und einer Validierung seiner Methode liefern. Dahinter steckt wie eh und je der Wunsch, ein möglichst wahres Analysenergebnis zu erhalten.

Die Titration als Absolutmethode ist ohne den Einfluß physikalischer Effekte direkt auf das Wiegen zurückzuführen. Sie ist über einen weiten Konzentrationsbereich von ppm bis hin zu 100 % Gehalten einsetzbar. Die Titration ist dabei einfach und schnell ohne zu großen apparativen Aufwand durchzuführen. Deshalb stellt sie in vielen Fällen eine einfach zu validierende Methode dar.

3 Übersicht Validierungsmerkmale

Im Folgenden sollen daher die Validierungsschritte einer Titration an dem Beispiel einer Säure-Base-Titration erklärt werden. In Tabellen sind dann Hinweise enthalten, wie andere Titrationsmethoden validiert werden können.

Die einzelnen Bestandteile einer Methodenvalidierung und ihre Bedeutung sind in der Tabelle 1 enthalten.

Validierungsmerkmal	Wichtigkeit	Bedeutung für die Titration
Präzision	++	Ist die Stärke der Titration
Richtigkeit	++	Muß für jede Methode nachgewiesen werden
Wiederfindung	++	Eine Probenvorbereitung ist in der Regel nicht erforderlich
Linearität	++	Die Titration ist eine Methode mit hoher Linearität. Der angewendete Konzentrationsbereich sollte überprüft sein.
Selektivität	+	Viele Titrations sind Summenparameter, in solchen Fällen ist eine Selektivität nicht von Bedeutung. In anderen Fällen muss sie entsprechend nachgewiesen werden.
Robustheit	++	Wichtig für die Übertragbarkeit einer Methode
Nachweisgrenze	o	Entfällt in der Regel bei Methoden zur Gehaltsbestimmung von Hauptkomponenten oder Grenzprüfungen. Nur bei der Gehaltsbestimmung von Nebenkomponten mit geringen Gehalten wird sie bestimmt.
Bestimmungsgrenze	o	Entfällt in der Regel bei Methoden zur Gehaltsbestimmung von Hauptkomponenten. Es wird der Bereich definiert und überprüft, in dem Proben anfallen. In der Regel wird jedoch die Probenmenge angepaßt, um einen gleichmäßigen Verbrauch zu erhalten

Tabelle 1: Bestandteile der Methodenvalidierung für die Titration, o weniger wichtig, + wichtig, ++ sehr wichtig.

In den Anforderungen der internationalen pharmazeutischen Analytik sind die Anforderungen in der Tabelle 2 (Beispiel Amerikanisches Arzneibuch USP) aufgelistet.

Merkmal	Kategorie I (Gehaltsbestimmung)	Kategorie II (Grenzprüfung)	Kategorie II (Quant. Bestimmung)	Kategorie III (Quant. Bestimmung)
Präzision	+	-	+	+
Richtigkeit	+	(+)	+	+
Nachweisgrenze	-	+	-	+
Bestimmungsgrenze	-	-	+	+
Selektivität	+	+	+	+
Bereich	+	(+)	+	+
Linearität	+	-	+	+
Robustheit	+	+	+	+
Vorschriften der USP XXII zur Validierung:				
<ul style="list-style-type: none"> • Kategorie I: Hauptkomponenten • Kategorie II: Nebenprodukte • Kategorie III: Leistungsparameter (Wirkstofffreisetzung) 				

Tabelle 2: Validierungselemente nach USP XXII

4 Voraussetzungen für eine Titration

Die drei Voraussetzungen für die Titrationsen müssen gleichwohl erfüllt sein:

- eine quantitativ ablaufende chemische Reaktion, die in kurzer Zeit nach einer genau definierten Stöchiometrie abläuft,
- ein titerstabiles Reagenz, das präzise dosiert werden kann und
- eine Indikation des Endes der chemischen Umsetzung.

Die Aspekte aller drei Kriterien müssen daher immer wieder bei einer Methodenerstellung überprüft werden. Sie werden unter anderem im Rahmen einer Prüfmittelüberwachung sichergestellt. Die Methodvalidierung setzt darauf auf.

Die Maßzahl der Titration ist nicht, wie oft angenommen wird der pH-Wert oder mV-Wert der Titrationskurve, sondern der Verbrauch des Titriermittels in ml!

Die folgende Tabelle (Tabelle 3) zeigt die verschiedenen Elemente der Analysenmethode Titration und wichtige Aspekte, die bei einer Validierung einer Titrationsmethode beachtet werden müssen.

Analysemmethode Titration		
Chemische Reaktion	Reagenz und Dosierung	Indikation
<ul style="list-style-type: none"> ■ Anwendbarkeit ■ Stöchiometrie ■ Reaktionsgeschwindigkeit ■ Nebenreaktionen 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Titerstabilität des Titrierreagenzes ■ Exakte Dosierbarkeit mit exakten Volumina der Bürette ■ Genau bekannte Zusammensetzung und Gehalt des Reagenzes 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Sensor funktioniert spezifikationsgemäß ■ Sensor ist für die Indikation der chemischen Umsetzung geeignet (selektiv, sensitiv) ■ Ende der chemischen Reaktion ■ Aus Kurve äquivalente Umsetzung ablesbar bzw. berechenbar

Tabelle 3: Elemente der Titrationsmethode und wesentliche Aspekte für die Validierung

Die Tabelle 4 zeigt, wer in der Kette vom Hersteller der Reagenzien über den Gerätehersteller bis zum Anwender bestimmte Anteile der Validierung eines Gesamtsystems beisteuern kann.

	Chemische Reaktion	Reagenz und Dosierung	Indikation
Reagenz-Hersteller	■ Forschung und Publikationen	■ Garantiert Zusammensetzung	
	■ Patente	■ Garantiert Haltbarkeit	
Geräte-Hersteller	■ Erfahrungen	■ Garantiert exakte Dosierung	■ Garantiert Indikationsfunktion
	■ Applikationen	■ Konformitätserklärung	■ Konformitätserklärung
		■ Herstellerprüfzertifikat	■ Herstellerprüfzertifikat
Anwender	■ Validieren	■ Titerstellung	■ Kurvenanalyse
		■ Prüfmittelüberwachung	■ Prüfmittelüberwachung

Tabelle 4: Beiträge zum Gesamtprozess einer Validierung

Alle Aspekte der Definition der Titration müssen abgesichert sein. Die Bedingungen der chemischen Reaktion müssen eingehalten werden. Die genaue Konzentration des Titriermittels muss bekannt sein und die Sensoren zur Detektion müssen nachgewiesenermaßen richtig funktionieren. Die Tabelle 5 zeigt einige (von unendlich vielen) Beispiele(n). Es können an dieser Stelle jedoch nur ganz wenige Beispiele aufgeführt werden.

	Chemische Reaktion	Reagenz und Dosierung	Indikation
Calcium und Magnesium in Trinkwasser	Kompexometrische Titration mit Dinatrium-EDTA. Acetylaceton und TRIS werden als Hilfskomplexbildner eingesetzt und stellen den pH-Wert richtig ein. Sinkt der pH-Wert unter pH 8, werden keine differenzierten Sprünge mehr erhalten. Der pH ist perfekt eingestellt, wenn Ca- und Mg-Sprung die gleiche Höhe haben.	Dinatrium-EDTA. Die Lösung ist leicht alkalisch. Es empfiehlt sich ein CO ₂ Absorptionsmittel (z.B. Natronkalk) auf der Reagenzflasche. Titerstellung mit CaCO ₃ Referenzmaterial.	Ca sensitive Elektrode. Oft ist eine separate Bezugs elektrode erforderlich. Polymermembran-elektroden nach der Reinigung unbedingt trocken lagern. Steilheit prüfen (> 25 mV pro Konzentrations-dekade). Es werden 2 EQs ausgewertet.
Pharmazeutische Basen (Amine)	Titration mit starker Säure (z.B. Perchlorsäure in Eisessig) in nichtwässrigen Lösungsmitteln (Eisessig, Acetanhydrid, Dioxan,...), Neutralisationsreaktion. Wasser nivelliert den Sprung.	Perchlorsäure in Eisessig ist meist gebräuchlich (Alternative Trifluor-methansulfonsäure). Warn- und Sicherheits-hinweise beachten! Titerstellung mit Kaliumhydrogenphthalat Referenzmaterial.	Es werden kombinierte Glaselektroden mit Schlifffdiaphragma an der Bezugs elektrode eingesetzt. Der Innenelektrolyt wird angepasst, z.B. LiCl in Eisessig. Die Elektrode wird in der gleichen Lösung gelagert! Sie muss mit dem Ur titer einen definierten Sprung geben (Δ mV Start und Ende der Titration und/oder Wert der ersten Ableitung in mV/ml)
Chloride	Fällungstitration mit Silbernitrat AgNO ₃ . Der pH-Wert wird in der Regel mit HNO ₃ oder H ₂ SO ₄ eingestellt. Der Probenlösung können oberflächenaktive Substanzen (z.B. Polyvinylalkohol 0,5%ig) zugesetzt werden. Sie dürfen kein Chlorid enthalten (Hydrochloride!) und keine Komplexbildner für Silber.	Silbernitrat. Vorsicht AgNO ₃ ist lichtempfindlich. In dunklen Flaschen aufbewahrt ist die Lösung lange stabil. Silbernitrat kann stark verdünnt werden. Der Sprung ist steiler, wenn die Konzentration höher ist. Es muss bei sehr kleinen Gehalten abgewogen werden, ob der bessere Sprung oder sinnvolle Verbrauch wichtiger ist. Titer mit NaCl Referenzmaterial.	Es wird eine Silberindikatorelektrode eingesetzt. Die Referenzelektrode kann eine normale Bezugs elektrode sein (oft mit Platindia-phragma) oder eine eingebaute Glaselektrode. Bei einem flüssigen Referenzelektrolyt wird KNO ₃ eingesetzt (2 mol/l mit 0,001 mol/l KCl). Die Silberelektrode kann beschichtet sein (z.B. AgS). Bei 1 mmol Chlorid sollte der Sprung mindestens 250 mV betragen.

Tabelle 5: Beispiele für Titrationsen und beachtenswerte Aspekte

5 Prüfmittelüberwachung

Der Hersteller eines Titrationsgerätes garantiert also die Funktion seines Gerätes. Dies prüft er zum Beispiel nach den Kriterien, die in den entsprechenden Tabellen enthalten sind (Tabelle 5 bis 9). Der Anwender kann für seine Prüfmittelüberwachung alle diese Merkmale übernehmen oder eine für sich sinnvolle Auswahl treffen. Natürlich hängen solche Kriterien auch von der Ausstattung des Gerätes ab. Die Punkte in den hellgrauen Feldern empfehlen sich vor dem Einsatz zu prüfen. Dies dauert nur wenige Sekunden, die meisten Punkte sind ja mit einem Blick erfassbar, vermeidet aber oft sehr kostspielige Reparaturen und unsichere Ergebnisse.

Sichtprüfung	
Anzeige	Segmente prüfen: Vollständigkeit, Helligkeit, Gleichmäßigkeit; Sonderzeichen prüfen
Steckkontakte	Korrosion, Festigkeit, Verbiegung, Vollständigkeit, Beschädigung der Stecker-Gehäuse
Schalter + Potis	Korrosion, Leichtgängigkeit, Rast- und Endstellungen, mechanische Festigkeit, Beschriftungen
Gehäuse	Beschädigungen, Funktionsbeeinträchtigung
Zylinder, Kolben	Beschädigungen, Abnutzung, Glaseintrübung, Glasoberflächen (innen und außen)
Kolbenstange	Korrosion, Beschädigungen
Dichtungen	Flüssigkeitsaustritt, Risse, Verformungen
Schläuche	Abknickungen, Beschädigung, Verbindung/Verschraubung, Flüssigkeitsaustritt, Lufteintritt
Innerer Aufbau	Allgemeiner Zustand
Leiterplatten	Beschädigungen, insbes. Korrosion der Leiterbahnen, der Bauteile, der Lötstellen, der Stecker
Funktion - Mechanik	Korrosion und Beschädigungen des Antriebssystems, insbesondere der Spindel, Spiel der Mechanik,

Tabelle 5: Sichtprüfung

Schnittstellen	
RS-232-C	Funktionsprüfung: Übertragen von Daten auf einen Prüf-PC mit Terminalprogramm
andere	Praktische Funktionsprüfung, z. B. SGH-Schnittstelle mit angeschlossenem SGH-Gerät
Schreiberausgang	Messen von 3 Spannungen, verteilt über den Bereich
Reglereingang	Praktische Funktionsprüfung mit dem korrespondierenden Gerät
Rühreranschluß	Praktische Funktionsprüfung mit angeschlossenem Rührer
Centronics	Drucker anschließen, 5 Werte übertragen

Tabelle 6: Schnittstellen

Elektronik	
Meßverstärker	Prüfen und Neu-Justieren nach Abgleichanleitung
Regelverhalten	Sichtprüfung der sicherheitsrelevanten Verbindungen
Elektr. Sicherheit	Messen nach Norm

Tabelle 7: Elektronik

Dialogsystem	
Tastaturfunktion	Menue-Durchlauf, Prüfen der Funktionstasten.
Parametereingabe	Menue-Durchlauf mit Halt an fünf Positionen, die vorher durch Zufallsentscheid bestimmt wurden. Dort Eingabe von sinnvollen Parametern. Prüfen ob die angezeigten mit den eingegebenen Werten/Zeichen übereinstimmen.

Tabelle 8: Dialogsystem

Zusätzlich bei QS-Prüfungen	
Zertifikat	Es wird ein Qualitätsprüfzertifikat nach DIN 55350-18-4.2.2. ausgestellt. Dieses Dokument ist in Qualitätsmanagementsystemen nach DIN EN ISO 9000 ff verwendbar. Die Ausstellung erfolgt nur durch Personen, die von Geschäftsführung und Qualitätsmanagement ernannt worden sind
Spindelweg	Mit Höhenmeßeinrichtung an 3 Punkten messen: 10%, 50%, 100% , Soll-Ist-Vergleich
Spindelkraft	Messen des Maximums mit Kraftmeßgerät
pH/mV-Bereiche	Soll/Ist-Vergleich der Meß-Abweichungen an je 3 Punkten
Temperaturbereich	wie pH/mV-Bereich
Dead-Stop-Bereich	wie pH/mV-Bereich
Volumen nach ISO 8655 Teil 6	Auswägen mit Wasser

Tabelle 8: Zusätzliche QS-Prüfungen, (mit Ausnahme der ISO Prüfung) nur vom Hersteller möglich.

Da das Volumen die Maßzahl der Titration ist, muss das Volumen der Bürette in einem Titrator auf jeden Fall stimmen! Die Norm für die Titration ist daher die Norm, die die Richtigkeit des Titrationsvolumens definiert: DIN EN ISO 8655! Im Teil drei sind die Spezifikationen für die Bürettengenauigkeit beschrieben (Tabelle 9), in Teil sechs die gebräuchliche gravimetrische Prüfung mit Wasser und in Teil sieben ist eine Titrationsmethode am Beispiel der Chloridtitration enthalten.

Nennvolumen [ml]	Fehlergrenze	
	Systemat. Meßabweichung [%]	Variationskoeffizient [%]
1	0,6	0,10
5	0,3	0,10
10	0,2	0,07
20	0,2	0,07
50	0,2	0,05

Tabelle 9: Genauigkeit von Büretten nach DIN EN ISO 8655 Teil 3

Üblicherweise werden mit den Titrationsgeräten und Büretten Konformationsbescheinigungen mitgeliefert. In diesen wird bestätigt, dass die Geräte die DIN EN ISO 8655 Teil 3 einhalten. Oft werden auch noch genauere Werte spezifiziert. Diese Bescheinigung sagt aber nicht aus, dass genau dieses Gerät geprüft wurde. Eine solche Bestätigung ist erst in einem Herstellerprüfzertifikat enthalten. In diesem werden die individuellen Prüfergebnisse eines Titrators oder einer Bürette dokumentiert und bestätigt.

In diesem Prüfverfahren werden zehn mal 10% des Bürettenvolumens, zehn mal 50% des Bürettenvolumens und zehn mal 100% des Bürettenvolumens auf eine Waage dosiert. In der Regel wird mit einer Analysenwaage gearbeitet, so nach einigen Dosierungen die Vorlage geleert werden muss. Die Tabelle 11 zeigt ein Beispiel einer solchen Prüfung. Es sind 10 Dosierungen von 10% des Kolbenvolumens auf die Waage erfolgt. Das angezeigte Gewicht wird mittels von Tabellenwerten in der Norm unter Berücksichtigung der Dichte des Wassers bei der aktuellen Temperatur und des Luftdrucks in das real dosierte Volumen umgerechnet. Es wird die Differenz des Mittelwertes in Bezug zum Zylindervolumen als systematischer Fehler berechnet und die Standardabweichung als zufälliger Fehler. Die Berechnung erfolgt nach den Formeln in Tabelle 10.

Formel 1:	Berechnetes Volumen	Einzelvolumen * Korrekturfaktor
Formel 2:	Mittelwert Berechnetes Volumen	Mittelwert der der 10 Wägungen
Formel 3:	Systematische Messabweichung in%	$100 * (\text{Mittelwert} - \text{Prüfvolumen}) / \text{Nennvolumen}$
Formel 4:	Wiederholbarkeit Standardabweichung (sr)	siehe nebenstehende Formel
Formel 5:	Variationskoeffizient	$100 * sr * \text{Prüfvolumen} / \text{Mittelwert} / \text{Nennvolumen}$

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (V_i - \bar{V})^2}{n-1}}$$

Tabelle 10: Berechnung der „Bürettengenauigkeit“.

Der systematische Fehler beinhaltet also die Abweichung des realen Bürettenvolumens vom Sollvolumen. Der zufällige Fehler beinhaltet in der Praxis überwiegend eine Aussage über die Genauigkeit der praktischen Durchführung der Prüfung.

	% Zylinder-Volumen (Ex)	Angezeigtes Volumen [ml]	Gewicht [g]	Berechnetes Volumen [ml]	Differenz (Solvol.-Istvol.) [ml]	Vi-Vmittel	Mittelwert dosiertes volumen	Systematische Messabweichung [%]	Zufällige Messabweichung Variationskoeffizient [%]
1	10	2,000	1,987	1,994	0,006	0,001	1,993	-0,037	0,029
2		2,000	1,985	1,992	0,008	-0,001			
3		2,000	1,995	2,002	-0,002	0,009			
4		2,000	1,982	1,989	0,011	-0,004			
5		2,000	1,979	1,986	0,014	-0,007			
6		2,000	1,985	1,992	0,008	-0,001			
7		2,000	1,978	1,985	0,015	-0,008			
8		2,000	1,994	2,001	-0,001	0,008			
9		2,000	1,990	1,997	0,003	0,004			
10		2,000	1,982	1,989	0,011	-0,004			
1	50	10,000	9,987	10,022	-0,022	0,001	10,021	0,103	0,029
2		10,000	9,985	10,020	-0,020	-0,001			
3		10,000	9,995	10,030	-0,030	0,009			
4		10,000	9,982	10,017	-0,017	-0,004			
5		10,000	9,979	10,014	-0,014	-0,007			
6		10,000	9,985	10,020	-0,020	-0,001			
7		10,000	9,978	10,013	-0,013	-0,008			
8		10,000	9,994	10,029	-0,029	0,008			
9		10,000	9,990	10,025	-0,025	0,004			
10		10,000	9,982	10,017	-0,017	-0,004			
1	100	20,000	19,987	20,057	-0,057	0,001	20,056	0,278	0,029

2	20,000	19,985	20,055	-0,055	-0,001			
3	20,000	19,995	20,065	-0,065	0,009			
4	20,000	19,982	20,052	-0,052	-0,004			
5	20,000	19,979	20,049	-0,049	-0,007			
6	20,000	19,985	20,055	-0,055	-0,001			
7	20,000	19,978	20,048	-0,048	-0,008			
8	20,000	19,994	20,064	-0,064	0,008			
9	20,000	19,990	20,060	-0,060	0,004			
10	20,000	19,982	20,052	-0,052	-0,004			

Tabelle 11: Beispiel einer Prüfung des Bürettenvolumens nach ISO 8655 Teil 6.

Da die meisten automatischen Motorkolbenbüretten nicht kalibriert werden müssen, ist eine Volumenprüfung nach diesen Normen nur selten erforderlich. Erfahrungsgemäß sind Sichtprüfungen in kürzeren Zeiträumen sinnvoll. Die aufwendigere Volumenprüfung sollte dennoch einmal im Jahr durchgeführt werden, bei starker Beanspruchung oder einer einmal erkannten Abweichung auch häufiger.

Ein praktischer „Ersatz“ (hält nicht nach Norm) in der Routine ist eine Titerstellung mit einem Standard oder Ur­titer bei dem mit verschiedenen Titrivolumina gearbeitet wird. Dabei werden die Volumina so gewählt, daß der gleiche Mengenbereich wie bei den Proben erfaßt wird und gleichzeitig unterschiedliche Positionen der Kolbenbürette vorliegen.

Da die Maßzahl der Titration das richtige Volumen ist, kann auf eine Prüfung nach dieser ISO nicht verzichtet werden. Darüber hinaus muss noch auf folgende Punkte hingewiesen werden:

- Das Soll-Volumen bezieht sich auf 20 °C. Andere Temperaturen führen zu einem anderen Volumen in Abhängigkeit von der Dichte der Maßlösung.
- Es sind zwei unterschiedliche Einflüsse der Temperatur zu unterscheiden: Der Dichteunterschied der Titrierlösung bei verschiedenen Temperaturen als wichtigster Faktor und der thermische Ausdehnungskoeffizient des Borosilikatglases des Bürettezylinders.
- Eine Titrierlösung wie Perchlorsäure in Eisessig hat eine größere Abhängigkeit der Dichte von der Temperatur als Maßlösungen in Wasser (Abbildung 1).

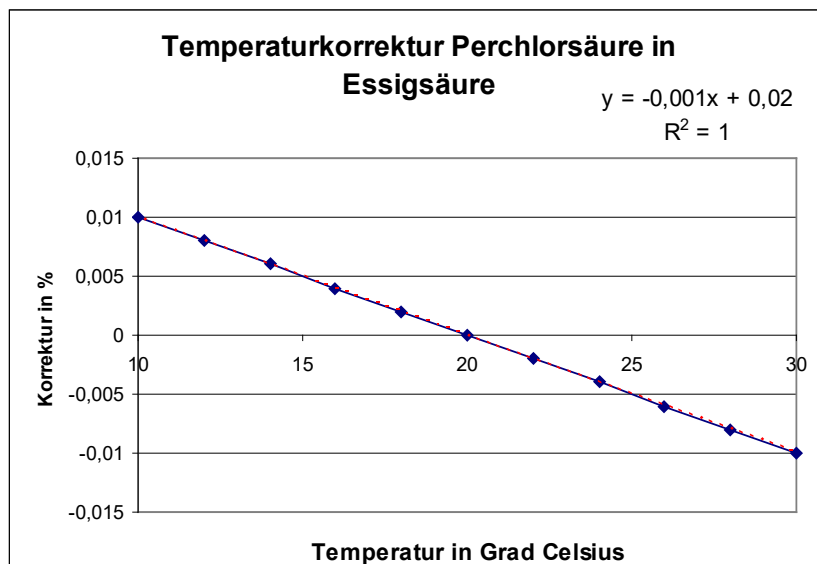


Abb. 1: Volumenkorrektur einer Maßlösung in Essigsäure

Die Wahl des richtigen Volumens ist für die Titration auch sehr wichtig. Alleine durch die Definition nach ISO 8655 sind kleinere Volumina mit (relativ) größeren Fehlern behaftet. Dies ist aus der Abbildung 2 ersichtlich. Ein absoluter Fehler von 0,04 ml bei 1 ml nach ISO bedeutet einen relativen Fehler von 4%!

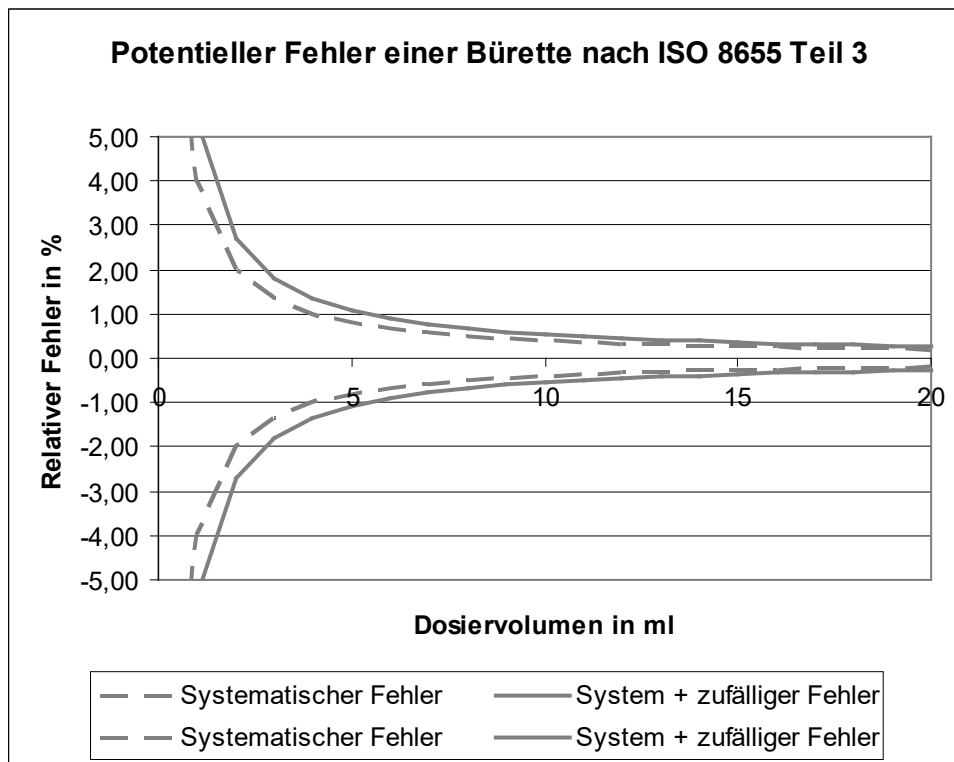


Abbildung 2: Relativer Fehler in Abhängigkeit von Dosiervolumen nach ISO

In der Praxis sind die Büretten natürlich viel genauer. Bei einer Unsicherheitsbetrachtung würde man jedoch den in der ISO erlaubten Fehler ansetzen.

6 Praktisches Vorgehen

Die Stöchiometrie der Reaktion wird in aller Regel bekannt sein. Wenn bei einer bestimmten Anwendung mit Nebenreaktionen zu rechnen ist, gibt es verschiedene Methoden, dies herauszufinden:

- Veränderung der Temperatur (z.B. eine langsamer ablaufende Nebenreaktion wird bei niedrigerer Temperatur nicht mehr ins Gewicht fallen).
- Zugabe eines Standards zu einer Probe (der Standard muß wiedergefunden werden).
- Zugabe einer weiteren definierten Menge Probe nach beendeter Titration (im Unterschied zu den Titrationsen, bei denen direkt mit unterschiedlichen Mengen gearbeitet wird).
- Zugabe von Hilfsreagenzien, die vom Titriermittel nicht erfaßt werden, wohl aber die Konzentration der zu bestimmenden Komponente oder einer Matixkomponente verändern (Maskierungen, Fällungen).
- Veränderung der Titrationsgeschwindigkeit.
- Weitere spezifischere Methoden sind möglich.

Bei einem Beispiel einer Säure-Base Reaktion wird Salzsäure vorgelegt und mit Natronlauge titriert. Die Reaktion ist schnell, quantitativ und läuft nach einer einfachen 1:1 Stöchiometrie ab. Es können jedoch eine Reihe von Nebenreaktionen eintreten. In der Atmosphäre gibt es einen Anteil von CO_2 , der natürlich mit der Reaktion im Titriergefäß im Gleichgewicht steht. Eine zu lange Titration bei hohen pH-Werten kann zu einem falschen Ergebnis führen. Wenn die Probe mit Wasser verdünnt wird, muß auf die Qualität des Wassers geachtet werden. Durch Ionenaustauscher gereinigtes Wasser kann Säuren enthalten, die durch den Austausch der Kationen erzeugt werden. Häufig enthält deionisiertes Wasser auch Kohlensäure.

Die in diesem Beispiel verwendete Natronlauge als Reagenz ist besonders empfindlich gegen die Aufnahme von CO_2 aus der Luft. Sie braucht deshalb als Schutz ein CO_2 -Adsorptionsmittel, z.B. Kalknatron oder Calciumhydroxid. Die Dosierung von Laugen mit einer Glasbürette oder Motorkolbenbürette bereitet für die in der Maßanalyse verwendeten Konzentrationen kaum Probleme.

Es muß jedoch auf den Zustand des Glaskolbens der Büretten geachtet werden. Die Richtigkeit des Bürettenvolumens kann dabei nach ISO 8655 überprüft werden.

Die Indikation der Reaktion erfolgt mit einer Glaselektrode, die den pH-Wert der Lösung selektiv erfassen kann. Die Elektrode muß fachgerecht gelagert werden, z.B. in einer KCl-Lösung. Das Diaphragma muß sauber und unbeschädigt sein. Die meisten Elektrodenprobleme entstehen durch ein verstopftes Diaphragma. Die Nachfüllöffnung der Elektrode muß jetzt noch geöffnet werden, damit die Salzlösung durch das Diaphragma nach außen diffundieren kann. Eine Kalibrierung der Elektrode zeigt darüber hinaus über Steilheit, Nullpunkt und Einstellzeit ob die Elektrode einsetzbar ist. Die Tabelle 12 zeigt die Kriterien, die als Voraussetzung vor einer Säure-Base Titration erfüllt sein müssen.

Titrationmerkmal	Was muß überprüft werden	Kriterium für eine einwandfreie Titration	Maßnahmen und Bemerkungen
Reaktion	Nebenreaktionen	Keine Verunreinigungen	
	Wasserqualität	Kein CO ₂	Entgasen
		Leitfähigkeit < 10 µS/cm	Destillieren, Kochen
Titrationdauer	Nicht zu schnelle oder langsame Titration		
Reagenz	Korrektur Gehalt	Titer 1.00 +/- 0.02	Titerstellung mit einem Ur-titer oder Standard
	CO ₂ - Aufnahme bei Basen		CO ₂ - Adsorber
	Zustand des Dosierkolbens	Dichtigkeit	Sichtprüfung
	Zustand der Leitungen und Ventile	Dichtigkeit	Keine Luftblasen beim Dosieren
Keine Knicke		Einwandfreies Dosieren	
	Richtigkeit Bürettenvolumen	Abweichungen kleiner als 0.27 % vom Gesamtvolumen (beispiel 20 ml) der Bürette oder Herstellerspezifikation	Prüfen nach ISO 8655
Indikation Glaselektrode	Lagerung		In KCl - Lösung lagern
	Kalibration	Steilheit 95 % bis 100 %	
		Nullpunkt 7.00 +/- 0.30	
		Einstellzeit kurz	
	Diaphragma	An der feuchten Elektrode tritt KCl am Diaphragma aus	Mit heißem Wasser innen und außen reinigen bei Verstopfung
	Nachfüllöffnung	Offen bei der Titration	
Luftblasen in der Elektrode	Keine Luftblasen in der Elektrode	Schütteln	

Tabelle 12: Überprüfen der Voraussetzungen für die Titration und einfache Maßnahmen.

Die meisten Fehler treten in der Praxis genau an diesen Stellen auf. Wenn alle Bedingungen sorgfältig eingehalten sind, bereitet die nachfolgende Methodenvalidierung meist keine Schwierigkeiten.

Jetzt sind Titrationsverfahren nicht wirklich etwas Neues. Seit über 200 Jahren gibt es die Titration und tausende Normen und Beschreibungen weltweit legen fest, wie eine Probe in einer bestimmten Matrix titriert wird. Diese Normen gelten im Allgemeinen bereits als validiert. Ein Beispiel sind die Titrationsmethoden im Europäischen Arzneibuch. Dies bedeutet jetzt natürlich nicht, dass keine

Prüfung mehr erforderlich sei! Der Anwender selbst steht in der Verantwortung nachzuweisen, dass diese Methode in seinem Labor für diese Probe so verwendet werden kann.

Im Pharmalabor wird dem schon beginnend mit der Anschaffung des Titrationssystems Rechnung getragen. Mittels IQ wird nachgewiesen, dass der Titrator richtig installiert wurde. Meist werden dann schon die ersten Titrations durchgeföhrt. Es empfiehlt sich, direkt den Titer der Titrationsreagenzien zu bestimmen. Mittels OQ wird dann nachgewiesen, dass der Titrator den Anforderungen in diesem Labor genügt. In der Regel werden dann schon Proben titriert. Der Nachweis gelingt mit Linearitätstests mit Anforderungen, wie an diesem Arbeitsplatz definiert sind. Hierbei wird nicht mehr eine komplette Validierung durchgeföhrt, sondern nur eine „Kurzform“ mit dem Schwerpunkt des Linearitätstests (Abbildung 3).

Merkmal	Kategorie I (Gehaltsbestimmung)	Kategorie II (Grenzprüfung)	Kategorie II (Quant. Bestimmung)	Kategorie III (Quant. Bestimmung)
Präzision	+	-	+	+
Richtigkeit	+	(+)	+	+
Nachweisgrenze	-	+	-	+
Bestimmungsgrenze	-	-	+	+
Selektivität	+	+	+	+
Bereich	+	(+)	+	+
Linearität	+	-	+	+
Robustheit	+	+	+	+

Vorschriften der USP XXII zur Validierung:

- Kategorie I: Hauptkomponenten
- Kategorie II: Nebenprodukte
- Kategorie III: Leistungsparameter (Wirkstofffreisetzung)

Abbildung 3: Die wichtigsten Validierungselemente bei der Titration.

Aus den Daten der Linearität lassen sich die Angaben für den Bereich und Richtigkeit in aller Regel ableiten. Die Selektivität ist bei den Titrations, vor allen Dingen bei Gehaltsbestimmungen von Hauptkomponenten, nur erforderlich, wenn im Gemisch mehrere Komponenten vorliegen. Die Auswertung der Linearität bietet aber auch hier wichtige Hilfestellung. Viele Probleme können direkt aus der Auswertung erhalten werden. In Tabelle 13 ist mit einer 4 fach Bestimmung mit unterschiedlichen Probenmengen mittels einer verstellbaren Pipette titriert worden. Es handelt sich um eine Redox Titration von Chrom (VI).

Menge Probe	ml	Ergebnis
0,2000	0,8558	21,4
0,4000	2,0596	25,7
0,6000	3,2748	27,3
0,8000	4,4574	27,9
	Mittel	25,6
	SD	2,5
	RSD	9,9

Tabelle 13: Ergebnisse einer Vierfachbestimmung einer Titration

Die relative Standardabweichung von fast 10% ist inakzeptabel. Werden die Daten in einer Geraden dargestellt und die Linearität mittels einer Ausgleichsgeraden bestimmt, erkennt man einen negativen Nullpunkt. Dies würde bedeuten, wenn keine Probe im Becherglas ist, hätte man einen Verbrauch von -0,3431 ml! Das ist natürlich unmöglich, da muss etwas nicht in Ordnung sein!

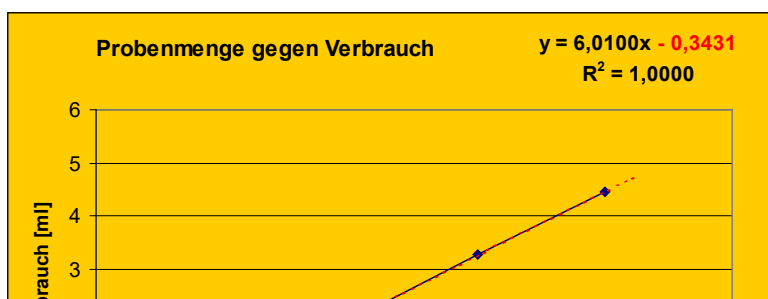


Abbildung 4: Linearität des Experimentes von Tabelle 13

Da kein Nachweis der „Genauigkeit“ der Pipette vorlag, wurde eine Prüfung nach ISO 8655 Teil 6 durchgeführt. Es ergab sich ein additiver Fehler von 0,058 ml. Werden die Volumina in Tabelle 13 mit diesem Volumen korrigiert (Tabelle 14), ergibt sich eine deutlich kleinere relative Standardabweichung und auch eine bessere Linearität (Abbildung 5).

Korrekturfaktor Pipette:		0,0580
Menge Probe	ml	Ergebnis
0,1420	0,8558	30,1
0,3420	2,0596	30,1
0,5420	3,2748	30,2
0,7420	4,4574	30,0
	Mittel	30,1
	SD	0,1
	RSD	0,2

Tabelle 14: Ergebnisse aus Tabelle 13 volumenkorrigiert

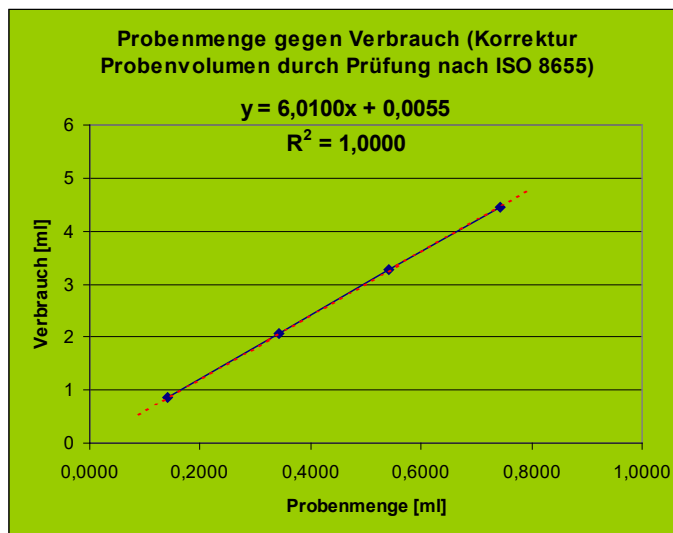


Abbildung 5: Linearität des Experimentes von Tabelle 13 volumenkorrigiert

Dieses Beispiel zeigt deutlich den Wert von Linearitätsbetrachtungen. Schon bei einer einfachen Mehrfachbestimmung kann man mit unterschiedlichen Probenabmessungen durch die Darstellung der Linearität auf Probleme aufmerksam werden. Es ist zu beachten:

- Die Verbräuche sollten eine bestimmte Mindestmenge nicht unterscheiden (siehe Abb. 2).
- Die „Unsicherheit“ des Ergebnisses ist nicht bei allen Verbräuchen gleich!
- Es werden keine RSD (**R**elative **S**tandard **D**eviation) Werte für die einzelnen Verbräuche erhalten, sondern nur für das berechnete Ergebnis (siehe Tabellen 13 und 14)
- Um auch für unterschiedliche Verbräuche RSD-Werte zu erhalten, die für die Festlegung des Bereiches des Analysenverfahrens benötigt werden, müssen an jedem Punkt

Mehrfachbestimmungen durchgeführt werden. Achtung: Wird mit Einwaagen gearbeitet, sind diese oft nicht wirklich gleich, jedoch kann der sich daraus ergebende Fehler oft im Verhältnis zu anderen Fehlern vernachlässigt werden.

Mit zunehmendem Einsatz der Photovoltaik werden mehr und mehr Analysen in diesem Bereich erforderlich. Die Abbildung 6 zeigt eine Titrationskurve eines typischen Ätzbades zur Reinigung der Siliziumwafer. Dieses Ätzbad enthält Salpetersäure und Flußsäure, im Laufe der Zeit wird immer mehr Silizium abgelöst. Das gelöste Silizium reagiert zur Hexafluorokieselsäure. Diese reagiert mit der Natronlauge des Titriermittels zu Siliziumtetrahydroxid.

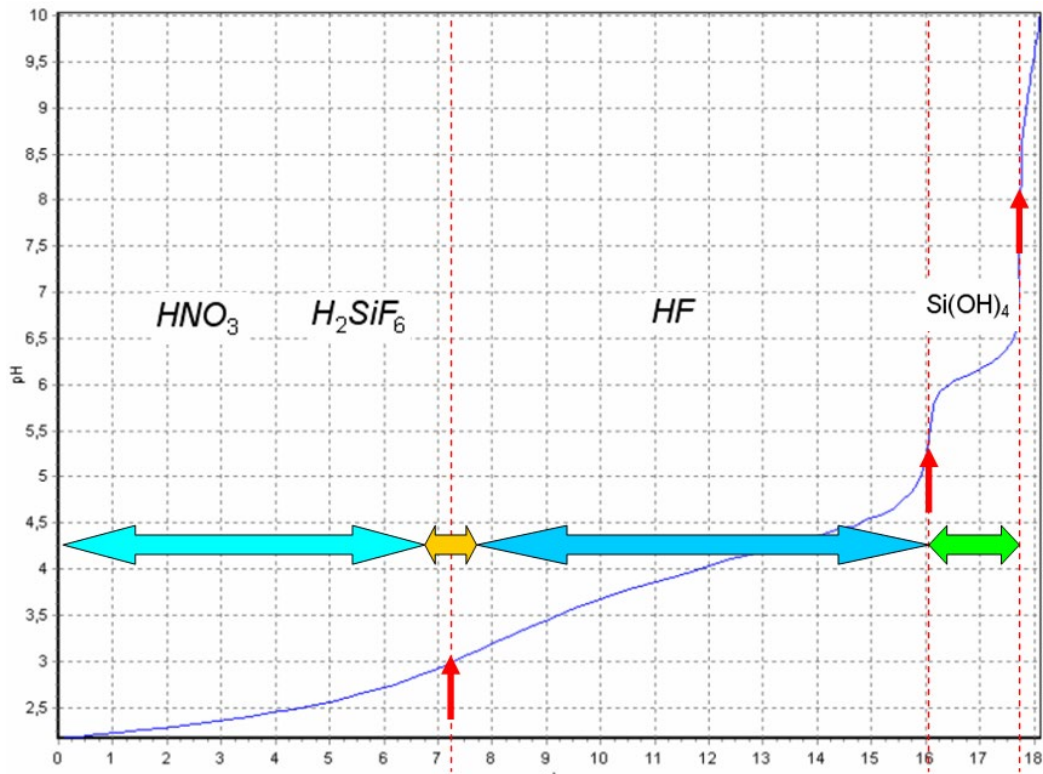


Abbildung 6: Titrationskurve eines Ätzmischtes von Siliziumwafern

Bei der Darstellung der Linearitäten fällt in Abbildung 7 auf, dass der Siliziumgehalt zwar eine gute Linearität aufweist, die Gehalte an HNO_3 und HF jedoch ein Problem am Nullpunkt aufweisen. Offensichtlich wird zu wenig HNO_3 und entsprechend zuviel HF gefunden. Da die Geraden aber eine akzeptable Linearität aufweisen, erkennbar am R^2 -Wert (Bestimmtheitsmaß) von ca. 0,998, kann die Methode mit einem Korrekturfaktor validiert werden.

Dieses Beispiel weist auf die Problematik hin, wenn bei einer Mehrfachbestimmung die Ergebnisse voneinander abhängen. Die gleiche Problematik kann z.B. auftreten bei:

- Rücktitrationen
- Höheren Blindwerten
- Mehreren Säuren in einer Titrationskurve
- Mehrere Sprünge bei Redox- Fällungs- oder Komplexbildungsreaktionen
- Blindwerten, die innerhalb derselben Titration detektiert werden, z.B. bei indirekten Hydrochloridtitrationen nach Europäischen Arzneibuch, bei der freie Säure im Überschuss zugesetzt wird.

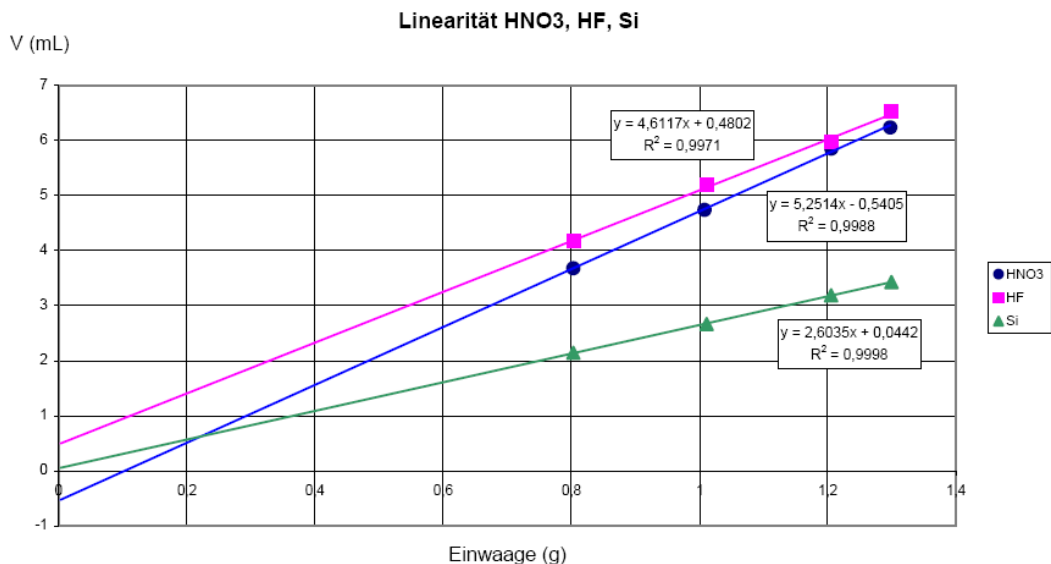


Abbildung 7: Linearität eines Ätzgemisches von Siliziumwafern

Wenn die Reaktionsbedingungen so eingestellt werden können, dass nur ein Sprung erhalten wird, ergeben sich solche Risiken nicht. Es können andere hierbei natürlich andere Probleme auftreten, die alle zu diskutieren, diesen Beitrag sprengen würden.

Vor einer Validierung sollte man sich mittels einer Unsicherheitsbetrachtung über die Unsicherheiten der einzelnen Merkmale der Titration im Klaren sein. Dies hilft, die „größten Brocken“ zu erkennen und viele Probleme zu vermeiden.

Bei einer Säure Base Titrationen sind die Unsicherheiten in Abbildung 8 zu erkennen. Die Unsicherheit des Volumens nimmt den größten Teil ein, hauptsächlich bestimmt durch die Unsicherheit basierend aus der ISO 8655 und Temperatureinflüssen. An zweiter Stelle kommt die Unsicherheit der Konzentration des Titrimittels, die im wesentlichen darauf basiert, dass sie durch eine Titration bestimmt wurde, die natürlich auch schon mit einer Unsicherheit behaftet ist.

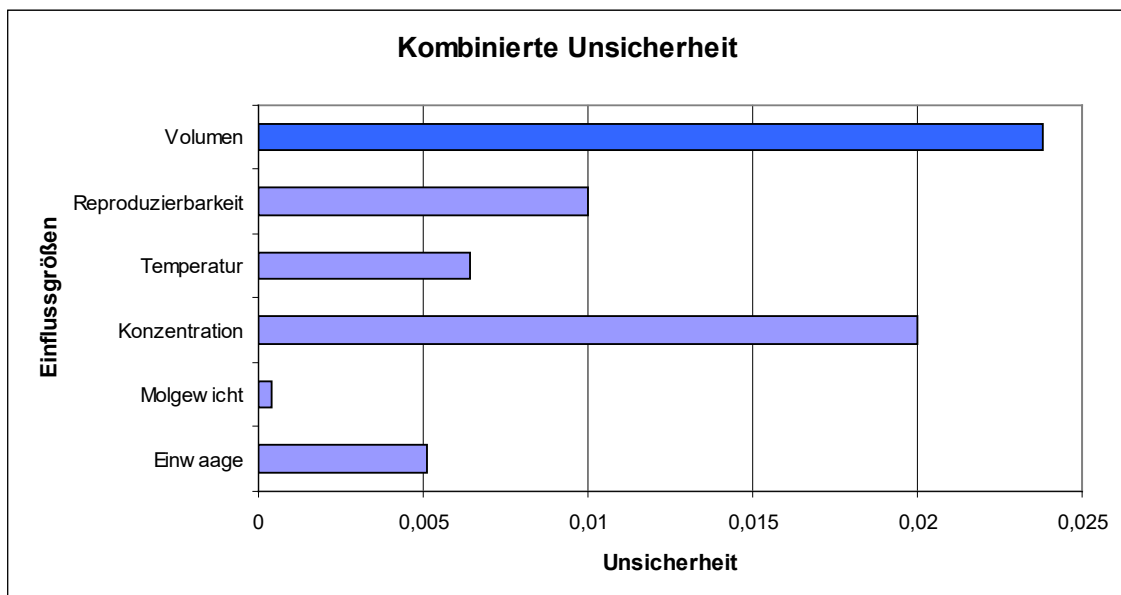


Abbildung 8: Kombinierte Unsicherheiten einer Säure Base Titration

7 Validieren einer Säure-Base-Titration

Die häufigste Anwendung ist die Säure-Base-Titration. Sie soll daher als Beispiel für das Vorgehen bei der Validierung herangezogen werden. Andere Titrationsarten verhalten sich im Prinzip gleich. Es werden zur Titerstellung andere Chemikalien oder Standards eingesetzt. Jede Titrationsart hat natürlich auch eine entsprechende Elektrode, die wie die Glaselektrode nach den Anweisungen des Herstellers richtig behandelt werden muß.

Bevor die einzelnen Validierungsmerkmale überprüft werden, muß natürlich die Anwendbarkeit einer Titrationsmethode für eine bestimmte Probe sichergestellt sein. Diese Überprüfung wird bei vielen Anwendungen durch die Merkmale Wiederfindung und Linearität erfaßt. Weitere Aspekte wurden schon bei der Beschreibung der Voraussetzungen erwähnt. In dem späteren Anwendungsbeispiel des Essigs wird dies durch die Aufstockung der Probe mit Standard erreicht.

Die einzelnen Validierungsmerkmale werden in der Tabelle 3 beschrieben.

Validierungsmerkmal	Vorgehen
Präzision	Mehrfachbestimmung einer definierten, möglichst gleichen Probenmenge (6-fach bis 10-fach).
Richtigkeit	Titration eines Urstoffs oder Standards mit dem gleichen Titriermittel.
Wiederfindung	Zu der Probenmatrix wird eine definierte Menge hinzugegeben (Aufstockung, Standard-Addition).
Linearität	Es werden die gleichen Versuche wie für die Präzision mit unterschiedlichen Probenmengen durchgeführt. Als Anhaltspunkt wird die kleinste vorkommende Probenmenge und die größte vorkommende Probenmenge eingesetzt. Es empfehlen sich mindestens zwei bis drei zusätzliche Konzentrationen in möglichst gleichen Abständen.
Selektivität	Wenn die Wiederfindung und die Linearität erfüllt sind, sind in der Regel keine weiteren Versuche für die Selektivität bei der Titration erforderlich.
Robustheit	Die Bestimmungen sollten in mehreren Laboratorien mit unterschiedlichen Arbeitsbedingungen (Personal, Titratoren,..) als Ringversuch durchgeführt werden. Alternativ können die charakteristischen Merkmale definiert und variiert werden: <ul style="list-style-type: none"> • Elektroden • Lösungsmittelmengen • Temperatur • Rührgeschwindigkeit • Titriergerät • Titrationsparameter
Nachweisgrenze	Die Nachweisgrenze muß für eine Gehaltsbestimmung in der Regel nicht bestimmt werden.
Bestimmungsgrenze	Anstelle der Bestimmungsgrenze werden schon mit der Linearitätsprüfung die Grenzwerte der Methodengültigkeit erhalten.

Tabelle 15: Vorgehen für die einzelnen Validierungsschritte.

Es soll in der Qualitätskontrolle ein 30%iger Essig untersucht werden. Die Gehaltsbestimmung soll per Titration erfolgen.

Das praktische Vorgehen kann dabei nach dem folgenden Schema (Tabelle 5) ablaufen:

Beispielprobe: Wässrige Essigsäure ca. 30 %ig

Titriermittel: NaOH 1.00 mol/l

Einen wichtigen Anteil an der Richtigkeit haben die genaue Konzentration des Titriermittels und die Richtigkeit des Bürettenvolumens. Das unten beschriebene Verfahren würde wichtige Hinweise auf beide Probleme geben.

Arbeits-schritt	Validierungs-merkmal	Durchzuführende Arbeit
1	Richtigkeit	<p>Bestimmung des Titers der NaOH durch Titration mit Kaliumhydrogenphthalat als Ur-titer:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Das Kaliumhydrogenphthalat (Ur-titersubstanz) wird bei 120°C zwei Stunden getrocknet. • Es werden sechs Proben mit ca. 2 g Kaliumhydrogenphthalat auf drei Stellen hinter dem Komma genau eingewogen und mit den vom Hersteller angegebenen Parametern titriert (dynamisch, schnell, auf Äquivalenzpunkt) • Für jede Titration (etwa 10 ml Verbrauch) wird der Titer berechnet: $\text{Titer} = \frac{\text{Verbrauch [ml]} \cdot 204.233}{(\text{Einwaage [g]} \cdot 1000)}$ • Es wird der Mittelwert des Titers mit Standardabweichung angegeben.
2	Präzision, Richtigkeit, Linearität	<p>Es werden jeweils sechs Proben Essig, verdünnt auf ca. 100 ml mit destilliertem Wasser, mit unterschiedlicher Probenmenge titriert:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sechs Titrationen mit ca. 1.0 Gramm Essig genau eingewogen. • Sechs Titrationen mit ca. 1.5 Gramm Essig genau eingewogen. • Sechs Titrationen mit ca. 2.0 Gramm Essig genau eingewogen. • Sechs Titrationen mit ca. 2.5 Gramm Essig genau eingewogen. • Sechs Titrationen mit ca. 3.5 Gramm Essig genau eingewogen. • Die Ergebnisse werden mit Mittelwert und Standardabweichung berechnet: $\% \text{ Essig} = \frac{\text{Verbrauch [ml]} \cdot \text{Titer} \cdot 100}{(\text{Einwaage [g]} \cdot 1000)}$ • Die Standardabweichung sollte in keinem Fall 0.3% überschreiten. • Es werden in einer Grafik die Einwaagen gegen die Verbräuche aufgetragen. Die resultierende Ausgleichsgerade sollte einen Korrelationskoeffizienten von besser als 0.995 haben. Der Schnittpunkt der Geraden sollte durch den Ursprung gehen. Ein Verbrauch bei einer Einwaage von 0.0 Gramm kann auf Blindwerte oder andere Probleme deuten. Eine Abweichung von 30 µL (etwa 1 Tropfen) sollte nicht überschritten werden. Anstelle der Einwaage kann auch der theoretische Sollverbrauch aufgetragen werden. • Es werden in einer Grafik die Einwaagen gegen die Gehalte aufgetragen. Die resultierende Ausgleichsgerade sollte eine Steigung nahe 0 haben. Bei einem Wert von über 0.1% zeigt die Methode eine Nicht-Linearität. Anstelle der Einwaage kann auch der theoretische Sollverbrauch aufgetragen werden.
3	Wiederfindung	<p>Zu sechs Proben von ca. 2.0 g genau abgewogenem Essig werden jeweils 5.00 ml 1 mol/l Essigsäure Normallösung hinzugeben. Der Verbrauch muß sich um 5.00 ml * Titer erhöhen. Die Standardabweichung sollte 0.3% unterschreiten.</p>

Arbeits-schritt	Validierungs-merkmal	Durchzuführende Arbeit
4	Bestimmungsgrenzen	Bei einer guten Linearität im gesamten Bereich wird die Methode festgelegt für Proben von 1.0 bis 3.5 Gramm 30%igen Essig.
5	Robustheit	Eine Probe mit genau bestimmtem Gehalt wird mit einer Sechsfachbestimmung in vier anderen Laboratorien mit der gleichen Vorschrift titriert. Die Standardabweichung sollte 0.3% nicht überschreiten. Der Gehalt sollte sich um weniger als 0.3% unterscheiden.

Tabelle 16 Schema für die Validierung einer Essig Titrationsmethode.

Die Titration liefert sehr genaue Werte bei Verbräuchen von 5 bis 20 ml Verbrauch. Höhere Verbräuche führen nicht zu einer besseren Wiederholbarkeit (Wiederholpräzision). Bei Verbräuchen unter 5 ml Titriermittel müssen zusätzliche Aufwände berücksichtigt werden. Die folgenden Grafiken verdeutlichen den Zusammenhang. Abb. 9 zeigt den guten linearen Zusammenhang einer Serie von Salzsäure-Titrationsen. Abb. 10 zeigt den Zusammenhang zwischen den erzielbaren Standardabweichungen in Abhängigkeit vom Verbrauch. Die genauen Zahlenwerte sind der Tabelle 17 zu entnehmen.

Vorlage[ml]	EQ [ml]	s [ml]	s _{rel} [%]	pH-Wert	Dauer[s]
0.1	0.094	0.005	5.494	7.04	33
0.25	0.257	0.007	2.626	6.97	51
0.5	0.507	0.007	1.331	7.05	53
1	1.006	0.005	0.513	7.19	61
2	2.008	0.006	0.315	7.1	76
5	5.013	0.009	0.189	7.56	101
10	10.013	0.005	0.048	7.16	132
20	19.999	0.003	0.016	7.44	148

Tabelle 17: Ergebnisse von jeweils 10 Salzsäure-Titrationsen unterschiedlicher Probenmenge.

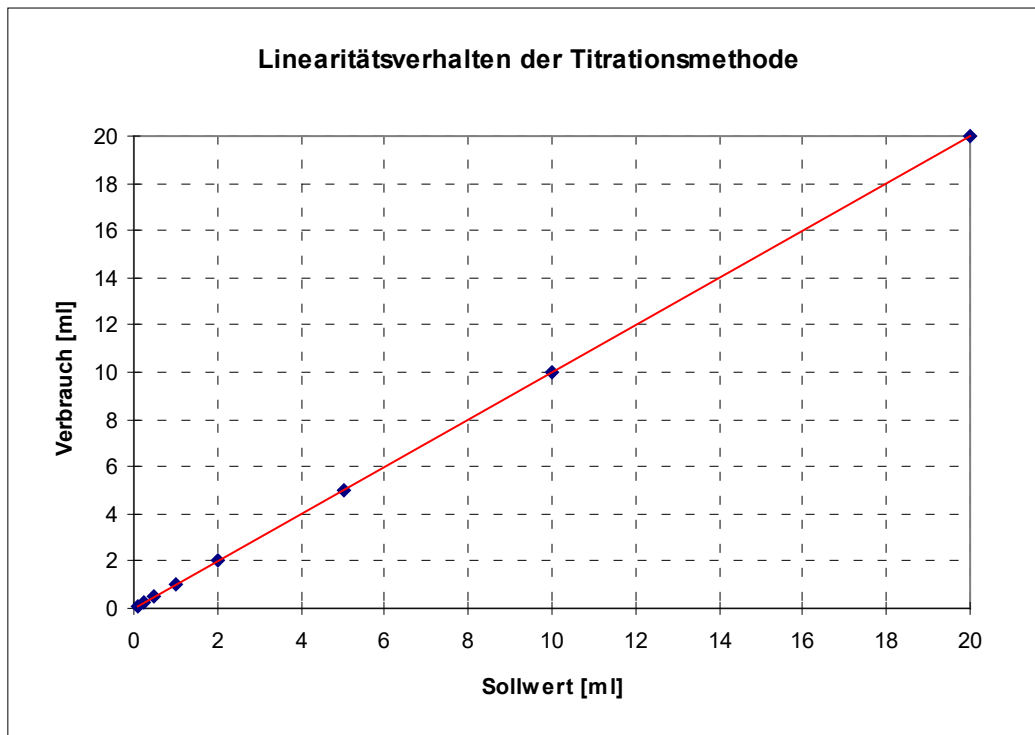


Abb. 9: Linearität der Titrationsen aus Tabelle 6.

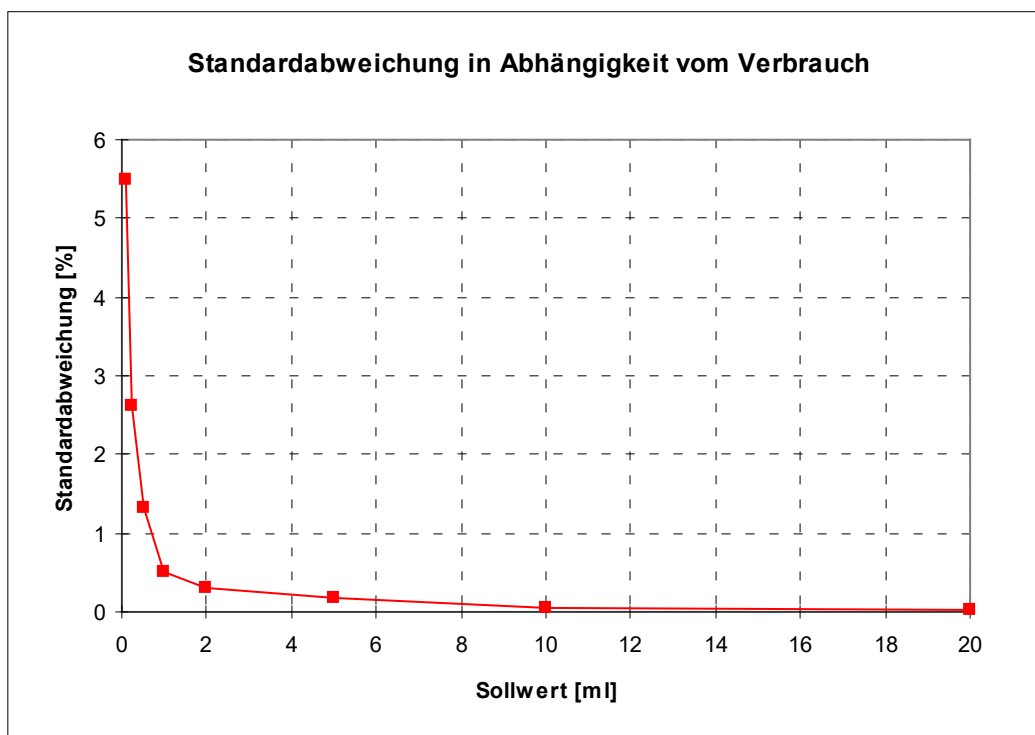


Abb. 10: Relative Standardabweichung in Abhängigkeit von der Probenmenge.

Eine vollständige Überprüfung der Richtigkeit einer Titration würde man nach folgendem Schema erhalten:

- Bestimmung des Titers einer Base A mit einem Ur-titer wie Kaliumhydrogenphthalat.
- Bestimmung des Titers einer Säure B mit einem Ur-titer wie Natriumcarbonat.
- Titration der Säure B mit der Base A. Der jetzt resultierende Titer muß 1.000 sein.

Diese cyclische Bestimmung schließt alle üblichen Fehlermöglichkeiten aus.

8 Validieren einer Karl Fischer Titration

Die Karl Fischer Reaktion dient der Bestimmung von Wasser in vielen unterschiedlichen Matrices. Sie ist als Methode in vielen Normen und im deutschen Arzneibuch enthalten. Sie ist weitgehend selektiv oder zumindest durch die Wahl von Solventien, Titriermittel, Probenvorbereitung und Reaktionsbedingungen selektiv zu gestalten.

Die Validierung umfaßt hier die gleichen Elemente wie die Säure-Base-Titration. Die Tabelle 13 zeigt das Vorgehen im Einzelnen auf.

Vorgehen	Elemente	Was muß getan werden
Voraussetzungen	Reaktion	Es wird eine Probe titriert und die Titrationskurve analysiert. Die Abbildung 3 zeigt die wichtigsten Merkmale einer Karl-Fischer Titrationskurve. Ist der zu erwartende Gehalt kleiner oder größer als als das erste Ergebnis, ist mit einer Nebenreaktion zu rechnen.
	Reagenz und Dosierung	Es wird eine Mehrfachbestimmung (z.B. 10 fach) mit einem Standard, einem Ur-titer (Dinatriumtartrat Dihydrat) oder Wasser (mit Mikroliter Spritze, evtl. wiegen) durchgeführt. Wenn unterschiedliche Mengen genommen werden, die auch unterschiedliche Bürettenvolumina abdecken, ist damit die Gerätefunktion des Titrators weitestgehend sichergestellt. Eine zusätzliche Prüfmittelüberwachung ist dann nur noch in Fällen eines Problems oder zur Grundprüfung des Titrators erforderlich.
	Dichtigkeit des Titrationsgefäßes	Das Titrationsgefäß muß dicht sein, weil die Luft eine größere Menge Feuchtigkeit enthält. Dies wird durch die Drift angezeigt. Die Drift sollte unter 5 µg Wasser pro Minute liegen. Bei der Arbeit mit dem Ofen ist die Drift größer. Die Drift kann direkt am Gerät abgelesen werden oder wird leicht erhalten, indem nach dem Konditionieren (Trocknen des Solvents) eine Stunde gewartet wird und dann eine Titration gestartet wird. Die Drift berechnet sich nach: $\text{Drift [µg/min]} = \text{Verbrauch [ml]} * \text{Titer [mg Wasser/ml]} * 1000 / 60 [\text{min}]$
	Indikation	Die Funktionsfähigkeit der Indikation kann auf einfache Art bestimmt werden: <ul style="list-style-type: none"> • Doppel-Pt-Elektrode aus dem Titrationsgefäß nehmen • Titration starten: Es fließt kein Strom oder keine Spannung wird angezeigt • Mit einer Metall-Büroklammer die beiden Platinstifte kurzschliessen: Es fließt ein Strom und die Titration bricht nach der Abschaltzeit ab. Wenn dieser Test funktioniert, arbeitet das Indikationssystem richtig.
Validierung	Präzision	Mehrfachbestimmung einer Probe (z.B. 10 fach), Ermittlung Mittelwert und Standardabweichung
	Richtigkeit	<ul style="list-style-type: none"> • Zur Probe wird bei jeder Bestimmung eine definierte Menge Wasser (oder Standard)

	<p>mehrfach hinzugesetzt. Diese Menge muß vollständig wiedergefunden werden. Mittelwert und Standardabweichungen der einzelnen Wiederfindungsmengen werden notiert. Weniger Wasser deutet auf eine nicht vollständige Umsetzung hin. Ein höherer Wassergehalt deutet auf Drift oder Nebenreaktionen hin.</p> <ul style="list-style-type: none"> Die Versuche zur Linearitätsprüfung werden analysiert. Die Gerade muß eine Steigung (bei der Auftragung Sollverbrauch gegen Istverbrauch) von etwa 1.00 haben. Die Gerade muß durch den Nullpunkt gehen. Der Korrelationskoeffizient sollte nahe 1.00 liegen. Abweichungen weisen auf Drift, Nebenreaktionen oder unvollständige Umsetzungen hin. Vergleich mit einem Standard, dessen Wassergehalt und Beschaffenheit bekannt ist und sich identisch wie die Probe verhält. Der Standard muß zertifiziert sein.
Wiederfindung	<ul style="list-style-type: none"> Zur Probe wird bei jeder Bestimmung eine definierte Menge Wasser (oder Standard) mehrfach hinzugesetzt. Diese Menge muß vollständig wiedergefunden werden. Mittelwert und Standardabweichungen der einzelnen Wiederfindungsmengen werden notiert. Zur Probe mit bekanntem Gehalt werden weitere Proben mit bekanntem Gehalt gegeben. Diese Probenmenge müssen vollständig wiedergefunden werden.
Linearität	<p>Es werden mehrere Proben mit steigendem Gehalt titriert. Dabei werden z.B. von jedem Gehalt zehn Titrations durchgeföhrt. Der kleinste und größte Wassergehalt sollte mit den praktischen Anforderungen übereinstimmen. Die Gerade muß eine Steigung (bei der Auftragung Sollverbrauch gegen Istverbrauch) von etwa 1.00 haben. Die Gerade muß durch den Nullpunkt gehen. Der Korrelationskoeffizient sollte nahe 1.00 liegen. Von den einzelnen Titrations eines Gehaltes wird Mittelwert und Standardabweichung berechnet.</p>
Selektivität	<p>Die Karl Fischer Titration ist selektiv für Wasser. Die Methode ist für fast alle Probenarten geprüft. Nebenreaktionen müssen ausgeschlossen werden (Richtigkeit, Linearität, Wiederfindung).</p>
Robustheit	<ul style="list-style-type: none"> Die Robustheit kann durch einen Ringversuch ermittelt werden. Es werden alle relevanten Parameter der Karl Fischer Titration variiert: Elektrode Lösungsmittelmengen Temperatur Rührgeschwindigkeit Titrationsparameter Titriergerät
Nachweisgrenze	<p>Die Nachweisgrenze ist bei der Gehaltsbestimmung kein Kriterium. Sie kann gleich der</p>

	Bestimmungsgrenze definiert werden.
Bestimmungsgrenze	<p>Der Arbeitsbereich ergibt sich aus der Linearitätsprüfung. Die kleinste und größte Probenmenge, die innerhalb des linearen Bereichs liegen und der geforderten Standardabweichung entsprechen, werden als Arbeitsbereich definiert.</p> <p>Die Bestimmungsgrenze ist der dreifache Wert der Standardabweichung. In dem Beispiel der Säure-Base-Titration ist dieser Wert bei 0.018 ml erreicht. Ein Wert der etwa einem Fünftel der kleinsten Menge dieses Versuchs entspräche.</p>

Die Interpretation der Titrationskurve ist bei der Karl Fischer Titration, wie auch bei vielen anderen Titrationsarten, von großer Bedeutung. Die folgende Abbildung 11 zeigt ein Muster einer korrekten Titrationskurve:

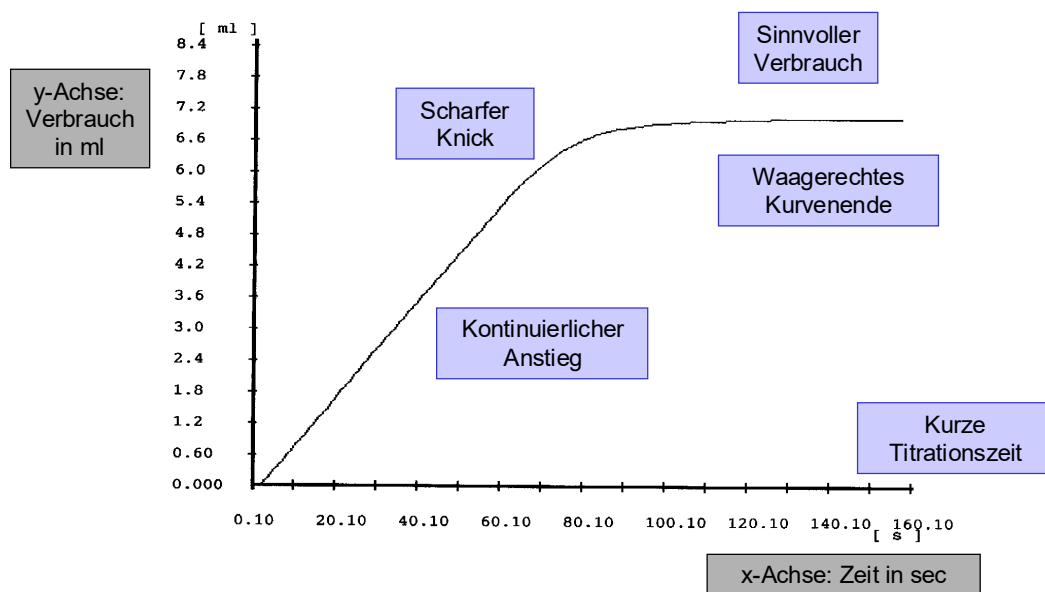


Abb. 11: Karl Fischer Titrationskurve

Wenn die Titrationskurve am Ende nicht parallel zur x-Achse verläuft, sondern weiter gleichmäßig ansteigt, bedeutet dies eine Nebenreaktion oder eine kontinuierliche Drift. Ein zu scharfer Knick deutet auf eine Übertitration hin. So sind viele mögliche Probleme bei der genauen Bestimmung in der Titrationskurve erkennbar.

Die Validierung wird durch die Analyse der Titrationskurven erheblich erleichtert.

9 Übertragen auf andere Beispiele

Das Schema lässt sich auf alle anderen Titrationsarten übertragen. Die Standardisierung der Titriermittel und die Überprüfung der Elektroden sind dabei die wichtigsten Arbeitsschritte. Die Abhängigkeit der Probenmatrix kann bei anderen Bestimmungen ebenfalls einen zusätzlichen Arbeitsaufwand bedeuten.

Die folgende Tabelle enthält einige Urtinger und Ihre Anwendungsgebiete (Tabelle 18).

Urtingersubstanz	Anwendung	Formel	Molmasse [g/mol]	garantierter Gehalt [%]	nach Trocknung [°C]
di-Arsentrioxid	Oxidimetrie	As ₂ O ₃	197,84	99,95-100,05	105
	Cerimetrie				
Benzoessäure	Alkalimetrie	C ₇ H ₆ O ₂	122,12	99,95-100,05	
Calciumcarbonat	Komplexometrie	CaCO ₃	100,09	99,95-100,05	120 über 2 h
Eisen(II)-ethylen-diammonium- sulfat	Oximetrie	(CH ₂ NH ₃) ₂ SO ₄ * FeSO ₄ *4H ₂ O	382,15	99,95-100,05	
	Cerimetrie				
Kaliumdichromat	Oxidimetrie	K ₂ Cr ₂ O ₇	294,19	99,95-100,05	110 über 2h
	Cerimetrie				
Kaliumhydrogen-phthalat	Alkalimetrie	C ₈ H ₅ KO ₄	204,23	99,95-100,05	120 über 2h
Kaliumiodat	Oxidimetrie	KI ₃	214,00	99,95-100,05	130 über 2h
	Cerimetrie				
Natriumcarbonat wasserfrei	Acidimetrie	Na ₂ CO ₃	105,99	99,95-100,05	120
Natriumchlorid	Argentometrie	NaCl	58,44	99,95-100,05	150 über 2h
di-Natriumoxalat	Oxidimetrie	C ₂ Na ₂ O ₄	134,00	99,95-100,05	105
	Cerimetrie				
di-Natriumtartrat Dihydrat	Karl-Fischer-Titration	C ₄ H ₄ Na ₂ O ₆ *2H ₂ O	230,08	> 99,5 Wasser: 15,66 +/- 0,05%	
Tris(hydroxymethyl-aminomethan	Perchlorsäure-titration	C ₄ H ₁₁ N ₃	121,14	99,95-100,05	24 h über Trockenmittel im Exikkator
Zink	Kompexometrie	Zn	65,37	99,95-100,05	

10 Zusammenfassung und Hinweise

Die Titrationsmethode dient der Gehaltsbestimmung. Die Validierung einer solchen Methode ist daher relativ einfach durchzuführen. Für die meisten Anwendungen existieren Urtingersubstanzen, die eine Überprüfung der Richtigkeit problemlos ermöglichen. Die Titration lässt sich in einem weiten Konzentrationsbereich einsetzen. In der Praxis wird jedoch die Frage der Bestimmungsgrenzen mehr durch die Konzentrationsbandbreite der vorliegenden Proben definiert. Eine Nachweisgrenze ist bei einer Gehaltsbestimmung nicht notwendig. Da die meisten Titrationsen nicht selektiv sind, müssen bei vielen Validierungen solche Kriterien auch nicht beachtet werden.

Die gute Linearität und Präzision der Titration lässt sich bei vielen Anwendungen immer wieder feststellen. Die Probleme liegen häufig schon im Bereich der Voraussetzungen der Validierung, der Geräteüberwachung. Die Überprüfung der Sensoren, Buretten und Chemikalien ist besondere Aufmerksamkeit zu schenken.

Da bleibt nur die Überlegung wie die aus der Validierung erhaltenen Informationen weiter bewertet werden müssen. Der Eintrag in Statistiksoftware und die automatische Auswertung liegt nahe. Hier ist aber Vorsicht angebracht in der Zuordnung der Ergebnisse. Die Titrationsergebnisse eines Linearitätstests beinhalten natürlich auch die Probenvorbereitung einer Probe und zwar genau einer Probe. Aus dieser einen Probe werden also viele Teilproben entnommen, abgewogen oder abpipettiert und entsprechend der Analysenvorschrift vorbereitet und anschließend titriert. Alle diese Ergebnisse

werden dann auch dieser einen Probe zugeordnet und systematischer (wenn möglich) und zufälliger Fehler bestimmt.

Werden jedoch aus einer Produktionscharge Proben entnommen und mit unterschiedlichen Gehalten versehen um die typischen Schwankungen der Produktion oder auch Spezifikationsgrenzen darzustellen, handelt es sich bei diesen natürlich um verschiedene Proben. Mit jeder dieser Proben wird dann z.B. der Linearitätstest (mehr oder weniger vollständig) durchgeführt und auch getrennt bewertet. Dem muss beim Eintrag in eine Statistiksoftware Rechnung getragen werden. Werden aus der Produktion beispielsweise zu unterschiedlichen Zeitpunkten Proben entnommen und titriert, werden aus der Bewertung **aller** Ergebnisse die systematischen und zufälligen Fehler des **Produktionsprozesses** erhalten, aus der Bewertung der **einzelnen Proben** jedoch die systematischen und zufälligen Fehler des **Analysenprozesses**.