



Application Note AN-C-194

IC-Tests für Calcium und Magnesium gemäß USP

Zwei Methodenvalidierungen gemäß U.S. Pharmacopoeia

Calciumcarbonat findet in der pharmazeutischen Industrie als Hilfsstoff und auch als Wirkstoff sowie in der Lebensmittelindustrie als wichtiges Nahrungsergänzungsmittel breite Anwendung. Die Monographien des US-Pharmakopöes (USP) für Calcium- und Magnesiumcarbonat-Tabletten sowie für Calciumcarbonat- und Magnesia-Kautabletten beschreiben derzeit die manuelle Titration als Bestimmungsverfahren für Calcium und Magnesium. Die USP hat eine globale Initiative zur Modernisierung vieler bestehender Monographien in allen Kompendien gestartet. Als Reaktion auf diese

Initiative wurden zwei alternative Analysemethoden zur Bestimmung der Analyten Calcium und Magnesium entwickelt. In dieser Application Note werden Verfahren der Ionenchromatographie (IC) mit Leitfähigkeitsdetektion vorgestellt, die eine bessere Präzision und Genauigkeit bieten und für den vorgesehenen Zweck geeignet sind. Diese validierten IC-Methoden stellen eine erhebliche Verbesserung gegenüber den bestehenden Assays dar, da sie beide Analyten, Calcium und Magnesium, gleichzeitig bestimmen können, was sowohl Zeit als auch Aufwand spart.

HINTERGRUND

Calcium ist das am häufigsten vorkommende Mineral im Körper. 99 % des Calciumvorrats des Körpers sind in den Knochen und Zähnen gespeichert, wo es deren Struktur und Funktion unterstützt. Außerdem ist es für die Blutgerinnung, die Nervenleitung und die Muskelkontraktion erforderlich. Der Calciumbedarf des Körpers sollte am besten über die Ernährung gedeckt werden. Calciumpräparate können eine sinnvolle Ergänzung sein, die man entweder allein oder in Kombination mit Magnesiumprodukten

einnehmen kann.

Die aktuellen USP-Monographien für Calcium und Magnesium empfehlen eine manuelle Titration. Die Tests haben in der Vergangenheit eine schlechte Präzision und Genauigkeit aufgewiesen. Wenn eine Komponente eine viel höhere Konzentration hat als die andere, kann eine korrekte Quantifizierung schwierig sein. Darüber hinaus könnte die Probenmatrix die Endpunktbestimmung beeinflussen.

VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Für die Probenstammlösung werden mindestens 10 Tabletten gewogen und fein gemahlen. Eine genau abgewogene Menge des Pulvers (entspricht etwa 6 mg Calcium) wird in einen 100-mL-Messkolben überführt und 4 mL einer 2 mol/l Salpetersäurelösung werden hinzugefügt. Der Messkolben wird bis zur Markierung mit Reinstwasser gefüllt. Die verdünnte Lösung wird gut gemischt und für 20 Minuten bei 50 °C ins Ultraschallbad gestellt, bis die Lösung

vollständig homogenisiert ist. Für die Probenmesslösung wird ein angemessenes Volumen der Probenstammlösung in einen 50-mL-Messkolben überführt und mit Reinstwasser bis zur Marke verdünnt. Die Probenlösung sollte nominell 15 µg/ml Calcium aus der Tablette enthalten. Diese Probenlösung wird mit einem Injektionsvolumen von 20 µl direkt in den IC injiziert.

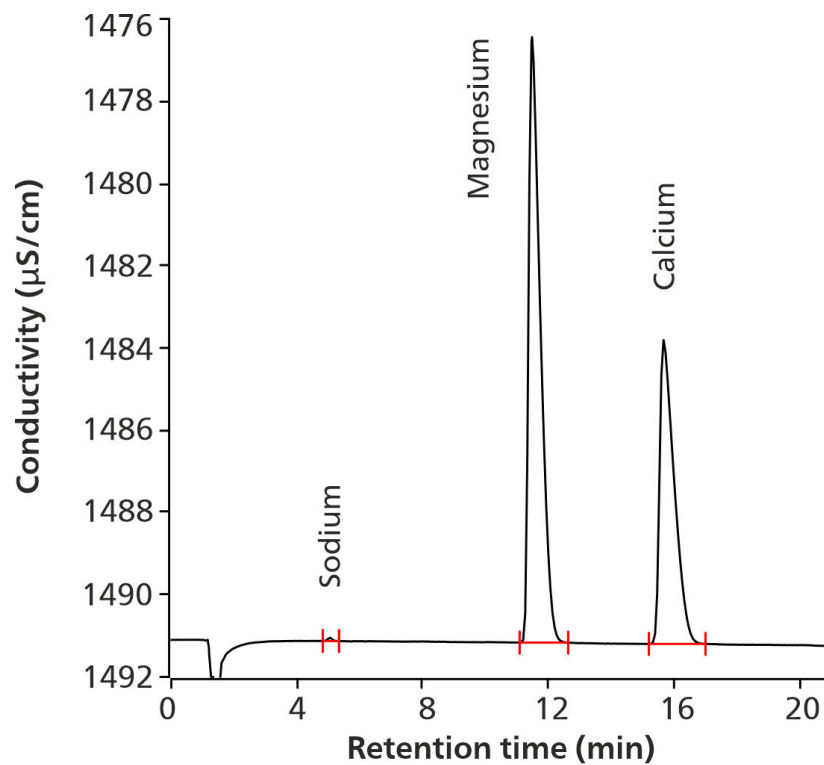


Abbildung 1 Leitfähigkeitssignal von Natrium, Magnesium und Calcium in Phosphatbindertabletten zur Nahrungsergänzung (16,0 mg/L Magnesium, 15,0 mg/L Calcium, Natrium nicht quantifiziert) gemäß der Monographie "Calcium- und Magnesiumcarbonat-Tabletten" [1].

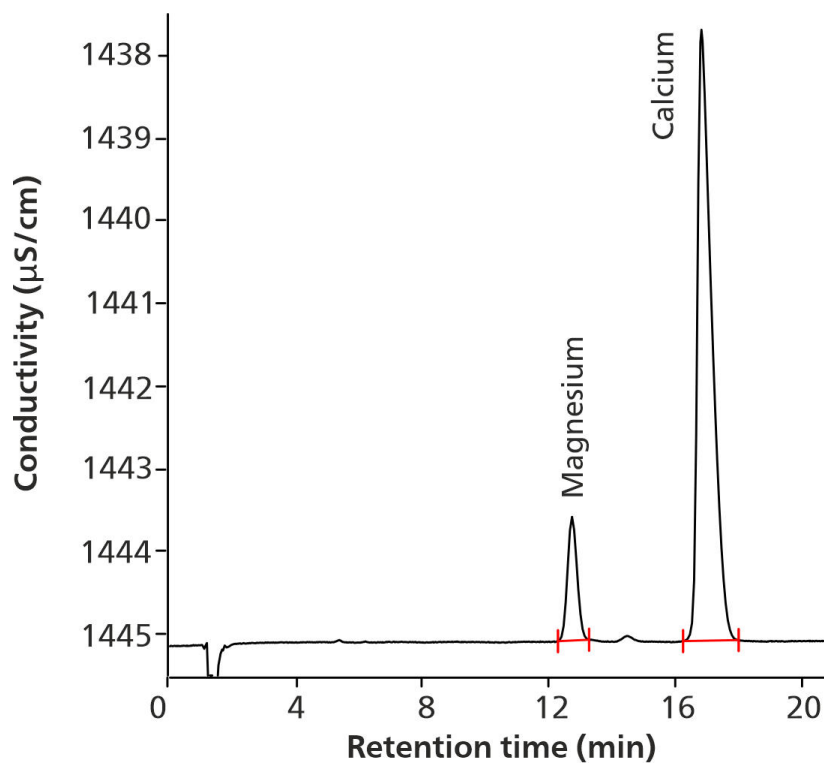


Abbildung 2. Leitfähigkeitssignal von Magnesium und Calcium in Calcium 600 + D3 Plus Minerals Kautabletten (1,4 mg/L Magnesium, 15,0 mg/L Calcium) gemäß der Monographie "Calciumcarbonat und Magnesia Kautabletten" [2].

Calcium, Magnesium sowie andere kationische Komponenten werden auf der Metrosep C 6 - 150/4.0 Säule (Eluent: 4 mmol/L Salpetersäure, Flussrate 0.9 mL/min, Säulentemperatur 30 °C) getrennt und mit nicht suppressierter Leitfähigkeit detektiert. Phosphatbinder-Tabletten zur Nahrungsergänzung (Marke: MAGNEBIND® 300) wurden gemäß der Monographie "Calcium- und

Magnesiumcarbonat-Tabletten" [1] analysiert (Abbildung 1). Die Calcium 600 + D3 Plus Minerals Kautabletten (Marke: Good Neighbor Pharmacy) wurden gemäß der Monographie "Calciumcarbonat und Magnesia Kautabletten" [2] analysiert (Abbildung 2). Die Parameter der IC-Methode und die Probenvorbereitung waren für beide Monographien gleich.

ERGEBNISSE

Zwei Arten von Tabletten wurden gemäß USP General Chapter <1225>, Validation of Compendial Procedures [3] validiert, um die entsprechenden Monographien der USP zu modernisieren. Calcium und Magnesium wurden im Konzentrationsbereich von 3,0-22,5 mg/L bzw. 0,5-20 mg/L bestimmt, was im linearen Bereich des Leitfähigkeitsdetektors und deutlich über der Bestimmungsgrenze liegt. Die Ergebnisse für beide entwickelten IC-Methoden

erfüllten alle USP-Akzeptanzkriterien, wie in Tabelle 1 für die Calciumbestimmung der monographischen Calciumcarbonat- und Magnesia-Kautabletten dargestellt ist. Die IC-Methode eignet sich für die Analyse mehrerer Kationen in einem Lauf, so dass nicht nur Calcium und Magnesium, sondern auch Lithium, Natrium, Ammonium und Kalium (sofern vorhanden) quantifiziert werden können.

Tabelle 1. Ausgewählte Leistungsmerkmale für Calcium.

Leistungsmerkmale	Akzeptanzkriterium	Ergebnisse
Systemstabilität	Der RSD der Flächen von 5 Wiederholmessungen sollte NMT 0,5 % betragen.	<0.3%
Lösungsstabilität	Die Änderung der Peakfläche sollte innerhalb von 24 Stunden 1 % NMT betragen	<0.3%
Linearität der Kalibrierung	Korrelationskoeffizient (R) NLT 0,999 Abweichung d. Y-Achsenabschnitts: $\pm 2,0$ % von 100 % Linearität des Messwerts	>0.9999 0.3%
Reproduzierbarkeit des Tests	Untersuchungsergebnis mit 90–110 % RSD (relative Standardabweichung) (n = 6) ist NMT 2 %	99–102 % <0.4%
Genauigkeit	Die durchschnittliche prozentuale Wiederfindung sollte $100 \pm 2,0$ % des CoA-Werts des Herstellers betragen	100–101 %
Laborpräzision	Die durchschnittlichen Ergebnisse eines anderen Analysten an einem anderen Tag und bei Verwendung einer anderen Säulencharge betragen NMT 3 %.	<1.5%

FAZIT

Diese validierten Methoden beschreiben einen IC-basierten Assay zur simultanen Bestimmung von Calcium und Magnesium in Calcium- und Magnesiumcarbonat-Tabletten sowie Calciumcarbonat- und Magnesia-Kautabletten. Diese Assays wurden gemäß den in USP General Chapter <1225> [3] dargelegten analytischen Leistungsmerkmalen validiert und erfüllten die entsprechenden Grenzwerte. Die beiden Analyten ließen sich problemlos auf einer Kationenaustauschersäule Metrosep C 6 trennen und durch nicht-supprimierte Leitfähigkeit innerhalb von

20 Minuten detektieren. Da es sich um eine Multikomponentenmethode handelt, konnten die Konzentrationen beider Analyten in einem einzigen Durchgang bestimmt werden, im Gegensatz zu den beiden zeitaufwändigeren Titrationsassays in den aktuellen Monographien. Beide Assays mit nicht-suppressierter Leitfähigkeit bieten eine einfache, genaue und robuste Messung der beiden Analyten in Kombination mit einer hohen Empfindlichkeit, um die bestehenden Titrationsassays in den USP-Monographien zu ersetzen.

REFERENZEN

1. Calcium and Magnesium Carbonates Tablets, Monographs, U.S. Pharmacopeia/National Formulary: Rockville, MD.
2. Calcium Carbonate and Magnesia Chewable Tablets, Monographs, U.S. Pharmacopeia/National Formulary: Rockville, MD.
3. Validation of Compendial Procedures, General Chapters <1225> U.S. Pharmacopeia/National Formulary: Rockville, MD.

Interne Referenzen: AW IC CH6-1413-022020; AW IC

CH6-1414-022020

CONTACT

Metrohm Inula
Shuttleworthstraße 25
1210 Wien

office@metrohm.at

GERÄTEKONFIGURATION

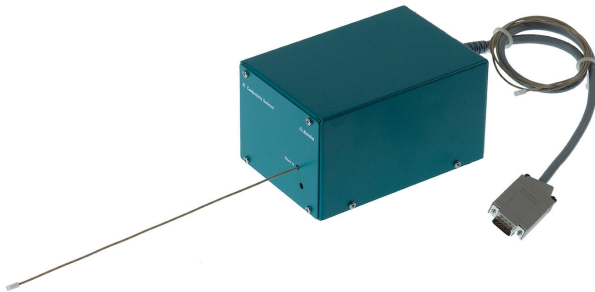


930 Compact IC Flex Oven/Deg

Der 930 Compact IC Flex Oven/Deg ist das intelligente Compact-IC-Gerät mit **Säulenofen, ohne Suppression** und mit eingebautem **Degasser**. Das Gerät kann mit beliebigen Trenn- und Detektionsmethoden eingesetzt werden.

Typische Anwendungsgebiete:

- Anionen- und Kationenbestimmungen ohne Suppression mit Leitfähigkeitsdetektion
- Einfache Anwendungen mit UV/VIS- oder amperometrischer Detektion



IC Conductivity Detector

Kompakter und intelligenter Hochleistungs-Leitfähigkeits-Detektor zu den intelligenten IC Geräten. Hervorragende Temperaturkonstanz, die gesamte Signalverarbeitung innerhalb des geschützten Detektorblocks und DSP – Digital Signal Processing – der letzten Generation garantieren höchste Präzision der Messung. Dank dem dynamischen Arbeitsbereich sind keine (auch nicht automatische) Bereichswechsel notwendig.



Metrosep C 6 - 150/4.0

Das hochkapazitive C-6-Material macht die Trennsäule Metrosep C 6 - 150/4.0 zur optimalen Lösung für die Trennung von Standardkationen mit hohen Konzentrationsunterschieden bei vernünftiger Retentionszeiten. Trinkwässer mit tiefen Ammoniumgehalten lassen sich mit dieser Säule bestimmen.



858 Professional Sample Processor – Pump

Der 858 Professional Sample Processor – Pump verarbeitet Proben von 500 µL bis 500 mL. Der Probentransfer erfolgt entweder mit der eingebauten bidirektionalen Zweikanal-Peristaltikpumpe oder mittels eines 800 Dosino.