

# HHAC-Magazin

Für unsere Mitarbeiter und Kunden

*HHAC Aktuell*

Neuer Headspace-Sampler bei HHAC

*Titration*

Auf den Farbumschlag  
kommt es an

Pufferkapazitäten bestimmen

*HHAC Wissen*

Passive Immunisierung  
als Heilverfahren





*Dr. Hermann Heusler*

Liebe Mitarbeiter, liebe Geschäftspartner,

der „Fußball-Professor“ Dettmar Cramer hat es einmal ziemlich robust, aber treffsicher ausgedrückt: „Es hängt alles irgendwo zusammen. Sie können sich am Hintern ein Haar ausreißen, dann trânt das Auge.“ Wie eng tatsächlich alles miteinander verbunden ist, haben wir in den vergangenen Wochen und Monaten deutlich zu spüren bekommen – und werden dies noch auf unbestimmte Zeit spüren. In diesen bewegten Zeiten ist es wichtig, Partner an der Seite zu haben, auf die man sich verlassen kann. Gerne wollen wir auch weiterhin dieser Partner sein und Sie, analytisch wie beratend, zuverlässig unterstützen.

Mit der Frühlingsausgabe unseres HHAC-Magazins informieren wir deshalb mit gewohnter Zuverlässigkeit über Neuigkeiten aus unserem Labor – über neue Gesichter, neue Methoden und neue Geräte. Lassen Sie sich überraschen!

Unser Redaktionsteam hat sich für diese Magazinausgabe einstimmig für das Schwerpunktthema „Titrations“ ausgesprochen und dies mit gutem Grund: In den vergangenen Monaten haben sich einige Kollegen aus dem Labor intensiv mit den unterschiedlichsten Titrationsverfahren beschäftigt und freuen sich nun, Ihnen die Ergebnisse auf wenigen Seiten zu präsentieren.

Im Allgemeinen wird es als vorteilhaft empfunden, wenn man Pufferkapazitäten vorweisen kann. Ob das nur für ein sorgenfreieres Leben oder gleichermaßen für chemische Lösungen gilt, wird in einer Story am Ende dieser Ausgabe geklärt werden. Lassen wir dazu eine andere Fußballlegende zu Wort kommen: „Schau’n mer mal...“

Nun wünsche ich Ihnen viel Spaß beim Lesen einer frühlingsfrischen Lektüre. Bleiben Sie gesund und kommen Sie gut durch diese Zeit!

Ihr  
Hermann Heusler

# HHAC – Unterwegs

Save the date: **16.9.2020**

Neuss



Pharma-Congress 2020, ECA- Barrier Systems

Veranstalter: ECA, Concept Heidelberg

Referent: Dr. Timo Krebsbach

Writing User Requirement Specifications (URS) for Isolator projects

The URS should define clearly and precisely, what the user wants the equipment to do in terms of performance characteristics, product quality metrics, and production yields. It should also define any nonfunctional requirements, constraints, and deliverables that need to be supplied with the system. The presentation shows the lesson learned from the view of a customer. In the future topics like automation and digitalization need more attention from the very beginning.

Save the date: **postponed, new dates to be announced soon**

Kairo



Clean Room Conference

Veranstalter: informa, Pharmaconex

Referent: Dr. Timo Krebsbach

Microbiology in Cleanrooms and Isolators used for Sterility Testing

- Regulatory Requirements
- State of the art Sterility Testing
- Qualification of Isolators
- Microbiological Monitoring
- Comparison Isolator vs. Cleanroom

Save the date: **20. – 22.10.2020**

Leimen



HPLC im GMP-Labor

Veranstalter: Concept Heidelberg

Referentinnen: Meryam Mentgen-Wolny, Julia Eichhorn

HPLC-Analytik gehört längst zu den Standardverfahren in der pharmazeutischen Industrie. Die korrekte Anwendung erfordert jedoch ein hohes Maß an Sachkenntnis und Verständnis, da zahlreiche kritische Qualitätsmerkmale dabei einen unmittelbaren Einfluss auf die Analyseergebnisse haben. Unsere beiden Expertinnen geben in ihren Seminarvorträgen wertvolle Informationen und Hinweise dazu.

# HHAC – Aktuell

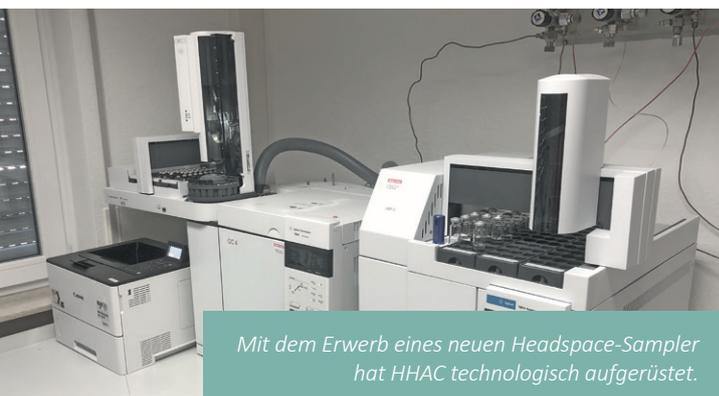
## NEUER HEADSPACE-SAMPLER BEI HHAC

Seit vergangenem Jahr hat HHAC mit dem Erwerb eines neuen Headspace-Sampler (Modell 7697A) für eines unserer GC-Systeme technologisch noch einmal aufgerüstet. Die Headspace- (dt. Dampfraum)-Technik ist eine bewährte und schnelle Methode der Probenvorbereitung bei gaschromatographischen Bestimmungen von leichtflüchtigen Analyten. Die Headspace-Gaschromatographie ist automatisierbar und ermöglicht darüber hinaus auch den Nachweis geringer Konzentrationen von flüchtigen Analyten in flüssigen oder festen Proben. Deswegen wird sie in vielen Bereichen als analytisches Verfahren genutzt.

Die Haupteinschränkung beim Einsatz gaschromatographischer Systeme besteht darin, dass sie nur Proben verarbeiten können, die flüchtig und bei hohen Temperaturen unzersetzbar sind. Wird eine Probe direkt in den Gaschromatographen eingebracht, können nichtflüchtige oder feste Anteile die Messung beeinträchtigen bzw. verfälschen. Daher müssen diese vorher von den Analyten separiert werden; entsprechend umfangreich und kostspielig können die Probenvorbereitungen in solchen Fällen ausfallen. Bei der Headspace-Technik wird die Probe dagegen in ein gasdicht verschlossenes Gefäß verbracht. Für leichtflüchtige Analyten stellt sich zwischen dem Probenmaterial und der darüber befindlichen Gasphase (dem Dampfraum) ein Gleichgewicht ein. Anschließend injiziert der Probengeber ein Aliquot aus dem Dampfraum in den Gaschromatographen. Aus der Konzentration des Analyten in der Gasphase wird dann auf die Konzentration in der Probe geschlossen. Störende Anteile in der Probe (z. B. Matrix) fallen bei einer solchen Bestimmung nicht ins Gewicht.

Da die Qualität der Messungen bei Anwendung der Headspace-Technik von einer ganzen Reihe kritischer Parameter (u. a. Verweildauer, Temperatur oder Druck) abhängt, müssen Headspace-Probengeber soft- wie hardwareseitig hohen Ansprüchen genügen, um zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse zu liefern.

Mit dem neuen automatisierbaren Headspace-Sampler verfügt HHAC nun über die Möglichkeit, flüchtige Analyte in schwierigen Matrices mit hohem Durchsatz gaschromatographisch präzise zu bestimmen.



Mit dem Erwerb eines neuen Headspace-Sampler hat HHAC technologisch aufgerüstet.

DISTEK 2500 select: Erwärmung der Prüfmedien über Heizmanschetten.



## DISSOLUTION AM PULS DER ZEIT

Die Wirkstofffreisetzungsprüfung (Dissolution) zählt zu den analytischen Tests, die bei HHAC sehr stark nachgefragt werden. Hier sind wir personell schon seit Jahren bestens aufgestellt, sodass Kurz- und Langzeitprofile zeitnah und bewährt zuverlässig bestimmt werden können. Unsere Laborausstattung haben wir ebenfalls kontinuierlich erweitert und setzen dabei auf Kundenwunsch auch unterschiedliche Gerätetypen ein.

Anders als bei unseren bisherigen Modellen mit Wasserbad werden die Prüfmedien bei unserem jüngst angeschafften Gerät DISTEK 2500 select über Heizmanschetten erwärmt. Dadurch kann die Geschwindigkeit erhöht und die eigentliche Prüfung entsprechend früher gestartet werden. Aber nicht nur Zeit wird eingespart, sondern auch Energie. Während Dissolutionstester mit herkömmlichen Wasserbädern einen Teil der Energie als Abwärme an die Umgebung abgeben, kommt bei der Anwendung unserer neuen Lösung die gesamte Wärme da an, wo sie auch hingehört: im Dissolutionstopf.

Der Dissolutionstester kann flexibel für Basket- oder Paddle-Methoden (USP-Apparatur 1 und 2) eingesetzt werden. Die Bedienung erfolgt zeitgemäß über ein Touchdisplay, auf dem kontinuierlich Rührgeschwindigkeit und Temperatur jedes einzelnen Dissolutionstopfs abgelesen werden können. Dies ist möglich, weil die Rührstäbe jeweils mit integrierten Temperaturfühlern ausgestattet sind.

Im Labor ist das neue Gerät wegen der genannten Vorzüge außerordentlich beliebt. Ein weiterer kommt noch hinzu: Das zum Teil recht mühselige Putzen des Dissolutionswasserbads, das bei den anderen Geräten eingesetzt wird, entfällt hier komplett.



## Titration – Auf den Farbumschlag kommt es an

Mittels Titration lassen sich Gehaltsbestimmungen direkt, präzise und mit einem hohen Grad an Reproduzierbarkeit vornehmen.

*Die Titration (franz. titre: Feingehalt, griech. metrein: messen), auch als „Volumetrie“ oder „Maßanalyse“ bekannt, ist ein Verfahren der quantitativen Analyse zur Gehalts- und Konzentrationsbestimmung. Ihr Prinzip beruht darauf, eine gelöste Substanz unbekannter Menge (Probelösung) einer genau definierten chemischen Reaktion zu unterwerfen, deren Endpunkt exakt zu erkennen ist. Die Reaktion muss dabei eindeutig, vollständig und mit einer hohen Reaktionsgeschwindigkeit ablaufen. Dazu gibt man tropfenweise eine Lösung mit bekannter Konzentration (Maßlösung) zur Probelösung mit unbekannter Konzentration. Aus dem verbrauchten Volumen der Maßlösung lässt sich der gesuchte Gehalt der Probe berechnen.*

Das Messergebnis einer Titration ist sehr genau und weist ein hohes Maß an Reproduzierbarkeit auf. Im Unterschied etwa zu HPLC-Methoden, bei denen die Quantifizierung über einen externen Standard erfolgen muss, kann bei Titrationen der Gehalt direkt bestimmt werden. Dadurch nimmt die Streuung der Methode ab.

Für die Gehaltsbestimmungen vieler Wirkstoffe, für die eine enge Spezifikation z. B. von 99,0 – 101,5 Prozent gilt, sind daher im Europäischen Arzneibuch Titrationen vorgesehen. Bei reinen Wirkstoffen ist der Anteil von Verunreinigungen zudem so gering, dass Nebenreaktionen von bekannten Verunreinigungen, die aufgrund ihrer ähnlichen chemischen Struktur mittitriert werden, das Ergebnis nur unwesentlich verfälschen. Bei Fertigarzneimitteln können Titrationen zur Gehaltsbestimmung häufig nicht eingesetzt werden, da die Hilfsstoffe, Placebobestandteile oder die höher spezifizierten

bekannteren Verunreinigungen des Wirkstoffs die Titration stören. Da hier die Spezifikation für den Gehalt üblicherweise deutlich weiter gefasst ist (oft 95,0 – 105,0 Prozent), liefern Vergleichsverfahren mit einem externen Standard ausreichend genaue Ergebnisse.

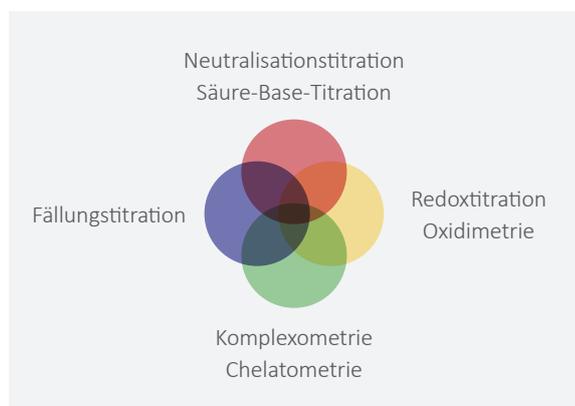
Das Europäische Arzneibuch geht im Kapitel Ph.Eur. 4.2 Volumetrie auf Maßlösungen und Ursubstanz ein. Hier sind Ursubstanz für Maßlösungen, deren Herstellung und Einstellung bzw. die Titration zur Bestimmung des aktuellen Gehalts der Maßlösungen beschrieben.

Urtiter sind Substanzen, aus denen sich durch Einwiegen und Verdünnen genaue Maßlösungen herstellen lassen oder die zur Gehaltseinstellung von Maßlösungen eingesetzt werden. Urtiter sind Salze, die chemisch reinst und nicht hygroskopisch sind, eine gute Wasserlöslichkeit besitzen und beständige Lösungen bilden.

Maßlösungen müssen einen genau definierten Gehalt besitzen. Daher muss das zur Herstellung verwendete Wasser frei von gelöstem Kohlendioxid ( $\text{CO}_2$ ) sein, da dies sich teils als Kohlensäure ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) löst und den pH-Wert der Lösung senkt. Weicht die tatsächliche Konzentration der Maßlösung von einem genau bestimmten, gewünschten Wert ab, so wird mit einem Korrekturfaktor, dem Titer, der tatsächliche Gehalt der Maßlösung berechnet. Maßlösungen sind zudem gebrauchsfertig mit bekanntem Titer im Handel erhältlich.

Die Genauigkeit der Volumetrie hängt wesentlich von der eindeutigen Bestimmung des Endpunkts der Titration (Äquivalenzpunkt) ab. Dieser kann durch Farbumschlag eines Indikators oder durch physikalische Methoden wie der Potentiometrie (elektrochemisches Potential zwischen zwei

Elektroden bzw. pH-Differenz) und Konduktometrie (Differenz der Leitfähigkeit in der Lösung) bestimmt werden. Je nach Art der Titration unterscheidet man zwischen Neutralisationstittation, komplexometrischer Titration, Redoxittittation und Fällungstittation.



Die verschiedenen Arten der Volumetrie

### SÄURE-BASE-TITTATION (NEUTRALISATIONSTITTATION, ACIDIMETRIE, ALKALIMETRIE)

Bei Neutralisationstittationen wird die Konzentration einer Säure oder Base bestimmt. Die Acidimetrie bezeichnet die Methode, bei der die Bestimmung des Säuregehalts durch Zugabe einer Base erfolgt.

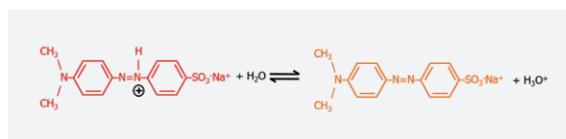
Aus der Schulzeit ist hier vermutlich die typische Tittation von Salzsäure (HCl) mit Natronlauge (NaOH) bekannt. Dazu wird ein genaues Volumen der Säure (hier: Salzsäure) abgemessen, gegebenenfalls mit Wasser verdünnt und meist mit einer kleinen Menge eines pH-Indikators versetzt (für das obige Beispiel wird oft Phenolphthalein verwendet mit einem Farbumschlag von Farblos nach Rosa-Violett). Nun erfolgt schrittweise die Zugabe der Base (in unserem Beispiel: Natronlauge) aus Büretten – Glasrohren mit genauer Volumenskala, an denen ein leichtgängiges Ventil angebracht ist. Dies geschieht so lange, bis die Säure vollständig neutralisiert und somit die chemische Reaktion beendet ist. Dieser Äquivalenzpunkt wird durch den Farbumschlag der Lösung kenntlich gemacht. Nun wird das Volumen der verbrauchten Lauge an der Bürette abgelesen und der gesuchte Gehalt berechnet. Alternativ lässt sich der Endpunkt der Tittation auch physikalisch über Konduktometrie oder Potentiometrie bestimmen. Analog zur Acidimetrie wird eine unbekannte Konzentration einer Base durch Zugabe einer Säure bestimmt (Alkalimetrie).

Die Neutralisationstittation funktioniert auch für die Bestimmung von festen Substanzen, die in wässriger Lösung als Säuren oder Basen reagieren. Nach der Methode der Neutralisationstittation werden so auch die Kenngrößen wie Säurezahl, Verseifungszahl oder Hydroxylzahl insbesondere von Fetten und Ölen bestimmt.

### INDIKATOREN

Der Endpunkt von Säure-Base-Reaktionen wird häufig mit pH-Farbindikatoren bestimmt. Indikatoren sind selbst schwache

organische Säuren oder Basen, deren Ionen eine andere Farbe haben als die undissoziierten Verbindungen. So lautet das Protolysegleichgewicht für den Indikator Methylorange:



Methylorange: saure Form (rot),  
Methylorange: alkalische Form (orange)

Um einen geeigneten Indikator zu wählen, muss dessen Protolyse und somit dessen Farbumschlag im Bereich des Endpunkts der Tittation liegen.

Da der Farbumschlag der Indikatoren meist nicht scharf zu erkennen ist, greift man in der Praxis gerne zu Mischindikatoren. Dazu werden mehrere Indikatoren mit annähernd gleichem pH-Wert-Verhalten zusammengemischt, wodurch sich die jeweilige Gesamtfarbänderung leichter ausmachen lässt.

Das menschliche Auge erkennt nämlich in einem Farbgemisch die jeweilige reine Farbe erst dann, wenn diese in einem mindestens zehnfachen Überschuss vorliegt, wodurch sich das Umschlagsintervall auf einen Bereich von ein bis zwei pH-Einheiten erstreckt.

Der Eigenverbrauch der Indikatoren an zu reagierenden Teilchen ist meist vernachlässigbar, da der Indikator bei der Tittation nur in sehr geringen Mengen zugesetzt wird. In Ausnahmen wird eine Indikator Korrektur berücksichtigt, die sich auf die Menge der Titrierlösung bezieht.

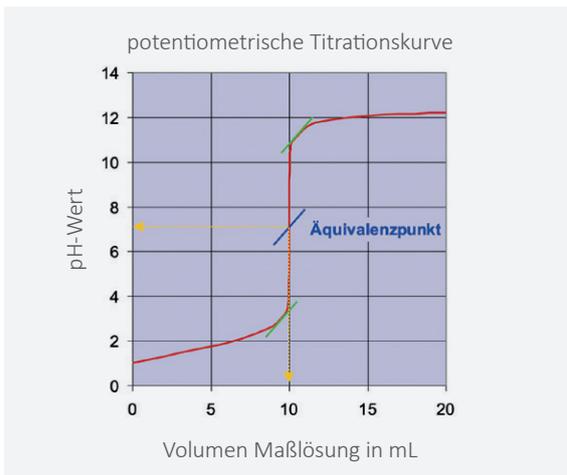
### PHYSIKALISCHE MESSMETHODEN

Physikalische Messmethoden kommen bei Tittationen zum Einsatz, bei denen der Endpunkt durch den Farbumschlag eines Indikators nur schwer bestimmt werden kann. Dies ist besonders bei stark verdünnten oder bei dunklen und farbigen Lösungen der Fall. Zudem bieten diese Verfahren wie die Potentiometrie oder Konduktometrie den Vorteil, dass man ein kontinuierliches Bild des Tittationsverlaufes in Form einer graphischen Darstellung erhält. Durch die Indikator Methode wird hingegen nur der Äquivalenzpunkt sichtlich gemacht.

#### Potentiometrie

Eine häufig angewandte physikalische Messmethode ist die Potentiometrie, bei der die Messung des pH-Werts (z. B. für Säure-Base-Tittationen) bzw. der Spannung (z. B. für Fällungstittationen oder Redoxittationen) erfolgt. Die Potentialdifferenz wird über eine Messkette, bestehend aus einer Bezugs elektrode (Referenzelektrode) mit unveränderlichem Potential und einer Messelektrode (Indikatorelektrode) mit konzentrationsabhängigem Potential erfasst.

Je nach Tittationsart werden hier verschiedene Elektroden eingesetzt. Für Neutralisationstittationen zur pH-Messung benötigt man eine Indikatorelektrode, die auf Konzentrationsänderung von Protonen anspricht, üblicherweise eine



Darstellung der potentiometrischen Titrationskurve

Glaselektrode. Redox-titrations lassen sich mittels Pt-Elektrode und argentometrische Titrations mittels Ag-Elektrode durchführen.

Wird bei einer Neutralisationstiteration der Verbrauch der Maßlösung gegen den jeweiligen pH-Wert der Probelösung aufgetragen, erhält man eine Titrationskurve. An ihrem Wendepunkt, also an dem Punkt ihrer maximalen Steigung hat sie ihren Äquivalenzpunkt. Hier ist der Endpunkt der Titeration erreicht. Zeichnerisch kann dieser Punkt durch zwei parallele Tangenten ermittelt werden, die an den Kurvenradius gelegt werden. Der Äquivalenzpunkt befindet sich am Schnittpunkt der Titrationskurve und der zugehörigen Mittelparallelen der Tangenten.

Alternativ lässt sich auch die erste Ableitung der Titrationskurve graphisch auftragen. Hier wird der Äquivalenzpunkt der Titeration dann durch den Höhepunkt der Kurve angezeigt.

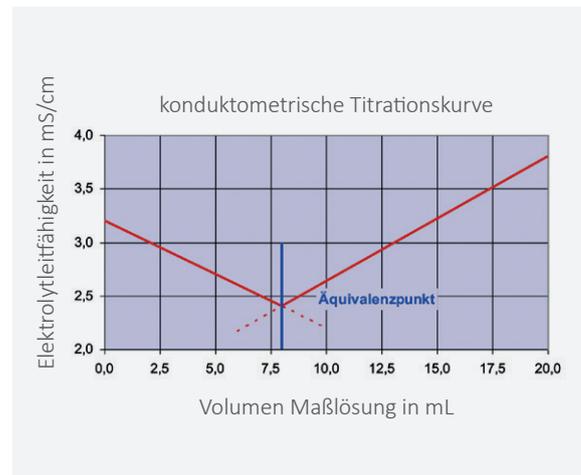
Für Titrations von starken Säuren mit starken Basen kann so ein Farbindikator gewählt werden, der seinen Umschlagsbereich zwischen pH 4 und pH 10 hat, da sich in diesem Bereich der pH-Wert bei Zugabe der Maßlösung sprunghaft ändert.

Die Potentiometrische Titeration hat im Europäischen Arzneibuch im Kapitel Ph.Eur. 2.2.20 Potentiometrie Eingang gefunden.

### Konduktometrie

Bei der Leitfähigkeitstiteration (Konduktometrie) wird die Leitfähigkeit der Titrationslösung gemessen. Der Endpunkt bei Neutralisations- oder Fällungstiterationen befindet sich hierbei im Leitfähigkeitsminimum. Die Ionen, die bei der Säure-Base-Titeration im sauren ( $\text{H}_3\text{O}^+$ -Ionen) oder auch im alkalischen ( $\text{OH}^-$ -Ionen) pH-Wert-Bereich vorliegen, zeigen eine besonders hohe Leitfähigkeit. Beim Äquivalenzpunkt liegt dagegen Wasser vor ( $\text{H}_2\text{O}$ ), das eine sehr geringe Leitfähigkeit hat.

Ähnlich verhält es sich bei der Fällungstiteration. Während im Titrationsverlauf die Ionenkonzentration der Chlorid-Ionen ( $\text{Cl}^-$ -Ionen) durch Zugabe der Maßlösung Silbernitrat ( $\text{Ag}^+$ -Ionen) kontinuierlich abnimmt und am Äquivalenzpunkt



Darstellung der konduktometrischen Titrationskurve

durch das ausschließliche Vorhandenseins des Fällungsprodukts  $\text{AgCl}$  das Minimum bildet, nimmt anschließend die Ionenkonzentration durch weitere Zugabe von Silbernitratlösung wieder zu. Im Gegensatz zum Fällungsprodukt  $\text{AgCl}$  haben Ionen nämlich eine hohe Leitfähigkeit.

### REDOXTITRATIONEN (OXIDIMETRIE)

Als volumetrisches Verfahren beruht die Redox-titeration auf einem Elektronenaustausch zwischen den Reaktionspartnern: Elektronen gehen vom Elektronendonator (Reduktionsmittel) auf den Elektronenakzeptor (Oxidationsmittel) über.

Falls der Endpunkt der Titeration nicht visuell durch Eigenfärbung oder durch eine elektrochemische Methode (z. B. Potentiometrie) bestimmt werden kann, wird ein Redoxindikator





(oxidier- bzw. reduzierbarer Indikator, dessen Farbe sich durch Elektronenaufnahme bzw.-abgabe ändert) zugesetzt.

Ob Iodometrie, Manganometrie, Chromatometrie, Bromatometrie oder Cerimetrie: Die verschiedenen Verfahren der Redox-titrations lassen sich nach Art der verwendeten Maßlösung unterscheiden. Die Iodometrie gehört dabei zu den gängigsten Methoden und findet typische Anwendung in der Bestimmung von elementarem Chlor oder Brom, Peroxiden und Methanal sowie in der Wassergehaltsbestimmung nach Karl Fischer. Auch die Iodzahl zur Bestimmung der Anzahl der Doppelbindungen in organischen Fettsäuren beruht auf dieser Methode. Iod kann dabei sowohl als Elektronendonator als auch als Elektronenakzeptor reagieren; so erklärt sich auch die vielfältige Anwendung der Iodometrie.

Die Indikation kann potentiometrisch erfolgen, wie dies bei der Karl-Fischer-Wasserbestimmung der Fall ist. Eine weitere Möglichkeit bietet Stärke, die mit Iod eine tiefblaue Einschlussverbindung (Iod-Stärke-Komplex) bildet, während Iodid in Anwesenheit von Stärke farblos reagiert. Reduktionsmittel können mit Iod als Maßlösung direkt titriert werden. Durch einen Überschuss an Iod färbt sich die Lösung am Äquivalenzpunkt blau.

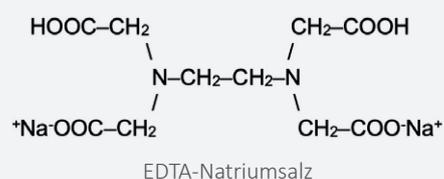
Soll der Gehalt eines Oxidationsmittels durch Iodometrie ermittelt werden, erfolgt eine Zugabe von Kaliumiodid-Lösung KI im Überschuss. Durch die Reaktion des Iodids mit dem Oxidationsmittel entsteht freies Iod, das anschließend mit Natriumthiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) zurücktitriert wird. Hierbei spricht man dann von einer Rücktitration. Diese Art der Titration wird angewandt, wenn eine direkte Titration des gewünschten Stoffes, z. B. wegen seiner schlechten Löslichkeit in Wasser, nicht möglich ist. Dazu wird die Probe mit einem bekannten Überschuss an Maßlösung versetzt, die nun mit dem zu bestimmenden Stoff reagiert. Die verbleibende, nicht umgesetzte Maßlösung wird nun mit einer anderen

Maßlösung titriert. Die Rücktitration kann auch bei anderen Titrationsarten, wie der Säure-Base-Titration oder der Komplextometrie, zum Einsatz kommen.

Besonders wichtig bei Redox-titrations ist der Lichtschutz. Durch Lichtstrahlung wird der Elektronenübergang begünstigt – dies kann das Ergebnis verfälschen. Zudem ist die Durchführung einer Blindwert-Titration für diese Titrationsart unerlässlich: Die eingesetzten Reagenzien können selbst schon als Reduktions- oder Oxidationsmittel wirken und so die Titration beeinflussen. Das verbrauchte Volumen der Maßlösung für die Blindwerttitration wird bei der Berechnung vom verbrauchten Volumen der Maßlösung der Probetitration abgezogen.

#### KOMPLEXOMETRIE (CHELATOMETRIE)

Die Komplextometrie wird vor allem genutzt, um Metallkationen volumetrisch zu bestimmen. So wird diese Titrationsart bei der Bestimmung der Wasserhärte angewendet – hierbei werden  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{Mg}^{2+}$ -Ionen bestimmt. Komplexe zeigen oft eine intensive Färbung und bestehen aus einem Zentralteilchen (meist Metall-Kation), um das sich Liganden (Atome oder Moleküle mit mindestens einem freien Elektronenpaar) anlagern.



Ein besonders stabiler Komplex wird als Chelat (griech. chele: Krebsschere) bezeichnet. Dies ist der Fall, wenn der Ligand mehrfach mit dem Zentralteilchen eine Bindung eingegangen ist. Der am häufigsten eingesetzte Komplexbildner ist das Salz Dinatrium-Ethylendiamintetraacetat Dihydrat ( $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8 \times 2 H_2O$ ), abgekürzt EDTA. EDTA bindet Metall-Kationen stets im Stoffmengenverhältnis 1:1, unabhängig von deren Ionenladung.

Als Indikatoren werden ebenfalls Komplexbildner eingesetzt, die mit dem Metall-Kation einen andersfarbigen Komplex bilden. Da sich die Komplexe nur in einem bestimmten pH-Bereich bilden, müssen die Lösungen gepuffert werden. Zudem werden bei den meisten Reaktionen Protonen frei, die den pH-Wert über den Titrationsverlauf zusätzlich senken.

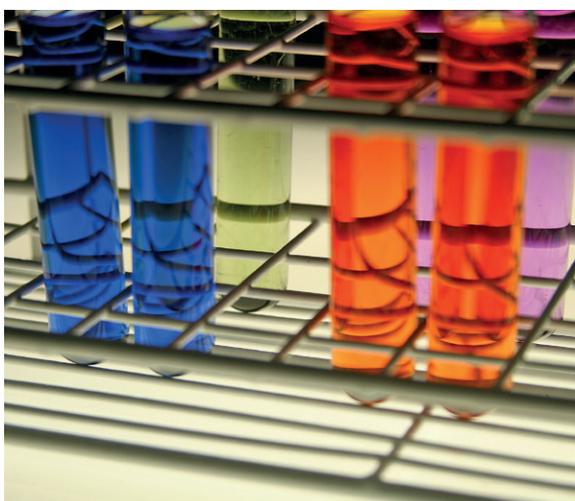
Neben der Direkttitration oder der Rücktitration kann die komplexometrische Bestimmung auch durch Verdrängungstitration (Substitutionstitration) durchgeführt werden. Hierbei wird der zu titrierenden Lösung, die bereits einen Komplex enthält, ein weiteres Metall-Kation zugesetzt. Die Liganden des ursprünglichen Komplexes bilden mit dem zugegebenen Metall-Kation einen neuen, stabileren Komplex; somit wird der ursprüngliche Komplex verdrängt. Das nun frei gewordene Metall-Kation kann anschließend titriert werden.

Das Europäische Arzneibuch hat im Kapitel Ph.Eur. 2.5.11 der komplexometrischen Titration verschiedener Metall-Kationen ein ganzes Kapitel gewidmet.

## FÄLLUNGSTITRATION

Bei der Fällungstitration wird so lange Maßlösung zugegeben, bis die zu bestimmende Substanz vollständig als schwerlöslicher Niederschlag ausgefällt ist. Da der Endpunkt der Fällung meist sehr schwer zu erkennen ist, gibt man als Indikator Salzlösungen zu, die mit einem Überschuss an Maßlösung durch Komplexbildung eine charakteristische Färbung zeigen. Alternativ misst man den Äquivalenzpunkt mit Hilfe physikalischer Messmethoden.

Als Fällungstitration hat sich besonders die Argentometrie durchgesetzt. Diese beruht auf der Schwerlöslichkeit von Silberhalogeniden (z. B. AgCl) oder Silberthiocyanaten (AgSCN) und wird mit Silbernitratmaßlösung (AgNO<sub>3</sub>) durchgeführt.



## Übersicht von Kennzahlen des Europäischen Arzneibuchs, die durch Titration bestimmt werden

### Ph.Eur. 2.5.1: Säurezahl (SZ)

- Säure-Base-Titration
- Bestimmung des Gehalts von freien Fettsäuren in Fetten und Ölen
- Kennzahl zur Qualitätsbeurteilung von Fetten und Ölen
- Menge KOH in mg/1 g Substanz

### Ph.Eur. 2.5.2: Esterzahl (EZ)

- Säure-Base-Titration
- Bestimmung des Gehalts an vorhandenen Esterbindungen in Fetten und Ölen
- Kennzahl bei der Qualitätskontrolle von Fetten und Ölen
- Esterzahl (EZ) = Verseifungszahl (VZ) - Säurezahl (SZ)

### Ph.Eur. 2.5.3: Hydroxylzahl (OHZ)

- Säure-Base-Titration
- Bestimmung des Gehalts an Hydroxylgruppen (OH-Gruppen) in organischen Materialien z. B. Fetten oder Lösungsmitteln
- Menge KOH in mg, die der von 1g Substanz bei der Acetylierung gebundenen Essigsäure äquivalent ist

### Ph.Eur. 2.5.4: Iodzahl (IZ)

- Redox Titration
- Bestimmung des Gehalts an ungesättigten Verbindungen eines Fettes
- Kennzahl für das Altern bzw. Erhitzen von Fetten und Ölen
- Menge Halogen (als Iod berechnet) in g/100 g Substanz

### Ph.Eur. 2.5.5: Peroxidzahl (POZ)

- Redox Titration
- Bestimmung des Gehalts an peroxidischen funktionellen Gruppen eines Fettes oder fetten Öls
- Kennzahl zur Beurteilung des Fettverderbs
- Peroxidmenge in Milliäquivalenten aktiven Sauerstoffs pro 1000 g Substanz

### Ph.Eur. 2.5.6: Verseifungszahl (VZ)

- Säure-Base-Titration
- Summenparameter aus dem Gehalt von freien Fettsäuren und dem Gehalt der vorhandenen Esterbindungen in Fetten und Ölen
- Kennzahl bei der Qualitätskontrolle von Fetten und Ölen und zur Beurteilung deren Reinheit
- Menge KOH in mg/1 g Substanz



## HHAC – Neu an Bord

Kontinuierliches Wachstum schlägt sich auch in der stetigen Erweiterung unseres Mitarbeiterstamms nieder. Wir freuen uns jedenfalls riesig über neue Kräfte, Kompetenzen und Talente. Hier unsere neuen Teammitglieder:

### Jennifer Knoop

#### Ausbildung:

Chemielaborantin

#### Schwerpunkte im Labor:

Erst einmal alles, da Auszubildende zur Chemielaborantin

#### Leidenschaften:

Zeichnen/Malen, Backen, Musik hören, Bücher lesen

Im September 2019 hat Jennifer Knoop bei HHAC ihre Ausbildung begonnen und verstärkt seitdem unser Labor team. Der fachliche Einstieg bei uns fiel ihr sehr leicht, konnte sie doch auf einen zweijährigen Besuch der Berufsfachschule Labortechnik zurückblicken. Wir freuen uns, auch mit unserem „neuen“ Azubi wieder einen Glücksgriff gelandet zu haben, denn auch zwischenmenschlich ist sie voll bei uns angekommen.





## Pufferkapazitäten bestimmen

Eine Anwendung der potentiometrischen Titration ist die Bestimmung der Pufferkapazität. Ihr Einsatz ist vor allem dann sinnvoll, wenn der pH-Wert eines Arzneimittels stabilisiert werden soll.

*Die Pufferkapazität umfasst die Menge an Säure bzw. Base, die ein Puffersystem aufnehmen kann, ohne dass sich der pH-Wert des Systems wesentlich ändert. Als wesentliche Änderung betrachtet man dabei in der Regel die Abweichung des pH-Wertes um eine Einheit.*

Die Pufferkapazität hängt von den in der Lösung vorliegenden Konzentrationen an schwachen Säuren und Basen ab, die den Puffer bilden. In einer Lösung können Oxonium-Ionen ( $H_3O^+$ ) nur abgepuffert werden, wenn die schwache Base noch in ausreichender Konzentration vorliegt. Hingegen können Hydroxid-Ionen ( $OH^-$ ) nur abgepuffert werden, wenn noch genügend schwache Säure vorhanden ist. Die Pufferkapazität ist umso größer, je höher die Konzentration der schwachen Säure und Base in der Lösung ist. Die Pufferkapazität erreicht einen maximalen Wert, wenn Säure und Base in einem Stoffmengenverhältnis von eins zu eins vorliegen (äquimolarer Puffer), siehe Abbildung 1. Die Pufferkapazität wird mit „ $\beta$ “ gekennzeichnet und hat die Einheit mol/L.

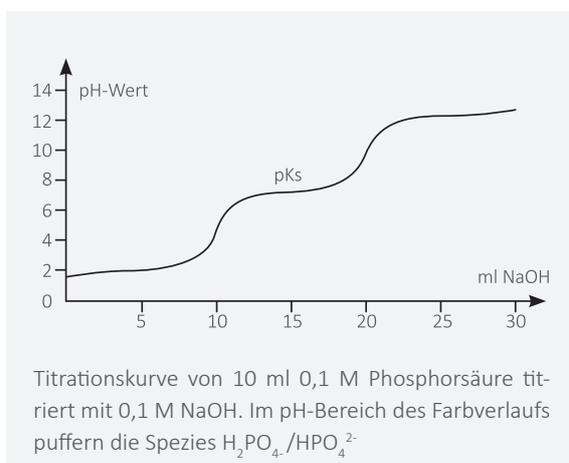


Abbildung 1: Titrationskurve von 10 ml 0,1 M Phosphorsäure titriert mit 0,1 M NaOH

### WANN IST DIE PUFFERKAPAZITÄT VON INTERESSE?

Soll der pH-Wert eines Arzneimittels, z. B. Augentropfen, stabilisiert werden, ist eine Pufferung der Lösung möglicherweise sinnvoll. Durch die Bestimmung der Pufferkapazität kann ermittelt werden, durch welches Puffersystem die geeignetste Wirkung erzielt wird.

Abbildung 2 zeigt die Pufferkapazität für verschiedene Rezepturen eines flüssigen Arzneimittels. Als Puffersysteme wurden hier Citronensäure-Monohydrat, Natriumcitrat-Dihydrat und Trometamol in unterschiedlichen Konzentrationen eingesetzt. Phosphatpuffer werden wegen einer möglichen Ausfällung von Calciumphosphat in der Hornhaut des Auges immer seltener verwendet. Jede Kurve entspricht einer getesteten Rezeptur. Der pH-Wert wurde in Abhängigkeit von der zugegebenen Menge NaOH (positive Werte) bzw. der zugegebenen Menge HCl (negative Werte) aufgezeichnet. Flache Kurven zeigen eine gute Pufferkapazität gegenüber der Zugabe von Säuren und Basen.

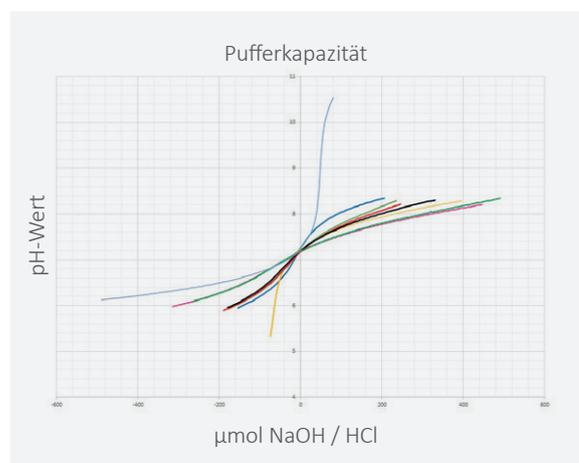


Abbildung 2: Pufferkapazität verschiedener Rezepturen

# HHAC – Wissen

## Passive Immunisierung als Heilverfahren

*Nach wie vor sind passive Immunisierungen ein wichtiges therapeutisches Mittel, um Krankheitserreger abzuwehren. Möglicherweise können sie sogar im Einsatz gegen Corona helfen.*

Die Bildung von Antikörpern gehört zu den grundlegenden und effektivsten Abwehrmechanismen der Immunsysteme höherer Wirbeltiere. Ihre Anwesenheit im Körper eines Menschen bedeutet normalerweise, dass dieser immun gegen den entsprechenden Erreger ist. Darauf beruht auch die Wirkungsweise von Impfungen: Sie erzeugen effektive Antikörper gegen den betreffenden Krankheitserreger.

Es gibt unterschiedliche Mechanismen, die Antikörper gegen ihre Ziele wirksam machen. Die Bindung eines Antikörpers an ein Ziel (Antigen) bewirkt eine Änderung in der Struktur des Antikörpers, was wiederum aktivierend auf andere Komponenten des Immunsystems (z. B. Fresszellen, Killerzellen, Komplementsystem) wirkt. Da Antikörper zwei Antigene gleichzeitig binden können, sind jene in der Lage, bestimmte Ziele zu verklumpen (Agglutinationen) und damit zu immobilisieren, bis die Agglutinationen dann vom Organismus abgebaut werden. Bei sehr kleinen Zielstrukturen wie Viren oder Toxinen genügt oftmals nur die Bindung des Antikörpers an das Ziel, um dieses zu neutralisieren. Eine derartige Bindung verhindert, dass das Virus oder das Toxin seinerseits an Körperzellen andocken kann.

Antikörper sind ein effektives Instrument des Immunsystems gegen Krankheitserreger. Allerdings dauert es zwei bis drei Wochen, bis das Immunsystem reagiert – zu lang in Fällen kritischer Infektionen oder bei Vergiftungen. Am Ende des 19. Jahrhunderts wurde jedoch ein neues Heilverfahren etabliert, bei dem Kranke mit hohen Dosen von Antikörpern (Antisera) behandelt wurden. Die erste Anwendung war ihr

Einsatz gegen Diphtherie durch Emil von Behring im Jahr 1890. Die Antikörper wurden dabei aus dem Serum von Pferden gewonnen, die gegen das Diphtherie-Toxin immunisiert worden waren. Ein derartiger Ansatz wird als passive Immunisierung bezeichnet.

Im Gegensatz zur aktiven Immunisierung (durch eine Impfung) hält der Schutz durch eine passive Immunisierung allerdings nur einige Monate. Durch immer bessere Verfahren der aktiven Immunisierung hat die passive Immunisierung im Laufe der Zeit an Bedeutung verloren, zumal dabei häufig Antikörper tierischen Ursprungs verwendet werden, die in menschlichen Empfängern eine Immunreaktion gegen die als fremd erkannten Stoffe auslösen können.

Trotzdem ist die passive Immunisierung weiterhin ein wichtiges therapeutisches Instrument geblieben und wird vor allem dann eingesetzt, wenn eine aktive Immunisierung nicht durchführbar ist. So werden Antisera u. a. bei der Behandlung von Vergiftungen wie Schlangenbissen oder zur Tetanus-Prophylaxe eingesetzt. Zu Beginn dieses Jahres wurde ein Projekt einer Arbeitsgruppe der TU München veröffentlicht, bei der Antikörper aus der Milch immunisierter Kühe gewonnen wurden; diese sollen dann als Ersatz für Antibiotika eingesetzt werden. Aktuell wird darüber diskutiert, aus dem Plasma von Menschen, die eine Infektion mit dem Corona-Virus überstanden haben, Antisera zu gewinnen, die dann Covid-19-Patienten mit schwerem Verlauf oder negativer Prognose injiziert werden können. Einschränkung wirkt dabei der bislang zu kleine Pool von Genesenen und ausreichenden Testverfahren, um die Effizienz der unterschiedlichen Antisera nachzuweisen. Dennoch könnte die passive Immunisierung mit Anti-Corona-Sera ein wertvolles Mittel bei kritischen Krankheitsverläufen darstellen, bis andere Medikamente oder Impfstoffe verfügbar sind.

## Über Uns

Seit 28 Jahren gehört die HHAC Labor Dr. Heusler GmbH zu den renommiertesten Auftragslaboren für chemisch-physikalische Untersuchungen von Arzneimitteln und deren Rohstoffen auf dem europäischen Markt. DIN EN ISO/IEC 17025- sowie GMP-zertifiziert führen wir zusätzlich zur Freigabeanalytik Untersuchungen im Rahmen von Stabilitätsprüfungen durch. Dabei stehen uns zur Lagerung von Stabilitätsmustern hinreichend Kapazitäten für alle gängigen Temperatur- bzw. Luftfeuchtebedingungen zur Verfügung. Ergänzt wird unser Leistungsspektrum durch die wissenschaftliche & technische Beratung in Analytik-, Stabilitäts- sowie generell GMP-relevanten Fragestellungen.



HHAC Labor Dr. Heusler GmbH  
Hindenburgstr. 33  
D-76297 Stutensee



*Ihr Ansprechpartner*

Dr. Timo Krebsbach  
Tel.: +49 7249/9 13 02-14  
Mail: [timo.krebsbach@hhac.de](mailto:timo.krebsbach@hhac.de)  
Web: [www.hhac.de](http://www.hhac.de)