

Neue Bestimmungsmethode für Zinn und Eisen in Gemüsekonserven und Obstsaft

H. ZOHM

Mitteilung aus dem Institut für Chemie und Technologie* der Bundesforschungsanstalt
für Lebensmittelfrischhaltung Karlsruhe (BRD)

Eingegangen am 15. März 1972

Method for Determination of Tin and Iron in Canned Vegetables and Fruit Juices

Summary. A new method for the determination of tin and iron in one sample is described. Both metals are complexed with EDTA and excess EDTA is back-titrated at pH 5.6 with lead nitrate. After that, tin is transformed to fluostannate complex and the liberated EDTA is titrated (tin value). The difference between both titration-values yields the quantity of iron.

Zusammenfassung. Es wird eine Methode beschrieben, mit der Zinn und Eisen aus einer Einwaage bestimmt werden können: Man komplexiert die beiden Metalle gemeinsam mit Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) und titriert überschüssige EDTA bei pH 5,6 mit Bleinitrat zurück. Anschließend Überführung des Zinns in einen Fluostannatkomplex und Titration der hierbei frei gewordenen EDTA liefert den Zinnwert, während sich Eisen aus der Differenz beider Titrations ermitteln läßt.

Einleitung

Sterilisierte Lebensmittel in unlackierten verzinnnten Weißblechdosen können je nach Lagerungszeit und -temperatur einen erhöhten Zinn- und Eisengehalt aufweisen. Dieser soll gewisse Grenzwerte nicht überschreiten, die — mehr aus geschmacklichen als aus toxikologischen Gründen — für Zinn bei 25—30 mg/100 g und für Eisen bei 5 mg/100 g liegen [1].

Die polarographische Methode zur Zinnbestimmung liefert im allgemeinen befriedigende Ergebnisse. Bei der titrimetrischen Methode treten jedoch Schwierigkeiten auf, die zum größten Teil durch Hydrolyse von vierwertigem Zinn hervorgerufen werden. Außerdem erfordert die Abtrennung des Zinns — Fällung als Sulfid, Filtrieren und Wiederauflösen [2] — viel Zeit. Wir versuchten deshalb eine einfachere Bestimmungsmethode auszuarbeiten.

Ergebnisse

Prinzip der Methode

Zuerst ist eine Veraschung der Analysensubstanz erforderlich, die bei einer Zinnbestimmung mit Schwefelsäure und wenig Salpetersäure erfolgen sollte [1]. Hierdurch ist ein Säureanteil bedingt, der neutralisiert werden muß. Um eine Hydrolyse des Sn^{4+} zu verhindern, wird vorher Äthylendiamintetraessigsäure (EDTA) zugegeben, die außer Zinn auch vorhandenes Eisen komplexiert. Überschüssige EDTA wird mit Bleinitrat gegen Xylenolorange als Indikator zurücktitriert, anschließend das Zinn mittels Ammoniumfluorid in einen Fluostannatkomplex überführt. Titration der hierdurch freigewordenen EDTA liefert den Zinnwert, die Differenz beider Titrations den des Eisens.

Unter den gegebenen Bedingungen reagieren auch andere Metalle wie z. B. Blei [2] mit EDTA, jedoch liegen ihre Konzentrationen in den untersuchten Konserven so niedrig, daß sie vernachlässigt werden können. — Andernfalls läßt sich Eisen nach Teilung des Ansatzes mit EDTA gegen Sulfosalicylsäure als Indikator getrennt bestimmen [3].

Kontrolle der Genauigkeit

Um die Brauchbarkeit der Methode zu überprüfen, wurden Lösungen mit bekanntem Zinn- und Eisengehalt wie unter „Experimentelles“ beschrieben untersucht. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 wiedergegeben.

* Wir danken Herrn Th. Langenbein für die exakte Durchführung vieler Aufschlußversuche und Analysenmethoden.

Tabelle 1. Titration von wäßrigen Lösungen mit bekanntem Zinn- und Eisengehalt

Meßwerte	Sn	Fe
Anzahl n	20	20
Theoretischer Wert in mg	3,00	1,00
Mittelwert in mg	2,99	0,99
Standardabweichung S	0,012	0,008

Die Werte für S wurden nach der Formel $S = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n}}{n-1}}$ maschinell errechnet.

$x_i =$ Meßwert.

Auch bei anderen Verhältnissen von Sn zu Fe wurden ähnlich gute Ergebnisse erhalten. Daher wurde die Methode zur Untersuchung von Orangensaft und Bohnenkonserven angewendet.

Anwendungsbeispiele

a) *Orangensaft*: Eine Dose ungesüßter Orangensaft wurde geöffnet und die Zinn-Eisen-Bestimmung einmal sofort und dann nach 7 Tagen durchgeführt. Verdampfte Flüssigkeit ersetzten wir durch destilliertes Wasser (Tab. 2).

Tabelle 2. Ergebnisse der Sn- und Fe-Bestimmung in Orangensaft, Einwaage 10 g

Meßwerte	sofort nach dem Öffnen		nach 7 Tagen bei 30° C	
	Sn	Fe	Sn	Fe
Anzahl	15	15	15	15
Mittelwert in mg/100 g	5,69	0,34	33,79	10,41
Standardabweichung	0,064	0,032	0,21	0,15

Die beim Öffnen innen blanke Dose hatte sich während der Lagerung schwarz gefärbt, der Saft schmeckte „metallisch“ und war nicht mehr genießbar.

b) *Bohnenkonserven*: Zur Untersuchung gelangte eine Dose Bohnenkonserven, die bei 18° C 8 Jahre gelagert worden war. Die Bohnen wurden vom Aufguß getrennt und beides für sich untersucht (Tab. 3).

Tabelle 3. Ergebnisse der Sn- und Fe-Bestimmung in einer Bohnenkonserven

Meßwerte	Aufguß, Einwaage		Bohnen, Einwaage	
	10 g		5 g	
	Sn	Fe	Sn	Fe
Anzahl	10	10	10	10
Mittelwert in mg/100 g	7,03	0,95	77,80	3,40
Standardabweichung	0,009	0,007	0,97	0,16

Das Ergebnis zeigt, daß wie erwartet relativ große Mengen an Zinn und Eisen vorlagen. Der erhebliche Unterschied im Metallgehalt zwischen Aufguß und Gemüse wurde auch von anderen Autoren gefunden [4].

Zur Kontrolle versetzten wir eine weitere 10 g-Einwaage des Aufgusses mit 2 mg Zinn und 1 mg Eisen. Die beiden Metalle wurden zu 98% bzw. 99% wiedergefunden (Tab. 4).

Tabelle 4. Wiederfindungsrate für Sn und Fe in 10 g Aufguß

Meßwerte	Sn	Fe
Anzahl	10	10
Theoretischer Wert in mg	2,70	1,09
Mittelwert in mg	2,65	1,08
Standardabweichung	0,027	0,023

Grenzen der Methode

In einem Versuch mit frischen Bohnenkonserven fanden wir im Aufguß etwa 0,3 mg Zinn und 0,2 mg Eisen, im Gemüse 0,6 mg Zinn und 0,3 mg Eisen, jeweils auf 100 g bezogen. Bei Einwaagen von 10 g bzw. 5 g ergab sich hier ein Verbrauch von ca. 10 bzw. 3 Tropfen Maßlösung und die Werte streuten stark. Andererseits fanden wir bei Zugaben von 100 mg/100 g beide Metalle quantitativ mit engem Streubereich wieder; noch höhere Konzentrationen wurden nicht untersucht. Die Methode arbeitet also in dem für die Lebensmittelüberwachung wichtigen Bereich zuverlässig. Weitere Versuche werden mit anderen Gemüsekonserven und Obstsaften durchgeführt.

Experimentelles

a) Reagentien

0,005 n Di-Natriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure: 1,8612 g Titriplex III auf 1 l mit Wasser auffüllen. — 0,005 n Bleinitratlösung: 1,656 g $Pb(NO_3)_2$ pro anal. auf 1 l mit Wasser auffüllen. — ca. 12,5% ige Ammoniaklösung: 25% ige Ammoniaklösung pro anal. mit Wasser 1:1 verdünnen. — 10% ige Ammoniumfluoridlösung: 50 g NH_4F pro anal. in 450 ml Wasser lösen. — 30% ige Natronlauge: 150 g NaOH pro anal. in 350 ml Wasser lösen. — 30% ige Urotropinlösung: 150 g Hexamethylentetramin pro anal. in 350 ml Wasser lösen. — 95—97% ige Schwefelsäure pro anal. — Salpetersäure: mind. 65%, pro anal. — Ammoniumoxalat: $(NH_4)_2C_2O_4 \cdot H_2O$ pro anal. — Indikatorverreibung: 0,1 g Xylenorange mit 9,9 g Kaliumnitrat pro anal. in einer Reibschale innig miteinander mischen. — Zinn-Stammlösung (100 mg/100 ml): 100,0 mg Zinn gekörnt pro anal. in 20 ml Salzsäure bei 40° C lösen und mit Wasser auf 100 ml auffüllen.

Eisen-Stammlösung (100 mg/100 ml): 863,4 mg Ammoniumeisen(III)-sulfat $[NH_4Fe(SO_4)_2 \cdot 12 H_2O, MG = 482,19]$ in 5 ml Salzsäure lösen und mit Wasser auf 100 ml auffüllen.

Es ist bidestilliertes bzw. voll entsalztes Wasser zu verwenden.

b) Durchführung der Bestimmung

Einwaage: Flüssigkeit 10 g, Festanteile 5 g in einen 250 ml-Kjeldahlkolben einwiegen.

Trocknen: Im Trockenschrank bei 100° C. — Wenn die Einwaage nicht getrocknet wird, tritt beim Veraschen starkes Schäumen auf.

Veraschen: 5 ml Schwefelsäure auf die Einwaage bringen und erhitzen. — Der Kjeldahlkolben soll hierbei ca. 3 cm über einem Asbestdrahtnetz hängen, um die Schwefelsäureverluste niedrig zu halten. — Nun ca. 5 Tropfen Salpetersäure zugeben und 1 min warten (Vertreiben der nitrosen Gase). Wiederum 5 Tropfen Salpetersäure zutropfen und warten. Vorgang wiederholen, bis die Flüssigkeit farblos ist, was 6—8 min dauert. Mit 10 ml Wasser verdünnen und 0,5 g Ammoniumoxalat zufügen. Nun das Wasser vertreiben und weiter erwärmen, bis das dann auftretende Sprudeln aufgehört hat.

Ermittlung der Summe Sn + Fe

Veraschungslösung unter Umschwenken mit 10 ml Wasser verdünnen, in einen Erlenmeyerkolben gießen und 3mal mit je ca. 10 ml Wasser nachspülen. Nun 20 ml EDTA-Lösung und anschließend unter kräftigem Schwenken 6,5 ml Natronlauge langsam zuzießen lassen, sofort 1 min kochen, abkühlen auf Zimmertemperatur.

Den Erlenmeyerkolben auf einen Magnetrührer stellen, Elektrode zur pH-Messung einbringen und unter Rühren Ammoniak zutropfen, bis pH 2 erreicht ist. Dann tropfenweise Urotropinlösung zugeben bis zum pH 5,6. (Temperaturabhängigkeit des pH-Wertes berücksichtigen.) Eine Spatelspitze Indikatorverreibung (ca. 50 mg) zufügen, Innenwand des Kolbens mit Wasser abspülen und mit Bleinitratlösung auf Rotviolett titrieren. Zügig arbeiten, da sich die Färbung in einigen Fällen wieder aufhellt. Den Verbrauch von 20 (vorgelegte ml-EDTA-Lösung) abziehen. Man erhält a ml ~ Summe Sn + Fe. — Elektrode herausnehmen.

Bestimmung von Sn

5 ml Ammoniumfluoridlösung einpipettieren und 5 min stehen lassen, da die Fluostannatbildung langsam verläuft. Danach wieder mit Bleinitrat bis zum Farbumschlag titrieren und 1 min warten. Die Farbe schlägt meistens noch einmal von Rotviolett auf Gelb zurück und man muß mit wenigen Tropfen nachtitrieren. Die Farbe bleibt nun über Stunden bestehen.

Bestimmung von Fe

Aus der Differenz der für das Zinn verbrauchten b ml und dem oben erhaltenen Wert (a ml) ergibt sich der Verbrauch für Eisen (c ml). — Die Werte müssen mit einem Faktor multipliziert werden.

Faktor

Die beim Neutralisieren der Schwefelsäure mit Natronlauge, Ammoniak und Urotropin entstehenden Salze üben auf den Indikatorumschlag einen Salzeffekt [5] aus und sollen daher immer in ungefähr gleicher Menge vorliegen. Die in dieser Vorschrift angegebenen Einwaagen und Mengen müssen aus diesem Grund eingehalten werden. Unter dieser Voraussetzung kann der erforderliche Faktor F folgendermaßen ermittelt werden:

4,5 ml Schwefelsäure mit 50 ml Wasser und 10 ml EDTA-Lösung versetzen, 6,5 ml Natronlauge zufügen, abkühlen und wie beschrieben mit Ammoniak und Urotropin versetzen, mit Bleinitratlösung titrieren.

$$F = \frac{10}{\text{ml Pb (NO}_3)_2\text{-Lösng.}}$$

Berechnung

Sn: $b \text{ ml} \cdot F \cdot 0,593 = \text{mg Sn pro Einwaage.}$

Fe: $c \text{ ml} \cdot F \cdot 0,2793 = \text{mg Fe pro Einwaage.}$

Literatur

1. Fey, R.: Ind. Obst-Gemüseverwert. **54**, 27 (1969).
2. Handb. der Lebensmittelchemie. Bd. II/2, S. 119. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1967.
3. Fa. E. Merck: Komplexometrische Bestimmungsmethoden. 3. Aufl.
4. Fey, R.: Ind. Obst-Gemüseverwert. **56**, 278 (1971).
5. Heimes, H. Th., Braun, D.: Z. Anal. Chem. **254**, 21 (1971).

Dr. H. Zohm
Bundesforschungsanstalt
für Lebensmittelrisikohaltung
D-7500 Karlsruhe 1
Engesser Straße 20

Tryptophan-Lactose-Bile Medium for the Rapid Detection of Coli-Bacteria in Ice-Cream

MOHAMED REFAI* and ROLF ROHDE

Mitteilung aus der Medizinaluntersuchungsanstalt am Hygienischen Institut
der Freien und Hansestadt Hamburg (BRD)

Received March 5, 1972

Summary. A new medium for the detection of *E. coli* in milk and milk products has been developed. The medium contains tryptophan, lactose, and bile salts, and is based on the ability of *E. coli* to produce gas from lactose and indol from tryptophan. 142 *E. coli* test strains and 47 ice-cream samples were examined. The medium proved to be efficient in detecting the *E. coli*.

Zusammenfassung. Ein neues Medium für den Nachweis von *E. coli* in Milch und Milchprodukten ist entwickelt worden. Das Medium enthält Tryptophan, Lactose und Gallensalz und basiert auf der Fähigkeit von *E. coli*, Gas aus Lactose und Indol aus Tryptophan zu produzieren. 142 *E. coli*-Versuchsstämme und 47 Eisproben wurden geprüft. Das Medium erwies sich wirksam beim Nachweis von *E. coli*.

Introduction

The presence of coli-bacteria in milk and milk products is detected by using fluid media, such as brilliant green, gentian violet or triphenyltetrazoliumchloride solutions. The detection of coli-bacteria in these media is based on their ability to ferment lactose and to produce gas from it. As other bacteria can do the same, at our Institute we always inoculate an Endo-plate from all tubes with gas production and identify the grown organisms biochemically.

In this paper we present a new prepared medium for the rapid detection of coli-bacteria. This medium is also based on gas production from lactose, but in addition and simultaneously it enables the detection of indol.

* Stipendiat der Alexander von Humboldt-Stiftung.