

Sonderdruck aus der

Verpackungs-Rundschau

Literaturhinweis: Verpackungs-Rundschau **22** (1971) Nr. 11, Techn.-wiss. Beilage, Seiten 94-96

Merkblätter für die Prüfung von Packmitteln

Merkblatt 10

Chrombestimmung in Fischkonserven

Merkblätter für die Prüfung von Packmitteln

Herausgegeben von den Arbeitsgruppen des Instituts für Lebensmitteltechnologie und Verpackung an der Technischen Universität München – Institut der Fraunhofer-Gesellschaft

Merkblatt 10

Chrombestimmung in Fischkonserven

Herausgegeben von der Untergruppe „Prüftechnik“ der Arbeitsgruppe „Blechpackungen“ – August 1971

1. Zweck und Anwendungsbereich

Um Chromspuren in Fischen und unter Umständen mögliche Chromübergänge aus dem Dosenmaterial in das eingedoste Fischerzeugnis feststellen zu können, ist es notwendig, über Methoden hoher Empfindlichkeit zu verfügen. Nachstehend werden zwei für diesen Zweck ausgearbeitete Methoden beschrieben, die es gestatten, auch geringste Chrommengen analytisch zu erfassen: erstens die Bestimmung mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrophotometrie (AAS-Methode) und zweitens eine kolorimetrische Methode mit Diphenylcarbazid als chromogenem Agens in Verbindung mit einer spektrophotometrischen Messung (spektrophotometrische Methode). Die erstgenannte Methode eignet sich besonders für Reihenversuche, da sie bei der Ausführung vieler Messungen hintereinander nur wenig Zeit für die einzelne Messung benötigt. Die zweite Methode ist dagegen bei der Ausführung weniger Messungen hinsichtlich des Zeitbedarfs günstiger und erfordert einen geringeren apparativen Aufwand. Beide Methoden zeigen gute Übereinstimmung. Zur Genauigkeit beider Methoden siehe Abschnitt 4.

2. Bestimmung mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrophotometrie (AAS-Methode)¹

2.1. Prinzip der Methode

Das Füllgut wird nach geeigneter Veraschung mit destilliertem Wasser verdünnt (siehe Abschnitt 2.3) und die erhaltene Lösung entweder direkt oder nach Zugabe einer bekannten Chrommenge in die Flamme eines Atomabsorptionsspektrophotometers eingesprüht. Hierbei verursachen die durch thermische Dissoziation gebildeten Atome eine gewisse Lichtabsorption der gleichzeitig eingestrahlten Resonanzlinie (Chromlinie) der Wellenlänge 358,6 nm. Die Lichtabsorption wird gemessen und mit derjenigen einer Chromlösung bekannten Gehaltes verglichen. Die gemessene Absorption wird in Extinktion umgerechnet.

Die Extinktion ist der Konzentration des Chroms – ohne Abhängigkeit von dessen Oxydationsstufe – direkt proportional. Eine Abtrennung anderer Elemente kann wegen der Spezifität der Methode unterbleiben.

2.2. Prüfgeräte und Reagenzien

Atomabsorptionsspektrophotometer

Kompensationsschreiber

Schwefelsäure 95–97% (Dichte etwa 1,84) zur Analyse

Salpetersäure mindestens 65% (Dichte etwa 1,40) zur Analyse, destilliert

Kjeldahl-Kolben 500 ml

Becherglas (flache Form) 400 ml

Meßkolben 25 ml

Chrom-Stammlösung mit 1,000 g Cr pro Liter, hergestellt durch Auflösen der entsprechenden Menge Kaliumdichromat zur Analyse in 2n Schwefelsäure (siehe Abschnitt 2.5.1).

2.3. Probenahme und Veraschen

50 g der Füllgutprobe werden in einen 500 ml Kjeldahl-Kolben eingewogen und mit 50 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Die Probe sollte man über Nacht stehenlassen, da die Zersetzung langsam verläuft. Dann fügt man 50 ml der durch Destillation gereinigten Salpetersäure in Portionen von 5 ml – oder bei starkem Schäumen tropfenweise – hinzu.

Es muß darauf geachtet werden, daß die Schaumbildung nicht zu stark wird.

Wenn die Hauptreaktion beendet ist, wird vorsichtig erwärmt. Nach Beendigung der Schaumbildung und der Stickoxidentwicklung wird zunächst bis zum Auftreten von SO₃-Dämpfen und dann bis zum Verkohlen (Schwarzfärbung) erhitzt. Anschließend wird nochmals tropfenweise Salpetersäure zugegeben, wobei wiederum heftige Reaktion eintreten kann. Die Zugabe erfolgt so lange, bis die Lösung klar geworden ist. In der Wärme hat sie eine gelbgrüne Färbung, im kalten Zustand muß sie farblos sein. Die abgekühlte Lösung wird quantitativ in ein 400 ml-Becherglas überführt und bis auf 2 ml eingedampft. Es hat sich herausgestellt, daß ein Eindampfen im Becherglas wesentlich schneller verläuft als im Kjeldahl-Kolben. Der Rest wird quantitativ in einen 25 ml-Meßkolben gegeben und mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Ein eventuell auftretender Niederschlag wird vor dem Einspritzen in das AAS abfiltriert.

2.4. Meßbedingungen beim AAS

Die Brennerhöhe, das Azetylen-Luft-Verhältnis, die Spaltbreite, die Verstärkung und die Dämpfung werden mit einer 0,05 ppm-haltigen Chromlösung auf maximale Empfindlichkeit eingestellt.

Die folgenden Angaben beziehen sich auf das PERKIN-ELMER-Atom-Absorptions-Spektrophotometer Modell 303. Bei anderen Geräten sind entsprechende Einstellungen vorzunehmen.

Dreischlitz-Brennerkopf (Boling-Typ)

Wellenlänge: 358,6 nm (UV)

Spalt 3 (0,7 nm spektrale Spaltbreite)

Dämpfung 3 (Zeitkonstante 3 s; minimale Ansaugzeit 15-20 s)
Skalendehnung 3 x (Extinktion 0,15 = Schreibervollauschlag)

Azetylen Druck: 0,6 kp/cm² (8 psig)

Strömungsskala 9 (4 l/min)

Luft Druck: 2,1 kp/cm² (30 psig)

Strömungsskala 9 (24 l/min)

Schreibereinstellung: 10 mV; Papiervorschub: 30 mm/min

Die Proben werden gegen 2n Schwefelsäure als Blindlösung gemessen.

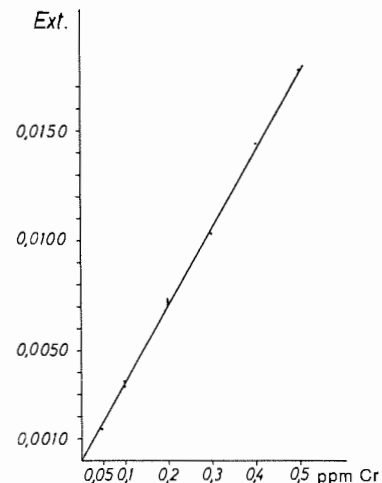


Bild 1: Eichkurve.

¹ Wir danken Herrn Dr. B. Welz, Bodenseewerk Perkin-Elmer, für seine Ratschläge bei der Abfassung dieses Abschnitts.

2.5. Bestimmung

Die Bestimmung erfolgt durch Vergleich mit wäßrigen Eichlösungen mit Hilfe einer Eichkurve oder durch das Additionsverfahren.

2.5.1. Bestimmung mit Hilfe einer Eichkurve

2,829 g $K_2Cr_2O_7$, im Trockenschrank bei $105^\circ C$ getrocknet, werden in einen 1000 ml-Meßkolben gegeben und mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Diese Standardlösung enthält 1000 ppm Chrom. Aus dieser Chromstandardlösung werden 50 ml Ansätze mit 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 und 0,5 ppm Chrom in 2n Schwefelsäure hergestellt.

Die Extinktionswerte der Eichlösungen werden bestimmt und gegen die Konzentration in ppm aufgetragen (Bild 1).

Die unbekannt Chromgehalte der Probenlösungen werden aus der erhaltenen Eichkurve durch lineare Interpolation ermittelt.

Die Eichkurve kann sich von Tag zu Tag etwas verschieben und sollte deshalb stets für jede Meßreihe überprüft werden.

2.5.2 Additionsverfahren

Das Additionsverfahren ist in der Nähe der Empfindlichkeit der Meßmethode anzuwenden und garantiert außerdem den kleinsten relativen Fehler.

Durchführung:

Der Probelösung werden drei aliquote Teile entnommen. Der erste Teil wird auf ein geeignetes bekanntes Volumen mit Lösungsmittel verdünnt. Die beiden anderen Teile werden mit geeigneten Mengen Eichlösung auf das gleiche Volumen gebracht, so daß diese Lösungen bekannte, aber unterschiedliche Konzentrationen des zu bestimmenden Chroms enthalten. Die Absorption der Lösungen wird gemessen und in Extinktionswerte umgewandelt. Aus den drei erhaltenen Extinktionswerten kann der Chromgehalt der Probe mathematisch errechnet bzw. graphisch ermittelt werden.

Beispiel:

Drei 4 ml-Anteile werden aus der Probelösung entnommen. Der erste wird mit 1 ml Wasser, der zweite mit 1 ml einer 2,5 ppm-Cr-Lösung und der dritte mit 1 ml einer 5 ppm-Cr-Lösung versetzt. Die Konzentrationssteigerungen in den drei 5 ml-Lösungen betragen also 0,0 ppm, 0,5 ppm und 1,0 ppm. Zur graphischen Ermittlung der gesuchten Konzentration werden die gefundenen Extinktionswerte gegen die Konzentrationssteigerungen in ein Diagramm eingetragen. Die erhaltene Kurve geht nicht durch Null (siehe Bild 2). Der unbekannte Chromgehalt der Probelösung wird durch Extrapolation dieser Kurve gegen Null ermittelt. Er ergibt sich aus dem Schnittpunkt der Eichgeraden mit der Abszisse (z. B. 0,07 ppm). In der Originalprobelösung sind dann 0,07 ppm mal 1,25 (Verdünnungsfaktor 5/4) = 0,087 ppm Chrom enthalten. Mit Hilfe des Additionsverfahrens lassen sich unterschiedliche physikalische Eigenschaften (z. B. Viskosität) von Probe- und Eichlösungen eliminieren.

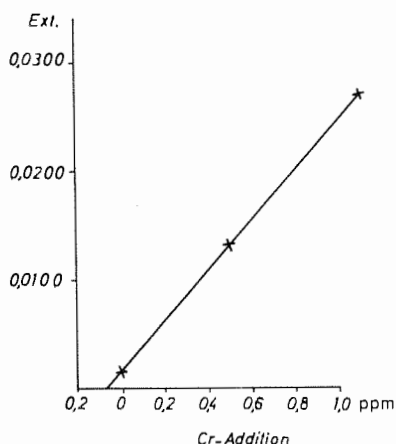


Bild 2: Additionsverfahren.

2.6. Prüfbericht

Im Prüfbericht sind unter Hinweis auf dieses Merkblatt anzugeben:

Bezeichnung der Bestimmungsmethode
möglichst genaue Angaben über die Zusammensetzung des Füllgutes sowie über die Sterilisierbedingungen
Dauer der Dosenlagerung und Lagertemperatur
Dosen-Werkstoff
Chromkonzentration in der für die Veraschung verwendeten Salpetersäure und Schwefelsäure
Chromgehalt des Versuchsgutes
Abweichungen von den Bedingungen dieses Merkblatts
Prüfdatum.

3. Kolorimetrische Bestimmung in Verbindung mit spektrophotometrischer Messung (spektrophotometrische Bestimmung)

3.1. Prinzip der Methode

Das homogenisierte Füllgut wird unter bestimmten Bedingungen naß verascht, die Veraschungslösung abgeraucht und das Chrom in die sechswertige Stufe überführt. Das sechswertige Chrom wird vom Eisen durch Extraktion mit Methyl-iso-butylketon (MIBK) abgetrennt und nach Zusatz von Diphenylcarbazid (DPC) bei 540 nm kolorimetrisch bestimmt.

3.2. Prüfgerät und Reagenzien

Spektralphotometer
Schwefelsäure 95–97% (Dichte etwa 1,84) zur Analyse oder Schwefelsäure mindestens 96% (Dichte 1,84) Suprapur
Salpetersäure mindestens 65% (Dichte etwa 1,40) zur Analyse oder Salpetersäure mindestens 65% (Dichte etwa 1,40) Suprapur
Perhydrol (30 Gew. % H_2O_2 = 100 Vol. O) zur Analyse
ortho-Phosphorsäure mindestens 85% (Dichte etwa 1,71) zur Analyse
Salzsäure mindestens 32% (Dichte etwa 1,16) zur Analyse
Methyl-iso-butylketon zur Extraktionsanalyse (MIBK)
0,1%ige $AgNO_3$ -Lösung, hergestellt aus Silbernitrat zur Analyse
Ammoniumperoxodisulfat, $(NH_4)_2S_2O_8$, zur Analyse
0,25% Diphenylcarbazid in MIBK (DPC-Lösung), hergestellt aus Diphenylcarbazid zur Analyse und MIBK
Kaliumdichromat zur Analyse

3.3. Probenahme und Veraschen

Der Inhalt einer Dose wird quantitativ in einen Mixer überführt und sehr fein zerkleinert. Nach dem Zerkleinern muß das Füllgut eine gleichmäßige Struktur aufweisen; es dürfen keine Fischpartikel mehr in der Probe erkennbar sein.

In einen Kjeldahl-Kolben werden 5,0 g von derart homogen zerkleinertem Füllgut eingewogen und nach Zugabe von 5,0 ml konzentrierter Salpetersäure und 5,0 ml konzentrierter Schwefelsäure mineralisiert (unter Zusatz von 1–2 Glasperlen). Sobald die Stickoxide vertrieben sind, wird der Inhalt des Kolbens ohne weitere Zugabe von Säure leicht verkohlt. Anschließend kühlt man die Probe ab, gibt erst dann in kleinen Anteilen tropfenweise 5 ml konzentrierte Salpetersäure zu und erhitzt aufs neue.

Sobald die Stickoxide vertrieben sind (Farbe), wird das Abkühlen der Probe und der Zusatz von Salpetersäure mehrmals wiederholt. Nach rund 60–80 min ist die Veraschung beendet. Trotz ungleichmäßiger Veraschung der Proben ist es notwendig, alle Parallelproben mit den gleichen Mengen an Salpetersäure zu veraschen. Die verbliebene Salpetersäure wird durch mehrmaligen Zusatz von 1–2 ml 30%igem Perhydrol zersetzt. Die restliche Schwefelsäure wird unter weiterem Erhitzen bis zur Bildung von SO_3 -Dämpfen abgeraucht. Einen beim Abdampfen entstandenen weißen Niederschlag suspendiert man in 2–3 ml destilliertem Wasser unter Umschwenken und überführt diese Suspension mittels einer Pipette (3 ml) quantitativ in ein Becherglas (50 ml). Der Kjeldahl-Kolben wird mehrmals mit destilliertem Wasser nachgespült und die Waschflüssigkeit mit der Probe ver-

einigt. Das Becherglas bedeckt man mit einem Uhrglas und dampft auf dem Sandbad langsam bis zur Trockne ab. Der Rückstand wird nach der im folgenden beschriebenen Bestimmungsmethodik weiter verarbeitet.

3.4. Vorbereitung der Meßprobe

Der Rückstand im Becherglas wird mit 1–2 ml destilliertem Wasser und 0,5 ml konzentrierter ortho-Phosphorsäure (85%ig) unter Erwärmen gelöst. Danach fügt man 0,2 ml 0,1%ige AgNO_3 -Lösung und 50 mg $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ in kleinen Anteilen unter Umschwenken hinzu, kocht 5 min, überführt die abgekühlte Lösung in einen Meßkolben (10 ml) und füllt mit Wasser bis zur Marke auf.

3.5. Durchführung der Extraktion

Der Inhalt des Meßkolbens wird in einen 50 ml Schütteltrichter überführt und 5,0 ml MIBK hinzugefügt. (MIBK wird vor der Extraktion zweimal mit 1n Salzsäure ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wird verworfen.) Man verschließt den Trichter mit dem Schliffstopfen, kühlt 5 min im Eisbad, gibt dann 1 ml konzentrierte HCl zu und schüttelt 30 s.

Die wäßrige Phase wird verworfen und die organische Phase bei Anwesenheit von $> 8 \mu\text{g Fe}$ in der wäßrigen Phase mit 10 ml 1n HCl gewaschen. Die Waschlösung wird verworfen. Man pipettiert mit einer Vollpipette (4 ml) dieselbe Menge des Extraktes in ein Becherglas (25 ml) und versetzt die Probe mit 1,0 ml DPC-Lösung, mischt, läßt 20 min stehen und photometriert bei einer Wellenlänge von 540 nm innerhalb 10 min in einer 2 oder 5 cm-Mikroküvette.

3.6. Aufstellung des Eichdiagramms

141,4 mg $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ werden nach dem Trocknen im Trockenschrank bei 105°C in einen Meßkolben (50 ml) auf 0,1 mg genau eingewogen und mit bidestilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung, der 1000 $\mu\text{g Chrom}$ enthält, wird mit einer Pipette in einen Meßkolben (1000 ml) überführt und anschließend mit bidestilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Diese Lösung enthält 1 $\mu\text{g Chrom/ml}$. In drei Meßkölben von 10 ml Inhalt pipettiert man aus dieser Lösung 1, 2 bzw. 3 ml ein und füllt jeweils mit Wasser bis zur Marke auf. Dann führt man die Extraktion, wie oben beschrieben, durch. Jeder der erhaltenen Extrakte wird mit

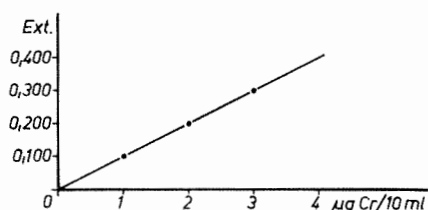


Bild 3: Eichdiagramm des Chroms(VI) bei 540 nm.

genau 0,1 ml 0,072n H_2SO_4 und 0,9 ml DPC-Lösung versetzt und bei 540 nm photometriert, wie oben angegeben. Bild 3 zeigt das Eichdiagramm. Als Blindwert dient eine mit Wasser gefüllte Küvette.

3.7. Auswertung

Die den gemessenen Extinktionswerten entsprechenden Chromkonzentrationen werden an Hand der Eichkurve ermittelt. Beim Veraschen des Füllgutes sind zwei bis drei Blindproben einzusetzen, um zu prüfen, wie hoch die Konzentration des Chroms in den gebrauchten Säuren und Lösungen ist. Mit jeder neuen Chemikaliensendung muß unbedingt der Chromgehalt der Salpetersäure genau kontrolliert werden.

Erfahrungsgemäß beträgt der relative Fehler (Variationskoeffizient) 5%.

3.8. Prüfbericht

Im Prüfbericht sind unter Hinweis auf diese Methode anzugeben:

Bezeichnung der Bestimmungsmethode
möglichst genaue Angaben über die Zusammensetzung des Füllgutes sowie über die Sterilisierbedingungen
Dauer der Dosenlagerung und Lagertemperatur
Material der Dose
Eisengehalt im Füllgut
Chromkonzentration in der für die Veraschung verwendeten Salpetersäure und Schwefelsäure
Qualität des für die Analyse verwendeten Wassers (einfach oder bidestilliert)
Reinheitsgrad des MIBK
Reinheitsgrad des Diphenylcarbazids
Chromgehalt des Versuchsgutes
Abweichungen von den Bedingungen dieses Merkblatts
Prüfdatum

4. Anhang: Genauigkeit der Methoden

4.1. Genauigkeit der AAS-Methode

Zur Überprüfung der Genauigkeit dieser Methode wurde der Chromgehalt von Heringsfilets in Biertunke, verpackt in lackierten Hansa-Dosen aus Ancrolyt, nach 2 $\frac{1}{2}$ jähriger Lagerung bei 20°C neunmal bestimmt. Hierzu wurde der Inhalt von fünf Hansa-Dosen aus Ancrolyt in einem Ultraturax gemischt. Von dieser Ausgangsmenge wurden neun Veraschungen zu je 50 g durchgeführt. Jeder Einzelaufschluß wurde viermal gemessen. Für die Messung wurden das Atomabsorptionsspektrophotometer Perkin-Elmer 303 und ein Metrawatt-Kompensationsschreiber Servogor RE 511 verwendet. Die Bestimmung des Chromgehaltes erfolgte sowohl über eine Eichkurve als auch durch das Additionsverfahren.

Da keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Bestimmungsverfahren gefunden wurden, ließen sich beide Verfahren für die statistische Auswertung zusammenlegen.

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung waren:

Mittelwert $\bar{x} = 0,088 \text{ ppm}$

Standardabweichung der Einzelwerte $s = 0,005 \text{ ppm}$

Variationskoeffizient $\frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\% = 5,7\%$

Mit einem Variationskoeffizienten (relativen Fehler) von 5,7% ist die ausgearbeitete Salpetersäure-Schwefelsäure-Veraschung und nachfolgende Chrombestimmung mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrophotometrie als sehr genau zu betrachten.

In Schiedsfällen ist der Vertrauensbereich des Mittelwertes nach DIN 53 804 anzugeben. (Siehe auch ASQ-Formblatt für statistische Auswertung, Ausschuß für wirtschaftliche Fertigung e.V. (AWF), Berlin 33 und Frankfurt 1, zu beziehen vom Beuth-Vertrieb, Berlin 30 und Köln, Bestell-Nr. AWF 172.)

4.2. Genauigkeit der spektrophotometrischen Methode

Zur Überprüfung der Genauigkeit dieser Methode wurde der Chromgehalt von in Glas verpackten und 60 min bei 110°C sterilisierten Heringsfilets (ohne Tunke) nach dreimonatiger Lagerung bei 20°C zehnmal (einschließlich zehnmaliger Veraschung) bestimmt. Für die Messung wurde das Spektralphotometer PMQ II von Carl Zeiss verwendet. Die statistische Auswertung der erhaltenen Werte führte zu folgenden Ergebnissen:

Mittelwert $\bar{x} = 0,101 \text{ ppm}$

Standardabweichung der Einzelwerte $s = 0,005 \text{ ppm}$

Variationskoeffizient $\frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\% = 5,0\%$

Mit einem Variationskoeffizienten (relativen Fehler) von 5,0% ist die ausgearbeitete spektrophotometrische Chrombestimmungsmethode einschließlich der geschilderten Veraschung als sehr genau zu bezeichnen.

In Schiedsfällen ist der Vertrauensbereich des Mittelwertes nach DIN 53 804 anzugeben. (Siehe auch ASQ-Formblatt für statistische Auswertung, Ausschuß für wirtschaftliche Fertigung e.V. (AWF), Berlin 33 und Frankfurt 1, zu beziehen vom Beuth-Vertrieb, Berlin 30 und Köln, Bestell-Nr. AWF 172.)