

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 42 (1951)

Heft: 2

Artikel: Zur Methodik der Nitrit- und Nitratbestimmung in Milch und Milchprodukten

Autor: Hänni, H. / Kästli, P.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982451>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 12.01.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Zur Methodik der Nitrit- und Nitratbestimmung in Milch und Milchprodukten

Von *H. Hänni*

(Aus der Eidg. Milchwirtschaftlichen und Bakteriologischen Anstalt Liebefeld-Bern.
Vorstand: Prof. Dr. *P. Kästli*)

Die Möglichkeit, Nitrit und Nitrat nebeneinander in Milch und Milcherzeugnissen bestimmen zu können, ist von grosser Bedeutung für die Abklärung gewisser Käsefehler. Ausserdem dient die Nitratbestimmung in Milch als Erkennungsmittel für eine erfolgte Wässerung.

Die quantitative Nitritbestimmung

Die Bestimmung kleiner Mengen von Nitrit neben Nitrat bietet keine besonderen Schwierigkeiten, da spezifische Methoden seit langer Zeit bekannt sind. Erwähnt sei die bewährte Methode von *Griess*¹⁾, die schon im Jahre 1879 veröffentlicht wurde. Sie besteht darin, dass das zu bestimmende Nitrit Sulfanilsäure diazotiert, welche dann mit α -Naphthylamin zu einem roten Azofarbstoff kuppelt. Die Intensität der sich bildenden Farbe ist der Nitritmenge proportional, so dass sich auf Grund dieser Reaktion ein kolorimetrisches Verfahren ausarbeiten lässt.

Jendrassik und *Falcsik-Szabó*²⁾ haben an Stelle von Sulfanilsäure Atoxycocain (p-Aminobenzoyl-diäthyl-aminoäthanol-hydrochlorid) verwendet. Dies bringt den Vorteil, dass die kolorimetrische Auswertung auch bei höheren Konzentrationen möglich ist und dass in den zu messenden Lösungen nicht so leicht Trübungen auftreten. Diese Methode kann ohne Änderungen zur Nitritbestimmung in Milch und Milchprodukten herangezogen werden, wenn es gelingt, die Eiweisstoffe so zu beseitigen, dass vollständig klare, farblose Lösungen erhalten werden.

Arbeitsvorschrift

Reagentien:

Lösung I (3 g Atoxycocain, 15 ml Eisessig p. a., mit Wasser auf 100 ml auffüllen).

Lösung II (200 mg α -Naphthylamin mit 30 ml Wasser aufkochen. Heiss durch ein kleines Faltenfilter giessen. Das Filter 2 mal mit 30 ml heissem Wasser nachwaschen. 30 ml Eisessig p. a. zufügen und auf 150 ml auffüllen. Lösung neu herstellen, sobald sie trübe wird.)

Natronlauge 2 n p. a.

Aluminiumsulfatlösung 20 %ig (Sulfat durch Umkristallisieren aus heissem Wasser reinigen).

a) Milch

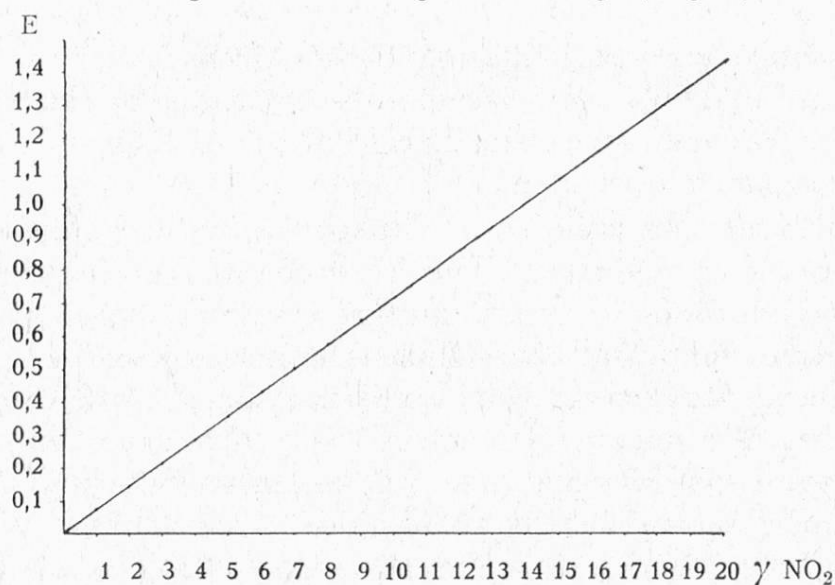
10 ml Milch werden in ein 50-ml-Messkölbchen eingewogen und mit 3,5 ml 2n-Natronlauge versetzt. Man verdünnt mit Wasser auf ungefähr 40 ml und gibt 5 ml 20 %iges Aluminiumsulfat zu. Natronlauge und Aluminiumsulfat

müssen so aufeinander eingestellt sein, dass weder ein Unter- noch ein Überschuss zur Wirkung kommt; sonst gestaltet sich die nachfolgende Filtration sehr schwierig. Man stellt am besten in einem Vorversuch unter Verwendung von Methylrot als Indikator fest, ob 5 ml Aluminiumsulfat 3,5 ml Lauge genau neutralisieren. Man füllt zur Marke auf, schüttelt tüchtig um und filtriert.

Vom Filtrat werden 5 ml zur Ausführung der Farbreaktion verwendet. In einem gewöhnlichen Reagensglas vermischt man je 5 ml der Lösungen I und II und fügt 5 ml des Filtrates bei. Nach gründlichem Durchmischen lässt man das Glas während 30—45 Minuten stehen. Bei Anwesenheit von Nitrit bildet sich in dieser Zeit eine schön rote Färbung aus.

Bei Verwendung des Pulfrich-Photometers benützt man zur Messung das Filter S 53. Als Vergleichsflüssigkeit stellt man sich eine Lösung aus 5 ml Filtrat, 5 ml Wasser und 5 ml Lösung II her. Da Lösung I fehlt, kann sich keine Nitritfärbung entwickeln, während eventuelle Eigenfärbungen des Filtrates oder der Lösung II in der Mess- und Vergleichslösung gleich stark auftreten und sich deshalb kompensieren. Lösung I ist stets farblos und kann unbedenklich durch Wasser ersetzt werden.

Zur Ermittlung des Nitritgehaltes stellt man eine Eichkurve her, indem man eine Reihe von Lösungen mit bekanntem Nitritgehalt misst, oder man entnimmt die zu den abgelesenen Extinktionskoeffizienten gehörenden Nitritwerte der von *Jendrassik* und *Falcsik-Szabó*²⁾ mitgeteilten Tabelle. Die dort angeführten Werte wurden durch die eigenen Messungen bestätigt (Fig. 1).



Figur 1

b) Käse und andere Milchprodukte

Man wiegt 1—2 g Substanz in einen 100-ml-Erlenmeyerkolben, fügt 10 ml Wasser und 3,5 ml 2n-Natronlauge zu und bewirkt durch öfteres Umschwenken, dass sich die Eiweisstoffe auflösen. Durch Erwärmen auf 40—50° lässt sich dieser Vorgang wesentlich beschleunigen. Die entstandene Lösung wird unter Nach-

spülen mit heissem Wasser quantitativ in einen 50-ml-Messkolben übergeführt. Nach dem Erkalten setzt man 5 ml Aluminiumsulfatlösung zu und verfährt weiter genau wie bei Milch angegeben.

Mit Hilfe dieser Methode lassen sich in eiweisshaltigen Stoffen Nitritmengen von 0,8 γ an zuverlässig bestimmen.

Die quantitative Nitratbestimmung

Die Bestimmung kleiner Mengen Nitrat bei Anwesenheit von Nitrit bietet an und für sich, auch ohne die Gegenwart von Eiweissstoffen, gewisse Schwierigkeiten, was in der grossen Zahl der hierfür vorgeschlagenen und immer wieder veränderten Methoden zum Ausdruck kommt.

Die wichtigsten Verfahren seien in folgendem kurz besprochen.

Gladstone und *Tribe* ³⁾ sowie *Williams* ⁴⁾ schlagen vor, das Nitrat mit Hilfe von Zinkgranalien, auf welchen metallisches Kupfer niedergeschlagen wurde, zu Ammoniak zu reduzieren. Dieses lässt sich mit Hilfe von *Nesslers* Reagens kolorimetrisch bestimmen.

Haag und *Dalphin* ⁵⁾ haben eine Methode untersucht, bei welcher nur bis zur Nitritstufe reduziert wird. Das Nitrat wird bei pH 2,5—3,0 mit Zinkstaub behandelt. Neben Nitrit bildet sich Hydroxylamin, das durch essigsäure Jodlösung wieder zum Nitrit oxydiert werden muss. Die Umsetzung verläuft nicht quantitativ.

Busch ⁶⁾ schlägt eine gewichtsanalytische Methode vor, die darauf beruht, dass Nitrate mit 1,4-Diphenyl-3,5-endanilo-dihydrotriazol, kurz Nitron genannt, eine unlösliche Verbindung geben. Die Methode lässt sich nur bei nicht allzu kleinen Nitratmengen anwenden.

Die altbekannte Reaktion mit Diphenylamin-Schwefelsäure wurde von *Riehm* ⁷⁾ systematisch untersucht. Die Reaktion wird um so empfindlicher, die Reaktionsfarbe um so mehr violettblau und um so haltbarer, je mehr Schwefelsäure und Nitrat und je weniger Diphenylamin anwesend ist. Die Haltbarkeit der blauen Verbindung hängt vom Verhältnis der Nitratkonzentration zur Diphenylaminkonzentration ab. Bei einem Überschuss von Diphenylamin ist sie klein, bei äquivalenten Mengen gross. Bei grossem Überschuss an Diphenylamin schlägt die Farbe nach grün um.

Bei diesen Verhältnissen wäre Nitrat ein gutes Reagens zur Bestimmung von Diphenylamin, nicht aber umgekehrt.

Dasselbe gilt für die Reaktion mit Diphenylbenzidin.

Das Brucin-Verfahren von *Noll* ⁸⁾ lässt sich bei Gegenwart von Milchzucker nicht durchführen.

Für die Analyse von Trinkwasser sind kolorimetrische Verfahren ausgearbeitet worden, die wohl alle auf die Methode von *Grandval* und *Lajoux* ⁹⁾¹⁰⁾ zurückzuführen sind. Man dampft die zu untersuchende Flüssigkeit zur Trockne ein.

Zum Rückstand gibt man Phenol und Schwefelsäure. Durch Nitrierung bildet sich gelbes Nitrophenol, dessen Farbe sich bei Zugabe von Ammoniak, Kali- oder Natronlauge sehr stark vertieft. Da Proportionalität zwischen Nitratmenge und Färbung besteht, lässt sich die kolorimetrische Messung durchführen.

Diese Reaktion wurde im Laufe der Zeit stets verbessert. An die Stelle des einfachen Phenols traten Salicylsäure, β -Naphtholsulfosäure, Aminonaphthalinsulfosäure und andere phenolische Stoffe. Mit allen diesen Verbindungen lassen sich sehr empfindliche und zuverlässige kolorimetrische Verfahren für die Nitratbestimmung in Trinkwasser ausarbeiten.

Für die qualitative Nitratbestimmung in Stoffgemischen hat *Werr*¹¹⁾ eine entscheidende Verbesserung eingeführt. Er verwendet als Reagens 2,4-Xylenol. Die zu untersuchende Lösung wird zur Trockne eingedampft. Zum Rückstand gibt man Schwefelsäure von bestimmter Konzentration und 2,4-Xylenol. Bei der Reaktion bildet sich das 6-Nitroxlylenol, welches durch Destillation aus dem Reaktionsgemisch abgetrennt werden kann. Es wird in verdünnter Natronlauge aufgefangen, die durch das sich bildende Natriumsalz intensiv gelb gefärbt wird.

Untersucht man nun die angeführten Methoden auf ihre Eignung zur Bestimmung von Nitrat in Milch und Milcherzeugnissen, so stellt man folgendes fest.

Alle Verfahren geben bei Gegenwart von Nitrit fehlerhafte Ergebnisse. Allfällig vorhandenes Nitrit muss also zerstört werden.

Die Methoden, die auf der Reduktion der Nitrate beruhen, sind bei Milch und Milcherzeugnissen wegen des Vorhandenseins leicht abspaltbarer Aminogruppen und freien Ammoniaks unbrauchbar.

Die Nitronmethode ist zu wenig empfindlich.

Die Reaktionen mit Diphenylamin-Schwefelsäure und ähnlichen Verbindungen geben niemals genaue Methoden zur quantitativen Nitratbestimmung.

Am aussichtsreichsten erscheinen die Verfahren, die auf der Nitrierung phenolischer Verbindungen beruhen. Beim Versuch, diese auf eiweisshaltige Stoffe anzuwenden, ergibt sich folgende Schwierigkeit. Die Eiweisstoffe lassen sich zwar durch geeignete Fällungsmittel abtrennen. Es bleiben aber immer Aminosäuren und andere Eiweisspaltprodukte im Filtrat; es sei denn, dass man zur Reinigung Adsorptionssäulen verwendet, die andererseits auch wieder Nitrat festhalten können. Beim Eindampfen der zu untersuchenden Lösungen fallen diese Stoffe aus und verändern sich unter der Sauerstoff- und Wärmeeinwirkung, so dass man braune bis schwarze Trockenrückstände erhält. Mit solchen Gemischen eine Farbreaktion vorzunehmen, ist völlig zwecklos, da die vom Nitrat herrührende Färbung ganz verdeckt wird.

Es bleibt somit nur das zuletzt angeführte Xylenolverfahren übrig, das dank der Flüchtigkeit des Reaktionsmittels eine Trennung der gebildeten Reaktionsfarbe von der Eigenfarbe der zu prüfenden Substanz erlaubt.

Doch ist auch diese Methode nicht ohne weiteres auf Milch und Milcherzeugnisse anwendbar, da andere schwerwiegende Störungen auftreten.

1. Der Einfluss von Kochsalz

In Milch, besonders aber in Käse ist stets Natriumchlorid vorhanden. Gibt man nach der Ausfällung der Eiweisstoffe zum Filtrat Silbersulfat oder -azetat, so bildet sich sofort ein Niederschlag, welcher aber nur einen Teil des Chlors enthält; denn sobald man zur Ausführung der Nitratreaktion Schwefelsäure zufügt, tritt starke Entwicklung von HCl-Gas auf. Das Kochsalz wird von den Eiweissabbauprodukten vor der Ausfällung durch Silber geschützt. Die Schwefelsäure der Nitratreaktion setzt es in Freiheit. Das Chlor tritt an Stelle der Nitrogruppe in den Kern des Xylenols und schwächt oder verhindert eine Farbbildung.

Die Wirkung kann aufgehoben werden, wenn das Chlorid im Augenblick seiner Freisetzung gefällt wird. Zu diesem Zwecke wird der zur Reaktion benutzten Schwefelsäure Silbersulfat zugesetzt. Silbersulfat löst sich in beträchtlicher Menge in starker Schwefelsäure und fällt beim Verdünnen mit Wasser wieder aus. Es lässt sich so eine Schwefelsäure herstellen, die genügend Silber enthält, um bei einem Kochsalzgehalt der untersuchten Stoffe von 5 % (was praktisch nie vorkommt) alles Chlorid quantitativ zu fällen. Versuche haben ergeben, dass mit diesem Reagens die Störung durch Chlorid vollständig aufgehoben werden kann.

2. Der Einfluss des Fällungsmittels

Vorerst wurde die Fällung nach *Weiss*, die bei der Nitritbestimmung sehr gute Ergebnisse gegeben hatte, ausprobiert.

2 g Käse wurden mit 100 γ Nitrat (als NO_3 gerechnet) versetzt und in 3,5 ml 2n-Natronlauge gelöst. Dann wurden 5 ml 20 %ige Aluminiumsulfatlösung zugesetzt. Das Filtrat der Fällung wurde eingedunstet und nach der Xylenolmethode auf Nitrat geprüft.

Resultat:	Zugesetzt	100	γ NO_3
	Wiedergefunden	80,1	γ NO_3

In einem weiteren Versuch wurden 100 γ Nitrat allein ohne Käse mit Natronlauge und Aluminiumsulfat versetzt und sonst gleich behandelt wie beim vorigen Versuch.

Resultat:	Zugesetzt	100	γ NO_3
	Wiedergefunden	83,1	γ NO_3

Als weitere Fällungsmittel wurden noch angewendet: vorher gefälltes Aluminiumhydroxyd in wechselnden Mengen, Kupfersulfat und Natronlauge, Kupfersulfat und Calciumhydroxyd, basisches Bleiazetat. Mit all diesen Fällungsmitteln traten Verluste von ungefähr 20 % der zugesetzten Nitratmenge auf.

Es wurde nun untersucht, ob sich bei der Fällung in saurem Milieu nicht bessere Werte ergeben. Als Fällungsmittel wurde Trichloressigsäure in wechselnden Mengen angewendet. Dabei war es unbedingt erforderlich, das entstehende

saure Filtrat vor dem Eindunsten zu neutralisieren, weil sich sonst das Nitrat als Salpetersäure grösstenteils verflüchtigte. Nach anfänglichen Misserfolgen erwies sich folgendes Vorgehen als brauchbar: Der Käse oder die Milch wird mit Natronlauge versetzt. Dann gibt man aus einer Bürette tropfenweise Trichlor-essigsäure zu, wobei man heftig schüttelt, damit die Eiweissstoffe möglichst feinflockig ausfallen. Es muss ein bestimmter, nicht zu grosser Überschuss an Trichloressigsäure zur Anwendung kommen. (Genauere Angaben siehe «Arbeitsvorschrift».)

Resultat:	Zugesetzt zu 2 g Käse	50	γ NO_3
	Wiedergefunden	49,6	γ NO_3

Es sei noch erwähnt, dass man unter Umständen auf die Eiweissfällung überhaupt verzichten kann, wenn man die Einwaagen stark verkleinert. So führte die direkte Bestimmung mit 1 ml Milch oder mit 100—200 mg Käse zu befriedigenden Ergebnissen. Jedoch ist dieses Vorgehen nur bei höheren Nitratgehalten zu empfehlen.

3. Der Einfluss vorhandener Nitrite

Nitrit gibt mit dem Xylenolreagens ebenfalls eine Gelbfärbung, die von der durch Nitrat verursachten nicht unterschieden werden kann.

500 γ NO_2 geben einen Extinktionskoeffizienten von 0,4994, was 156 γ Nitrat entspricht.

Fügt man zu 10 ml Milch 1000 γ Nitrit und führt man hierauf die Nitratbestimmung durch, so erhält man einen Extinktionskoeffizienten von 0,1270, was 40 γ Nitrat vortäuscht.

Bei einem Vergleich der beiden Versuche erkennt man sofort, dass ein grosser Teil des Nitrits durch die Milch selber zerstört wird.

Beim Zusatz von Nitrit zu Käse tritt dieselbe Erscheinung auf. Wahrscheinlich reagiert die bei der Fällung im sauren Milieu freiwerdende salpetrige Säure mit Aminosäuren, wobei sie unter Stickstoffentwicklung zerfällt. Setzt man nun Natriumazid, was als gutes Mittel zur Zerstörung von Nitrit gilt, zum Filtrat der Eiweissfällung und führt man wie üblich die Nitratreaktion durch, so erhält man auffallenderweise stets zu hohe Extinktionskoeffizienten, die Nitratgehalte von 20 bis 50 γ vortäuschen.

Versuche mit Aminosulfonsäure als Mittel zur Zerstörung von Nitrit ergaben ähnliche Resultate.

Der Vorgang der Nitritzerstörung wurde nun mit Hilfe des Atoxycocain- α -Naphtylaminreagens verfolgt. Es zeigte sich, dass in stark sauren Lösungen die Zerstörung augenblicklich vor sich geht, während der Vorgang bei pH 4,6 10—15 Minuten dauert. In neutralem oder alkalischem Milieu tritt keine nennenswerte Wirkung ein.

Die grossen Extinktionskoeffizienten bei den obenerwähnten Versuchen werden also nicht durch Nitrit verursacht, sondern dadurch, dass sich bei der Reaktion durch Oxydation erhebliche Mengen von Nitrat bilden.

Wie sich nach Durchführung zahlreicher Versuche zeigte, lässt sich die sehr unerwünschte Bildung von Nitrat durch geeignete Reaktionsbedingungen weitgehend unterdrücken. Die Nitritzerstörung gelingt am besten, wenn sie in schwach schwefelsaurer Lösung noch vor der Ausfällung der Eiweisstoffe vorgenommen wird. (Genaue Angaben unter «Arbeitsvorschrift».)

Als Beispiel sei ein Versuch mit Milch angeführt.

Zu 10 ml Milch wurden 500 γ Nitrit zugesetzt. Die verdünnte Lösung wurde mit Schwefelsäure angesäuert bis zum Umschlag von Bromkresolgrün und hierauf mit 1%iger Lösung von Natriumazid versetzt. Nach 30 Minuten wurde die Fällung mit Trichloressigsäure vorgenommen und das Filtrat wie üblich auf Nitrat geprüft.

Der Versuch wurde mit Milch ohne Nitritzusatz wiederholt.

Bilanz: Milch+Nitrit	E = 0,0347
Milch allein	E = 0,0230
Unterschied der Extinktionskoeffizienten	<hr/> = 0,0110

Ein Extinktionswert von 0,0110 entspricht 3,5 γ Nitrat. Wenn angenommen wird, dass die zugesetzte Nitritlösung völlig frei von Nitrat war, so sind also bei der Zerstörung aus 500 γ Nitrit 3,5 γ Nitrat entstanden. Es ist aber sehr wohl möglich, dass diese geringe Menge schon als Verunreinigung des Nitrites von Anfang an vorhanden war. Solange keine spezifische Methode für Nitrat bekannt ist, lassen sich leider Spuren von Nitrat in Nitriten nicht nachweisen.

Aber selbst wenn die 3,5 γ Nitrat bei der Reaktion mit Natriumazid entstanden sein sollten, wäre es ohne Belang, da sie nur 7 ‰ der zugesetzten Nitritmenge ausmachen.

4. Die Reinheit der Reagentien

Da Nitrate sozusagen überall vorkommen, ist es ausserordentlich schwierig, die Reaktion bis zum Ende so durchzuführen, dass wirklich nur soviel Nitrat zur Messung gelangt, wie in der zu prüfenden Substanz vorhanden war.

a) Das Wasser

Leitungswasser enthält oft beträchtliche Mengen von Nitrat, in Liebfeld beispielsweise 32 mg NO_3 pro Liter. Destilliertes Wasser ist bisweilen brauchbar, gibt aber oft ebenfalls noch eine deutliche Gelbfärbung mit dem Nitratreagens. Es ist deshalb sehr zu empfehlen, nur solches Wasser zu benützen, das in einer Glas- und Quarzapparatur aus destilliertem Wasser mit Zusatz von etwas Kaliumpermanganat hergestellt wurde.

Die verwendeten Gefässe müssen mit Chromschwefelsäure gereinigt und zuletzt mit doppelt destilliertem Wasser ausgespült werden.

b) Das Xylenol

Xylenol ist als Handelsprodukt sehr teuer. Oft weist es eine hellgelbe Färbung auf und ist dann völlig unbrauchbar, da es bei der Destillation die Farbe beibehält. Es empfiehlt sich daher, reines Xylenol selbst herzustellen.

100 g technisches 2,4-Xylidin werden mit 60 g Eisessig versetzt. Es bildet sich ein dichter Niederschlag, welcher einzig das Azetat der 2,4-Verbindung, nicht aber das der Isomeren enthält. Der Niederschlag wird nach 24stündigem Stehen auf einem G2-Filter abgesaugt und mit etwas Petroläther nachgewaschen. Hierauf wird das Salz mit 10n-NaOH zersetzt. Das Xylidin schwimmt auf der alkalischen Flüssigkeit und lässt sich durch Ausäthern abtrennen. Eine sich beim Schütteln bildende Emulsion kann durch Zufügen von Natriumsulfat zerstört werden. Nach Vertreiben des Äthers wird das Xylidin destilliert. Vorheriges Trocknen ist nicht nötig. Der Hauptanteil geht zwischen 210 und 211° (unkorrigiert) über. Man erhält 74 g reines m-Xylidin.

Zum Diazotieren werden 300 ml Wasser und 60 ml konz. Schwefelsäure vermischt und hierauf die 74 g m-Xylidin eingerührt. Nun wird das Reaktionsgefäß mit Eis gekühlt. In die Lösung werden unter starkem Rühren 500 g Eis gegeben. Aus einem Tropftrichter fließt die Diazotierlösung, welche 44 g Natriumnitrit in 180 ml Wasser enthält, zu. Das Ende der Reaktion wird mit Kaliumjodid-Stärkepapier festgestellt. Die Diazoniumlösung ist organgegelb.

Das Verkochen erfolgt in einem grossen Rundkolben. Durch Erwärmen wird die Reaktion eingeleitet. Sie schreitet unter gelinder Wärmeentwicklung von selbst fort. Nach Beendigung der Stickstoffentwicklung wird mit Wasserdampf destilliert. Man schüttelt das Destillat, das Wasser und Rohxylenol enthält, mit Äther aus. Man vertreibt den Äther und destilliert den Rückstand aus einem kleinen Kolben. Bei 98° geht etwas Wasser über, vermischt mit Äther. Dann steigt das Thermometer rasch auf 204°, wo die Destillation beginnt. Die Hauptmenge geht bei 205 bis 206° über. Sobald 207° erreicht sind, wird abgebrochen. (Alle Temperaturangaben sind unkorrigiert.) Im Kolben bleiben noch ungefähr 15 ml einer dunklen Flüssigkeit zurück.

Es werden 31 g m-Xylenol erhalten.

Das so hergestellte Xylenol, wie auch das im Handel erhältliche, enthält oft als Beimischung einen Stoff unbekannter Natur, der bei der Nitratreaktion mit in die Vorlage gelangt und dort eine Trübung verursacht. In diesem Fall muss das Xylenol gereinigt werden. Man löst es in einer genügend grossen Menge 5n-Natronlauge und schüttelt die alkalische Flüssigkeit gründlich mit Äther aus. Die wässrige Schicht wird im Scheidetrichter abgetrennt und mit Schwefelsäure angesäuert, wobei das Xylenol in Freiheit gesetzt wird und obenauf schwimmt. Das Gemisch wird mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung abgetrennt, mit Natriumkarbonat getrocknet und der Äther abdestilliert. Schliesslich wird das Xylenol selber wie oben angegeben destilliert.

Das so gereinigte Xylenol lieferte bei allen Versuchen zur Nitratbestimmung völlig klare Destillate. Damit hergestellte Blindproben, enthaltend alle zur Nitratbestimmung nötigen Reagentien, aber kein Nitrat, zeigten den niedrigen Extinktionswert von 0,0090.

c) Das Silbersulfat

Silberblech, in kleine Stücke zerschnitten, oder *argentum praecipitatum* wird mit doppelt destilliertem Wasser ausgekocht und in einen grossen *Kjeldahl*-kolben gegeben. Etwa das doppelte Quantum der berechneten Menge Schwefelsäure p.a. wird zugesetzt. Nun wird der Kolben kräftig erhitzt. Es beginnt eine lebhaft Gasentwicklung, die mit der Flamme gut reguliert werden kann. Nach dem Verschwinden des Silbers wird die noch warme Lösung durch ein G₃-Glasfilter gesogen. Sobald das Filtrat mit Wasser verdünnt wird, kristallisiert das Silbersulfat aus. Es wird auf einem G₃-Filter gesammelt und mit doppelt destilliertem Wasser und Alkohol gewaschen.

d) Die Trichloressigsäure

Trichloressigsäure siedet bei 197,5° und lässt sich unzersetzt destillieren. Man verwendet einen Destillierkolben mit langem Ableitungsrohr. Ein Kühler ist überflüssig. Das Destillat tropft in eine Flasche mit Glasstopfen. Es erstarrt dort zu einer festen Masse. Durch Einstellen in heisses Wasser kann die Säure verflüssigt werden.

e) Die übrigen Reagentien

Man verwendet die besten analytischen Qualitäten.

Reagentien:

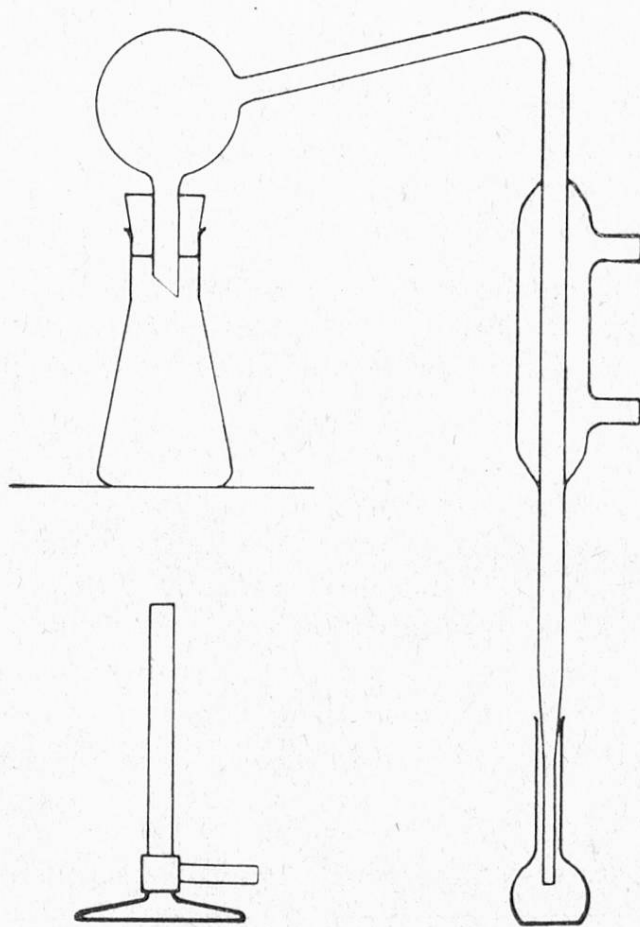
Arbeitsvorschrift

Natriumnitrat p. a.
Schwefelsäure 75 % v/v enthaltend 54 g Silbersulfat im Liter
Schwefelsäure 2 n
Trichloressigsäure 20 %ige Lösung
Natronlauge 2 n
Natriumazid 1 %ige Lösung
Vorlagelösung (1n-Natronlauge, enthaltend 10 % Natriumsulfit)
2,4-Xylenol in Tropfflasche
Bromkresolgrün in Tropfflasche
Ammoniak p. a. konz.

a) Aufstellen der Eichgeraden

Man wägt genau 0,137 g Natriumnitrat in einen 1000-ml-Messkolben und füllt mit doppelt destilliertem Wasser zur Marke auf. Diese Lösung enthält pro ml 100 γ NO₃. Man pipettiert 50 ml davon in einen 500-ml-Messkolben, so dass eine Lösung entsteht, die 10 γ NO₃ im ml enthält.

Es sei der Extinktionswert für $50 \gamma \text{ NO}_3$ zu bestimmen. Man pipettiert 5 ml der verdünnten Stammlösung in einen Weithals-Erlenmeyerkolben mit 100 ml Inhalt und dunstet im Trockenschrank bei $90\text{--}100^\circ$ zur völligen Trockne ein. Nach dem Erkalten des Kolbens fügt man zum Rückstand 1 ml Wasser, 2 kleine gereinigte Glaskügelchen und 2 Tropfen Xylenol. Sobald sich der Rückstand gelöst hat, werden 5 ml Schwefelsäure mit Silbersulfat zugesetzt. Der Kolben wird sofort mit einem gut dichtenden Gummistopfen verschlossen. Man vermischt von Zeit zu Zeit die Lösung durch sorgfältiges Umschwenken. Nach 10 Minuten wird der Nitrierungsvorgang durch Zusatz von 20 ml Wasser unterbrochen und der Kolben an den Destillierapparat angeschlossen (Fig. 2). Die Kugel im Ab-



Figur 2

leitungsrohr wirkt als Schaumfänger. Bei der Destillation der Trockenrückstände aus eiweißhaltigen Stoffen tritt fast immer sehr starke Schaumbildung auf, so dass ohne besondere Vorrichtung das Destillat verunreinigt wird. In der kugelförmigen Erweiterung entmischen sich Flüssigkeit und Blasen, so dass nur Wasser- und Xylenoldampf in den Kühler gelangen.

Als Vorlage dient ein 15-ml-Messkölbchen, das 2 ml Natronlauge-Natriumsulfitlösung enthält.

Das Natriumsulfit hat hier ähnliche Wirkung wie in den photographischen Entwicklern. Es schützt das überschüssige, mit überdestillierte Xylenol vor der

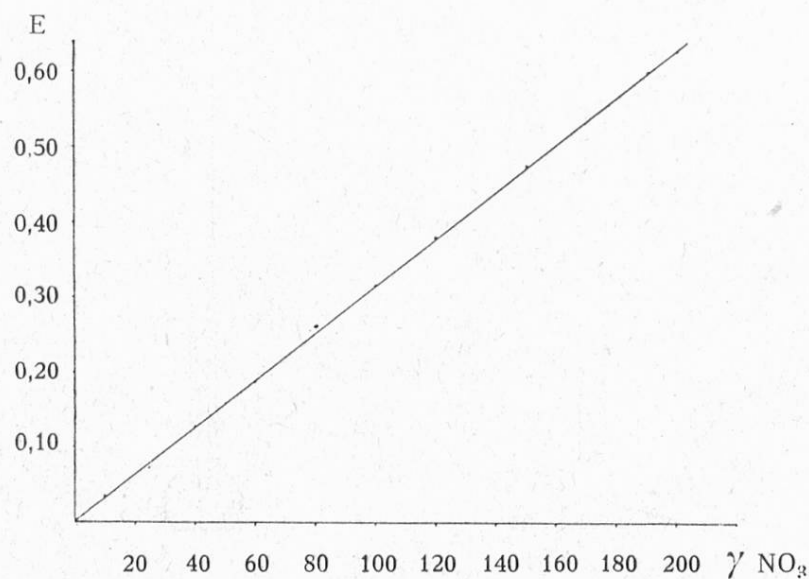
Einwirkung des Luftsauerstoffes und verhindert so dessen Verfärbung. Wenn es fehlt, müssen die Destillate sofort photometrisch gemessen werden. Bei seiner Anwesenheit ist nach 2 Stunden noch keine Vertiefung der Farbe festzustellen.

Zu Beginn der Destillation gehen gelbe Tropfen des 6-Nitroxylanols über, die sich in der Vorlageflüssigkeit mit intensiv orangegelber Farbe lösen. In 7 ml Destillat ist bereits alles Xylenol enthalten. Das weitere Destillieren dient der Sicherheit und zum Auffüllen des Messkölbchens. Wenn sich im unteren Teil des Ableitungsrohres gelbe Tropfen festsetzen, so entfernt man die Flamme für eine kurze Weile und lässt das Rohr in das Destillat eintauchen. Die alkalische Flüssigkeit steigt eine Strecke weit zurück und löst die Tropfen weg.

Wenn das Kölbchen fast gefüllt ist, unterbricht man die Destillation und füllt mit Wasser zur Marke auf.

Die Messung erfolgt bei Verwendung des Pulfrich-Photometers mit dem Filter S 47. Zur Herstellung der Vergleichslösung pipettiert man 1 ml nitratfreies Wasser in einen Weithals-Erlenmeyer und führt die Nitratreaktion und die Destillation wie beschrieben durch.

Indem man zur Reaktion mehr oder weniger der verdünnten Nitratstamm-lösung abmisst, lassen sich nach der beschriebenen Methode die Extinktionswerte für beliebige Nitratmengen zwischen 4 und 200 γ bestimmen.



Figur 3

Figur 3 zeigt, dass man in der üblichen Darstellung eine Gerade erhält, die durch den Nullpunkt geht.

b) Vorgehen bei Milch

10 ml Milch werden in einen 50-ml-Messkolben eingewogen und mit 10 ml Wasser verdünnt. Enthält sie Nitrit, so setzt man 2 Tropfen Bromkresolgrün zu und versetzt tropfenweise mit 2n-Schwefelsäure, bis der Indikator nach gelb

umschlägt. Jetzt wird 1 ml 10%ige Lösung von Natriumazid zugefügt und geschüttelt. Nach 30 Minuten löst man die ausgeflockte Milch mit 1,5 ml 2n-Natronlauge auf. Bei Abwesenheit von Nitrit lässt man die Behandlung mit Natriumazid weg und setzt die Lauge gleich nach dem Verdünnen zu. Die wieder homogen gewordene Flüssigkeit wird jetzt mit 20 %iger Trichloressigsäure versetzt, die aus einer Bürette zutropft. Der Messkolben wird während der ganzen Dauer der Fällung kräftig geschüttelt. Die Eiweisstoffe müssen sehr feinflockig ausfallen. Man füllt mit Wasser zur Marke auf, schüttelt nochmals kräftig und filtriert durch ein 11-cm-Weissbandfilter. Vom Filtrat wird ein aliquoter Teil in einen Weithals-Erlenmeyer von 100 ml Inhalt pipettiert und mit einigen Tropfen Ammoniak alkalisch gemacht. Die Lösung wird im Trockenschrank völlig eingedunstet. Zur Beschleunigung des Trocknens darf die Temperatur anfänglich 120—130° betragen, sollte aber am Schluss nicht höher als 100° sein. Andernfalls verkohlt der Rückstand teilweise und lässt sich für die Nitratreaktion nur schwer in Lösung bringen.

Die Nitratreaktion, Destillation und Messung wird genau wie beim Aufstellen der Eichgeraden beschrieben durchgeführt.

Zur Herstellung der Vergleichslösung behandelt man 10 ml Wasser genau so, wie die zu messende Milchprobe. So wird der Einfluss kleiner, noch in den Reagentien enthaltener Verunreinigungen ausgeschaltet.

c) Vorgehen bei Käse und anderen Milchprodukten

Die zu untersuchende Substanz wird in einem sauberen Mörser gut zerrieben. 1—2 g werden in ein 50-ml-Messkölbchen eingewogen und mit 20 ml Wasser versetzt. Bei Anwesenheit von Nitrit führt man die Zerstörung mit Natriumazid durch, löst die Substanz mit 3,5 ml Natronlauge auf und fällt die Eiweisstoffe mit 10 ml Trichloressigsäure.

Ist Nitrit abwesend, so löst man die Substanz sofort nach dem Wasserzusatz in 3,5 ml Lauge. Das übrige Vorgehen ist in beiden Fällen genau wie bei Milch beschrieben.

Einige Versuche mit bekannten Nitrit- und Nitratmengen

Um eine Beurteilungsmöglichkeit für die Brauchbarkeit der Methode zu geben, sind in der folgenden Tabelle die Resultate einiger Versuche angeführt. Dabei wurde so vorgegangen, dass im einen Fall zu Wasser, im andern zu Milch bekannte Mengen von Nitrit und Nitrat gegeben wurden. Die so hergestellten Lösungen wurden nach den angegebenen Methoden analysiert.

Da frische Milch die Fähigkeit hat, Nitrite unter teilweiser Umwandlung in Nitrate sehr rasch zu zerstören, wurde bei den Versuchen mit Milch auf die Nitritbestimmung verzichtet. Die Proben wurden so rasch als möglich mit Natriumazid versetzt, um die Nitrite möglichst vor der Reaktion mit der Milch zu zerstören.

Die angegebenen Zahlen sind Mittelwerte aus je zwei Bestimmungen.

Tabelle

Untersuchungs- material	Im Untersuchungs- material vorhanden		Zugesetzt		Gefunden	
	NO ₂	NO ₃	NO ₂	NO ₃	NO ₂	NO ₃
	γ	γ	γ	γ	γ	γ
Wasser	—	—	1,0	100	0,9	101
Wasser	—	—	5,0	10	5,0	9,5
Wasser	—	—	200	5,0	201	4,9
Wasser	—	—	1000	20	1003	19
Milch	—	3	—	40	—	42
Milch	—	4	200	200	—	197
Milch	—	4	500	100	—	103
Milch	—	4	1000	100	—	105

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, die es erlaubt, kleine Mengen von Nitrit und Nitrat in Milch und Milchprodukten quantitativ zu bestimmen. Es wird speziell auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die bei eiweisshaltigem Material auftreten, sowie deren Behebung gezeigt.

Das Verfahren lässt sich ebenso gut bei anderen Stoffen anwenden.

Résumé

On décrit une méthode qui permet de doser quantitativement de petites quantités de nitrites et de nitrates dans le lait et les produits du lait. On relève tout spécialement les difficultés qui apparaissent avec des produits contenant des protéines ainsi que la façon de les supprimer.

Le procédé peut aussi très bien être appliqué à d'autres produits.

Literatur

- 1) *Griess*, Ber. **12**, 427 (1879).
- 2) *Jendrassik und Falcsik-Szabó*, Biochem. Zeitschr. **261**, 110 (1933).
- 3) *Gladstone und Tribe*, J. Chem. Soc. **33**, 139 (1878).
- 4) *Williams*, J. Chem. Soc. **39**, 100 (1881).
- 5) *Hagg und Dalphin*, C. R. Soc. phys. et hist. nat. Genève **60**, 146 (1943).
- 6) *Busch*, Ber. **38**, 861 (1905).
- 7) *Riehm*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **81**, 353 (1930).
- 8) *Noll*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **47**, 326 (1908).
- 9) *Grandval und Lajoux*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **25**, 564 (1886).
- 10) *Grandval und Lajoux*, Compt. rend. **101**, 62.
- 11) *Werr*, Zeitschr. f. analyt. Chem. **109**, 81 (1937).