

## DIE BESTIMMUNG KLEINER BLEIMENGEN IN MILCH.

Von

J. GANGL und E. LIEDL.

Mitteilung aus der Bundesanstalt für Lebensmitteluntersuchung in Wien.

(Eingelangt am 28. Oktober 1936.)

Nach nahezu in allen Kulturstaaten gleichlautenden gesetzlichen Bestimmungen<sup>1</sup> wird für Geschirre und Geräte aus Metall, soweit sie mit Lebensmitteln in Berührung kommen, der Höchstgehalt an Blei für Lötstellen mit 10% und für Verzinnungen mit 1% begrenzt. Die Begründung für diese zum Schutze der Gesundheit erlassenen Bestimmungen ist u. a. in besonders eingehender Form durch die grundlegenden Arbeiten von O. SACKUR<sup>2</sup> gegeben. Während Koch-, Eß- und Trinkgeschirre nur mehr selten Lötstellen aufweisen, sind Milchtransportkannen häufig gelötet; auch Milchkühler sowie andere Molkereigerätschaften zeigen oft ausgedehnte Lötstellen. In vielen Fällen konnten wir nach einem von J. GANGL und C. BRECHER<sup>3</sup> beschriebenen Untersuchungsverfahren feststellen, daß der Bleigehalt für Verzinnungen bei Molkereigeräten meist gegen 3% beträgt, während die Lötungen ganz allgemein mit 30- bis 70%igem Bleilot durchgeführt werden. Diese übermäßige Verwendung von Blei bei Apparaten und Geschirren, die bei der Verarbeitung von Milch in Verwendung stehen, machte zur Klärung der Frage, ob durch die Milch tatsächlich irgendwie gesundheitsbedenkliche Bleimengen aufgenommen werden können, die Bestimmung kleiner Bleimengen in Milch notwendig.

Wegen der bekannten, stark toxischen Wirksamkeit des Bleis und wegen der Möglichkeit chronischer Bleivergiftungen infolge ständiger Zufuhr kleiner und kleinster Bleimengen — TRENDELENBURG und FÜHNER<sup>4</sup> halten beispielsweise die Überschreitung eines

<sup>1</sup> In Österreich § 1 der Verordnung vom 13. Okt. 1897, RGBl. Nr. 235, ergänzt durch die Verordnung vom 10. Nov. 1928, BGBl. Nr. 321.

<sup>2</sup> Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt **20**, 512 (1904); **22**, 187 (1905).

<sup>3</sup> Zeitschr. f. Unters. Lebensmittel (in Veröffentlichung).

<sup>4</sup> Veröff. a. d. Geb. d. Medizinalverwaltung **38**, I, 233 (1932); Berlin, Richard Schoetz.

Gehaltes von 0,1 mg Blei im Liter Trinkwasser bereits für gesundheitlich bedenklich — mußte für die Bestimmung von Blei in Milch ein Verfahren angewendet werden, das die Erfassung kleinster Bleimengen gestattete. Auch wegen der Schwierigkeit der Mineralisierung größerer Milchmengen war von dem Verfahren ein möglichst hoher Empfindlichkeitsgrad zu fordern. Angaben über eine quantitative Ermittlung kleiner Bleimengen in Milch liegen bisher nicht vor. Auch die für die Bleibestimmung in einigen anderen Lebensmitteln ausgearbeiteten Methoden waren für unseren Zweck nicht unmittelbar brauchbar.

Nachdem vorerst festgestellt worden war, daß durch die trockene Veraschung von Milch wesentliche Bleimengen verloren gehen, wurde die Mineralisierung der Milch auf nassem Wege durch Behandlung mit Schwefel-Salpetersäure durchgeführt. Im Aufschluß wurde das Blei nach entsprechender Verdünnung mit dem reichlich vorhandenen Kalzium quantitativ als Sulfat gefällt und aus dem Niederschlag nach den Angaben von A. MACHEBOEUF<sup>5</sup> durch Behandlung mit Ammonacetat ausgezogen. Versuche, das Blei im Ammonacetatauszug kolorimetrisch als Sulfid zu bestimmen, führten zu keinem brauchbaren Resultat. Einerseits erwies sich die Sulfidfärbung so wenig empfindlich, daß, um vergleichbare Farbtiefen zu erzielen, relativ große Milchmengen aufgeschlossen werden mußten, andererseits gestattete die geringe Abhängigkeit der Sulfidfärbung von Konzentrationsunterschieden nur angenäherte Schätzungen. Wegen seiner bekannten hohen Empfindlichkeit wurde nun das von H. FISCHER<sup>6</sup> ausgearbeitete Dithizonverfahren für die Bleibestimmung im Ammonacetatauszug anzuwenden versucht. Hierbei waren zunächst die Einflüsse festzustellen, die auf die Gegenwart von Ammonacetat und der anderen, vom Aufschluß herstammenden Salze zurückzuführen waren. Durch Ammonacetat wird die Farbtiefe der Lösung der Blei-Dithizonverbindung in Tetrachlorkohlenstoff so verschoben, daß ein höherer Bleigehalt vorgetäuscht wird, während reines Ammonacetat keine Farbveränderung der Dithizonlösung hervorruft. Die durch Ammonacetat bewirkte Farbvertiefung bei Gegenwart von Blei ist

<sup>5</sup> Compt. rend. acad. Sciences **195**, 146 (1932); Bull. Soc. chim. France **53**, 190 (1933).

<sup>6</sup> Wissensch. Veröff. d. SIEMENS-Konzerns **12**, I, 44 (1933).

aber nur in geringem Grade abhängig von der Konzentration des Ammonacetates und bleibt bei Einhaltung der im experimentellen Teil beschriebenen Konzentrationen konstant. Die Intensität der Färbung bleibt auch bei Gegenwart von Ammonacetat der Bleimenge proportional. Die Bleibestimmung mittels Dithizon wird daher durch die Gegenwart von Ammonacetat nicht gestört; vielmehr wird das Verfahren durch die größere Intensität der Färbung empfindlicher gestaltet.

Weiters war der Einfluß der in reichlicher Menge vorhandenen Kalziumsalze zu überprüfen. Beim Schütteln von Kalziumsalzen in schwach ammoniakalischer Lösung mit Dithizon in Tetrachlorkohlenstoff trat eine dem Blei-Dithizonkomplex ähnliche Färbung auf, die aber beim Zusatz von Kaliumcyanid verschwand.

Da nach den Angaben von H. FISCHER (l. c.) die rote Farbe der Blei-Dithizonverbindung wenig beständig ist, spaltet er den Komplex durch Zusatz von Salzsäure und mißt den Bleigehalt an der Grünfärbung der Dithizonlösung. Wir konnten aber feststellen, daß auch der roten Blei-Dithizonlösung eine genügende Farbbeständigkeit zukommt. Bei Aufbewahrung der roten Lösung im Dunklen konnten erst nach 15 Stunden meßbare Farbveränderungen wahrgenommen werden. Die unmittelbare Kolorimetrierung, der durch den Blei-Dithizonkomplex rotgefärbten Lösung, ergab bei der Anwendung des LEITZ'schen Absolutkolorimeters genauere Werte als der von H. FISCHER empfohlene Farbvergleich der grünen Dithizonlösung.

Die kolorimetrische Bestimmung wurde unter Verwendung der Mikroeinrichtung des LEITZ'schen Absolutkolorimeters ausgeführt. Bei einem Endvolumen der Blei-Dithizonlösung von 10 ccm konnten Bleimengen bis zu 5  $\gamma$  mit einer Fehlergrenze von  $\pm 0,2 \gamma$  bestimmt werden. Da zur quantitativen Ausschüttelung des Bleies eine Mindestmenge von 6—8 ccm Dithizonlösung erforderlich war, wurde zur Erfassung noch kleinerer Bleimengen versucht, die Blei-Dithizonlösung bei niedrigerer Temperatur unter vermindertem Druck bis auf ein Endvolumen von 2 ccm zu bringen. Versuche mit verschiedenen Bleimengen zeigten, daß der Blei-Dithizonkomplex durch das Eindampfen nicht verändert, d. h., daß die Farbintensität der Bleikonzentration proportional bleibt. Die Eindampfung auf 2 ccm erfolgte in einem Kölbchen mit Meßrohransatz. Eine Menge

von 2 ccm genügte eben für die Kolorimetrierung im Mikrobecher des Leitz-Kolorimeters. Durch diese Einengung wurden die oben angegebenen Empfindlichkeitsgrenzen des Verfahrens noch um das Fünffache erhöht.

In letzter Zeit wurde für die Messungen das von P. KRUMHOLZ<sup>7</sup> beschriebene „objektive Mikrophotometer“ mit bestem Erfolge verwendet. Wegen der Bleilässigkeit verschiedener Glassorten wurden für den Aufschluß der Milch ausschließlich Quarzkolben benützt.

Die Brauchbarkeit des Verfahrens ist durch die in der Tabelle I unter den Versuchsnummern 1—4 auszugsweise wiedergegebenen Beleganalysen erwiesen. Die in der Tabelle II unter Nummer 5—14 wiedergegebenen Werte beziehen sich auf Milch, die in bleifreie Gefäße ermolken wurde. Es zeigt sich, daß der Milch ein natürlicher, wenn auch geringer Bleigehalt zukommt, der anscheinend sehr stark von der Fütterungsart abhängig ist. Bei der Bestimmung der Bleiaufnahme der Milch muß dieser natürliche Bleigehalt der Frischmilch in Rechnung gezogen werden. In den Versuchen Nr. 15—27 sind Werte wiedergegeben, wie sie in Milch gefunden wurden, die im freien Verkehr anzutreffen ist.

Nach den nur im Auszug wiedergegebenen Untersuchungsergebnissen erscheint nachgewiesen, daß der Bleigehalt der Konsummilch das Mehrfache des natürlichen Bleigehaltes der Milch beträgt. Weitere Arbeiten sollen Aufschluß über die Angreifbarkeit von Bleizinnlegierungen durch Milch verschiedener Säuregrade geben. Das Endziel der Untersuchungen ist aber, die nicht unbedenkliche Bleiaufnahme der Milch auf ihrem Wege von der Gewinnung bis zum Verbraucher nach Tunlichkeit auszuschalten.

### Experimenteller Teil.

Reagenzien. Die für die Bleibestimmung notwendigen Reagenzien müssen vor ihrer Verwendung sorgfältig mittels Dithionlösung auf einen etwaigen Bleigehalt überprüft werden. Für die Herstellung der wässerigen Lösungen ist doppelt destilliertes Wasser zu verwenden.

<sup>7</sup> Mikrochemie 20, 227 (1936).

**Dithizonlösung.** Standardlösung: ca. 20 mg Dithizon in 100 ccm Tetrachlorkohlenstoff. Für die Bestimmung wird diese Lösung auf das Dreifache mit Tetrachlorkohlenstoff verdünnt. Zur Herstellung der Standardlösung ist wegen des geringen Reinheitsgrades der handelsüblichen Präparate die dreifache Dithizonmenge (für 100 ccm ca. 60 mg) aufzulösen. Diese Lösung wird dann nach den Angaben von H. FISCHER<sup>8</sup> gereinigt.

**Ammoniak.** Gasförmiges  $\text{NH}_3$  wird in doppelt destilliertes Wasser bis zur Sättigung eingeleitet.

**Ammonacetat.** Das p. a. Präparat von Merck ist bleifrei.

**Kaliumcyanid.** Eine 5%ige Lösung des p. a. Präparates von Merck gab mit Dithizon noch eine geringfügige Rosafärbung, die bei einer 1%igen Lösung nicht mehr sichtbar war. Kaliumcyanid wird daher bei der Bestimmung zweckmäßig in  $\frac{1}{2}$ –1%iger Lösung angewendet.

**Salpetersäure.** Zum Aufschluß der Milch wurde eine aus Glasgefäßen frisch destillierte, konzentrierte Säure verwendet, die mit Dithizon keine Bleireaktion mehr gab.

**Schwefelsäure.** Das p. a. Präparat von Merck für forensische Zwecke enthält geringe Bleimengen (etwa 3,5  $\gamma$  in 100 ccm). Der Bleigehalt ist daher bei jeder Packung zu bestimmen und in Rechnung zu stellen.

#### Ausführung der Bleibestimmung in Milch.

100 ccm Milch werden in einem 250 ccm Kjeldahlkolben aus Quarzglas mit 25 ccm konz.  $\text{HNO}_3$  bis zur vollständigen Lösung der fettfreien Bestandteile der Milch gekocht. Zur Abtrennung des Fettes wird die etwas verdünnte  $\text{HNO}_3$ -Lösung durch ein angefeuchtetes Filter gegossen und das auf dem Filter bleibende Fett mit heißem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wird in den Quarzkolben zurückgebracht und bis zum Auftreten von Stickoxyden eingeeengt. Sodann werden nach und nach 20 ccm konz.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  zugesetzt und die Verbrennung unter Zusatz von Salpetersäure zu Ende geführt. Nach Abdampfen der Schwefelsäure auf ein kleines Volumen (etwa 2 ccm) wird zur vollständigen Entfernung der

<sup>8</sup> Zeitschr. f. angew. Chemie 47, 90 (1934).

Salpetersäure 2—3mal nach Wasserzusatz bis zum Auftreten von Schwefelsäuredämpfen eingeengt.

Der schwefelsaure Aufschluß wird mit 10 ccm Wasser und 10 ccm Alkohol versetzt, in eine Schliffeprouvette aus starkem Glas (30 bis 40 ccm Fassungsraum) gebracht und zentrifugiert. Ein Zusatz von Kalziumsulfat erübrigt sich, da die Milch eine für die quantitative Fällung des Bleies ausreichende Menge an Kalziumsalzen enthält. Von dem abgeschiedenen Sulfatrückstand läßt sich die überstehende klare Lösung leicht abgießen. Der Rückstand wird viermal mit je 10 ccm Alkohol (75 ccm Alkohol + 25 ccm Wasser + 2 ccm konz. Schwefelsäure) gewaschen. Nun wird das Sulfatgemisch viermal mit je 10 ccm Ammonacetat (5 ccm 20%ige Ammonacetatlösung + 1 ccm konz. Ammoniak + 4 ccm Wasser) ausgekocht, absetzen lassen und filtriert. Der zum Waschen des Rückstandes verwendete wässerige Alkohol sowie die Ammonacetatlösung werden immer vorher zum Nachspülen des Aufschlußkolbens verwendet.

Die gesammelten Ammonacetatauszüge werden im Scheidetrichter zunächst mit 3—5 ccm Dithizonlösung (6 mg Dithizon in 100 ccm Tetrachlorkohlenstoff) geschüttelt, sodann 2 ccm 1%ige Kaliumcyanidlösung zugesetzt und abermals geschüttelt. Bei Bleimengen von 10  $\gamma$  und darunter geht das vorhandene Blei schon beim ersten Ausschütteln quantitativ in die Tetrachlorkohlenstoffschichte über. Man wiederholt die Extraktion noch zweimal mit je 1 ccm Dithizonlösung.

Die in einem kleineren Schütteltrichter gesammelten Tetrachlorkohlenstoffauszüge werden zur Entfernung des Dithizonüberschusses mit 5 ccm verdünntem Ammoniak (1 Teil konz. Ammoniak auf 200 Teile Wasser), sodann ein- bis zweimal mit je 4 ccm 0,5%iger Kaliumcyanidlösung geschüttelt und hernach mit Wasser gewaschen. Die Blei-Dithizonlösung wird auf 10 ccm gebracht und im LEITZ'schen Absolutkolorimeter unter Zwischenschaltung des Filters S.F. 5 gegen die Graulösung kolorimetriert.

Bei nur schwacher Rosafärbung der Dithizon-Ausschüttelung wird die Tetrachlorkohlenstofflösung in einem Rundkölbchen mit einem Meßrohransatz (Teilstrich bei 2 ccm) unter vermindertem Druck eingeengt. Die Kolorimetrierung wird dann im Mikrobecher des LEITZ-Kolorimeters vorgenommen.

Tabelle I.

Beleganalysen mit bekannten Bleimengen.

Versuchs Nr.	γ Blei	
	zugesetzt	gefunden
1	5,0	4,8
2	2,0	2,1
3	1,0	1,1
4	0,5	0,6

Tabelle II.

Bleibestimmungen in Milch.

Versuchsnummer	Verarbeitete Milch- menge in ccm	γ Blei	
		gefunden	in 1 Lt. Milch (ber.)
5	200	4,8	24,0
6	200	2,7	13,5
7	200	1,8	9,0
8	200	1,2	6,0
9	200	3,0	15,0
10	200	1,5	7,5
11	200	1,0	5,0
12	200	nicht meßbare Mengen	
13	200	nicht meßbare Mengen	
14	200	2,2	11,0
15	100	18,0	180,0
16	100	7,6	76,0
17	100	7,4	74,0
18	100	11,5	115,0
19	100	10,5	105,0
20	100	14,5	145,0
21	100	4,3	43,0
22	100	4,5	45,0
23	200	12,5	62,5
24	100	5,6	56,0
25	100	7,5	75,0
26	100	4,7	47,0
27	100	13,5	135,0