

Fotometrische Nitritbestimmung in Milchpulver

1. Aufgabe

- Berechnen Sie die erforderliche Einwaage von Natriumnitrit und die Verdünnungen für die Kalibration der Nitritbestimmung.
- Stellen Sie die notwendigen Reagenzien und die Standardlösungen für die Nitritbestimmung her.
- Berechnen Sie den Korrelationskoeffizienten der linearen Regression und die Variablen der Kalibrationsfunktion (Steigung, Achsenabschnitt) der fotometrischen Bestimmung.
- Bestimmen Sie den Nitritgehalt der Probe in mg/kg. Es ist eine Dreifachbestimmung durchzuführen.
- Alle Rohdaten, Berechnungen und Resultate sind auf den Rohdaten- und Resultateblättern aufzuführen. Es wird kein zusätzliches Protokoll verlangt.

2. Prinzip

Das Molkenpulver wird in warmem Wasser gelöst bzw. suspendiert und nach Ausfällung des Fettes und des Proteins filtriert. Im Filtrat wird der Nitritgehalt nach Zugabe eines Farbreagenzes fotometrisch bei 538 nm, mit Hilfe einer Standardgeraden ermittelt.

3. Probe

- GA 1.2

4. Reagenzien

- Entmineralisiertes Wasser (im folgenden Wasser genannt)
- Pufferlösung (pH = 9.6-9.7):
5 mL Salzsäure konz. (1 L = 1.19 kg; ca. 37 % HCl) mit 50 mL Wasser vermischen, 13.5 mL Ammoniaklösung konz. (1 L = 0.91 kg; ca. 25 % NH₃) hinzufügen und mit Wasser auf 100 mL auffüllen und mischen.
- Carrez-Lösung I:
8.6 g Kaliumhexacyanoferrat(II) (K₄ [Fe(CN)₆] • 3 H₂O) in Wasser lösen und auf 50 mL auffüllen. Die Lösung liegt gebrauchsfertig vor.
- Carrez-Lösung II:
26.8 g Zinksulfat (ZnSO₄ • 7 H₂O) in Wasser lösen und auf 50 mL auffüllen. Die Lösung liegt gebrauchsfertig vor.
- Markierlösung (liegt gebrauchsfertig vor)
- Farbreagenz 1:
22.5 mL Salzsäure konz. (1 L = 1.19 kg) mit Wasser zu 50 mL auffüllen.
- Farbreagenz 2:
0.5 g Sulfanilamid (NH₂C₆H₄SO₂NH₂) in einer Mischung von 75 mL Wasser und 5 mL Salzsäure konz. (1 L = 1.19 kg) unter Erhitzen im Wasserbad lösen. Auf Raumtemperatur abkühlen und mit Wasser auf 100 mL auffüllen, wenn nötig filtrieren.
- Farbreagenz 3:
0.05 g N-1-Naphthylethylendiamindihydrochlorid (C₁₀H₇NHCH₂CH₂NH₂•2HCl) in Wasser lösen und auf 50 mL auffüllen, wenn nötig filtrieren.
- Natriumnitrit (NaNO₂), das bei 110 – 120 °C bis zur Massenkonstanz getrocknet worden ist (liegt getrocknet auf). Es ist eine Gebrauchslösung in einem 500-mL-Messkolben mit einer Konzentration von 1.00 mg/L NO₂⁻ herzustellen, die zudem 10 mL Pufferlösung enthält.

5. Geräte

Alle Glaswaren müssen sorgfältig gereinigt und mit Wasser gespült werden, um frei von Nitrat und Nitrit zu sein.

- Analysenwaage
- Erlenmeyerkolben 100 und 250 mL
- Messzylinder
- Messkolben 50, 100, 200 und 500 mL
- Messpipetten 5, 10 und 20 mL
- Vollpipetten 2, 5, 10, 25 und 50 mL
- Trichter, \varnothing ca. 7-10 cm
- Papierfilter, mittlere Filtriergeschwindigkeit, \varnothing ca. 15 cm, nitrat- und nitritfrei (z.B. 589-2)
- Spektrofotometer, Wellenlänge 538 nm, mit 1-cm-Küvetten

6. Ausführung

6.1 Probenvorbehandlung

Ca. 0.5 g homogenes Probenmaterial auf 0.1 mg genau einwiegen und in einen 250 mL Erlenmeyerkolben überführen.

158 mL warmes Wasser von 50 – 55 °C begeben und auflösen. 10.0 mL Markierlösung beifügen.

Unter vorsichtigem Umschwenken bei jedem Zusatz der Reihe nach 6 mL Carrezlösung II, 6 mL Carrezlösung I und 20 mL Pufferlösung beifügen.

Mindestens 5 Minuten, jedoch nicht mehr als 1 Stunde stehen lassen. Darauf die Lösung durch ein Filterpapier filtrieren.

Bemerkungen

Das Gesamtvolumen beträgt 200 mL und muss bei der Berechnung der Resultate miteinbezogen werden. Zur Erhaltung eines klaren Filtrates kann die Zugabe grösserer Mengen der beiden Carrezlösungen nötig sein. Gegebenenfalls muss auch die Menge der Pufferlösung entsprechend vergrössert werden, während die Menge heissen Wassers soweit verringert wird, dass das Gesamtvolumen bei 200 mL liegt.

6.2 Kalibration

Mit der Kalibrations-Gebrauchslösung ist eine Standardreihe mit 4 Standards herzustellen deren Konzentrationen für die Messung bestimmten 100 mL Messkolben zwischen 0.02 und 0.5 mg/L Nitrit liegen (siehe unter Kapitel Messen der Lösungen). Die den 100 mL Messkolben zugegebenen Kalibrations-Gebrauchslösungen zu einem Volumen von ca. 60 mL ergänzen und wie unter 6.3 für die Messung weiterbearbeiten.

6.3 Messen der Lösungen

Zur Bestimmung des Nitritgehaltes 25.0 mL Filtrat in einen 100-mL Messkolben pipettieren und mit Wasser bis zu einem Volumen von ca. 60 mL ergänzen. Unter sorgfältigem Mischen sofort zuerst 5 mL Farbreagenz 1 und dann 6 mL Farbreagenz 2 beifügen. Die Lösung 5 Minuten, vor direktem Sonnenlicht geschützt, bei Raumtemperatur stehen lassen. Anschliessend 2 mL Farbreagenz 3 zufügen. Sorgfältig mischen und die Lösung 5 Minuten, vor direktem Sonnenlicht geschützt, bei Raumtemperatur stehen lassen. Mit Wasser zur Marke auffüllen und gut durchmischen.

Innerhalb von 30 Minuten die Extinktion der Lösung bei 538 nm gegen diejenige des Reagenzienblindversuches messen. Es ist jeweils eine 2-fach Messung durchzuführen.

Blindversuch

Einen Blindversuch mit allen Farbreagenzien, jedoch ohne die Untersuchungsprobe durchführen.

6.4 Auswertung

Die Berechnung des Nitritgehaltes erfolgt nach der Bestimmung der Kalibrationsfunktion (lineare Regression) mit dem Taschenrechner.

7. Resultate

Die Einzel- und Mittelwerte der Proben werden mit 3 signifikanten Ziffern in mg/kg angegeben.

8. Entsorgung

Die anfallenden Lösungen werden in die angeschriebenen, bereit stehenden Kanister gegeben.

Expertenblatt

Jedes Kriterium wird gleich stark gewichtet. Die Notenskala richtet sich nach dem Ausbildungsreglement. Nicht erfüllte Punkte hervorheben oder spezielle Beobachtungen unter Bemerkung festhalten.
Die Note Arbeitstechnik soll einerseits mit dem berechneten Wert, andererseits mit dem Gesamteindruck übereinstimmen. Die Bewertung und Notengebung muss in jedem Falle nachvollziehbar (Notizen) sein.

Kriterium	Note	Bemerkungen
Vollpipette für Markier – Lösung und Filtrat	6 Ja	
	5 Handling der Vollpipette nicht optimal	
	3 Nein	
	1 Nicht durchgeführt	
Aufarbeitung	6 <ul style="list-style-type: none"> • Saubere Einwaage (Analysenwaage) • Zeit bei Carrez-Fällung eingehalten • Klares Filtrat 	
	5 Ein Punkt von 6 nicht erfüllt	
	4 Zwei Punkte von 6 nicht erfüllt	
	3 Drei Punkte von 6 nicht erfüllt.	
	2 Arbeitsweise unbrauchbar	
1 Nicht durchgeführt		
Kalibration	6 <ul style="list-style-type: none"> • Guter Umgang mit MK + Vollpipetten • Gebrauchslösung richtig hergestellt (Zwischenverdünnung) • Gutes Handling mit Vollpipetten 	
	5 Ein Punkt von 6 nicht erfüllt	
	4 Zwei Punkte von 6 nicht erfüllt	
	3 Mehr als zwei Punkte von 6 nicht erfüllt.	
	2 Arbeitsweise unbrauchbar	
1 Nicht durchgeführt		
Messung	6 <ul style="list-style-type: none"> • Bei 538 nm gemessen • Probe / Kalibration Reaktionszeiten eingehalten • Probe und Kalibration miteinander gemessen • Sauberer Umgang mit Küvetten • 2 mal gemessen • Aufwärmzeit (30 min.) eingehalten • Proben und Kal. gegen Blindwert gemessen 	
	5 Ein Punkt von 6 nicht erfüllt	
	4 Zwei Punkte von 6 nicht erfüllt	
	3 Mehr als zwei Punkte von 6 nicht erfüllt.	
	2 Arbeitsweise unbrauchbar	
1 Nicht durchgeführt		
Sicherheit / Sauberkeit & Ordnung	6 <ul style="list-style-type: none"> • Arbeitet sauber und ordentlich • Augenschutz ist gewährleistet • Sicherheit ist gewährleistet • keine Verunreinigungen / Kontaminationen 	
	5 Ein Punkt von 6 nicht erfüllt	
	4 Zwei Punkte von 6 nicht erfüllt	
	3 Mehr als zwei Punkte von 6 nicht erfüllt (Sicherheit nicht gewährleistet)	
	2 Arbeitsweise unbrauchbar	
1 Nicht durchgeführt		
Methodik & Arbeitsdisposition	6 <ul style="list-style-type: none"> • Arbeitet flink und nimmt auf andere Rücksicht • Koordiniert die Arbeiten gut • Das Protokoll (Rohdaten) werden laufend erfasst • Die Wartezeiten werden eingehalten • Die Arbeit ist abgeschlossen 	
	5 Ein Punkt von 6 nicht erfüllt	
	4 Zwei Punkte von 6 nicht erfüllt	
	3 Methodik und Dispositionen umständlich und unkoordiniert	
2 Arbeitsweise unbrauchbar		
Nachbezug Analysenmaterial	<input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> nein	Der Notenabzug erfolgt erst durch das für die Aufgabe zuständige Expertenteam

Gesamteindruck / Notizen	

Weitere Informationen

- Die Markierlösung enthält Nitrit und dient zur Dotierung der Proben, weil das Milchpulver selbst kein Nitrit enthält (Beispiel: Stamm 250 mg/L NO₂⁻, 1:20 verdünnt).
- Beispiel Kalibration: Einwaage 75 mg NaNO₂, entspricht 50 mg NO₂⁻, in 200 mL-Messkolben, entspricht 250 mg/L NO₂⁻ (Stamm), davon 2 mL in 500 mL Messkolben, entspricht 1.00 mg/L NO₂⁻ (Gebrauchslösung), davon 2/10/25/50 mL in 100 mL Messkolben.
- Ein Protokoll muss nicht geschrieben werden, aber das Resultatblatt muss vollständig ausgefüllt sein.
- Gewichtung der Aufgabe:
Arbeitstechnik : 40 %
Resultate : 50 %
Protokoll : 10 %
- Bei einem oder mehreren Rechnungsfehler wird 1.0 Note bei der Note Resultate abgezogen.
- Für die Note Resultate, zählen die vom Expertenteam nachgerechneten Werte.
- Bei Probenachbezug wird 1.0 Note in der Note Arbeitstechnik abgezogen. Dies wird aber vom korrigierenden Expertenteam ausgeführt.
- Die Note Resultate kommt aus dem Mittelwert folgender Positionspunkte zustande:
R² (30 %), Abweichung vom Soll-Wert (40 %), RSD (30 %)

Materialliste für 20 Kandidatinnen und Kandidaten

Prüfungsmaterial

Material / Geräte	Wer
Messkolben 500 mL, 20x	Ergänzungsmaterial
Messkolben 200 mL, 40x	Ergänzungsmaterial
Messkolben 100 mL, 220x	Ergänzungsmaterial
Messkolben 50 mL, 60x	Ergänzungsmaterial
Vollpipette 2 mL, 40x	Ergänzungsmaterial
Vollpipette 5 mL, 20x	Ergänzungsmaterial
Vollpipette 10 mL, 40x	Ergänzungsmaterial
Vollpipette 25 mL, 40x	Ergänzungsmaterial
Vollpipette 50 mL, 20x	Ergänzungsmaterial
Messpipette 5 mL, 60x	Ergänzungsmaterial
Messpipette 10 mL, 120x	Ergänzungsmaterial
Trichter, 60x (20 Stück fehlen)	Kiste 3
Erlenmeyer 250 mL, 60x	Kiste 3
Erlenmeyer 100 mL, 60x	Kiste 3
Messzylinder	Kiste 3
Papierfilter Ø ca. 15 cm, S+S 589-2, 100 Stück	Uni

Chemikalien/Reagenzien

Produkt	Theo. Verbrauch	Bestellen (inkl. Reserve)	Wer
Salzsäure konz. (1 L = 1.19 kg; ca. 37 % HCl)	650		Uni
Ammoniaklösung konz. (1 L = 0.91 kg; ca. 25 % NH ₃)	270		Uni
Kaliumhexacyanoferrat(II) (K ₄ [Fe(CN) ₆] • 3 H ₂ O)	172		Uni
Zinksulfat (ZnSO ₄ • 7 H ₂ O)	536		Uni
Sulfanilamid (NH ₂ C ₆ H ₄ SO ₂ NH ₂)	10		Uni
N-1-Naphthylethylendiamin- dihydrochlorid (C ₁₀ H ₇ NHCH ₂ CH ₂ NH ₂ •2HCl)	1		Uni
Natriumnitrit	2~5		Uni