



# Over het koper-, mangaan- en zink-gehalte van melk

<https://hdl.handle.net/1874/320744>



A<sup>n</sup> 192

1935.

**OVER HET KOPER-, MANGAAN-  
EN ZINK-GEHALTE VAN MELK**

**A. BROEK**

nu.  
2









OVER HET KOPER-, MANGAAN-  
EN ZINK-GEHALTE VAN MELK





# OVER HET KOPER-, MANGAAN- EN ZINK-GEHALTE VAN MELK

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD  
VAN DOCTOR IN DE WIS- EN NATUURKUNDE AAN  
DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG  
VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. H. BOLKESTEIN,  
HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER LETTEREN  
EN WIJSBEGEERTE, VOLGENS BESLUIT VAN DEN  
SENAAT DER UNIVERSITEIT IN HET OPENBAAR TE  
VERDEDIGEN OP MAANDAG 8 JULI 1935, DES VOOR-  
MIDDAGS TE 11 UUR

DOOR

AREND BROEK

GEBOREN TE ZWOLLE



N.V. DRUKKERIJ P. DEN BOER — UTRECHT





AAN MIJN OUDERS





## STELLINGEN.

### I.

De opvatting van Bodenstein, dat de na intensieve droging met  $P_2O_5$  optredende vertraging van verschillende gasreacties uitsluitend toe te schrijven zou zijn aan de invloed van verontreinigingen, is niet juist.

A. Smits, Z. physik. Chem. (B) 28, 31 (1935).  
M. Bodenstein, Z. physik. Chem. (B) 20, 451 (1933).

### II.

De mening van Gorochovsky, dat in een dubbellaag, dié ionen als „tegenionen” bevoorrecht zijn, die met de aan het grensvlak geadsorbeerde ionen een onoplosbare verbinding vormen, is onjuist.

J. Phys. Chem. 39, 465 (1935).

### III.

De ortho-oxy-azo-verbindingen moeten opgevat worden als chinon-phenylhydrazonen.

A. Burawoy en I. Markowitsch,  
Ann. 503, 180 (1933).  
Ann. 509, 60 (1934).  
K. v. Auwers, Ann. 505, 283 (1933).



#### IV.

Het verschil in Gram-reactie, dat men bij verschillende exemplaren van één bacterie-stam (anthrax e.d.) waarneemt, is het gevolg van verschillen in fysisch-chemische constellatie van de bacterie-lichamen, samenhangend met de ouderdom.

F. S a n d e r, Zentr. Bakt. I Orig. 133, 385 (1935).

#### V.

De methode van F u j i t a voor de bepaling van vitamine C is geen verbetering van de titratiemethode met behulp van 2-6-dichloorphenolindophenol.

Bioch. Z. 277, 296 (1935).

#### VI.

De grens, die de Pharmacopee stelt aan het arseen-gehalte van glycerine, is onnodig laag.

#### VII.

Het is gewenst, dat de margarine- en zuivelindustrie carotine gebruikt inplaats van kleurstoffen, die voor het lichaam waardeloos zijn.







Het verschijnen van dit proefschrift biedt mij een welkome gelegenheid, U, Hoogleraren aan de Rijks Universiteit te Utrecht, van wie ik onderricht en leiding heb mogen ontvangen, hiervoor mijn welgemeende dank te betuigen.

U, Hooggeleerde Cohen, ben ik dankbaar voor hetgeen ik onder Uw leiding in het van 't Hoff-Laboratorium heb mogen leren.

Hooggeleerde Kruyt, dat ik Uw belangrijke colleges heb mogen volgen, beschouw ik als een groot voorrecht.

Hooggeleerde Kögl, voor hetgeen ik op Uw practicum en Uw colleges mocht leren ben ik U zeer erkentelijk.

Hooggeleerde Schoorl, voor het vele, dat ik onder Uw leiding in een korte tijd heb mogen leren, voel ik mij ten zeerste aan U verplicht.

Hooggeleerde de Graaff, wees overtuigd van mijn erkentelijkheid voor al hetgeen ik van U mocht leren, zowel op Uw colleges als op Uw practica.

U, Hooggeleerde Wolff, Hooggeachte Promotor, ben ik grote dank verschuldigd, voor hetgeen ik van U heb mogen leren en ondervinden. Uw werkkraft en Uw onvermoeid enthousiasme mogen voor mij in de komende jaren een voorbeeld zijn. De sfeer van vriendschap, die in het Hygiënisch Laboratorium heerst, is voor een niet gering deel een gevolg van Uw leiding.

Zeergeleerde Emmerie, Uw belangstelling en raadgevingen bij het bewerken van dit proefschrift stel ik op hoge prijs.

Zeergeleerde Brouwer, Zeergeleerde van der Plank, U betuig ik op deze plaats mijn dank voor Uw welwillende medewerking bij het verkrijgen van de melkmonsters.

Tenslotte wil ik mijn dank betuigen aan allen, die aan het Hygiënisch laboratorium verbonden zijn, voor hun hulp en bereidwilligheid.



## INHOUD.

	Blz.
Inleiding . . . . .	1
HOOFDSTUK I.	
LITERATUUROVERZICHT VAN HET KOPERGEHALTE VAN MELK . . . . .	4
HOOFDSTUK II.	
LITERATUUROVERZICHT VAN HET MANGAANGEHALTE VAN MELK . . . . .	15
HOOFDSTUK III.	
LITERATUUROVERZICHT VAN HET ZINKGEHALTE VAN MELK . . . . .	19
HOOFDSTUK IV.	
DESTRUCTIE VAN DE MELK.	
A. De droge verassing . . . . .	22
B. De „natte” methode . . . . .	22
1. De destructiekolf . . . . .	23
2. Uitvoering van de destructie . . . . .	24
HOOFDSTUK V.	
DE METHODES TER BEPALING VAN KLEINE HOEVEELHEDEN KOPER.	
A. Voor- en nadelen van de verschillende methodes	27
1. Niet colorimetrische methodes . . . . .	27
2. Colorimetrische methodes . . . . .	30
B. Beschrijving van de carbamaatmethode . . . . .	38
1. Uitvoering . . . . .	38
2. De Stuphenphotometer . . . . .	39
3. Berekening van de hoeveelheid koper uit de stuphometerwaarden . . . . .	41
4. De meting van de kleur van de koperdiaethyl- dithiocarbamaatoplossing . . . . .	43



	Blz.
C. De dithizonmethode . . . . .	43
1. De toepassing van de dithizonmethode voor de bepaling van koper in de melk . . . . .	44
2. Het bereiden van de dithizon-oplossing . . . . .	45
3. Uitvoering van de bepaling . . . . .	46
4. Berekening van de koperhoeveelheden uit de stuphometerwaarden . . . . .	47
HOOFDSTUK VI.	
DE AFSCHIEDING VAN KOPER UIT DE MELKAS.	
A. De ammonia-methode . . . . .	49
B. Het neerslaan van koper als kopersulfide . . . . .	50
C. De electrolytische methode . . . . .	51
1. Beschrijving van de electrolyse . . . . .	51
HOOFDSTUK VII.	
HET BEPALEN VAN KLEINE HOEVEEL- HEDEN MANGAAN.	
A. Methodes . . . . .	56
B. Uitvoering van de mangaan-bepaling . . . . .	58
1. Toevoeging van een bekende hoeveelheid mangaan . . . . .	59
HOOFDSTUK VIII.	
DE SCHEIDING VAN ZINK VAN DE ANDERE METALEN.	
A. Methodes van anderen . . . . .	61
B. De gevolgde methode voor het afscheiden van het zink . . . . .	63
1. Toevoeging van een bekende hoeveelheid zink	64
HOOFDSTUK IX.	
HET BEPALEN VAN HET AFGESCHIEDEN ZINK.	
A. Methodes . . . . .	65

	Blz.
1. Nephelometrische methode . . . . .	65
2. Colorimetrische methodes . . . . .	66
3. Polarografische methode . . . . .	67
4. Volumetrische methodes . . . . .	67
B. Beschrijving van de gevolgde methode. . . . .	68
C. De methode van Lang . . . . .	70
1. Uitvoering van de bepaling . . . . .	71

HOOFDSTUK X.

RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK BETREFFENDE HET KOPER-, MANGAAN- EN ZINKGEHALTE VAN MELK.

A. De monsters . . . . .	73
B. De koemelk uit Hoorn . . . . .	73
1. Het koper-, mangaan- en zinkgehalte van eerste en laatste melk . . . . .	75
2. Het kopergehalte . . . . .	82
3. Het mangaangehalte . . . . .	83
4. Het zinkgehalte . . . . .	84
C. Het koper-, mangaan- en zinkgehalte van koemelk na de partus . . . . .	85
D. Marktmelk . . . . .	87
E. Moedermelk . . . . .	89
F. Geitenmelk . . . . .	89
G. Toevoeging van koper-, mangaan- en zinkzouten aan het diët . . . . .	90

HOOFDSTUK XI.

BESPREKING VAN DE RESULTATEN.

A. Het kopergehalte . . . . .	98
B. Het mangaangehalte . . . . .	101
C. Het zinkgehalte . . . . .	104
Samenvatting . . . . .	106
Literatuurlijst . . . . .	109



## INLEIDING.

Gedurende de laatste 25 jaar is gebleken, dat kleine hoeveelheden van verschillende metalen steeds zowel in plantaardig als in dierlijk materiaal voorkomen. Hierdoor was men al dadelijk geneigd aan deze metalen physiologische betekenis toe te kennen.

Inderdaad is ook van verschillende metalen gebleken, dat zij de rol vervullen van „anorganische vitaminen”, met andere woorden, dat een deficiëntie-ziekte het gevolg is, wanneer op de een of andere wijze de toevoer van deze metalen aan het organisme niet voldoende is.

Van ijzer is reeds lang bekend, dat een tekort aan dit metaal in het dierlijk organisme anaemie tengevolge heeft.

Hart, Steenbock, Elvehjem en Waddell <sup>1)</sup> toonden echter met behulp van rattenproeven aan, dat zonder de aanwezigheid van een voldoende hoeveelheid koper het lichaam niet in staat is het ijzer te gebruiken voor de vorming van haemoglobine, zodat zowel gebrek aan ijzer als aan koper de oorzaak kan zijn van alimentaire anaemie.

Na een klinisch onderzoek kwam Weyers <sup>2)</sup> tot de conclusie, dat voor het genezen van anaemie naast extra ijzer- ook extra kopertoevoer van belang is.

Hierna is nog door verschillende onderzoekers meegedeeld, dat de kopertherapie bij alimentaire anaemie van de mens gunstige gevolgen had <sup>3) 4)</sup>.

Een ander metaal, waarvan bewezen is, dat het physiologische betekenis heeft is mangaan.



Sinds Bertrand <sup>5)</sup> in 1897 de theorie opstelde, dat mangaan een katalytische werking heeft bij oxydatieprocessen heeft dit metaal de speciale aandacht gehad.

Ofschoon later gebleken is, dat de theorie van Bertrand niet geheel juist was, is wel bewezen, dat mangaan voor normale plantengroei onmisbaar is.

Andere biologische processen, waarbij volgens verschillende onderzoekers mangaan invloed heeft, zijn: groei, voortplanting en bloedvorming.

Zo toonden Skinner, Peterson en Steenbock <sup>6)</sup> aan, dat ratten, die uitsluitend melk kregen minder goed groeiden, dan wanneer ze bovendien een kleine hoeveelheid mangaan kregen. De gunstige invloed van mangaan op de groei van ratten werd door Levine en Sohm <sup>7)</sup> bevestigd, terwijl Kemmerer, Elvehjem en Hart <sup>8)</sup> dit bij jonge muizen vaststelden.

Dat mangaan invloed heeft op de voortplanting bij ratten werd door Orent en Mc Collum <sup>9)</sup> en door Kemmerer <sup>8)</sup> bewezen.

De gunstige werking van mangaan op de bloedvorming werd reeds in het midden van de vorige eeuw door verschillende klinici waargenomen. Bertrand <sup>10)</sup> geeft hiervan een uitgebreid overzicht.

Ook van de laatste tijd zijn er gegevens, waaruit blijkt, dat mangaan een gunstige werking heeft bij de behandeling van anaemie zowel bij mensen als bij dieren <sup>11) 12) 13) 14)</sup>.

Hierbij moet echter opgemerkt worden, dat dit van verschillende zijden tegengesproken werd <sup>15) 16)</sup>.

Staat dus de gunstige werking van mangaan op de bloedvorming nog niet vast, zeker is wel, dat mangaan een belangrijke stof is voor het levend organisme.

Ook aan zink worden verschillende biologische functies toegeschreven. Reeds in 1869 heeft Raulin <sup>17)</sup> er op ge-

wezen, dat zink voor de groei van *Aspergillus niger* onontbeerlijk is.

Delézenne <sup>18)</sup> heeft aangetoond, dat er een bepaalde betrekking bestaat tussen zink en de werking van de fermenten, die phosphatiden en nucleoproteïden splitsen. Hij gebruikte gif van adders en cobra's en zag, dat het des te sterker hydrolytisch werkte, naarmate het meer zink bevatte. Het bleek tevens, dat het zinkgehalte van organen evenredig is met het gehalte aan phosphatiden.

Hubbell en Mendel <sup>19)</sup> gaven ratten een diët, dat weinig zink bevatte en toonden aan, dat toevoeging van kleine hoeveelheden zink aan dit diët de groei van de dieren bevorderde.

Door Todd, Elvehjem en Hart <sup>20)</sup> werd gevonden, dat een zinkarm diët belemmerend werkte op de normale haarontwikkeling van ratten. Deze stoornis verdween, wanneer zink aan het diët werd toegevoegd.

Uit dit korte overzicht blijkt wel, dat kleine hoeveelheden metalen één of meerdere functies in het organisme hebben. Hoewel we over de aard van deze functies in de meeste gevallen nog geen zekerheid hebben, is het duidelijk, dat het van belang is bij onze voeding te letten op de toevoer van een voldoende hoeveelheid van de metalen, die het lichaam nodig heeft.

Daar koemelk een grote rol speelt bij de voeding van kinderen en vaak het enige voedsel van kunstmatig gevoede zuigelingen is, is het van belang het metaalgehalte van dit voedingsmiddel te bestuderen.

Het ijzergehalte van melk is reeds zeer dikwijls onderzocht, daarom heb ik dit buiten beschouwing gelaten en me speciaal beziggehouden met het koper-, mangaan- en zinkgehalte.

---

## HOOFDSTUK I.

### LITERATUUROVERZICHT VAN HET KOPERGEHALTE VAN MELK.

Met het kopergehalte van melk hebben verschillende onderzoekers zich gedurende de laatste 15 jaar beziggehouden.

Hun resultaten lopen echter zeer uiteen. Dit is in hoofdzaak toe te schrijven aan twee oorzaken.

In de eerste plaats waren de onderzoekers er zich niet van bewust, dat de melk vóór de analyse zeer gemakkelijk verontreinigd kan worden met koper.

Zij menen ten onrechte, dat het kopergehalte van hun monsters, waarvan zij de „voorgeschiedenis” niet weten, een maat is voor het gehalte van de melk, zoals deze geproduceerd wordt; zij bepalen echter een hoeveelheid koper, die hierin als gevolg van toevallige omstandigheden aanwezig is. Het ligt dus voor de hand, dat de verschillende waarden voor het kopergehalte hierdoor sterk uiteenlopen.

In de tweede plaats is dit een gevolg van het feit, dat tijdens de bepaling niet de nodige aandacht werd geschonken aan mogelijke Cu-verontreiniging, waardoor een veel te hoog kopergehalte werd gevonden.

De eerste waarden betreffende het kopergehalte van koemelk zijn van Fluerent en Levi <sup>21)</sup> en van Bertrand <sup>22)</sup>.

Fluerent c.s. vonden in 1 L. 1,4 mg, terwijl Bertrand hiervoor 0,5 mg opgeeft.



De laatste scheidde het koper electrolytisch af en bepaalde dit colorimetrisch met behulp van  $K_4[Fe(CN)_6]$ .

De eersten, die een meer uitgebreid onderzoek instelden naar het kopergehalte van melk waren Supplee en Bellis <sup>23)</sup>.

Voor de bepaling van het koper gebruikten zij de xanthaatmethode \*); het koper werd van de bij deze methode storende metalen gescheiden met behulp van  $NH_4OH$ . Hierbij blijft het koper volgens hen quantitatief in oplossing, terwijl de andere metalen neergeslagen worden.

Zij trachtten dit te bewijzen door aan melk, waarvan zij het kopergehalte bepaald hadden, koper toe te voegen en dan opnieuw het kopergehalte te bepalen. Zij voegden echter, uitgezonderd één bepaling, hoeveelheden toe, die binnen hun proeffout lagen. Het is duidelijk, dat uit de resultaten, die in dit geval verkregen werden, geen conclusies zijn te trekken omtrent de juistheid van hun methode.

In het enige geval, waarbij zij een grotere hoeveelheid koper toevoegden, vonden zij deze binnen de proeffout terug.

In 23 monsters rauwe melk, die in glas werden opgevangen en die volgens de schrijvers op generlei wijze met koper verontreinigd konden zijn, vonden zij 0,20—0,80 mg/L. Het gemiddelde gehalte van deze monsters bedroeg 0,52 mg/L.

Melk, die in koperen vaten bewaard of verhit was, had een veel hoger kopergehalte, zij vonden hierin zelfs hoeveelheden tot 8 mg/L.

In samenwerking met Hess <sup>24)</sup> onderzochten zij later nog 1 monster rauwe koemelk, waarvan het kopergehalte 0,55 mg/L was.

In 3 monsters gepasteuriseerde melk vonden zij gemiddeld

---

\*) In hoofdstuk V worden de methodes, om het koper te bepalen nader besproken.



0,63 mg/L, terwijl zij in 2 monsters moedermelk 0,4 en 0,61 mg/L vonden.

Rice en Miscall <sup>25)</sup> vonden eveneens in melk, die volgens hen niet met Cu verontreinigd kon zijn 0,5 mg/L. Tevens toonden zij aan, dat in melk, die in aanraking geweest is met koper, zoals dit in fabrieken het geval is, het kopergehalte sterk verhoogd wordt. Zij scheidden het koper electrolytisch af en bepaalden het volgens de xanthaatmethode; wanneer veel koper aanwezig was, bepaalden zij dit gravimetrisch.

Mc Hargue <sup>26)</sup> week bij zijn bepaling van het kopergehalte van de melk in zoverre van de methode van Supplee en Bellis af, dat hij het koper inplaats van met  $\text{NH}_4\text{OH}$  met  $\text{H}_2\text{S}$  van de storende metalen scheidde.

In 1 monster mengmelk, dat ook niet met Cu in aanraking was geweest, vond hij 0,38 mg/L.

King en Etzel <sup>27)</sup> hebben van 5 monsters melk van verschillende fabrieken het kopergehalte bepaald. Zij werkten geheel volgens de methode van Supplee en Bellis. Het gemiddelde kopergehalte van hun monsters was 0,43 mg/L.

Het kopergehalte van gepasteuriseerde melk hangt volgens hen geheel af van de pasteurisatiemethode, het is echter altijd hoger dan dat van rauwe melk. Zij vonden hierin een gemiddeld Cu-gehalte van 0,62 mg/L.

Quam en Hellwig <sup>28)</sup> volgden eveneens de werkwijze van Supplee en Bellis. Zij onderzochten 14 verschillende monsters rauwe melk, die direct in glas opgevangen werden en afkomstig waren uit 4 verschillende staten van de U. S. A.

Het Cu-gehalte varieerde van 0,26 tot 0,52 mg/L. Zij concludeerden hieruit, dat de voeding van het vee, die in de verschillende staten verschillend is, geen of weinig invloed heeft op het Cu-gehalte van de melk.

In gepasteuriseerde melk vonden zij een kopergehalte van 0,6 tot 1,6 mg/L.

Volgens hen is het kopergehalte van geitenmelk lager dan dat van koemelk, zij vonden hiervoor gemiddeld 0,21 mg/L.

Aan de cijfers en conclusies van de tot hiertoe genoemde onderzoekers kan helaas zeer weinig waarde gehecht worden, daar uit de latere publicaties wel is gebleken, dat zij een veel te hoog Cu-gehalte hebben gevonden. Niet alleen vonden zij zeer hoge waarden voor zgn. marktmelk, dat is dus melk, die altijd meer of minder met koper in aanraking is geweest, maar ook voor melk, die in glas is opgevangen en die dus een maat moet zijn voor het kopergehalte der melk, zoals deze geproduceerd wordt.

Waarschijnlijk is tijdens hun bepalingen op een of andere wijze koperverontreiniging opgetreden, hoe dit echter gebeurd is, is moeilijk te zeggen.

Elvehjem en Lindow<sup>29)</sup> schrijven de verontreiniging toe aan het gebruik van porceleinen schalen bij de verassing. Vooral nieuwe porceleinen schalen zijn volgens hen een bron van koperverontreiniging.

Bovendien zijn deze hoge waarden in tegenspraak met de resultaten van de rattenproeven van Elvehjem en Lindow. Deze vonden nl., dat bij ratten, die dagelijks ongeveer 35 cc melk kregen anaemie optrad. Voegden zij aan het dagelijks rantsoen 5 $\gamma$  Cu toe, dan verdween de anaemie.

Wanneer in melk nu 50 $\gamma$  Cu per 100 cc aanwezig zou zijn, zoals Supplee en anderen aangeven, zou een rat op dit melkdieet ongeveer 17 $\gamma$  Cu per dag krijgen. Volgens Elvehjem c.s. is het dan zeer onwaarschijnlijk, dat toevoeging van 5 $\gamma$  Cu, dit is minder dan  $\frac{1}{3}$  van de hoeveelheid, die een rat per dag reeds ontvangt, een dergelijke uitgesproken invloed heeft.

Elvehjem en Lindow onderzochten zelf ook 3 monsters rauwe melk, waarschijnlijk z.g. marktmelk, daar geen bijzonderheden vermeld zijn over de winningsmethode en verdere behandeling van de melk.

Bij de verassing van de melk maakten zij gebruik van kwartsschalen. Het Cu werd uit de melkas-oplossing afgescheiden met  $H_2S$  en voor de bepaling van het metaal volgden zij de Biazzomethode. Door kopertoevoeging aan de melk controleerden zij hun methode en vonden de toegevoegde hoeveelheid op bevredigende wijze terug.

Het resultaat van hun onderzoek is, dat zij in deze 3 monsters 0,132, 0,163 en 0,126 mg Cu/L vonden.

In een tweede publicatie <sup>30)</sup> geven Elvehjem c.s. de resultaten van een onderzoek van melkmonsters uit 13 verschillende staten van de U. S. A. Deze melk werd direct opgevangen in glas. Het Cu-gehalte van deze monsters varieerde van 0,123—0,174 mg/L.

Hieruit concludeerden zij, dat het Cu-gehalte van koemelk praktisch constant is, zelfs wanneer de melk geproduceerd wordt onder zeer verschillende omstandigheden.

Verder gingen zij na of toevoeging van koper aan het diët van de koe invloed heeft op het kopergehalte van de melk.

Nadat zij het kopergehalte bepaald hadden van de melk van koeien, die een normaal diët kregen, voegden zij aan het rantsoen zoveel koperzout toe, dat de opgenomen koperhoeveelheid  $5 \times$  zo groot werd.

Oorspronkelijk was het kopergehalte 0,15 mg/L en volgens Elvehjem en Lindow onderging dit tijdens de 2e voederperiode geen verandering.

Een zelfde onderzoek werd gedaan met geitenmelk.

Ook hierbij was geen invloed waar te nemen, wanneer 25 of 50 mg. Cu per dag aan het rantsoen werden toegevoegd, het kopergehalte bleef gemiddeld 0,15 mg/L.

Hoewel Elvehjem c.s. reeds een veel lager kopergehalte in de melk vonden dan hun voorgangers, omdat zij bij hun onderzoek waarschijnlijk meer rekening gehouden



hebben met verontreiniging van koper zowel tijdens het opvangen als tijdens de bepaling, zijn hun waarden toch nog hoger dan die van latere onderzoekers. Het is hun blijkbaar niet gelukt, verontreiniging met koper uit te sluiten.

Bij hun bepaling maakten zij n.l. 3 maal gebruik van filtreerpapier, terwijl bij de oxydatie van  $\text{CuS}$  met  $\text{HNO}_3$  het filtreerpapier, waarop het  $\text{CuS}$  aanwezig is, bijna volledig verast wordt.

Volgens Walker<sup>31)</sup> en Conn<sup>32)</sup> geeft het gebruik van filtreerpapier, aanleiding tot koperverontreiniging.

Conn bepaalde het kopergehalte van verschillende soorten filtreerpapier en vond van 0,00167 mg Cu in een met zuur gewassen tot 0,012 mg Cu in een minder goed filtreerpapier. Geen enkel monster bleek kopervrij, zelfs niet na 24 uur wassen met HCl. Het is dus zeer waarschijnlijk, dat het gebruik van filtreerpapier de resultaten van Elvehjem c.s. heeft beïnvloed. Omdat zij niet meedelen, dat dit van tevoren behandeld is met zuur, kan de fout, die zij hierdoor maakten zelfs vrij groot zijn.

Door Grendel<sup>33)</sup> werd het kopergehalte van 7 monsters rauwe melk en 12 monsters gepasteuriseerde melk bepaald.

De melk wordt door hem in kwartschalen droog verast, daarna wordt het Cu afgescheiden door 20 min. te electrolyseren met een klemspanning van 2 V.

De koperhoeveelheid wordt bepaald volgens de carba-maatmethode.

De tijd, gedurende welke geëlectrolyseerd wordt, is wel zeer kort. Zoals uit hoofdstuk VI zal blijken, is het nodig langer te electrolyseren om het koper quantitatief uit de oplossing te verwijderen.

In modelmelk (d.i. waarschijnlijk de gewone modelmelk uit de handel, daar omtrent de voorgeschiedenis niets

meegedeeld wordt) vindt hij 0,09—0,14 mg/L en voor gepasteuriseerde melk 0,16—0,36 mg/L.

Het kopergehalte van geitenmelk, die direct in glas is opgevangen, varieert van 0,10—0,28 mg/L. De waarden, die zij voor moedermelk vonden, liggen tussen 0,22—0,28 mg/L.

Keil en Nelson <sup>34)</sup> vonden in 1 monster melk, dat in glas was opgevangen, 0,24 mg/L. Voor de koperbepaling gebruikten zij eveneens het carbamaatreagens. Omdat zij verder niets meedelen omtrent de wijze, waarop de bepaling gedaan werd, is dit resultaat echter van weinig waarde.

Gebhardt en Sommer <sup>35)</sup> geven de resultaten van een onderzoek betreffende 16 monsters koemelk. Over deze monsters worden geen nadere bijzonderheden vermeld, zodat we ook aan hun resultaten niet veel hebben. Volgens hen varieerde het kopergehalte van 0,32—11,75 mg/L.

Voor de afscheiding van het koper werd in de melkas  $H_2S$  geleid. Daarna schudden zij deze oplossing uit met  $CHCl_3$ , waarbij alle  $CuS$  volgens hen quantitatief in de  $CHCl_3$  overgaat. De  $CHCl_3$  werd afgedampt, het  $CuS$  in oplossing gebracht en het koper bepaald volgens de Biazzo-methode, zoals deze beschreven is door Elvehjem en Lindow.

Als bewijs, dat er geen koperverlies optrad, wanneer het koper volgens deze werkwijze afgescheiden en bepaald werd, geven zij aan, dat zij een aan de melk toegevoegde hoeveelheid koper met een nauwkeurigheid van 10% terugvonden.

Davies <sup>36)</sup> paste bij zijn onderzoek nog weer de methode van Supplee en Bellis toe. Hij onderzocht 15 monsters rauwe melk, die opgevangen waren in vertinde emmers en vond hierin 0,15 tot 0,65 mg/L. In 22 monsters handelsmelk vond hij 0,22—1,40 mg/L, terwijl in 39 monsters gepasteuriseerde melk koperhoeveelheden van 0,4 tot 4 mg/L aanwezig waren.



Zondek en Bandmann deden bepalingen in de as van koe- en moedermelk met behulp van de methode van Warburg.

Zoals op blz. 28 beschreven wordt, geeft deze methode echter geen reproduceerbare resultaten. Dit is waarschijnlijk dan ook de oorzaak, dat Zondek en Bandmann geen verschil in kopergehalte vonden tussen gewone marktmelk en melk, die zo gewonnen is, dat verontreiniging met koper met zekerheid vermeden wordt.

Zij vonden in 90 monsters koemelk, waarvan zij voor 1 bepaling slechts 0,1 of 0,2 cc melk nodig hadden, gemiddeld 0,15 tot 0,20 mg Cu/L. Hun onderzoek betreffende het kopergehalte van moedermelk strekte zich uit over 85 monsters, waarvan 45 waren genomen in de 1e maand na de partus, 25 in de 2e maand en de rest in latere maanden.

Veranderingen van het kopergehalte op verschillende tijden na de partus werden evenwel niet gevonden. Toch leek het hun, dat gedurende de eerste maanden na de partus het kopergehalte gemiddeld hoger was dan gedurende de latere maanden. Zij vonden gem. 0,5—0,6 mg Cu/L en wijzen erop, dat dit 3 maal zoveel is als het kopergehalte van koemelk.

M. c. Farlane <sup>38)</sup> paste bij zijn onderzoek, na voorafgaande scheiding van het koper uit de asoplossing door middel van H<sub>2</sub>S, de carbamaat-methode toe.

De 3 monsters melk, waarvan hij het kopergehalte bepaalde, werden rechtstreeks in glas gemolken en in een oven bij 380°—400° gedurende minstens 12 uur verast.

Om koperverontreiniging door gebruik van filtreerpapier bij de scheiding van het CuS te vermijden, maakte hij gebruik van gesinterde glasfilters.

Hij kreeg volgens deze werkwijze dan ook lagere resultaten bij dezelfde melk, dan wanneer hij werkte volgens

Elvehjem en Lindow, die van filtreerpapier gebruik maakten. In de 3 monsters vond hij 0,092, 0,068 en 0,072 mg Cu/L, wanneer hij voor de bepaling 250 cc melk veraste.

Het pleit echter niet voor zijn bepalingsmethode, dat hij lagere resultaten kreeg, wanneer hij 100 of 150 cc melk voor één bepaling gebruikte. Inplaats van 0,092 mg/L vond hij dan 0,068 mg/L en 0,068 mg/L werd dan 0,049 mg/L.

Hij geeft niet aan, wat de oorzaak van deze verschillen kan zijn, maar zegt alleen, dat het kopergehalte van de melk slechts dan nauwkeurig bepaald kan worden, wanneer niet minder dan 250 cc melk worden verast voor één bepaling.

Waarom die waarden dan echter juist zijn, blijkt uit de publicatie nergens. Ook heeft hij niet gecontroleerd of er verliezen optraden bij de bepaling, door een bepaalde hoeveelheid koper aan de melk toe te voegen en na te gaan of deze hoeveelheid teruggevonden werd.

Volgens de methode van Elvehjem en Lindow onderzocht Remy<sup>39)</sup> 2 monsters rauwe melk en vond hierin 0,13 en 0,16 mg %.

Verder bepaalde hij nog het gehalte van 1 monster geitenmelk en 2 monsters moedermelk.

De koperhoeveelheid in de geitenmelk bedroeg 0,09 mg % en die van de moedermelk 0,09 en 0,19 mg %.

Deze waarden vallen zo ver buiten alle gepubliceerde cijfers, dat men hierbij geneigd is aan een vergissing te denken.

Op geheel andere wijze bepaalde Zbinden<sup>40)</sup> het kopergehalte van enige monsters melk. Het principe van zijn methode wordt op blz. 29 gegeven.

De bedoeling van zijn onderzoek is, na te gaan of het kopergehalte van koemelk ook afhangt van de streek, waar de melk geproduceerd wordt.

Daarvoor onderzocht hij monsters melk uit verschillende

landen van Europa. Ongelukkigerwijze schijnt hij in het geheel geen bijzondere voorzorgen genomen te hebben om koperverontreiniging van de monsters te voorkomen; hij onderzocht dus waarschijnlijk gewone marktmelk. Hij vond dan ook zeer hoge waarden, die zeker geen beeld geven van het kopergehalte van de melk, zoals deze geproduceerd is, zodat zijn proeven dus niet aan hun doel hebben beantwoord.

Zijn waarden variëren van 0,50—0,85 mg/L.

Hij deed ook nog enige koperbepalingen in geitenmelk en in moedermelk, waarin hij resp. 0,45 mg/L en 0,59 mg/L vond. Ook deze gegevens zijn echter, evenals die van de koemelk van weinig waarde.

Tenslotte publiceerden Conn c.s.,<sup>32)</sup> na het afsluiten van mijn onderzoek, de resultaten van hun bepalingen betreffende het kopergehalte van melk van verschillende herkomst. Na droge verassing van de melk werd het koper uit de oplossing van de melkas afgescheiden met behulp van  $H_2S$ , waarna gebruik gemaakt werd van het carbamaatreagens om het koper te bepalen.

Het  $CuS$  werd afgecentrifugeerd, zodat zij geen filtreerpapier gebruikten en deze bron van verontreiniging vermeden werd.

Zij legden er verder de nadruk op, dat bij iedere handeling tijdens de bepaling de nodige voorzorgen genomen moeten worden om verontreiniging met koper te voorkomen. Zij vonden dan ook een lager kopergehalte in melk, die in glas is opgevangen, dan de reeds genoemde onderzoekers.

In 18 monsters rauwe melk, die in 4 verschillende staten van de U. S. A. in glas werden opgevangen, varieerde het gehalte van 0,051—0,132 mg/L.

Het is echter zeer opvallend, dat de melk, die gebruikt werd bij het testen van hun methode een lager kopergehalte

heeft, hierin vonden zij nl. waarden van 0,035—0,06 mg/L.

Ook bij het vergelijken van de koperhoeveelheden in de melk uit de verschillende staten blijkt, dat het gehalte van de melk uit hun eigen omgeving het laagst was.

Daar koperverontreiniging zeer gemakkelijk kan optreden, lijkt het mij niet onwaarschijnlijk, dat in de andere staten niet de nodige voorzorgen zijn genomen om verontreiniging bij de monsterneming en verzending te voorkomen.

In gepasteuriseerde melk uit de handel, waarvan door hen nog 7 monsters werden onderzocht, vonden zij een hoeveelheid koper van 0,088 tot 0,741 mg/L.



## HOOFDSTUK II.

### LITERATUUROVERZICHT VAN HET MANGAAN- GEHALTE VAN MELK.

Aan het mangaangehalte van melk is slechts weinig aandacht besteed. Volgens Bertrand <sup>42)</sup> is echter door verschillende schrijvers aan het einde van de 19e eeuw wel reeds het vermoeden uitgesproken, dat in melk mangaan aanwezig zou zijn.

In 1910 wezen Dumetrescou en Nicolau <sup>41)</sup> erop, dat mangaan in koemelk voorkomt.

Bertrand en Medigreceanu <sup>42)</sup> stelden daarna vast, dat in koemelk altijd mangaan aanwezig is en zij geven op, dat in 200 cc minder dan 0,005 mg voorkomt.

Mc. Hargue <sup>43)</sup> bepaalde het Mn-gehalte van 1 enkel monster koemelk en vond 0,03 mg per L, terwijl het Mn-gehalte van het enige monster colostrum, dat hij onderzocht 0,2 mg per L was.

Voor één bepaling had hij 1 L melk nodig, welke droog verast werd. Bijzonderheden omtrent zijn werkwijze deelt hij verder niet mee.

Richards <sup>44)</sup> stelde een critisch onderzoek in naar de toepassing van de  $KJO_4$ -methode voor de bepaling van Mn in biologisch materiaal. Bij deze methode wordt het aanwezige Mn met  $KJO_4$  tot permanganaat geoxydeerd en de kleur colorimetrisch gemeten.

Bij de bespreking van de methodes ter bepaling van man-



gaan in hoofdstuk VII worden bijzonderheden over zijn werkwijze gegeven.

Naast een groot aantal Mn-bepalingen in verschillende soorten biologisch materiaal deed hij ook enkele bepalingen in melk en vond in koemelk 0,039—0,043 mg per L.

Wat betreft het Mn-gehalte van colostrum van 3 verschillende koeien, vond hij in de 1e melk na de partus gem. 0,07 mg per L en in de 2e en 3e melk gem. 0,05 mg per L. Hij merkte hierbij op, dat van een dergelijk groot verschil tussen colostrum en koemelk als Mc. Hargue aangeeft geen sprake is.

Ook Skinner en Peterson <sup>45)</sup> deden Mn-bepalingen in melk met behulp van de perjodaatmethode. Aan hun werkwijze, die eveneens door Kemmerer en Todd <sup>46)</sup> gebruikt werd, zijn echter bezwaren verbonden.

Na de oxydatie met  $\text{KJO}_4$ , wordt de vloeistof in een Nesslerbuis gebracht en met water aangevuld tot een bepaald volume. Om de oplossing goed te mengen en eveneens voor het bepalen van de kleurintensiteit wordt de vloeistof opnieuw enige malen overgeschonken. Hierdoor is het niet onmogelijk, dat na de oxydatie de oplossing, waarvan de permanganaatkleur nog bepaald moet worden in aanraking komt met oxydabele stoffen. Vooral ook, omdat de schrijvers het water, dat gebruikt werd voor het aanvullen van de oplossing tot een bepaald volume niet vooraf met  $\text{KJO}_4$  gekookt hebben, terwijl ook niet meegedeeld wordt, dat de gebruikte Nesslerbuizen van te voren uitgestoomd zijn of met  $\text{KJO}_4$ -oplossing zijn behandeld. Het is duidelijk, dat bij zeer kleine hoeveelheden Mn, de aanwezigheid van sporen oxydabele stoffen reeds aanleiding kan geven tot het optreden van fouten, daar hierdoor de kleurintensiteit vermindert.

Skinner en Peterson delen mee, dat zij hoeveelheden Mn tot  $10\gamma$  kunnen bepalen. Voor de bepaling in melk,

waarin zeer weinig Mn aanwezig is, hebben zij dus een grote hoeveelheid melk nodig.

In 412 gram melk vinden zij op deze wijze 13,5  $\gamma$  Mn.

Later publiceerden zij <sup>47)</sup> een onderzoek, waarbij zij volgens dezelfde methode nog 6 monsters melk analyseerden. Het Mn-gehalte hiervan varieerde van 0,017—0,048 mg/L en was gemiddeld 0,028 mg/L.

Van deze monsters waren er 3 afkomstig van koeien, die een verschillend diët kregen, de andere 3 kwamen uit verschillende Staten van de U. S. A.

Het Mn-gehalte van colostrum, waarvan zij ook 1 monster onderzochten, was 0,044 mg/L, hetgeen dus niet buiten bovengenoemde cijfers valt.

Zoals reeds opgemerkt is, volgden Kemmerer en Todd <sup>48)</sup> eveneens de werkwijze van Skinner en Peterson voor hun Mn-bepalingen in melk.

Zij waren de eersten, die een onderzoek instelden naar de invloed, die toevoeging van Mn-zouten aan het diët van de koe op het Mn-gehalte van de melk heeft.

Het gemiddelde gehalte van de melk van 3 koeien, die een normaal diët kregen, was 0,03 mg/L. Nadat de koeien 12,5 gr.  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  aan het dagelijks rantsoen toegevoegd kregen, waardoor de opgenomen Mn-hoeveelheid 5 maal zo groot werd dan in normale omstandigheden, bleef het Mn-gehalte van de melk na 4 weken 0,03 mg/L.

Ook aan het diët van 2 geiten voegden zij dagelijks een hoeveelheid Mn-zout toe. Het oorspronkelijke Mn-gehalte van de geitenmelk was 0,082 mg/L en dit werd na 5 weken Mn-zoutvoeding 0,108 mg/L. Hierbij is dus een geringe stijging van het Mn-gehalte waar te nemen. Deze stijging is echter volgens hen te klein om er conclusies uit te trekken.

In tegenstelling met de vorige onderzoekers gebruikten de Japanners Sato en Murata <sup>48)</sup>  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  voor de oxydatie

van Mn tot permanganaat, waarbij  $\text{AgNO}_3$  als katalysator werd gebruikt.

Bijzonderheden omtrent hun bepalingmethode delen zij niet mede, wel merken zij op, dat de chloriden en fosphaten verwijderd moeten worden, daar deze bij de bepaling storend werken. Door verhitten met  $\text{HNO}_3$  werden de chloriden verwijderd, terwijl het neerslag van de fosphaten werd afgefiltreerd. Zij geven bovendien aan, dat mangaanhoeveelheden, die vóór de verassing aan de melk werden toegevoegd, quantitatief werden teruggevonden.

In 6 monsters mengmelk vinden zij een gemiddelde van 0,03 mg/L en in colostrum de 1e dag na de partus 0,07 mg/L, de 2e dag 0,06 mg, de 3e dag 0,05 mg en de 4e dag 0,06 mg/L.

### HOOFDSTUK III.

#### LITERATUUROVERZICHT VAN HET ZINKGEHALTE VAN MELK.

Slechts enkele onderzoekers hebben zich met het zinkgehalte van melk beziggehouden.

In 1914 deed Weitzel <sup>49)</sup> naast andere zinkbepalingen in biologisch materiaal ook een bepaling in koemelk.

Hij veraste hiervoor 1 L melk en vond 3,6 mg Zn per L.

Na deze voorlopige mededeling volgde in 1919 de publicatie <sup>50)</sup>, waarin hij de gebruikte methode aangaf. Hieruit bleek, dat het zink na afscheiding met  $H_2S$  uit de azijnzure oplossing van de melkas en roosten van het  $ZnS$ , als  $ZnO$  gewogen werd.

Volgens deze methode deed hij ook nog bepalingen in geitenmelk en moedermelk en vond hierin resp. 2,3 en 1,3 mg/L.

Een uitvoeriger onderzoek naar het zinkgehalte van melk deed Birckner <sup>51)</sup>.

Voor de afscheiding van het zink als  $ZnS$  uit de melkasoplossing werd de  $p_H$  door hem reeds nauwkeuriger ingesteld, terwijl hij ook voor het bepalen van het zink een methode gebruikte, die gevoeliger is, zodat het niet nodig was een dergelijk grote hoeveelheid melk te verassen.

Na de verassing wordt de melkas opgelost in  $HCl$ , bij deze oplossing worden enige druppels methyl-oranje gebracht en vast  $Na_2CO_3$  toegevoegd tot de indicator van rood naar geel omslaat.



Nu wordt 50 % mierenzuur bijgedruppeld tot de oplossing juist weer rood is en daarna nog 2 druppels mierenzuur. De oplossing is dan gereed voor het neerslaan van het zink als ZnS.

Voor de bepaling van het zink maakte Birkner gebruik van de nephelometrische methode, waarbij de troebeling gemeten wordt, die een zinkoplossing met  $K_4[Fe(CN)_6]$  geeft.

Hierbij is het hem mogelijk de bepaling met een nauwkeurigheid van 50 $\gamma$  uit te voeren, terwijl ook de voor de verassing toegevoegde hoeveelheden zink met dezelfde nauwkeurigheid worden teruggevonden.

Hij onderzocht 12 monsters marktmelk, waarvan de waarden varieerden van 3,6—5,6 mg/L, de gemiddelde waarde was 4,2 mg/L.

Het zinkgehalte van melk van bepaalde koeien verschilde onderling nog al veel en varieerde van 2,0—5,4 mg/L. Direct na de partus vond hij de hoogste waarde.

Volgens hem is het zinkgehalte van moedermelk aanzienlijk hoger dan dat van koemelk. In 3 monsters vond hij 5,66, 11,50, en 13,78 mg/L.

In aansluiting met een publicatie van een nieuwe methode voor het bepalen van zink in biologisch materiaal deden Todd en Elvehjem <sup>52)</sup> ook enige zinkbepalingen van melk, waarbij zij het zink als zinkammoniumfosfaat precipiteerden en het daarin aanwezige fosfaat colorimetrisch bepaalden.

Zij vonden in 7 monsters hoeveelheden, die liggen tussen 2,68 en 2,76 mg/L.

Sato en Murata <sup>53)</sup> stelden een uitgebreider onderzoek in naar het zinkgehalte van melk.

Volgens hen is het niet mogelijk het zink met H<sub>2</sub>S van Fe en Mn te scheiden.

Daarom gingen zij als volgt te werk: De zure oplossing



van de melkas werd tot het kookpunt verhit, ammoniakaal gemaakt, daarna werd  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  toegevoegd om Fe en Mn te praecipiteren.

Na afkoeling werd gefiltreerd en het filtraat voor de afscheiding van zink op gelijke wijze behandeld als Birkner aangeeft (zie blz. 19).

Deze werkwijze heeft echter het bezwaar, dat er zich in ammoniakaal milieu een volumineus neerslag vormt van de fosphaten, die in de oplossing aanwezig zijn, waardoor verliezen van zink ten gevolge van adsorptie niet uitgesloten zijn.

Bovendien bleek mij, dat het zink niet quantitief in oplossing blijft, wanneer een verdunde zinkoplossing behandeld wordt met  $\text{NH}_4\text{OH}$  en  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ , zoals Sato en Murata dit aangeven.

Het zink werd door hen bepaald met  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  volgens de nephelometrische methode.

In normale koemelk vonden zij een gemiddeld zinkgehalte van 3,34 mg/L. In 8 gevallen gingen zij het verloop van het zinkgehalte van koemelk na gedurende de eerste tijd na de partus. Ofschoon het zinkgehalte onmiddellijk na de partus vrij hoog was (4,78—18,66 mg/L) trad een zeer snelle daling op en bereikte het na ongeveer 10 dagen weer de normale waarde.

Het zinkgehalte van moedermelk verschilde zeer weinig van dat van koemelk. Ook hierin was de hoeveelheid zink onmiddellijk na de partus groter.

Zij vonden als gemiddelde van 16 bepalingen binnen 15 dagen na de partus 5,37 mg/L, terwijl het gemiddelde gehalte van 11 monsters, die langere tijd na de partus genomen zijn, 2,89 mg/L was.

---

## HOOFDSTUK IV.

### DESTRUCTIE VAN DE MELK.

Om het metaalgehalte van de melk te bepalen is het nodig de organische stof vooraf te verwijderen.

Hiervoor worden twee methodes gebruikt:

- 1°. De droge verassing.
- 2°. De z.g.n. natte methode.

#### A. De droge verrassing.

Hierbij wordt het monster eerst ingedampt en gedroogd en daarna in een electrisch fornuis verhit tot alle organische stof verdwenen is. Door het verhitten op hoge temperatuur is zowel bij koper-, mangaan- als zinkzouten de mogelijkheid tot het optreden van verliezen niet uitgesloten.

Uit de publicaties van Gebhart en Sommer <sup>35)</sup> blijkt, dat na 3 uur verhitten op  $700^{\circ}$ — $840^{\circ}$  slechts 31 % van het toegevoegde koper weergevonden wordt. Na 8 uur op  $510^{\circ}$  verhitting vonden zij 79 % terug.

Bovendien heeft men bij de droge verassing in open schalen grote kans op fouten, zowel door verlies als door verontreiniging van het te bepalen metaal.

Ik besloot daarom „de natte methode” te gebruiken.

#### B. De „natte” methode.

Bij deze vorm van destructie wordt meestal gebruik gemaakt van chloor of van een mengsel van  $\text{HNO}_3$  en  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Door chloor vindt slechts een gedeeltelijke destructie van de organische stof plaats, zodat dit voor mijn onderzoek niet in aanmerking kwam.

Ik gebruikte daarom salpeterzuur en zwavelzuur voor de destructie van de melk, die in de hierna beschreven kolf werd uitgevoerd.

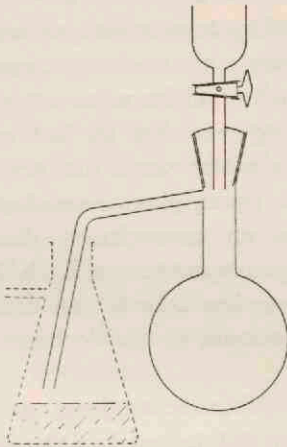


Fig. I.

### 1. De destructiekolf.

De in Fig. I geschetste kolf bestaat geheel uit kwarts en heeft een inhoud van 500 cc. Deze is voorzien van een trechter met kraan, die met een ingeslepen stop op de hals past. De zijbuis is zo hoog mogelijk aangebracht, om de kans, dat tijdens de destructie door spatten verliezen optreden, zo gering mogelijk te maken.

Om de zwavelzuur- en salpeterzuur-dampen, die bij de destructie uit de kolf komen, onschadelijk te maken, heb ik de zijbuis laten uitmonden boven een waterlaag, die zich in een afzuig-erlenmeyer bevond. De zijbuis van de erlenmeyer

werd door middel van een glasbuis verbonden met een waterstraalluchtpomp om de dampen, die niet snel genoeg condenseerden af te voeren. Hierdoor was het mogelijk te destrueren zonder dat er op andere wijze nitreuze dampen ontweken.

## 2. Uitvoering van de destructie.

Om niet in herhaling te vervallen zij vooraf opgemerkt, dat al het gebruikte glaswerk met chroomzuuroplossing gereinigd en daarna op de gebruikelijke wijze uitgestoomd werd.

Voor de bereiding van het bij het onderzoek gebruikte dubbelgedestilleerde water werd het gewone aqua destillata in een apparaat van pyrex glas overgedestilleerd.

Het salpeterzuur en zwavelzuur, die gebruikt werden, waren pro analyse praeparaten van *Kahlbaum* en *Merck*. Voor het gebruik werden deze in een destillatieapparaat, dat geheel uit kwarts bestond, gedestilleerd en in een kwarts kolf opgevangen.

Verder werden tijdens de analyses de nodige voorzorgen genomen om verontreinigingen door het invallen van stof te voorkomen.

In de destructiekolf werden meestal 100 cc melk gebracht en hieraan werden 10 cc uit kwarts gedestilleerd  $H_2SO_4$  toegevoegd. Dit mengsel wordt verhit tot het volume ongeveer 20—25 cc is geworden. Door het indampen met zwavelzuur verkoolt reeds een gedeelte van de organische stoffen, die in de melk aanwezig zijn. Men moet echter slechts zo ver indampen, dat de koolstofdeeltjes zeer fijn verdeeld in het zwavelzuur blijven. Indien zich grotere stukken vormen duurt de destructie veel langer.

Nu laat men uit de trechter rokend salpeterzuur, dat uit kwarts gedestilleerd is, voorzichtig toedruppelen. Bij het begin van de oxydatie met salpeterzuur neemt men de vlam even



weg, daar de reactie dan zo heftig is, dat er gevaar bestaat, dat verliezen optreden tengevolge van het schuimen en overspatten van de vloeistof. Daarna kan men tegelijkertijd salpeterzuur toe laten druppelen en verhitten.

Na ongeveer 25 minuten is alle organische stof verdwenen. Er is dan nog maar weinig zwavelzuur en salpeterzuur in de kolf achtergebleven. Dit is in een dergelijk grote kolf zeer moeilijk te verwijderen, omdat de zwavelzuurdampen, voordat de zijbuis bereikt is, reeds te veel gelegenheid gehad hebben om weer te condenseren.

Na de kolf afgekoeld te hebben, wordt er ongeveer 5 cc dubbel gedestilleerd water ingebracht. Door de ontleding van nitrosyl-zwavelzuur, dat aanwezig is, ontstaan er nitreuze dampen. Het water wordt weer grotendeels afgedampt, waarbij practisch ook alle aanwezige salpeterzuur verdwijnt. Dit afdampen geschiedt door de kolf in de hand boven een vlam in beweging te houden, daar er nu zeer gemakkelijk kookvertraging kan optreden.

In de kolf zijn nu onopgeloste zouten aanwezig. Bij de electrolyse, die ik, zoals nog beschreven zal worden, toegepast heb om het koper af te scheiden, geven deze zouten aanleiding tot spatten. Ook voor de mangaanbepaling is het, zoals blijken zal wenselijk, deze zouten te verwijderen.

Om dit te bereiken werd de inhoud van de kolf met kokend 30 %  $H_2SO_4$  quantitatief overgebracht in een kwarts reageerbuis. Het volume was dan ongeveer 10 cc geworden.

Gedurende de nacht liet ik de zouten gelegenheid om uit te kristalliseren. De bovenstaande vloeistof werd daarna afgeschonken en in een 50 cc kwarts destilleerkolf overgebracht. De reageerbuis werd nagespoeld met 30 %  $H_2SO_4$ , de zouten afgecentrifugeerd en de bovenstaande vloeistof eveneens in de 50 cc kwartsdestilleerkolf gebracht.

Om het  $H_2SO_4$  te verwijderen, werd dit afgedampt door



het destilleerkolfje boven een Bunsenbrander te verwarmen.

Tijdens het koken werd de kolf ter voorkoming van kookvertraging voortdurend omgeschud en werden stukjes kwartsglas als kooksteentjes gebruikt. Deze stukjes kwartsglas waren van te voren met warm  $\text{HCl}$  en  $\text{HNO}_3$  behandeld en zorgvuldig nagewassen.

De as was nu gereed voor de bepaling van het koper.

## HOOFDSTUK V.

### DE METHODES TER BEPALING VAN KLEINE HOEVEELHEDEN KOPER.

Voor de bepaling van koper in organisch materiaal zijn zeer veel methodes voorgesteld. De meeste zijn echter niet gevoelig genoeg voor mijn doel, omdat ik als uitgangsmateriaal niet meer dan 100 cc melk wilde gebruiken met het oog op de hoeveelheden reagentia, die voor de verassing van elk melkmonster nodig zijn.

Zoals uit voorlopige proeven bleek, moest 1  $\gamma$  Cu dan nog met voldoende nauwkeurigheid bepaald kunnen worden.

Om uit te maken welke methode het meest geschikt was, heb ik een onderzoek ingesteld naar de in de literatuur voorgestelde bepalingsmethodes voor koperhoeveelheden van een dergelijke orde van grootte.

#### A. Voor- en nadelen van de verschillende methodes.

##### 1. Niet colorimetrische methodes.

###### a. Katalytische methodes.

Methodes, waarbij gebruik gemaakt wordt van het katalytisch effect van sporen koper zijn voorgesteld door Quartaroli <sup>54)</sup> en door Warburg <sup>55)</sup>.

De eerste maakt gebruik van het katalytisch effect van koper op de ontleding van  $H_2O_2$ . De methode zou gevoelig zijn tot 0,1  $\gamma$  Cu per cc.

Warburg meet het katalytisch effect van koper op de oxydatie van cysteïne tot cystine door de hoeveelheid zuurstof te bepalen, die in een bepaalde tijd wordt opgenomen. Deze methode is gevoelig tot 0,001  $\gamma$  Cu.

De blanco bepalingen geven echter bij beide methodes zeer variabele uitkomsten.

Andresen en Nielsen <sup>56)</sup> schreven deze variaties bij de methode van Warburg toe aan de vorming van  $H_2O_2$  gedurende de oxydatie. Met bekende hoeveelheden koper vonden zij met deze methode fouten van 25—78 %.

Volgens hen bestond er geen evenredigheid tussen de zuurstofabsorptie en de concentratie van het koper.

#### b. Volumetrische methodes.

Cherbuliez en Ansbacher <sup>57)</sup> stelden in 1930 een nieuwe methode voor, waardoor het mogelijk is, kleine hoeveelheden koper volumetrisch te bepalen.

Deze berust op het volgende:

In ammoniakale oplossing vormen cupri-ionen met 1-8-dioxy-2-nitroso-3-6-naphthaline-disulfonzuur een verbinding, die bestaat uit 1 cupri-ion en 2 moleculen van het zout van bovengenoemd zuur. Deze koperverbinding heeft een intensieve permanganaatkleur.

Het reagens zelf is in ammoniakale oplossing bruingeel gekleurd.

Titreert men nu met dit reagens, dan krijgt men eerst een zuivere permanganaatkleur, die een bruine verkleuring vertoont, wanneer alle koper verbruikt is.

Zoals wel te verwachten is, is deze omslag zeer moeilijk te zien. Men moet dan ook bij zeer goed daglicht titreren en de kleur vergelijken met twee analoge oplossingen, waarvan de ene het eindpunt der titratie nog niet bereikt heeft en de andere een overmaat reagens bevat. Heeft men deze maat-

regelen getroffen, dan is het volgens de schrijvers in ieder geval nog nodig een geoefend oog te hebben om de geringe kleurverandering van violet naar bruin te kunnen waarnemen. Het zou dan mogelijk zijn, de titratie uit te voeren met een nauwkeurigheid van  $0,5 \gamma$ .

Hoewel deze nauwkeurigheid voor hoeveelheden groter dan  $10 \gamma$  bevredigend genoemd mag worden, is deze in gevallen, waarbij hoeveelheden van  $1-5 \gamma$  optreden niet groot genoeg.

Ook bij de titrimetrische methodes van Fontis en Thivolle <sup>58)</sup> en van Schoorl en Begemann <sup>59)</sup> is de te bereiken nauwkeurigheid voor deze hoeveelheden koper niet groot genoeg.

#### c. Electrolytische methode.

Een geheel andere bepalingmethode werd voorgesteld door Zbinden. <sup>60)</sup> Hierbij wordt de oplossing, waarvan het kopergehalte bepaald moet worden geëlectrolyseerd.

Het neergeslagen koper op de electrode wordt daarna weer in oplossing gebracht door de keten te sluiten, waardoor een stroom in tegengestelde richting opgewekt wordt.

Wanneer het koper geheel opgelost is, wordt een plotse-linge verandering van de potentiaal waargenomen.

Van de stroom, die tijdens het oplossen van het koper door de keten gaat, wordt de stroomsterkte en de tijdsduur gemeten. Hieruit is dan de hoeveelheid koper, die in oplossing is gegaan, te berekenen.

Het is duidelijk, dat bij zeer kleine hoeveelheden koper, de tijd gedurende welke een stroom geleverd wordt, als gevolg van het oplossen van het koper, zeer kort is.

Bij het door de auteur verrichte melkonderzoek bedroeg de tijd voor het oplossen van een hoeveelheid koper van ong.  $10 \gamma$   $2-4$  sec., die met een chronometer gemeten werden.

Neemt men bovendien in aanmerking, dat de stroom niet



constant is, dan is wel duidelijk, dat voor nog kleinere hoeveelheden de nauwkeurigheid van deze methode niet zeer groot kan zijn.

De schrijver geeft dan ook aan, dat nog een nader onderzoek ingesteld wordt, om de techniek, die nog niet bevredigend is, te verbeteren.

*d. De spectrografische methode.*

Volledigheidshalve zij nog vermeld, dat in de loop van 1934 Van Eyk <sup>61)</sup> zijn onderzoek betreffende de quantitative bepaling van zeer kleine hoeveelheden koper met behulp van de spectrograaf publiceerde.

Deze methode is echter meer voor kwalitatief dan voor quantitatief werk geschikt.

## 2. Colorimetrische methodes.

*a. De Xanthaatmethode.*

Aan Supplee en Bellis <sup>23)</sup> komt de verdienste toe, een methode uitgewerkt te hebben, welke nog altijd gebruikt wordt.

Als reagens gebruikten zij kaliumaethylxanthaat, dat met koper een gele kleur geeft. Hierdoor is het mogelijk de koperhoeveelheid colorimetrisch te bepalen.

De aanwezigheid van veel andere metalen veroorzaakt troebelingen. Volgens Drabkin en Waggoner <sup>62)</sup> stoort bij de bepaling van koper in de as van biologisch materiaal echter alleen ijzer. Door toevoeging van  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  werd de storende werking van het ijzer opgeheven. Hierdoor was het hun mogelijk het koper rechtstreeks, d.w.z. zonder voorafgaande afscheiding, in de as bepalen.

Zij hebben gewerkt bij een  $p_{\text{H}} = 3,8$ , daar de kleurontwikkeling bij deze zuurgraad volgens hen maximaal is.

Elvehjem en Hart <sup>63)</sup> merkten echter op, dat bij een

$p_H$  beneden 4 koperpyrophosphaat gevormd wordt, dat niet met kalium-aethylxanthaat reageert, waardoor dus een te laag kopergehalte gevonden wordt.

Bovendien bleek mij, dat er bij de directe bepalingmethode volgens *D r a b k i n* en *W a g g o n e r* troebelingen optreden, waardoor de colorimetriscbe bepaling niet nauwkeurig uit te voeren is.

Bij het toepassen van de xanthaatmethode is dus een voorafgaande afscheiding van het koper noodzakelijk.

De gevoeligheid:

Bij het instellen van een onderzoek naar de gevoeligheid van dit reagens bleek, dat 0,5 $\gamma$  Cu in 10 cc oplossing nog aan te tonen was.

In een reageerbuis werd hiervoor bij 1 cc koperoplossing, 1 cc phtalaatbuffer ( $p_H = 3,8$ ), 7 cc water en 1 cc kalium-aethylxanthaatoplossing gebracht.

b. De thiocyanaat-pyridine methode.

(Biazzomethode).

Deze methode, die het eerst toegepast is door *Biazzo*<sup>64</sup>) en verbeterd werd door *Elvehjem* en *Lindow*<sup>29</sup>), maakt gebruik van de vorming van een koper-rhodanide-pyridine complex.

Dit complex kan uitgeschud worden met chloroform en daarna colorimetriscb bepaald worden.

*Elvehjem* en *Lindow* gaven aan, dat Fe en  $Ca_3(PO_4)_2$  bij deze bepaling storen.

In gevallen, waarbij deze aanwezig zijn, dus ook bij de melkas, moet men ertoe overgaan het koper vooraf af te scheiden.

De gevoeligheid:

Om de gevoeligheid te bepalen bracht ik in een schei-

trechter 25 cc neutrale koperoplossing, 1 cc ijszijn, 1 cc KCNS-oplossing 10% en 10 dr. pyridine. De gekleurde complexe verbinding werd uitgeschud met 5 cc  $\text{CHCl}_3$ .

Het bleek mij, dat bij aanwezigheid van  $2\gamma$  Cu de chloroformlaag nog een zwakke geelgroene kleur vertoonde. Geen verschil in kleur was waar te nemen bij hoeveelheden koper, die minder dan  $0,5\gamma$  verschilden.

Zoals nog blijken zal, staat deze methode, wat gevoeligheid en nauwkeurigheid betreft ten achter bij de carbamaatmethode.

c. De methode van Clarke en Jones.

De methode, voorgesteld door Clarke en Jones <sup>65)</sup> bestaat in het kort uit het volgende:

Bij een zeer verdunde zwavelzure oplossing van koper voegt men  $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ , dimethylglyoxim,  $\text{AgNO}_3$  en pyridine. Indien koper aanwezig is, vormen deze reagentia een permanganaatkleur, waarvan de intensiteit varieert met de koperconcentratie.

Met deze reactie zou 1 deel koper in  $10^7$  delen water aangetoond kunnen worden.

De kleur, die ontstaat bij deze reactie is echter niet stabiel, zodat snel meten noodzakelijk is.

Hurd en Chambers <sup>66)</sup> hebben deze methode aan een zeer nauwkeurig onderzoek onderworpen en komen tot de conclusie, dat zeer veel factoren invloed hebben op de tint en de kleurintensiteit. Zij vonden, dat de  $\text{p}^{\text{H}}$  grote invloed heeft op de resultaten, terwijl zij geen buffer kunnen gebruiken, daar hierdoor de gevoeligheid sterk vermindert of de kleur zeer instabiel werd. De aanwezigheid van kleine hoeveelheden ijzer werkte bovendien storend. Door deze nadelen bestond er voor mij geen aanleiding deze methode toe te passen.

d. De Urobiline methode.

Emmerie <sup>67)</sup> beschreef een kwantitatieve microkoperbepaling met behulp van urobiline. Dit reagens geeft in ammoniakaal milieu met geringe hoeveelheden koper een fraaie rode kleur.

Met deze methode is het mogelijk  $0,1\gamma$ — $10\gamma$  Cu te bepalen.

Heeft men oplossingen, die  $0,1$ — $1\gamma$  Cu bevatten, dan is er een duidelijk verschil in kleurintensiteit waar te nemen tussen oplossingen, die  $0,1\gamma$  verschillen. Bij oplossingen, die meer dan  $1\gamma$  Cu bevatten is het echter nodig meer reagens te gebruiken en daar de urobiline-oplossing een eigen kleur heeft, is de nauwkeurigheid bij hoeveelheden koper van  $1$ — $10\gamma$  hierdoor verminderd tot  $1\gamma$ . Bij deze hoeveelheden wordt de relatieve nauwkeurigheid dus niet groter.

Bovendien bleek, dat het urobiline uit de handel niet voldoende zuiver was voor deze bepaling, zodat bij toepassing van deze methode het reagens bereid moet worden volgens de vrij bewerkelijke methode van Terwen, zoals Emmerie aangeeft.

Bij de carbamaatmethode, die ik, zoals hierna beschreven wordt, tenslotte toegepast heb, is de nauwkeurigheid bij hoeveelheden meer dan  $1\gamma$  groter, terwijl het reagens, het Na-diaethyldithiocarbamaat gemakkelijk te verkrijgen is. Er bestaat dus geen reden om de urobilinmethode te gebruiken voor koperhoeveelheden groter dan  $1\gamma$ , zoals bij mijn onderzoek het geval is.

e. De Cryogenine methode.

In 1933 publiceerde Sarata <sup>68)</sup> een nieuwe methode voor de bepaling van kleine hoeveelheden koper. Hij gebruikte als reagens m. benzamino-semi-carbazid, dat met koperionen een rood pigment vormt.



De grote gevoeligheid van het reagens was voor mij aanleiding deze methode nader te onderzoeken. Het m. benzamino-semi-carbazid, dat in de handel gebracht wordt onder de naam „Cryogenine Lumière”, wordt gebruikt in waterige oplossing (0,07%).

De reactie met koper wordt gestoord door verschillende metalen, anionen en organische verbindingen, zodat het ook bij gebruik van dit reagens noodzakelijk is, het koper voor de bepaling zuiver af te scheiden.

Het afgescheiden koper wordt opgelost in salpeterzuur, waarna de overmaat salpeterzuur op het waterbad wordt afgedampt. De rest wordt opgenomen in 1 cc  $H_2O$ , 1 cc cryogenineoplossing en 1 cc Pb-acetaatoplossing, die 0,1 mg Pb per cc bevat.

De kleur ontstaat door hierna het mengsel 40 minuten op een temperatuur van  $40^\circ C$ . te plaatsen. Daarna wordt de kleur vergeleken met een standaardoplossing, die volgens dezelfde methode verkregen is.

Onderzoek naar de gevoeligheid:

Het bleek mij, dat het reagens inderdaad zeer gevoelig is, 0,1  $\gamma$  Cu in 10 cc. gaf nog een zeer duidelijke kleur te zien.

De kleurintensiteit is echter sterk afhankelijk van verschillende factoren, o.a. van de tijd, de temperatuur en de  $p_H$  van de oplossing. De afhankelijkheid van de  $p_H$  is een groot nadeel, omdat men geen bufferoplossingen kan gebruiken, daar de gevoeligheid van de reactie dan ongunstig beïnvloed wordt. Het salpeterzuur, waarin het koper opgelost wordt, moet dus zeer nauwkeurig afgedampt worden om altijd dezelfde  $p_H$  van de oplossing te krijgen.

De kleurintensiteit heb ik in de stuphenphotometer van Zeiss gemeten. (Zie blz. 41).

Door nauwkeurig de reactie omstandigheden dezelfde te houden, gelukte het mij tenslotte de volgende waarden af te

lezen voor hoeveelheden van 0,1—0,9 $\gamma$  Cu in 10 cc oplossing (tabel 1).

De lengte van de gebruikte cuvet bedroeg 30 mm. Als filter werd S. 50 gebruikt.

Tabel 1.

Hoeveelheid Cu in $\gamma$	Stuphometerwaarden		
	I	II	III
0,1	77	76	77
0,2	63	65	65
0,3	52	44	52
0,5	37	40	42
0,6	32	30	34
0,9	26	24	22

Uit de tabel blijkt, dat de reeksen niet bijzonder mooi overeenstemmen, dit is waarschijnlijk een gevolg van geringe verschillen in proefomstandigheden.

Om betere resultaten te bereiken is het nodig de te bepalen oplossing tegelijkertijd met de standaardoplossing te behandelen om de proefomstandigheden zoveel mogelijk gelijk te maken.

#### f. De Carbamaatmethode.

In 1929 publiceerden Callan en Henderson <sup>69)</sup> de carbamaatmethode. Zij maakten gebruik van een publicatie van Dilephine <sup>70)</sup> in 1908, waarin de metaal-thiocarbamaten en het aantonen van koper met behulp van deze thiocarbamaten behandeld worden.

Het bleek Callan en Henderson, dat Na-diaethyl-dithiocarbamaat  $(C_2H_5)_2NCSSNa$ , zeer goed te gebruiken is om kleine hoeveelheden koper quantitatief te bepalen.

Het reagens is een witte kristallijne stof, die oplosbaar is

in water. Het is gemakkelijk te bereiden uit  $\text{CS}_2$  en diaethylamine in tegenwoordigheid van alkali.

Het geeft zowel in zuur als in alkalisch milieu een gele kleur met verdunde koperoplossingen; met meer geconcentreerde koperoplossingen ontstaat een geel neerslag.

Het reagens geeft ook met verschillende andere metalen een neerslag. In verdunde oplossing stort ijzer, vooral als ferri-ion, terwijl lood en zink een witte troebeling geven.

Vele onderzoekers hebben na deze publicatie dit reagens toegepast zowel in zuur als in alkalisch milieu.

Grendel <sup>33)</sup> maakte ook gebruik van dit reagens. Hij scheidde het koper electrolytisch af om geen storende werking van andere metalen te hebben bij de bepaling. Het afgescheiden koper werd in 1 cc  $\text{HNO}_3$  4n. opgelost, hieraan worden 10 cc water toegevoegd en 10 cc 0,2 % Na-diaethyldithiocarbamaat-oplossing.

Voor kleine hoeveelheden koper schudde hij de gele kleur uit met  $\text{CCl}_4$ . Volgens hem was hiervoor tweemaal uitschudden met 1 cc  $\text{CCl}_4$  voldoende.

Het bleek mij, dat dit voor hoeveelheden van minder dan 2 $\gamma$  inderdaad voldoende was, bij hoeveelheden van meer dan 2 $\gamma$  was het  $\text{CCl}_4$  extract nog geel gekleurd. Bij nog grotere hoeveelheden is zelfs vijf maal extraheren nog niet voldoende.

Ook Mc. Farlane, <sup>38)</sup> die de extractie met  $\text{CCl}_4$  en  $\text{CHCl}_3$  probeerde, kwam tot de conclusie, dat deze onvoldoende was. Hij gebruikte daarom amylalcohol.

Thatcher <sup>71)</sup> vond, dat het gebruik van isoamylalcohol een veel betere scheiding van de vloeistofflagen geeft dan amylalcohol.

De gevoeligheid:

Het bleek mij, dat met dit reagens 0,2 $\gamma$  Cu in 10 cc oplossing nog aan te tonen is zonder gebruik van een extractievloeistof.



De carbamaatmethode heeft dus boven de xanthaatmethode van Supplee en Bellis en de methode van Elvehjem c.s. het voordeel, van grotere gevoeligheid; bovendien is de intensiteit van de kleur binnen vrij ruime grenzen onafhankelijk van de  $p_H$ . Zoals we gezien hebben, kan dit laatste niet gezegd worden van de methode van Sarata, daar hierbij de  $p_H$  van grote invloed is. De methode van Sarata is bovendien veel omslachtiger dan de carbamaatmethode, omdat bij deze laatste de kleur 5 minuten na toevoegen van het reagens reeds bepaald kan worden. Ik besloot daarom de carbamaatmethode voor mijn onderzoek te gebruiken.

Een nadeel van de carbamaatmethode is echter, dat men het koper eerst moet scheiden van storende metalen om de kleur goed te kunnen bepalen. Mc. Farlane<sup>38)</sup> maakte daarom gebruik van  $Na_4P_2O_7$  om het ijzer onschadelijk te maken bij deze bepaling. Omdat  $Fe_4(P_2O_7)_3$  practisch niet geïoniseerd is in alkalische oplossing kon hij met  $Na_4P_2O_7$  in alkalisch milieu de storende werking van de ijzerionen opheffen. Na toevoegen van het reagens en uitschudden met amylnalcohol verkreeg hij een zuiver gele kleur, die hij colorimetrisch bepaalde. Hij paste deze methode toe om het kopergehalte van de as van organisch materiaal te bepalen.

Deze methode faalt echter bij de melkas. De oplossing van de melkas bevat n.l. relatief grote hoeveelheden  $Ca_3(PO_4)_2$  en dit vormt in alkalisch milieu een volumineus neerslag, dat een groot gedeelte van het aanwezige koper insluit, zodat het koper niet quantitatief bepaald kan worden.

Omdat bij een  $p_H = 3$  het  $Ca_3(PO_4)_2$  niet een dergelijk volumineus neerslag vormt, heb ik geprobeerd bij een  $p_H = 3$  van het  $Na_4P_2O_7$  gebruik te maken.

Hiervoor voegde ik bij 10 cc neutrale koperoplossing, die 5% Cu bevatte 5 cc fosfaatbuffer ( $p_H = 3$ ) en 10 cc Na-diaethyldithiocarbamaatoplossing (0,2%). De kleur werd uitgeschud met 10 cc isoamylalcohol.



Ditzelfde werd gedaan na toevoeging van 4γ Fe. Hierbij bleek, dat de kleur van de isoamylalcoholoplossingen niet te vergelijken waren, omdat in het laatste geval het Fe een bruine verkleuring veroorzaakte. Deze methode om het ijzer onschadelijk te maken is dus niet toe te passen.

Een tweede manier om de carbamaatmethode te gebruiken zonder voorafgaande afscheiding van het koper, is aangegeven door Haddock en Evers<sup>72)</sup>. Zij gebruikten in plaats van  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ , citroenzuur en  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Het citroenzuur is echter zeer moeilijk koper vrij te krijgen. Ook door koken met norit blijft steeds nog een hoeveelheid koper in het citroenzuur achter. Door echter het kopergehalte van het citroenzuur vooraf te bepalen en deze hoeveelheid van de gevonden koperhoeveelheid af te trekken, kan men aan dit bezwaar tegemoet komen, hoewel de nauwkeurigheid van de methode hierdoor natuurlijk lijdt.

Het hoofdbezwaar is echter, dat door toevoegen van  $\text{NH}_4\text{OH}$  aan de melkas weer een gedeelte van het aanwezige  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  volumineus neerslaat. Hierdoor treedt dus hetzelfde nadeel op als bij het gebruik van  $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ .

Ik besloot daarom het koper van te voren af te scheiden.

Hiervoor werd gebruik gemaakt van de electrolyse, zoals in hoofdstuk VI beschreven wordt.

## B. Beschrijving van de Carbamaatmethode.

### 1. Uitvoering.

Het koper bevindt zich na de electrolyse (zie blz. 54) in een oplossing, die een  $\frac{1}{2}$  cc  $\text{HNO}_3$  4n. bevat en een volume heeft van 7 cc. Hierbij wordt 4 cc 0,2% Na-diaethyldithiocarbamaatoplossing gevoegd. De gele kleur wordt in de stuphenphotometer van Zeiss gemeten. Het voordeel bij het gebruik hiervan is, dat het mogelijk is, een colorimetrische bepaling te doen zonder vergelijkingsoplossingen.

Dit is vooral van belang, wanneer de te bepalen kleur-intensiteit slechts beperkte tijd onveranderd blijft, zodat telkens een nieuwe standaardoplossing bereid moet worden.

## 2. De stuphenphotometer.

Heilmeyer geeft een uitvoerige beschrijving van de stuphenphotometer, welke kortweg stuphometer genoemd wordt, in het handboek van *Abderhalden* <sup>73</sup>). Daarom volsta ik hier met een korte beschrijving.

Het toestel is te vergelijken met een spectrophotometer, waarbij echter de monochromator vervangen is door 8 lichtfilters, die ieder een golflengtegebied van 400—500 Å E bestrijken en het zichtbare golflengtegebied in 8 ongeveer gelijke delen (in golflengten gemeten) verdelen.

Als lichtbron dient een Nitra-lamp, die zo opgesteld is, dat evenwijdige lichtstralen door 2 cuvetten met planparallele wanden vallen. Het licht gaat verder door een paar objectieven, die voorzien zijn van diafragma's met verstelbare vierkante opening en wordt daarna door een stelsel prisma's zodanig in een oculair samengebracht, dat het oog beide lichtbundels tegelijk en slechts door een zeer smalle deellijn gescheiden in 2 halfronden waarneemt.

Vlak voor het oculair bevindt zich een draaibare schijf, die de lichtfilters bevat.

Zijn beide cuvetten gevuld met een optisch zuivere vloeistof, bv. water, dan zal het oog bij gelijke verlichting van de beide objectieven en geheel geopende diafragma's twee gelijkverlichte helften van het gezichtsveld waarnemen.

Wordt nu het water in één der cuvetten door de te meten gekleurde vloeistof vervangen, dan zal een zeker gedeelte van het invallende licht geabsorbeerd worden en de overeenkomstige helft van het gezichtsveld zal eenzelfde percentage donkerder worden. Door het diafragma voor de andere cuvet,

die het water bevat te verkleinen, kan men de beide helften van het gezichtsveld weer even donker maken. Op deze wijze heeft men in de grootte der diafragma-verkleining een maat voor de grootte der door de gekleurde vloeistof geabsorbeerde hoeveelheid licht voor een golflengtegebied, dat door de keuze van het voorgeplaatste filter wordt bepaald.

Op een trommelverdeling kan men onmiddellijk aflezen hoeveel men het diafragma heeft moeten verkleinen, d.w.z. hoeveel men het licht heeft moeten verzwakken om een gelijke intensiteit van de uittredende stralen te verkrijgen.

De inrichting van de verstelbare diafragma's en de trommelverdeling moet nog nader beschreven worden om een inzicht te krijgen in het verband tussen de op de trommelverdeling afgelezen waarden en de intensiteit van het doorgelaten licht.

De diafragma-opening is vierkant en wordt gevormd door 2 rechthoekig ingesneden zwarte platen, die door een micrometerschroef (de trommel) in de richting van de diagonaal lichtdicht langs elkaar heen bewogen kunnen worden, en wel zo, dat de vierkanten groter en kleiner gemaakt kunnen worden, terwijl het middelpunt op dezelfde plaats blijft. Wordt de micrometerschroef  $360^\circ$  gedraaid, dan wordt het diafragma, dat eerst geheel gesloten is, volkomen geopend. Nemen we in een gegeven geval aan, dat de tussen 0 en  $D$  veranderlijke diagonaal van de vierkante opening  $d$  is, en de waarde van de tussen 0 en  $360^\circ$  gelegen hoek, waarover de trommel gedraaid is in dit geval gelijk  $\alpha$ , dan is het verband tussen de lichtintensiteit  $I$ , de diagonaal  $d$  en  $\alpha$  gegeven door de vergelijking:

$$I = \frac{1}{2} d^2 = \left( \frac{\alpha}{360} \right)^2, \text{ voor } d \text{ van } 0 \text{ tot } D, I \text{ van } 0 \text{ tot } I \text{ en } \alpha \text{ van } 0^\circ \text{ tot } 360^\circ.$$

Als men nu in een grafische projectie het verloop der  $I$ -waarden in hun afhankelijkheid van hoek  $\alpha$  aangeeft,



waarbij men op de ordinaat de I-waarden in procenten afzet, dan verkrijgt men een kromme, waarvan de projectie op de X as de verdeling aangeeft, als op de trommel aangebracht is.

In verband hiermede is de trommel logaritmisch verdeeld in 100 delen, en geeft dadelijk de intensiteit van het door-gelaten licht in procenten van het invallende licht aan.

### 3. Berekening van de hoeveelheid koper uit de stufometerwaarden.

Het bleek mij, dat de maximum lichtabsorptie van de koperdiaethyldithiocarbamaatoplossing ligt in het golflengtegebied, dat door het bij de stufometer behorende filter S 47 (golflengtegebied van 4475—4925 Å E) bestreken wordt. Om uit de afgelezen stufometerwaarden de hoeveelheid koper te kunnen berekenen moet men beschikken over gegevens van bekende koperoplossingen. Hiervoor worden bekende koperhoeveelheden op de bovenbeschreven wijze (blz. 38) met het reagens behandeld. Het totale volume van de koper-diaethyldithiocarbamaatopl. bedraagt dus 11 cc; voor hoeveelheden boven  $8\gamma$  is het volume 25cc. Deze oplossingen worden in een cuvet gebracht, waarvan de lengte 30 mm is en de lichtabsorptie wordt gemeten.

Onderstaande tabellen geven de gevonden stufometerwaarden aan voor de verschillende koperhoeveelheden.

Tabel 2.

hoeveelheid Cu in $\gamma$ in 11 cc.	trommelaflezingen van de stufometer			
				gemiddeld
1	89	90	89	89
2	80	78	79	79
3	70	71	70	70
4	63	63	63	63
5	57	57	56	57
6	50	51	51	51
7	46	45	45	45
8	41	40	40	40



Tabel 3.

hoeveelheid Cu in $\gamma$ in 25 cc.	trommelaflezingen van de stufpometer			
5	77	78	77	gemiddeld 77
10	60	60	60	60
15	48	47	47	47
20	38	37	38	38
25	31	29	30	30

In Fig. II vindt men de krommes, die het verband aangeven tussen de trommelaflezingen van de stufpometer (intensiteit van het doorgelaten licht in procenten van de intensiteit van het invallende licht) en de hoeveelheid koper.

Op de abscis zijn de hoeveelheden koper afgezet, op de ordinaat de trommelaflezingen. Daar de trommel logaritmisch in 100 delen verdeeld is, worden de trommelaflezingen uitgezet op millimeterpapier, waarvan de Y-as eveneens logaritmisch verdeeld is. Met behulp van deze grafische voorstellingen is de onbekende hoeveelheid koper uit de stufpometerwaarden gemakkelijk te berekenen.

Na enige oefening kunnen de stufpometerwaarden in het gebied van 70—100 afgelezen worden met een nauwkeurigheid van 2 schaaldelen, daar beneden met een nauwkeurigheid van 1 schaaldeel.

De fout, die tengevolge hiervan bij de koperbepaling wordt gemaakt, bedraagt bij gebruik van curve A  $0,2\gamma$  en bij gebruik van curve B  $\pm 0,5\gamma$ .

#### De Standaardkoperoplossing.

Deze werd bereid door 392,8 mg  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (p.a) op te lossen in dubbel gedestilleerd water, dat met een weinig  $\text{H}_2\text{SO}_4$  aangezuurd is. Deze oplossing werd tot 1 L aange-

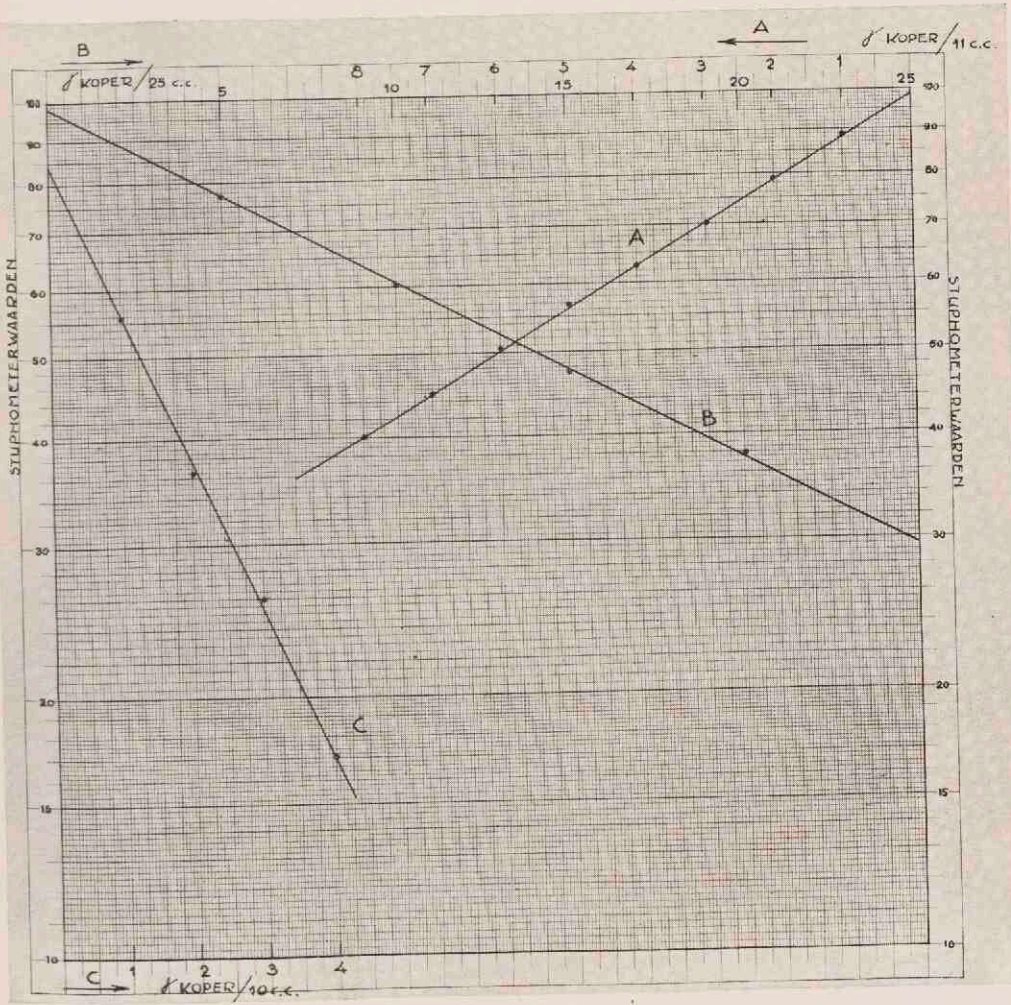


Fig. II.

vuld met dubbelgedestilleerd water. 10 cc hiervan werden tot 1 L verdund. 1 cc van de aldus verkregen oplossing bevat  $1\gamma$  Cu.

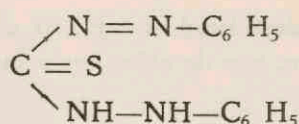
#### 4. De meting van de kleur van de koperdiaethylthiocarbamaatoplossing.

Alvorens tot de meting over te gaan, controleert men eerst de 0 stand van de stufhometer. Hiervoor worden de twee cuvetten van 30 mm lengte gevuld met water, dat natuurlijk optisch zuiver moet zijn. Men kijkt nu door het oculair of de beide helften van het gezichtsveld juist gelijk verlicht zijn als de beide diafragma's geheel geopend zijn. Is dit niet het geval, dan regelt men dit door de stufhometerlamp te verstellen of door één der bijgegeven matglasschijfjes voor het te sterk verlichte objectief te plaatsen. Zijn beide helften nauwkeurig gelijk helder gemaakt, dan vervangt men in één der cuvetten het water door de te meten koperdiaethylthiocarbamaatoplossing. De nu ten gevolge van de absorptie ongelijk verlichte helften van het gezichtsveld maakt men door draaien van de trommel gelijk en leest dan het procentgetal van het doorgelaten licht t. o. v. het invallende licht op de trommelverdeling af. Dit wordt enige malen herhaald en uit het gemiddelde van de afgelezen stufhometerwaarden berekent men met behulp van Fig. II de hoeveelheid koper, die aanwezig is.

#### C. De Dithizonmethode.

Toen ik reeds enige tijd met mijn onderzoek bezig was, publiceerden Fischer en Leopoldi <sup>74)</sup> een koperbepaling, die zij gebruikten om het kopergehalte van verschillende metalen te bepalen. Zij gaven als reagens diphenylthiocarbazon aan,





dat door hen dithizon genoemd werd.

Dithizon is in staat met verschillende metalen te reageren. De dithizonaten van koper en andere metalen zijn in water onoplosbaar, echter goed oplosbaar in met water niet mengbare organische oplosmiddelen. De oplossingen van de dithizonaten zijn zeer sterk gekleurd. Door deze eigenschappen berust de quantitative bepaling van koper, op een extractie van het in waterige oplossing aanwezige koper met een oplossing van dithizon in  $\text{CCl}_4$ . De overmaat dithizon, dat zelf groen gekleurd is, wordt verwijderd door uitwassen met verdunde  $\text{NH}_4\text{OH}$ .

De overblijvende roodpaarse kleur van de koperdithizonverbinding wordt colorimetrisch bepaald.

In zure oplossing reageren alleen Cu, Ag, Hg, Au en Pd met dithizon. Ferri-ionen storen, wanneer relatief grote hoeveelheden (boven 50 mg) aanwezig zijn, door hun oxyderende werking op het dithizon.

#### 1. De toepassing van de dithizonmethode voor de bepaling van koper in de melk.

Bij analytische en spectroscopische <sup>75)</sup> <sup>76)</sup> <sup>77)</sup> onderzoeken zijn in de melkas geen Ag, Hg, Au en Pd gevonden. Bovendien is de hoeveelheid ijzer in melk slechts gering. (50 $\gamma$  per 100 cc).

Dit was voor mij aanleiding te proberen of de dithizonmethode ook toe te passen is voor de koperbepaling in melk, daar in de zure oplossing van de melkas dus alleen koper met dithizon reageert, zodat het niet nodig is koper vooraf door electrolyse af te scheiden.



Een bezwaar was echter nog, dat volgens Fischer en Leopoldi de te bepalen hoeveelheid koper tussen 4 en 50 $\gamma$  moest liggen. Ik heb daarom geprobeerd of het ook mogelijk was kleinere hoeveelheden koper met dit reagens te bepalen. Door gebruik te maken van de stufpometer, gelukte het mij 0,5 $\gamma$  Cu nog te bepalen.

Uit onderstaande tabel blijkt, dat het inderdaad mogelijk is met het dithizonreagens het kopergehalte van de melk te bepalen. De waarden stemden binnen de proeffout overeen met de resultaten, welke volgens de carbamaatmethode, na voorafgaande electrolyse, verkregen waren.

Tabel 4.

Monsternummer	carbamaatmeth. hoeveelheid Cu in $\gamma$ per 100 cc melk	dithizonmeth. hoeveelheid Cu in $\gamma$ per 100 cc melk
I	3,5	3,6
II	2,9	2,9
III	2,1	2,2
IV	3,9	4,1
V	2,9	2,9
VI	2,7	2,8

## 2. Het bereiden van de dithizonoplossing.

20 mg dithizon worden opgelost in 100 cc  $\text{CCl}_4$ . Daar de dithizon, zoals deze in de handel gebracht wordt, nog een geel gekleurd oxydatieproduct bevat, moet het dithizon vooraf gereinigd worden. Hiervoor schudt men de verkregen oplossing met verdunde  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1 deel 25%  $\text{NH}_4\text{OH}$  op 200 delen  $\text{H}_2\text{O}$ ), waarbij het dithizon in de waterige phase gaat, terwijl het gele oxydatieproduct in de  $\text{CCl}_4$  achterblijft. In een scheidrecter worden de beide lagen gescheiden en de waterige oplossing wordt opnieuw met  $\text{CCl}_4$  samengebracht, aangezuurd en direct geschud. Het dithizon gaat

dan weer in de  $\text{CCl}_4$ -laag over. De aldus verkregen dithizonoplossing wordt nog enige malen met dubbelgedestilleerd  $\text{H}_2\text{O}$  gewassen en kan dan in een bruine fles onder een laag  $\text{SO}_2$  water in het donker bewaard worden.

Voor het gebruik wordt de benodigde hoeveelheid met water gewassen en tot het drievoudige volume met  $\text{CCl}_4$  verdund. Opgemerkt moet worden, dat de gebruikte  $\text{CCl}_4$  een pro-analyse praeparaat was, dat voor het gebruik in een kwarts-apparaat gedestilleerd werd.

### 3. Uitvoering van de bepaling.

De melkas, zoals deze verkregen is na afdampen van het  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (zie blz. 26) wordt opgelost in 20 cc  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1% en in een scheidrecther gebracht. Hierbij wordt 6 cc dithizonoplossing gevoegd, waarna 5 minuten wordt geschud. Wordt tijdens het schudden de kleur van de  $\text{CCl}_4$ -laag rood-violet, dan is er niet genoeg dithizon aanwezig. De roodviolette oplossing wordt dan afgescheiden en het uitschudden met kleine hoeveelheden reagensoplossing herhaald, tot de  $\text{CCl}_4$ -laag niet meer zuiver violet is, maar een mengkleur met de overmaat van het reagens vertoont.

Bij een asoplossing van 100 cc melk, die niet met koper verontreinigd is, is 1 maal uitschudden met 6 cc dithizonoplossing meestal voldoende.

Om bij de scheiding van het koperdithizonaat verliezen te voorkomen waste ik de waterige oplossing nog na met 1 cc  $\text{CCl}_4$ . De koperhoudende extracten worden in een scheidrecther verenigd en met 5 cc verdunde  $\text{NH}_4\text{OH}$ -oplossing (1 deel 25%  $\text{NH}_4\text{OH}$  op 200 delen  $\text{H}_2\text{O}$ ) uitgeschud om de overmaat reagens te verwijderen. Dit wordt herhaald totdat de waterige laag niet meer geel gekleurd is. \*)

---

\*) Een te lang schudden van de violette koperdithizonoplossing met de verdunde  $\text{NH}_4\text{OH}$  is niet aan te raden, daar hierdoor een, zij 't ook geringe ontleding van de violette verbinding zou kunnen optreden.

Wordt niet te grote overmaat reagens gebruikt, dan is bij de 3e extractie de waterige laag kleurloos. Ook hierbij heb ik om verliezen te voorkomen, de waterige laag telkens met  $\text{CCl}_4$  nagewassen en de wasvloeistof bij de koperhoudende  $\text{CCl}_4$  gevoegd.

De koperdithizonoplossing wordt tenslotte met verdund zwavelzuur 1% gewassen, met  $\text{CCl}_4$  aangevuld tot 10 of 20 cc en kan dan colorimetrisch bepaald worden. Hiervoor gebruikte ik eveneens de stufhometer van Zeiss.

#### 4. Berekening van de koperhoeveelheden uit de stufhometerwaarden.

Evenals bij de carbamaatmethode heeft men hiervoor een grafische voorstelling nodig, die het verband aangeeft tussen de hoeveelheden koper en de stufhometerwaarden. Hiertoe werd een reeks lichtabsorptiemetingen uitgevoerd van koperdithizonaatoplossingen met bekend kopergehalte.

De maximum absorptie van de rood-violetten koperdithizonaatoplossing bleek in het golflengtegebied van het filter S 53 te liggen, hetgeen dus voor de metingen gebruikt werd. De lichtabsorptiemetingen werden op dezelfde wijze gedaan als voor de carbamaatmethode beschreven is (blz. 43).

Onderstaande tabel geeft de stufhometerwaarden aan, die voor deze koperhoeveelheden gevonden werden bij gebruik van een cuvet van 30 mm.

Tabel 5.

hoeveelheid Cu in $\gamma$ in 10 cc	trommelaflezing van de stufhometer				
0	82	85	85	—	gemiddeld 84
0,5	66	67	67	69	67
1	54	56	55	57	55,5
2	35	37	36	37	36
2,5	30	30	30	—	30
3	26	27	27	25	26
4	17,5	17	17	—	17

In Fig. II vindt men de grafische voorstelling van deze getallen. (curve C).

In verband met de trommelverdeling van de stufhometer is hierbij ook weer de Y-as logaritmisch verdeeld.

Voor een onbekende koperoplossing kan men hiermede dus uit de trommelaflezing van de stufhometer de hoeveelheid koper berekenen.



## HOOFDSTUK VI.

### DE AFSCHIEDING VAN KOPER UIT DE MELKAS.

In het vorig hoofdstuk hebben we gezien, dat het voor de koperbepaling in melkas volgens de carbamaatmethode noodzakelijk is, het koper van te voren af te scheiden.

In hoofdzaak vindt men hiervoor in de literatuur drie methodes vermeld, nl.:

- 1<sup>o</sup>. de scheiding met behulp van  $\text{NH}_4\text{OH}$ .
- 2<sup>o</sup>. het neerslaan van Cu als  $\text{CuS}$ .
- 3<sup>o</sup>. de electrolytische methode.

#### A. De Ammonia-methode.

Hiervan maakten Supplee en Bellis <sup>23)</sup> gebruik bij hun bepaling van koper in de melkas. Met een overmaat  $\text{NH}_4\text{OH}$  worden de storende metalen neergeslagen, terwijl het koper volgens hen quantitatief in oplossing blijft.

Ansbacher c.s. <sup>78)</sup> en Mc. Farlane <sup>38)</sup> bewezen echter, dat het volumineuze praecipitaat van hydroxyden en fosphaten koper insluit.

Conn c.s. <sup>32)</sup> onderzochten deze scheidingsmethode nader en uit hun resultaten bleek, dat deze methode niet nauwkeurig is, tenzij het praecipitaat, dat het koper ingesloten houdt minstens driemaal opnieuw opgelost en gepraecipiteerd wordt.

Het is duidelijk, dat de werkwijze op deze manier zeer omslachtig wordt.

### B. Het neerslaan van koper als kopersulfide.

Hoewel men aan de hand van bepalingen van het oplosbaarheidsproduct zou mogen verwachten, dat de hoeveelheden koper, die na praecipitatie met  $H_2S$  in zuur milieu in de oplossing achter blijven, zo gering zijn, dat deze verwaarloosd kunnen worden, is dit volgens Ansbacher c.s. <sup>78)</sup> en Sarata <sup>69)</sup> niet het geval. Zij schrijven de slechte resultaten van verschillende onderzoekers met de  $H_2S$  methode toe aan een te hoge zuurgraad.

Sarata kreeg alleen goede resultaten, wanneer hij de zuurgraad als volgt instelde. Het volume van de oplossing, waarin koper bepaald moet worden bedraagt 30 cc. Hierbij voegt hij  $MgCl_2$  en daarna zoveel  $NaOH$  10N. tot er een troebeling van  $Mg(OH)_2$  optreedt. Nu brengt hij er druppels-gewijze 1 N.  $H_2SO_4$  in, tot de oplossing juist weer helder wordt, waarna nog 2 cc 1 N.  $H_2SO_4$  worden toegevoegd.

Conn c.s. zorgen, dat de oplossing voor de praecipitatie van Cu als  $CuS$  1%  $HCl$  bevat.

Volgens Kolthoff <sup>79)</sup> kan bij aanwezigheid van  $CuS$  en van S het aanwezige zink zelfs in vrij sterk zuur milieu nog neerslaan. Het leek mij dus gewenst na te gaan of bij de aangegeven zuurgraad het zink nog quantitatief in oplossing blijft, omdat ik eveneens het zink in de melkasoplossing wilde bepalen.

Hiertoe werd van 3 oplossingen, die  $300\gamma$  Zn en  $10\gamma$  Cu bevatten, de zuurgraad op dezelfde wijze ingesteld als door Sarata aangegeven is en daarna werd  $H_2S$  ingeleid.

Het bleek mij daarbij, dat naast het Cu, 80, 75 en  $77\gamma$  Zn neergeslagen werden.

Bij een drietal oplossingen, die eveneens  $300\gamma$  Zn en  $10\gamma$  Cu bevatten en die op dezelfde wijze behandeld waren, maar die ik meerdere dagen met  $H_2S$  had laten staan, was deze hoeveelheid 220, 208 en  $196\gamma$  Zn.

Hoewel deze getallen kleiner zullen zijn bij een zuurgraad, die door Conn c.s. gebruikt wordt, leek het mij toch niet wenselijk deze methode voor mijn onderzoek te gebruiken.

### C. De electrolytische methode.

Sarata <sup>69)</sup> en Conn <sup>32)</sup> c.s. hebben met behulp van de electrolyse geen quantitative afscheiding van kleine hoeveelheden koper kunnen bereiken. Sarata vindt na 8 uur electrolyseren 72% en na 10 uur 87% van het aanwezige koper terug.

Conn c.s. beweren, dat de hoeveelheid koper, die niet op de electrode neergeslagen wordt, varieert van 1,2 tot 3,6%. Grendel <sup>33)</sup> daarentegen is in staat het koper quantitatief af te scheiden, door bij kooktemperatuur en een spanning van 2 volt 15—20 minuten te electrolyseren.

Zoals uit het volgende zal blijken is het, wanneer de nodige voorzorgsmaatregelen genomen worden om koperverlies te voorkomen, mogelijk het aanwezige Cu quantitatief terug te vinden.

Daarom leek mij deze methode de meest geschikte voor het afscheiden van Cu in de melkas.

## 1. Beschrijving van de Electrolyse.

### a. Het gebruikte apparaat.

De electrolyse werd uitgevoerd in het apparaat, dat door Pregl <sup>80)</sup> beschreven is en dat in Fig. III is weergegeven.

Het electrolysevat is voorzien van een koeler, zodat het mogelijk is, gedurende lange tijd de vloeistof zacht te laten koken, zonder dat het volume kleiner wordt.

Zowel het electrolysevat als de koeler bestaan uit kwarts. Als kathode gebruikte ik een platina spiraaltje. De anode bestaat uit een platina blikje, dat op de bodem van het

electrolysevat ligt. De stroom wordt geleverd door een accumulator. Gedurende de electrolyse wordt de spanning door middel van een weerstand ingesteld op 2,5 Volt.

*b. Enkele opmerkingen.*

Volgens Schoorl en Begemann <sup>59)</sup> treedt bij het rechtstreeks uit de vloeistof trekken van de electrode steeds koperverlies op. Daarom vervangen zij de electrolyse-vloeistof bij gesloten stroomkring door dubbelgedestilleerd water.

Omdat mijn kwartsapparatuur niet voorzien was van een hevelinrichting, deed ik het op de volgende wijze: Op de bodem van het electrolysevat werd door middel van een uitgestoomde „pipet van Pasteur” de oplossing weggezogen, terwijl ik met een spuitfles zoveel dubbelgedestilleerd water voorzichtig langs de wand van het vat liet toevloeien, dat de kathode onder het vloeistofoppervlak bleef staan. Dit werd zolang voortgezet, tot de zure electrolysevloeistof door dubbelgedestilleerd water was vervangen. Ik gebruikte hiervoor ongeveer 50 cc. water.

De pipet van Pasteur was voorzien van een wattenprop, zodat geen deeltjes van de gummispeen in de vloeistof konden komen.

Het niet nemen van deze maatregelen is waarschijnlijk ook oorzaak, dat verschillende onderzoekers van mening zijn, dat de electrolyse niet geschikt is voor het afscheiden van dergelijke kleine hoeveelheden koper.

*c. Duur van de electrolyse.*

Omdat men zonder meer niet mag veronderstellen, dat de

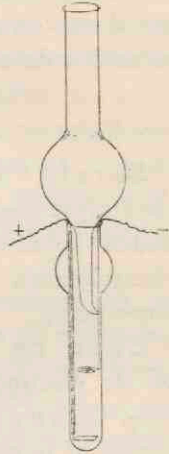


Fig. III.



electrolysetijd bij het afscheiden van kleine hoeveelheden koper uit aangezuurd water dezelfde is als die, waarin koper afgescheiden moet worden uit een zeer geconcentreerde zoutoplossing, gebruikte ik bij mijn proeven om de electrolysetijd vast te stellen, melkasoplossingen, welke van te voren 48 uur geëlectrolyseerd waren. Aan de aldus verkregen oplossing werd 4 $\gamma$  Cu toegevoegd en nagegaan werd, hoeveel tijd nodig was om het koper quantitatief neer te slaan.

Uit onderstaande tabel is te zien, dat 4,5 uur hiervoor voldoende is.

Tabel 6.

electrolysetijd in uren	hoeveelheid koper in $\gamma$	
	aanwezig	gevonden
1,5	4	3,1
3	4	3,6
4,5	4	3,9
4,5	4	4
5	15	15

Meestal heb ik de electrolyse gedurende de nacht door laten gaan.

*d. Uitvoering van de Electrolyse.*

Na het voorgaande kan ik kort zijn, met de beschrijving van de wijze, waarop in een bepaald geval de electrolyse-methode werd uitgevoerd.

De melkas, verkregen op de wijze, zoals beschreven is op blz. 26, wordt opgelost in dubbelgedestilleerd water en met zo weinig mogelijk water overgespoeld in het electrolysevat. Hierbij wordt 0,2 cc sterk  $H_2SO_4$  gevoegd. Daarna wordt de keten gesloten en de oplossing zodanig verwarmd, dat deze rustig kookt.

Daar door het overspoelen het volume van de electrolysevloeistof te groot is geworden, wordt het electrolysevat niet dadelijk met de koeler afgesloten. De vloeistof wordt eerst ingedampt tot het volume 4 cc is, waarna de koeler op het electrolysevat geplaatst wordt. Om te voorkomen, dat tijdens het indampen de electrolysevloeistof verontreinigd wordt, plaatste ik boven het electrolysevat een omgekeerde trechter.

Na afloop van de electrolyse wordt het vat in ijswater gekoeld, waarbij de stroom gesloten blijft. Daarna wordt de electrolysevloeistof op de beschreven manier door water vervangen. De stroom wordt verbroken en de kathode in een reageerbuis gebracht, hierbij wordt 0,5 cc  $\text{HNO}_3$  4N. gevoegd. Om zeker te zijn, dat al het koper in oplossing gaat, wordt de reageerbuis voorzichtig verwarmd. Het volume wordt aangevuld tot 7 cc, waarna de oplossing gereed is voor de bepaling van koper volgens de carbamaatmethode.

Wanneer te verwachten is, dat hoeveelheden Cu groter dan  $8\gamma$  aanwezig zijn (bij melk, die met koper in aanraking is geweest) wordt niet 0,5 cc  $\text{HNO}_3$  4N., maar 1 cc toegevoegd, terwijl het volume aangevuld wordt tot 15 cc.

e. **Toevoeging van een bekende hoeveelheid koper.**

Wanneer de destructie en de electrolyse op de beschreven wijze werden uitgevoerd, waren de resultaten van dublobepalingen steeds kloppend. Om echter te controleren of zowel bij de destructie als bij de electrolyse niet een bepaald percentage van het aanwezige koper verloren gaat, voegde ik aan melkmonsters, waarvan ik eerst het kopergehalte bepaald had, een bekende hoeveelheid koper toe. Door hierna opnieuw het kopergehalte van de monsters te bepalen, was na te gaan of de toegevoegde hoeveelheid koper quantitatief werd teruggevonden.

Tabel 7.

aanwezige hoeveelheid Cu in $\gamma$	toegevoegde hoeveelheid Cu in $\gamma$	gevonden hoeveelheid Cu in $\gamma$	verschil in $\gamma$
9,2	10	18,6	- 0,6
9,5	10	19,2	- 0,3
5,7	5	10,9	+ 0,2
3,2	3	6,0	- 0,2
2,4	3	5,4	0,0

Uit bovenstaande tabel blijkt, dat de toegevoegde hoeveelheid koper binnen de proeffout werd teruggevonden.

## HOOFDSTUK VII.

### HET BEPALEN VAN KLEINE HOEVEELHEDEN MANGAAN.

#### A. Methodes.

Wester<sup>81)</sup> heeft een overzicht gegeven van de verschillende methodes ter bepaling van kleine hoeveelheden mangaan. Hij komt na een kritisch onderzoek tot de conclusie, dat de oxydatie van het aanwezige mangaan tot permanganaat en het colorimetrisch vaststellen van de hoeveelheid permanganaat, de meestgeschikte methode is om kleine hoeveelheden mangaan in biologisch materiaal te bepalen.

Bij deze werkwijze heeft men het grote voordeel, dat het mangaan van te voren niet afgescheiden behoeft te worden.

Voor de oxydatie van het aanwezige mangaan maakt Wester in navolging van Marshal<sup>82)</sup> gebruik van  $K_2S_2O_8$  onder toevoeging van  $AgNO_3$  als katalysator.

Inplaats van  $K_2S_2O_8$  gebruiken Willard en Greathouse<sup>83)</sup>  $KJO_4$  om het aanwezige mangaan tot permanganaat te oxyderen. Volgens hen is de kleur van het permanganaat dan veel stabiel, terwijl het ook niet nodig is, om  $AgNO_3$  toe te voegen als katalysator, tenminste, wanneer er geen chloriden aanwezig zijn.

Ook Richards<sup>44)</sup> geeft de voorkeur aan de perjodaatmethode. Hij wijst er echter op, dat de H-ionenconcent-



tratie grote invloed heeft, vooral wanneer zeer kleine hoeveelheden mangaan bepaald moeten worden.

Na een onderzoek naar de meest geschikte waterstof-ionenconcentratie komt Richards tot de conclusie, dat de zwavelzuurconcentratie 5—6 % moet zijn. Hij verklaart, dat de moeilijkheden, die andere onderzoekers <sup>84)</sup> met de perjodaatmethode gehad hebben, een gevolg zijn van een verkeerde zuurgraad.

Ik besloot gebruik te maken van  $KJO_4$  als oxydatiemiddel voor de Mn-bepaling in de melkas. Daar ik ook het zinkgehalte van de as wilde bepalen, was het voor mij bovendien een groot voordeel, dat bij de perjodaatmethode het gebruik van  $AgNO_3$  als katalysator overbodig is.

Het zilver zou bij het neerslaan van zink als  $ZnS$  ook afgescheiden worden. Daarom zou het zilver dan eerst verwijderd moeten worden, waarvoor een aparte bewerking nodig zou zijn.

Voor gevallen, waarbij veel  $CaSO_4$  aanwezig is, zoals b.v. in de melkasoplossing, raadt Richards aan, dit van te voren te verwijderen. Hij voegt bij de as 25 cc kokend  $H_2SO_4$  33 %, roert flink door en laat afkoelen (liefst een nacht), daarna filtreert hij af. Het filtraat wordt tot droog ingedampt en opgenomen in 5—6 %  $H_2SO_4$ , waarna de oxydatie tot permanganaat kan plaats vinden.

Er bestaat volgens Richards bij een dergelijke werkwijze geen kans dat het Mn door het neerslag op een of andere wijze meegesleept wordt.

Skinner en Peterson <sup>45)</sup> verwijderen het Ca door bij de as fosforzuur te voegen. Nadat het mengsel met water enige tijd op het waterbad verwarmd is, om al het aanwezige Mn op te lossen, wordt het neerslag van de Ca-zouten na afkoeling afgefiltreerd.

Zoals reeds in hoofdstuk IV (blz. 25) beschreven is,

verwijderde ik de onoplosbare zouten voordat het Cu bepaald werd. Dit is dus voor de Mn-bepaling niet meer nodig. Vooral met het oog op de koperbepaling vond ik het een voordeel geen phosphorzuur te gebruiken. Dit zou de kans op verontreiniging met Cu vergroten, omdat het phosphorzuur niet door een eenvoudige destillatie metaalvrij te maken is.

#### B. Uitvoering van de mangaanbepaling.

Na de electrolyse wordt de asoplossing ingedampt in een kwartsdestilleerkolf tot een volume van ongeveer 2 cc, waarbij kwartsstukjes als kooksteentjes gebruikt worden. Tijdens het koken wordt het kolfje voortdurend in beweging gehouden. De inhoud van het kolfje wordt daarna overgespoeld in een buisje met een doorsnede van 10,5 mm. Het volume wordt aangevuld tot 4 cc met dubbelgedestilleerd water, zodat de oplossing wat het zwavelzuurgehalte betreft juist 5% wordt.

Wanneer echter de dithizon-bepaling gevolgd was voor het bepalen van het koper dan werd de oplossing in een kwartsdestilleerkolf geheel ingedampt en de mogelijk aanwezige organische stof werd door behandeling met rokend  $\text{HNO}_3$  geoxydeerd. Na afdampen van het  $\text{HNO}_3$  wordt de as met behulp van 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  overgespoeld in bovengenoemd buisje en eveneens aangevuld tot een volume van 4 cc.

Hierna wordt 0,3 g  $\text{KJO}_4$  toegevoegd en tot kooktemperatuur verwarmd. Het buisje wordt dan 25 minuten in een kokend waterbad geplaatst. Na afkoelen is de  $\text{KMnO}_4$  oplossing in het buisje gereed om colorimetrisch bepaald te worden. Hiertoe werd de te bepalen oplossing vergeleken met een serie standaardoplossingen.

Voor de standaardoplossingen gebruikte ik soortgelijke buisjes, terwijl de bekende hoeveelheid mangaan eveneens in 4 cc 5% zwavelzuur was opgelost en op de bovenbeschreven wijze tot permanganaat was geoxydeerd.

De gevoeligheid:

Het bleek mij, dat in dergelijke buisjes  $0,7\gamma$  Mn in een volume van 4 cc nog aan te tonen is. Hoeveelheden Mn tussen  $0,7$  en  $1,2\gamma$  kan men met een nauwkeurigheid van  $0,1\gamma$  bepalen; voor hogere concentraties zijn duidelijke verschillen in kleursterkte waar te nemen tussen hoeveelheden, die  $0,2\gamma$  verschillen.

Voor mijn onderzoek gebruikte ik een serie standaardoplossingen van  $0,7$  tot  $3\gamma$  Mn. Oplossingen, die minder dan  $1,2\gamma$  Mn bevatten verschilden onderling  $0,1\gamma$ ; was meer dan  $1,2\gamma$  Mn aanwezig, dan bedroeg het verschil  $0,2\gamma$ .

Om het invallen van stofdeeltjes en het in aanraking komen met oxydabele stoffen tegen te gaan, werden de buisjes na gebruik zorgvuldig afgesloten met stanniol. De kleur van de oplossingen blijft dan enige weken constant. Zekerheidshalve werden de standaardoplossingen om de twee weken vernieuwd, omdat bij gebruik het in aanraking komen met oxydabele stoffen niet geheel uit te sluiten is. Door de standaardoplossingen tussentijds nog eens op te koken, is het bovendien mogelijk, de maximum kleursterkte te herstellen.

De standaardoplossing van mangaan.

De standaardoplossing van mangaan wordt als volgt verkregen:  $0,144$  g  $\text{KMnO}_4$  (p.a.) worden in een maatkolf opgelost, waarna het volume op 1 L wordt gebracht. 1 cc van deze oplossing bevat dan  $50\gamma$  Mn. Hiervan wordt 20 cc genomen, die met 5%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  aangevuld wordt tot 1 L, zodat deze oplossing dan  $1\gamma$  Mn per cc bevat.

#### 1. Toevoeging van een bekende hoeveelheid mangaan.

Uit de volgende controlebepalingen is te zien, dat, wanneer een bekende hoeveelheid mangaan voor de verassing

aan de melk wordt toegevoegd, deze quantitatief wordt teruggevonden.

Tabel 8.

duplobepalingen aanwezige hoeveelheid Mn in $\gamma$		toegevoegde hoeveelheid Mn in $\gamma$	gevonden hoeveelheid Mn in $\gamma$	verschil in $\gamma$
0,9	1,0	0,5	1,5	+ 0,05
1,3	1,3	0,8	2,0	- 0,1
1,2	1,3	0,8	2,0	- 0,05
1,6	1,4	0,8	2,1	- 0,2
1,6	1,6	1,2	2,8	0,0



## HOOFDSTUK VIII.

### DE SCHEIDING VAN ZINK VAN DE ANDERE METALEN.

Voor de bepaling van zink in de melkas is het nodig het metaal van te voren af te scheiden.

#### A. Methodes van anderen.

Over de afscheiding van zink uit de as van biologisch materiaal zijn een aantal publicaties verschenen. De meeste methodes komen echter neer op de praecipitatie van zink als ZnS uit oplossingen met een bepaalde  $H^+$ -ionenconcentratie, wat door Waring <sup>85)</sup> het eerste is aangegeven.

Weiss <sup>86)</sup> gebruikte hiervoor een oplossing, die 0,01 N.  $H_2SO_4$  bevatte.

Birckner <sup>81)</sup> scheidde het ZnS af uit een oplossing, die zwak zuur gemaakt is met mierenzuur, waarbij methyloranje als indicator wordt gebruikt.

Bodansky <sup>87)</sup> vond het nodig om, inplaats van mierenzuur citroenzuur te gebruiken en voegde, indien de oplossing geen Ca bevatte, ook nog  $CaCO_3$  toe, zodat tegelijkertijd met het ZnS een neerslag van Ca-citraat ontstond, waardoor bereikt werd, dat ZnS zich beter afscheidde.

Fales en Ware <sup>88)</sup> waren de eersten, die nauwkeurig de samenhang tussen de ZnS-praecipitatie en de  $p_H$  van de oplossing onderzochten. Zij komen tot de conclusie, dat een

H-ionenconcentratie tussen  $10^{-2}$  en  $10^{-3}$  het meest geschikt is.

Dit wordt bevestigd door Fairhall en Richardson<sup>89)</sup>, die ook de invloed van de  $p_H$  onderzocht hebben. Volgens hen wordt bij een  $p_H = 3$  het ZnS quantitatief afgescheiden, terwijl het FeS in oplossing blijft. Bovendien is het neerslag van ZnS bij deze  $p_H$  niet slijmig, maar zandig.

Terwijl de H-ionenconcentratie ongetwijfeld de meest belangrijke factor voor de praecipitatie van ZnS is, zijn er ook andere factoren, die de praecipitatie beïnvloeden. Zo is er een voldoende zoutconcentratie nodig om te zorgen, dat ZnS niet colloïdaal opgelost blijft. In de oplossing van de melkas zijn echter voldoende zouten aanwezig, zodat hierbij geen toevoeging hoefde plaats te hebben.

Bovendien is de temperatuur van invloed. Fales en Ware<sup>88)</sup> en vele anderen raden aan om de oplossing tot kooktemperatuur te verhitten en daarna  $H_2S$  in te leiden tot het mengsel geheel bekoeld is. Het afgescheiden ZnS wordt dan grofkorrelig en is gemakkelijk te filtreren of te centrifugeren.

Fairhall en Richardson<sup>90)</sup>, Todd en Elvehjem<sup>52)</sup> maken bij hun bepaling gebruik van de co-praecipitatie van koper- en zinksulfide. In gevallen, waarbij niet veel koper aanwezig is, voegen zij 2 mg toe, voordat het  $H_2S$  wordt ingeleid. Het ZnS wordt hierdoor sneller afgescheiden.

Volgens Kolthoff<sup>91)</sup> is de werking van CuS niet specifiek en bevordert S eveneens de praecipitatie-snelheid van het ZnS.

Bij mijn proefnemingen bleek, dat wanneer er tegelijkertijd met het ontstaan van ZnS ook S werd afgescheiden, door de aanwezigheid van oxyderende stoffen, het ZnS zich na 1 nacht staan, quantitatief had afgezet.

Daar ik in de melkasoplossing eerst mangaan bepaald had, waardoor nog  $\text{KJO}_4$  en  $\text{KMnO}_4$  aanwezig waren, werd er altijd naast het  $\text{ZnS}$  een hoeveelheid S afgescheiden.

Zoals uit de volgende tabel te zien is, werd uit oplossingen met bekend zinkgehalte bij aanwezigheid van  $\text{KJO}_4$  en  $\text{KMnO}_4$  het  $\text{ZnS}$  quantitatief afgescheiden.

Tabel 9.

aanwezige hoeveelheid zink in $\gamma$	teruggevonden hoeveelheid zink in $\gamma$
200	194
300	289
400	396

Het was dus niet noodzakelijk vóór het inleiden van  $\text{H}_2\text{S}$   $\text{CuSO}_4$  toe te voegen. Door dit achterwege te laten, bespaarde ik mij de moeite later het toegevoegde koper weer te moeten verwijderen.

#### B. De gevolgde methode voor het afscheiden van zink.

Na het bepalen van het mangaan wordt de asoplossing in een wijde reageerbuis overgebracht en wordt zoveel  $\text{NH}_4\text{OH}$  toegevoegd tot zich een neerslag vormt.

Na toevoeging van een paar druppels broomphenolblauw als indicator wordt hierbij druppelsgewijze zoveel mierenzuur gebracht tot de oplossing juist geel is. Nu wordt 4 cc bufferoplossing toegevoegd. Deze buffer bevat 23 gram citroenzuur (p.a.) en 12 gram Na-citraat (p.a.) per 100 cc, terwijl de  $\text{p}_\text{H}$  door toevoeging van een van beiden op 3 is ingesteld.

Het volume van de oplossing bedraagt dan ongeveer 25 cc. Deze oplossing wordt verhit tot kooktemperatuur, waarna  $H_2S$  wordt ingeleid tot de vloeistof geheel bekoeld is. Hierna wordt het buisje, dat voor het inleiden van het  $H_2S$  gebruikt is, uit de vloeistof genomen en met  $H_2S$  water nagespoeld. De reageerbuis wordt met een kurk afgesloten. Voor het gebruik is de kurk met 15 %  $HCl$  gewassen en met dubbel gedestilleerd water nagespoeld.

Na 24 uur wordt het  $ZnS$  in een centrifugebuis gebracht, afgecentrifugeerd en de bovenstaande vloeistof wordt voorzichtig afgeschonken. Het praecipitaat wordt dan 2 maal met 5 cc  $H_2S$ -water gewassen, gecentrifugeerd en afgeschonken, waarna het  $Zn$  bepaald kan worden.

Opgemerkt moet nog worden, dat door middel van een blanco proef de zuiverheid van de gebruikte reagentia werd gecontroleerd.

### 1. Toevoeging van een bekende hoeveelheid zink.

Om na te gaan of bij de destructie en het afscheiden van het zink geen verliezen optreden, werd aan melk, waarvan het zinkgehalte bepaald was, een bekende hoeveelheid zink toegevoegd. Het zinkgehalte werd dan opnieuw bepaald.

Uit de volgende tabel is te zien, dat de resultaten bevredigend waren.

Tabel 10.

aanwezige hoeveelheid $Zn$ . in $\gamma$	toegevoegde hoeveelheid $Zn$ . in $\gamma$	gevonden hoeveelheid $Zn$ . in $\gamma$	fout in $\gamma$
272	160	423	— 9
311	200	525	+ 14
302	200	505	+ 3
302	200	491	— 11



## HOOFDSTUK IX.

### HET BEPALEN VAN HET AFGESCHIEDEN ZINK.

#### A. Methodes.

Gravimetrische, volumetrische, nephelometrische en colorimetrische methodes zijn gebruikt om kleine hoeveelheden zink te bepalen.

Zoals uit de literatuur bleek, is in 100 cc melk 200—800 $\gamma$  Zn aanwezig. Om deze hoeveelheid te bepalen komen slechts enkele methodes in aanmerking.

#### 1. Nephelometrische methode.

De nephelometrische methode, die het eerst aangegeven is door Mylius,<sup>92)</sup> is de bekendste methode om zink in biologisch materiaal te bepalen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de troebeling, die optreedt, wanneer bij een zinkoplossing  $K_4[Fe(CN)_6]$  wordt gevoegd.

Fairhall en Richardson<sup>89)</sup> kwamen bij hun kritisch onderzoek van deze methode tot de conclusie, dat alleen maar reproduceerbare resultaten verkregen werden, wanneer op verschillende factoren als zuurgraad, zoutconcentratie en tijd nauwkeurig gelet werd. Zij vergeleken de oplossingen in Nesslerbuizen van 50 cc en zorgden, dat de oplossing 0,002 N.  $H_2SO_4$  en 0,0268 N. KCl was. De nauwkeurigheid, waarmee op die manier het zink te bepalen is, bedraagt ongeveer 10%. Ik heb getracht, door voor het meten van de

troebeling gebruik te maken van een photo-electrische nephelometer, een grotere nauwkeurigheid te bereiken. Hoewel ik dezelfde zuurgraad en zoutconcentratie gebruikte als door Fairhall is aangegeven, is het mij niet gelukt een grotere nauwkeurigheid te bereiken dan 10%. Daar de nephelometrische methode bovendien veel tijd vergt, heb ik gezocht naar een andere wijze van bepalen.

## 2. Colorimetrische methodes.

Lutz <sup>93)</sup> geeft een colorimetrische methode aan voor het bepalen van zink, waarbij gebruik gemaakt wordt van de fluorescentie, die ontstaat wanneer urobiline wordt samengebracht met zink in ammoniakaal alcoholische oplossing. Volgens hem is deze methode te gebruiken voor hoeveelheden tot  $10\gamma$  zink.

Todd en Elvehjem <sup>52)</sup> hebben deze methode nagegaan, zij vonden deze zeer tijdrovend en bovendien onderzochten zij moeilijkheden bij hun pogingen om constante resultaten te verkrijgen, wanneer verschillende urobiline praeparaten gebruikt werden.

Zoals reeds bij de bepaling van koper met urobiline (blz. 33) is opgemerkt, zijn de urobiline-paeparaten uit de handel zeer onzuiver, terwijl de bereiding van grotere hoeveelheden urobiline een zeer langdurig en onaangenaam werk is. Daarom leek mij deze methode minder geschikt voor mijn onderzoek.

Todd en Elvehjem <sup>52)</sup> beschrijven een methode, die berust op de praecipitatie van zink als zinkammoniumphosphaat en het colorimetrisch bepalen van het daarin aanwezige phosphaat.

Volgens Hibbard <sup>94)</sup> is het zeer moeilijk om het phosphaat, dat niet aan het zink gebonden is te verwijderen, waardoor gemakkelijk fouten gemaakt kunnen worden.

### 3. Polarografische methode.

Heyrovsky <sup>95)</sup> geeft aan, dat zeer kleine hoeveelheden zink met de polarograaf bepaald kunnen worden met een nauwkeurigheid van 5 tot 10%.

Bij deze methode wordt de oplossing van het te bepalen metaal geëlectrolyseerd met oplopende klemspanning, terwijl het verloop van de spanning en de stroomsterkte nauwkeurig wordt geregistreerd.

Wordt tijdens het opvoeren van de spanning de ontledingspanning van een bepaald metaal bereikt, dan stijgt de stroomsterkte plotseling. Uit de geregistreeerde kromme is het aantal coulombs af te lezen, die voor de afscheiding van het metaal gebruikt zijn en hieruit is dan de aanwezige hoeveelheid van het metaal te berekenen.

De polarograaf was echter niet tot mijn beschikking.

### 4. Volumetrische methodes.

De titratie van zink met  $K_4[Fe(CN)_6]$  is door verschillende onderzoekers voorgesteld.

Fahlberg <sup>96)</sup> gebruikt uraanitraat, dat met ferrocyanide bruin uranylferrocyanide geeft, als indicator.

Deze methode is ook voor de zinkbepaling in biologisch materiaal gebruikt door Hubbell en Mendel. <sup>19)</sup> Volgens Todd en Elvehjem <sup>52)</sup> is deze methode echter niet meer te gebruiken voor hoeveelheden minder dan 500 $\gamma$ .

Cone en Cady <sup>97)</sup> gebruiken bij deze titratie diphenylamine of diphenylbenzidine als indicator. Dit zijn oxydatie-reductie-indicatoren, die in zure oplossing door ferricyanide donkerblauw tot violet gekleurd worden. Bevat deze ferricyanide oplossing echter zeer weinig ferrocyanide, dan treedt geen blauwkleuring meer op. Hiervan wordt gebruik gemaakt bij de titratie van het zink.

Volgens Kolthoff <sup>98)</sup> is de omslag bij zeer verdunde zinkoplossingen (0,002 molair) niet duidelijk meer. Daarom heb ik ervan afgezien deze methode, die bij grotere hoeveelheden goede resultaten geeft, te gebruiken.

Mousseron <sup>99)</sup> beschrijft een zinkbepaling, waarbij het aanwezige zink neergeslagen wordt met  $K_4[Fe(CN)_6]$  en het  $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_2$ , dat ontstaat, wordt omgezet met  $NH_4OH$  en  $AgNO_3$ . Volgens Mousseron vormt zich dan  $Ag_4[Fe(CN)_6]$ . De overmaat  $AgNO_3$  wordt teruggetitreerd met  $KCNS$ .

Bij het nawerken van deze methode bleek mij, dat hiermede inderdaad goede resultaten worden verkregen.

Tabel 11.

Aanwezige hoeveelh. Zn. in $\gamma$	teruggetitreerde hoeveelh. Zn. in $\gamma$
200	194
300	311
400	384
500	491

Zoals uit bovenstaande tabel te zien is, kunnen hoeveelheden zink, welke ongeveer in 100 cc melk aanwezig zijn, bepaald worden met een nauwkeurigheid van 20 $\gamma$ . Ik besloot daarom deze methode toe te passen.

#### B. Beschrijving van de gevolgde methode.

Zoals in het vorige hoofdstuk beschreven is, is het zink als  $ZnS$  neergeslagen, afgecentrifugeerd en met  $H_2S$  water gewassen.



Bij het ZnS in de centrifugebuis wordt 0,5 cc sterk HCl gevoegd, de buis wordt in kokend water geplaatst en daarna wordt druppelsgewijze 0,3 cc  $\text{H}_2\text{O}_2$  30 % toegevoegd om de aanwezige zwavel te oxyderen.

De inhoud van de centrifugebuis wordt overgespoeld in een kwarts schaalpje. De oplossing wordt op het waterbad tot bijna droog ingedampt om het  $\text{Cl}_2$  en  $\text{H}_2\text{O}_2$  te verwijderen. De rest wordt in water opgenomen en weer overgebracht in de centrifugebuis. Het volume bedraagt dan 6 cc. Hieraan wordt 0,4 cc  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  5 % toegevoegd en 0,5 g  $\text{KNO}_3$ . De buis wordt geplaatst in een waterbad van  $50^\circ$ . Het  $\text{K}_2\text{Zn}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$  neerslag, dat zich vormt wordt na een half uur afgecentrifugeerd. De bovenstaande vloeistof afgeschonken en het neerslag nagewassen met tweemaal 4 cc 5 %  $\text{KNO}_3$ -oplossing. Bij het praecipitaat wordt 2 cc 0,02 N.  $\text{AgNO}_3$ -oplossing gebracht en 0,3 cc  $\text{NH}_4\text{OH}$  25 %.

Nadat, door middel van een roerstaaf, het praecipitaat in de bovenstaande vloeistof is verdeeld, wordt de centrifugebuis in kokend water gebracht en 1 minuut gekookt. Hierna wordt het mengsel snel afgekoeld, aangezuurd met 1 cc  $\text{HNO}_3$  4N. en overgebracht in een 50 cc erlenmeyer.

Na toevoeging van 0,4 cc 5 % ferriammoniumaluin wordt de overmaat  $\text{AgNO}_3$  volgens Volhard met 0,02 N.  $\text{NH}_4\text{CNS}$  uit een microburet teruggetitreerd onder voortdurend schudden.

De gebruikte reagentia:

1. Het HCl,  $\text{NH}_4\text{OH}$  en  $\text{HNO}_3$  waren pro analyse praeparaten van de firma Kahlbaum.

Voor 't gebruik werd nagegaan of met  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  een neerslag gevormd werd.

2. Het  $\text{H}_2\text{O}_2$  was een pro analyse praeparaat van Merck.

3. De 5 %  $K_4[Fe(CN)_6]$ -, de 5 %  $KNO_3$ - en de 5 % ferrialluinoplossing werden bereid door oplossen van pro-analyse praeparaten in dubbel gedestilleerd water, terwijl de laatste aangezuurd werd met een weinig  $HNO_3$ .

4. De 0,02 N.  $AgNO_3$ -oplossing werd verkregen door verdunnen van 0,1 N. oplossing, die gesteld was op zuiver  $NaCl$ .

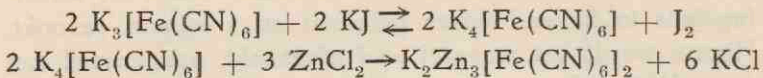
5. Tenslotte bereidde ik de 0,02 N.  $NH_4CNS$ -oplossing door afwegen van ongeveer 1,8 g  $NH_4CNS$  p.a. en deze tot 1 L te verdunnen.

Deze oplossing werd gesteld met 0,02 N.  $AgNO_3$ -oplossing.

### C. De methode van Lang.

Hoewel de vorige bepalingmethode van zink goede resultaten gaf, ben ik er later toe overgegaan een andere methode, die minder bewerkelijk was te gebruiken.

Deze is een modificatie van de door Lang<sup>100)</sup> beschreven jodometrische titratie en berust op de volgende reactie's:



Indien geen zink aanwezig is, heeft de eerste reactie natuurlijk ook plaats, dan wordt echter het evenwicht snel bereikt, zodat deze reactie geen storende omvang aanneemt, zoals blijkt, wanneer een blanco proef gedaan wordt. Er ontstaat dan wel een zeer zwakke blauwe kleur, deze verdwijnt echter na toevoeging van 1 à 2 dr. 0,001 N.  $Na_2S_2O_3$ -oplossing. Er wordt dan wel weer opnieuw  $J_2$  gevormd, omdat het evenwicht zich weer instelt, maar de  $p_H$  is bij de titratie zo gekozen, dat dit slechts zeer langzaam plaats heeft, zodat het eindpunt zeer goed te bepalen is. Opgemerkt moet worden, dat Lang zelf het verloop van de reactie enigszins anders

verklaart. De verklaring, zoals ik deze hierboven gegeven heb, lijkt mij echter de juiste.

Hibbard<sup>101)</sup> heeft deze titratie uitgewerkt voor hoeveelheden zink van 50 tot 1000 $\gamma$ . Nadat ik deze methode nagewerkt had, bleek mij, dat hiermede goede resultaten te bereiken zijn, zoals uit de tabel blijkt.

Tabel 12.

Aanwezige hoeveelheid Zn. in $\gamma$	aantal cc 0,002 N. thio.
400	2,12
300	1,60
200	1,08

### 1. De uitvoering van de bepaling.

Voor deze bepaling zijn de volgende reagentia, bereid uit p.a. praeparaten, nodig:

1. Een fosfaatbuffer, die gemaakt wordt uit 25 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 5 gr  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , opgelost in 100 cc dubbelgedestilleerd water. De  $p_{\text{H}}$  wordt ingesteld op 3 door toevoeging van zuur of alkali. Voor het gebruik wordt deze buffer 10 maal verdund.

2. Een 20% oplossing van KJ in water.

3. Een 0,5% zetmeeloplossing in water.

4. Een 1%  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  oplossing in water, die elke dag vers gemaakt wordt.

5. Een  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  oplossing van ongeveer 0,002 N. Deze wordt bereid door een 0,1 N. oplossing te verdunnen met uitgekookt koud water.

De titer van de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  oplossing moet iedere dag gecontroleerd worden.

Het  $\text{ZnS}$ , dat afgecentrifugeerd en nagewassen is op dezelfde wijze als bij de vorige methode besproken is, wordt opgelost in 2 cc 4 N.  $\text{HCl}$  en overgespoeld in een wit porcelein schaalje. Daarna wordt op het waterbad tot droog ingedampt. Nu wordt 0,5 cc verdunde fosfaatbuffer toegevoegd en vervolgens 2 druppels  $\text{KJ}$ -oplossing, 3 druppels zetmeeloplossing en 3 druppels  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ -oplossing toegevoegd.

Er ontstaat direct een blauwe kleur bij aanwezigheid van zink. Men titreert nu langzaam met  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oplossing uit een micro-buret, tot de blauwe kleur omslaat naar zuiver geel. Deze omslag is zeer goed te zien in een porcelein schaalje. Na een paar minuten komt de blauwe kleur weer terug, maar hierop wordt geen acht geslagen.

Het stellen van de thiosulfaatoplossing:

De thiosulfaatoplossing wordt gesteld, door deze te titreren met een bekende hoeveelheid zink.

De bekende hoeveelheid (meestal 300 $\gamma$  in 3 cc) wordt ook op het waterbad ingedampt en geheel op de beschreven wijze behandeld.

Alleen dan worden kloppende resultaten verkregen, indien langzaam getitreerd wordt.

---



## HOOFDSTUK X.

### RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK BETREFFENDE HET KOPER-, MANGAAN- EN ZINKGEHALTE VAN MELK.

Volgens de methodes, beschreven in de vorige hoofdstukken, werd het koper-, mangaan- en zinkgehalte van een groot aantal melkmonsters onderzocht.

#### A. De monsters.

Van het Rijksproefstation te Hoorn ontving ik wekelijks een aantal melkmonsters. De eerste 17 weken werd deze melk op de daar gebruikelijke wijze opgevangen en behandeld. In met chroomzuur gereinigde en daarna uitgestoomde flessen werd de melk naar Utrecht verzonden.

Om verontreiniging zoveel als enigzins mogelijk is te voorkomen, werd de melk later direct in flessen, die ook met chroomzuur waren gereinigd en daarna op de gebruikelijke wijze uitgestoomd, gemolken.

Door bemiddeling van Dr. van der Plank ontving ik van de Veeartsenijkundige Hogeschool eveneens monsters koemelk, die ook in speciaal gereinigd glaswerk werden opgevangen.

#### B. De koemelk uit Hoorn.

De koeien uit Hoorn werden speciaal gebruikt om de invloed na te gaan van de voeding op het koper-, mangaan- en zinkgehalte van de melk.

Hiervoor kregen zij een wisselend diëet, waarvan hieronder de samenstelling en de tijdsduur volgt.

Periode 1:

Van 4 Maart—7 April ontvingen de koeien:

18 kg zoutzuursilage \*)

7 kg hooi

en een hoeveelheid krachtvoer, die wisselde van 1,4-6,0 kg.

Het krachtvoermengsel bestond uit:

1 dl suikerpulp

1 dl cocosmeel

1 dl maismeel

1 dl gerstemeel

1 dl lijnmeel

$\frac{3}{4}$  dl grondnotenmeel.

Periode 2:

Van 7 April—16 Mei.

18 kg Hollands silage \*\*)

7 kg hooi

en eveneens een wisselende hoeveelheid krachtvoer.

Periode 3<sub>A</sub>:

Van 22 Mei—16 October waren de dieren in de weide, koe no. IV bleef tot 16 November buiten.

Periode 3<sub>B</sub>:

Gedurende de laatste tijd van de weideperiode werden tulpenbollen en een weinig lijnmeel bijgevoerd. Koe nummer IV kreeg daarna vanaf 3 October gedroogde bietenpulp extra bijgevoerd in de weide.

\*) Zoutzuur silage is gras, dat met HCl en een weinig suiker is ingekuuld.

\*\*) Hollands silage wordt zonder toevoeging van zuur ingekuuld.

Na deze weideperiode zijn de koeien II, V en VII om financiële redenen uit de proef genomen.

#### Periode 4:

Van 16 October tot eind December kregen de koeien III en VI op stal een hooi- en krachtvoerrantsoen. Koe I kwam in deze periode voor de voederproef niet meer in aanmerking, daar deze tussentijds gekalfd had.

Koe IV kreeg vanaf 16 November:

6 kg hooi

16 kg kuilgras

1 kg krachtvoer, terwijl deze de 1e week op stal bovendien nog bloembollen als bijvoer werden verstrekt.

Opgemerkt moet worden, dat de gebruikte diëten in de praktijk voorkomen, of wel practisch doorvoerbaar zijn.

#### 1. Het koper-, mangaan- en zinkgehalte van eerste en laatste melk.

Omdat er verschil in samenstelling bestaat tussen de melk, die bij het melken van de koe het eerst opgevangen wordt, en latere melk, heb ik van enige koeien zowel de eerste als de laatste melk onderzocht.

De verschillen, die in het koper-, mangaan- en zinkgehalte gevonden werden, lagen echter binnen de proeffout, zoals uit de tabel te zien is.

Tabel 13.

1e melk			laatste melk		
Cu in $\gamma/L$	Mn in $\gamma/L$	Zn in mg/L	Cu in $\gamma/L$	Mn in $\gamma/L$	Zn in mg/L
27,5	11	3,06	29,0	11	2,99
45,0	10	3,50	43,0	10	3,57
35,0	9	2,99	36,0	8	3,14
22,0	16	4,23	21,0	17	4,23

In de tabellen 14—20 zijn de resultaten van het onderzoek betreffende de koemelk uit Hoorn aangegeven.

Tabel 14.  
Koe nummer I.

Periode.	Data.	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
1.	1—3	200	15	3,11
	8—3	100	9	2,53
	15—3	90	8	2,72
	22—3	90	12	3,50
	29—3	150	7	4,23
2.	12—4	102	9	3,50
	19—4	58	8	3,79
	26—4	74	9	3,02
	3—5	82	10	3,50
	10—5	60	8	3,21
	17—5	125	10	3,79
3 <sub>A</sub> .	24—5	75	8	3,02
	31—5	66	10	2,43
	7—6	115	12	1,94
	14—6	93	9	1,94
	21—6	85	8	2,53
	28—6	98	8	3,02
In uitgestoomd glaswerk opgevangen.	5—7	25	7	3,84
	12—7	30	9	4,91
	19—7	20	9	3,31
	25—7	22,5	10	4,81
	9—8	45	17	3,89
partus.	25—10	140	< 7	5,93
	1—11	102	7	5,25
	7—11	54	9	4,86
	15—11	46	14	4,86
	22—11	33	10	3,89
	29—11	39	12	3,99
	13—12	35	12	3,70
	3—1	36	10	—



Tabel 15.  
Koe nummer II.

Periode.	Data.	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
1.	1—3	112	8	3,11
	8—3	88	9	3,79
	15—3	90	8	2,72
	22—3	92	9	3,50
	29—3	250	8	3,21
2.	12—4	154	10	2,53
	19—4	76	8	3,02
	26—4	100	9	3,21
	3—5	105	10	3,89
	10—5	95	9	3,50
	17—5	92	8	3,79
3 <sub>A</sub> .	24—5	81	9	3,89
	31—5	102	7	3,50
	7—6	230	10	2,53
	14—6	208	10	2,43
	21—6	155	7	3,11
	28—6	75	7	3,89
In uitgestoomd glaswerk opgevangen.	5—7	25	9	3,21
	12—7	25	8	2,72
	19—7	31	12	4,18
	25—7	20	10	4,08
	9—8	67	14	4,46
	23—8	50	9	3,79
	6—9	35	9	3,11
3 <sub>B</sub> .	20—9	34	13	3,26
	4—10	27	28	4,46
	18—10	26	28	3,99

Tabel 16.  
Koe nummer III.

Periode.	Data.	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
1.	1—3	150	12	3,60
	8—3	80	9	3,02
	15—3	92	8	2,72
	22—3	92	7	3,50
	29—3	200	8	3,99
2.	12—4	80	9	3,02
	19—4	150	11	—
	26—4	102	10	3,02
	3—5	140	8	3,50
	10—5	160	8	3,99
	17—5	120	8	3,79
3 <sub>A</sub> .	24—5	102	8	2,72
	31—5	90	11	3,08
	7—6	185	14	2,53
	14—6	115	10	2,43
	21—6	130	14	—
	28—6	142	12	3,50
In uitgestoomd glaswerk opgevangen.	5—7	35	16	3,50
	12—7	20	9	2,63
	19—7	20	12	2,04
	25—7	30	14	2,92
	9—8	38	12	3,50
	23—8	20	—	—
	6—9	30	9	3,21
3 <sub>B</sub> .	20—9	22	30	3,21
	4—10	26	29	3,94
4.	18—10	29	26	4,23
	25—10	30	20	3,94
	1—11	22	18	4,08
	7—11	28	18	4,52
	15—11	30	16	3,94
	22—11	25	12	4,23
	29—11	25	12	3,65

Tabel 17.  
Koe nummer IV.

Periode.	Data.	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
3 <sub>A</sub> .	5—7	25	8	2,53
	12—7	20	9	2,43
	19—7	15	7	3,08
	25—7	22,5	9	2,43
	9—8	22,5	10	3,45
	23—8	25	14	3,73
	6—9	22	16	4,23
3 <sub>B</sub> .	20—9	26	20	4,47
	18—10	27	22	4,96
	25—10	20	24	—
	1—11	33	35	4,47
	7—11	25	40	4,52
	15—11	25	37	3,99
4.	22—11	15	40	3,94
	29—11	18	35	3,79

Tabel 18.  
Koe nummer V.

Periode.	Data.	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
3 <sub>A</sub> .	5—7	18	9	4,66
	12—7	15	14	3,89
	19—7	15	10	3,21
	25—7	25	9	2,72
	9—8	30	9	3,21
	23—8	21	12	3,11
	6—9	18	11	3,07
3 <sub>B</sub> .	20—9	20	18	3,79
	4—10	19	22	4,71
	18—10	21	22	4,66

Tabel 19.  
Koe nummer VI.

Periode.	Data.	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
3 <sub>A</sub> .	5—7	30	9	2,63
	12—7	25	8	3,21
	19—7	15	10	3,50
	9—8	22	11	3,50
	23—8	25	14	3,02
	6—9	29	10	3,21
3 <sub>B</sub> .	20—9	25	20	3,41
	4—10	23	29	3,41
4.	18—10	42	24	3,07
	25—10	51	22	4,03
	1—11	33	20	4,47
	7—11	33	20	4,47
	15—11	47	20	3,94
	22—11	30	16	3,07
	6—12	28	20	3,79
	27—12	30	20	3,50

Tabel 20.  
Koe nummer VII.

Periode.	Data.	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
3 <sub>A</sub> .	5—7	24	9	2,92
	12—7	30	10	3,21
	19—7	15	8	3,07
	25—7	22,5	—	2,58
	9—8	23	10	3,45
	23—8	25	14	2,72
	6—9	45	10	3,50
3 <sub>B</sub> .	20—9	29	20	—
	4—10	28	25	3,55
	18—10	33	30	4,86



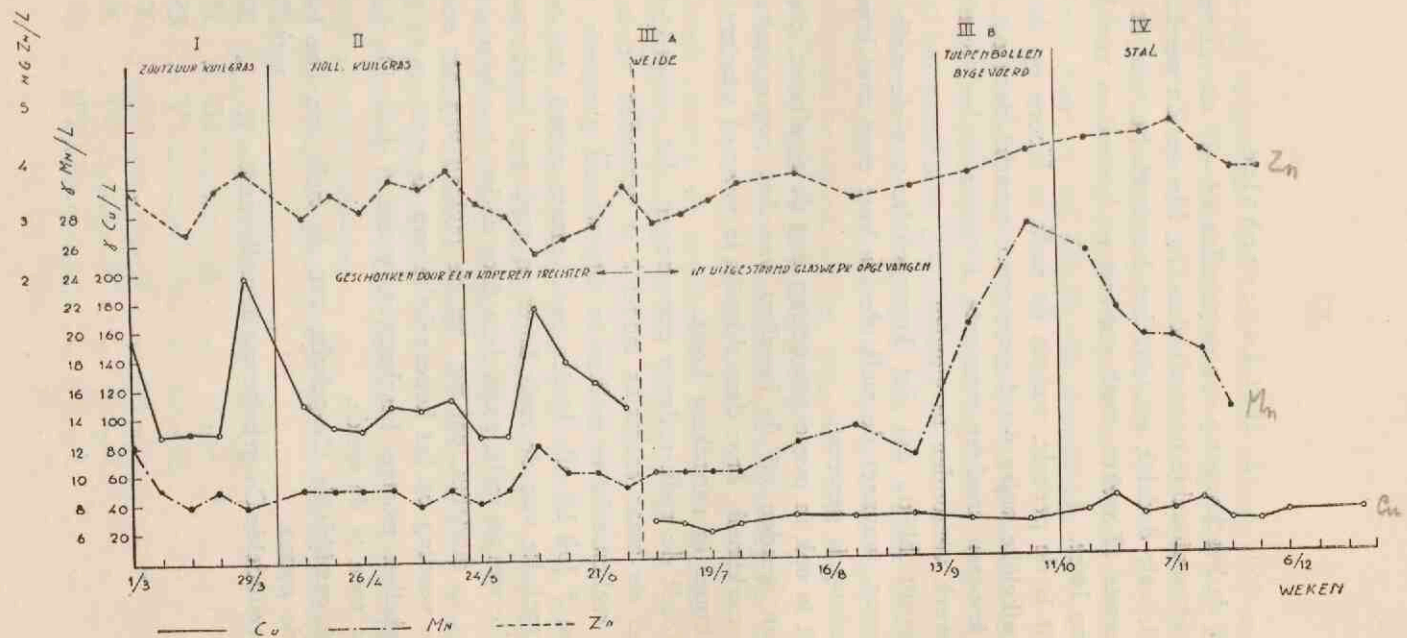


Fig. IV.

## 2. Het kopergehalte.

Bij de beschouwing van de tabellen 14—20 en van fig. IV, die de gemiddelde hoeveelheden Cu, Mn en Zn per L. aangeeft, valt dadelijk op, dat het kopergehalte van de melk de eerste 17 weken sterk varieert en bovendien veel hoger is dan later.

Dit is de periode, waarin de melk in Hoorn op de daar gebruikelijke wijze werd gewonnen, waarbij deze o.a. door een koperen trechter stroomde, alvorens in het gereinigde glaswerk verzonden te worden.

Hieruit blijkt, dat het kopergehalte van de melk sterk toeneemt, wanneer de melk slechts heel even met koper in aanraking is geweest.

Dit is ook in overeenstemming met de resultaten, die verkregen werden bij de bepaling van het kopergehalte van zgn. marktmelk, daar deze dikwijls in meer of mindere mate met koper in aanraking komt.

Wordt de melk zodanig opgevangen, dat verontreiniging zoveel als maar enigszins mogelijk is vermeden wordt, dus door rechtstreeks te melken in uitgestoomd glaswerk, zoals dit na 5 Juli bij alle koeien heeft plaats gehad, dan is het kopergehalte van de melk lager en geeft een beeld van het gehalte van de melk, zoals deze door de koe is geproduceerd.

Het is duidelijk, dat we, om de invloed van het seizoen en de voeding op het kopergehalte van de melk na te gaan, de tabellen moeten beschouwen vanaf 5 Juli. De koeien waren toen in de weide.

	Het gemiddelde Cu-gehalte van de melk van koe I	vóór de partus	was	28 $\gamma$ /L
	Het gemiddelde Cu-gehalte van de melk van koe II		„	30 $\gamma$ /L
„	„	„	„	III „ 27 $\gamma$ /L
„	„	„	„	IV „ 23 $\gamma$ /L
„	„	„	„	V „ 20 $\gamma$ /L
„	„	„	„	VI „ 30 $\gamma$ /L
„	„	„	„	VII „ 27 $\gamma$ /L

Bij het vergelijken van bovenstaande cijfers, zien we, dat de melk van de verschillende koeien ongeveer een zelfde kopergehalte heeft en dat er van onderlinge verschillen van enige betekenis eigenlijk geen sprake is.

Tijdens de weideperiode varieerde het kopergehalte van de melk van 15 tot 50  $\gamma$ /L, de gemiddelde waarde was 26  $\gamma$ /L.

De hoeveelheid koper, die de melk van de koeien III, IV en VI tijdens de stalperiode bevatte, lag tussen 15 en 51  $\gamma$ /L, terwijl het gemiddelde 30  $\gamma$ /L was.

Het kopergehalte van de melk van koe I geeft tijdens de stalperiode hogere waarden. Hiervoor is echter een andere oorzaak aan te wijzen, nl. het feit, dat deze koe gekalfd heeft. Hierop kom ik later nog terug.

Er treedt dus weinig verschil in kopergehalte op in de verschillende perioden. (zie fig. IV).

Hieruit moeten we concluderen, dat noch seizoen, noch voeding invloed hebben op het kopergehalte van de melk.

### 3. Het mangaangehalte.

Zoals wel te verwachten was, is de invloed van de wijze van opvangen van de melk, zoals dit in het algemeen geschiedt niet merkbaar, hetgeen blijkt uit de cijfers van het gehalte tijdens de weideperiode, wanneer de melk al of niet in glas werd opgevangen.

Gedurende de eerste drie perioden bleef het mangaangehalte praktisch constant.

Het gemiddelde mangaangehalte gedurende de perioden 1, 2 en 3<sub>A</sub>

van de melk van koe I	was	9 $\gamma$ /L
van koe II		9 $\gamma$ /L
van koe III		10 $\gamma$ /L
van koe IV		10 $\gamma$ /L
van koe V		10 $\gamma$ /L
van koe VI		10 $\gamma$ /L
van koe VII		10 $\gamma$ /L

Hieruit is te zien, dat ook individuele verschillen praktisch niet optreden.

Toen echter tulpenbollen bijgevoerd werden in de weide (periode 3<sub>B</sub>) steeg het mangaangehalte van de melk van alle koeien merkbaar. Dit verhoogde mangaangehalte bleef zelfs enige tijd gehandhaafd in de daarop volgende stalperiode.

Laten we hier weer koe I buiten beschouwing, dan zien we bij de koeien II, III, V, VI en VII gedurende deze periode een toeneming van het mangaangehalte tot resp. 28, 30, 22, 29 en 30 $\gamma$  Mn per L.

De melk van koe III en VI, die nog tijdens de hieropvolgende stalperiode onderzocht werd, gaf gedurende die tijd een langzame daling van het mangaangehalte te zien. Bij koe IV, die langer in de weide bleef, steeg het gehalte gedurende deze langere weideperiode zelfs tot 40  $\gamma$ /L.

Deze koe kreeg eveneens tulpenbollen bijgevoerd en tijdens de verdere weideperiode gedroogde bietenpulp. Het mangaangehalte van de melk bleef toen stijgen. Ook toen deze koe op stal was, kreeg zij de eerste week nog bloembollen extra. Het mangaangehalte van de melk bleef hoog.

Zowel het bijvoeren van bloembollen als van bietenpulp blijkt dus invloed te hebben op het mangaangehalte van de melk.

#### 4. Het zinkgehalte.

Ook wat het zinkgehalte betreft, blijkt uit de tabellen 14—20, dat het al of niet opvangen in glas geen merkbare invloed heeft. We kunnen dus wel aannemen, dat de waarden, verkregen vóór 5 Juli, ongeveer een beeld geven van de werkelijk geproduceerde zinkhoeveelheden.

Het zinkgehalte van alle monsters, afgezien van de melk van koe I na de partus, varieerde van 1,94—4,96 mg/L, terwijl het gemiddelde 3,43 mg/L bedroeg.



Over 't algemeen blijkt het zinkgehalte het laagst te zijn, bij het begin van de weideperiode. Aan het einde van de zomer zien we weer een toeneming van het zinkgehalte. Gezien de vrij grote fluctuaties, die kunnen optreden in het gehalte van monsters, die in twee opeenvolgende weken genomen waren, is de toeneming echter te klein, om hieraan bijzondere waarde te hechten.

Hoewel we dus wel enige invloed van seizoen of voeding kunnen waarnemen, is deze niet van betekenis.

Tabel 21.

Het gemiddelde zinkgehalte van de melk van koe I vóór de partus was	3,30 mg/L
Het zinkgehalte van de melk van koe II was	3,07 mg/L
" " " " " " " " koe III	" 3,41 mg/L
" " " " " " " " koe IV	" 3,71 mg/L
" " " " " " " " koe V	" 3,70 mg/L
" " " " " " " " koe VI	" 3,53 mg/L
" " " " " " " " koe VII	" 3,31 mg/L

Ook hierbij zijn de individuele verschillen, die optreden dus minimaal.

### C. Het koper-, mangaan- en zinkgehalte van koemelk na de partus.

Tot nog toe zijn het Cu-, Mn- en Zn-gehalte van de melk van koe I na de partus buiten beschouwing gebleven. Deze koe kalfde 12 October en 12 dagen hierna ontving ik het eerste monster melk.

Uit tabel 14 en nog beter uit Fig. V is te zien, dat zowel een verhoogd koper- als zinkgehalte gevonden werd. Dit hoge kopergehalte daalde langzaam gedurende de volgende weken, 6 weken na de partus was het kopergehalte weer ongeveer normaal, terwijl de zinkhoeveelheid 4 weken na de

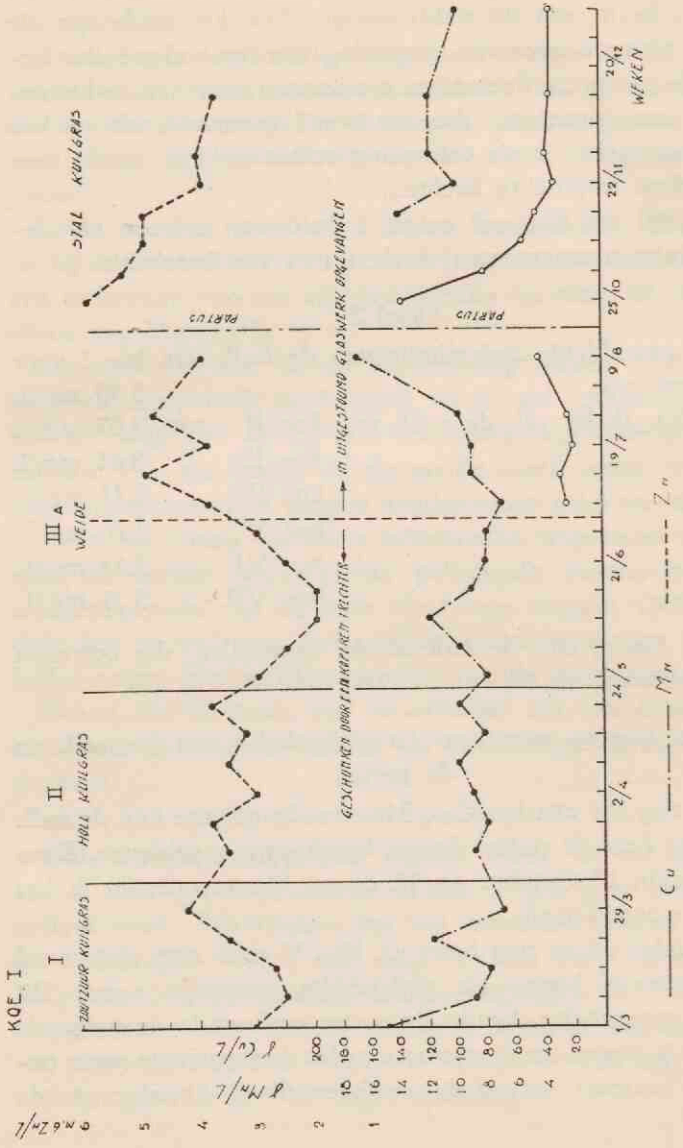


Fig. V.

partus reeds weer de maximum waarde van de in normale koemelk aanwezige hoeveelheid had bereikt.

Het mangaangehalte vertoonde niet een dergelijke toene-  
ming; in het eerste monster kon ik geen mangaan aantonen,  
zodat deze dus minder dan  $7\gamma$  per L bevatte.

Tabel 22.

Biest.

	Cu in $\gamma$ /L	Mn in $\gamma$ /L	Zn in mg/L
1 <sup>e</sup> melk na de partus	160	< 7	5,84
2 <sup>e</sup> " " " "	104	< 7	4,21
3 <sup>e</sup> " " " "	77	8	3,77

Naar aanleiding van deze resultaten onderzocht ik enige monsters biest, die ik van de Veeartsenijkundige Hogeschool ontvang.

Ook hierin werd een verhoogd koper- en zinkgehalte gevonden (zie tabel 22).

In tegenstelling met het koper- en zinkgehalte was het mangaangehalte van biest lager dan dat van normale koemelk, evenals dit bij koe I het geval was. In de 3e biest kon ik  $8\gamma$  per L aantonen, terwijl het mangaangehalte van de eerste 2 monsters minder dan  $7\gamma$ /L was.

In 3 monsters biest van andere koeien vond ik 8, 9 en  $7\gamma$ /L. Deze waarden verschillen dus niet noemenswaard van die, welke ik gevonden heb bij normale melk.

#### D. Marktmelk.

Zoals uit het voorgaande gebleken is, heeft melk, die slechts korte tijd met koper in aanraking is geweest reeds een veel hoger kopergehalte. Het is dan ook wel te verwachten, dat het kopergehalte van marktmelk zeer sterk wisselt

en afhangt van de wijze, waarop de melk is behandeld en bewaard, d.w.z. of de melk veel of weinig met koper in aanraking is geweest.

In tabel 23 zijn de waarden aangegeven van 6 monsters rauwe marktmelk, die van verschillende leveranciers betrokken werden.

Deze 6 waarden geven reeds een inzicht van de grote verschillen, die in het kopergehalte van rauwe marktmelk kunnen worden gevonden.

Het is duidelijk, dat het kopergehalte van gepasteuriseerde melk ook dergelijke wisselende waarden te zien kan geven, die bovendien nog zeer veel hoger kunnen zijn door de verhitting in de pasteurisator. Dit is echter geheel afhankelijk van de aard van het oppervlak, waarmee de melk tijdens het pasteuriseren in aanraking komt. Bovendien zullen factoren als tijdsduur en temperatuur ook een rol spelen.

In melk, die gepasteuriseerd was volgens de Stassano-methode, vond ik  $81\gamma/L$ , dit is dus niet hoger dan in gewone marktmelk. In de literatuur zijn echter verschillende gevallen beschreven, waarbij het kopergehalte van gepasteuriseerde melk hoger is dan van gewone rauwe marktmelk.

Het Mn- en Zn-gehalte van marktmelk kwam geheel overeen met dat van in glas opgevangen melk.

Tabel 23.

## Marktmelk.

Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
81	22	3,02
280	20	3,72
62	12	3,11
360	17	2,72
91	24	3,89
130	26	3,11



### E. Moedermelk.

Om een inzicht te krijgen in de verhouding tussen het metaalgehalte van moedermelk en dat van koemelk, werden 4 monsters moedermelk onderzocht.

Deze monsters ontving ik van de Kliniek voor Kinder-geneeskunde te Utrecht. Ook deze melk werd zodanig op-gevangen, dat verontreiniging uitgesloten was.

Het kopergehalte van de moedermelk is veel hoger dan dat van koemelk. (Zie tabel 24).

Wat het mangaangehalte betreft: in 1 monster was slechts 0,7 $\gamma$  in 100 cc melk aan te tonen. De andere 3 monsters waren kleiner dan 100 cc. Hierin kon ik geen mangaan meer aantonen.

Het zinkgehalte van moedermelk verschilt niet van dat van koemelk.

Tabel 24.

#### Moedermelk.

	Cu in $\gamma$ /L	Mn in $\gamma$ /L	Zn in mg/L
I	440	—	4,06
II	512	—	3,36
III	430	7	3,11
IV	440	—	3,50

### F. Geitenmelk.

In verband met de veronderstelling, dat de oorzaak van anaemie tengevolge van voeding met geitenmelk te vinden zou zijn in een te laag kopergehalte, heb ik 2 monsters geitenmelk onderzocht.

Deze melk, die rechtstreeks in gereinigd en uitgestoomd glaswerk werd opgevangen, was afkomstig van een geit, die in de stallen van het laboratorium aanwezig was.

Zowel het koper- als het mangaangehalte van deze melk bleken hoger te zijn dan het overeenkomstige gemiddelde gehalte van koemelk (tabel 25).

Het zinkgehalte echter stemt overeen met dat van koemelk.

Bij vergelijking van het kopergehalte van de beide melksoorten is het dus wel zeer onwaarschijnlijk, dat geitenmelk tengevolge van een te laag kopergehalte eerder anaemie zou veroorzaken dan koemelk.

De meeste koemelk komt voor de consumptie echter veel meer in aanraking met koper (in fabrieken en door pasteurisatie) dan geitenmelk, die meestal niet verhandeld en daardoor minder met koper verontreinigd wordt. Op deze wijze zou dus de anaemie door geitenmelkvoeding veroorzaakt wèl te verklaren zijn als gevolg van een te geringe hoeveelheid koper, waarop door Weyers<sup>2)</sup> reeds gewezen werd.

Tabel 25.  
Geitenmelk.

	Cu in $\gamma$ /L	Mn in $\gamma$ /L	Zn in mg/L
I	120	40	2,43
II	80	48	2,14

#### G. Toevoeging van koper-, mangaan- en zinkzouten aan het diëet.

Uit de proeven met de koeien uit Hoorn, hebben we gezien, dat het koper- en zinkgehalte van de melk niet of slechts weinig afhankelijk is van de rantsoenen, zoals deze in de praktijk gegeven worden, terwijl het mangaangehalte wel beïnvloed kon worden.

Daar bij verschillende diëten het metaalgehalte slechts

binnen beperkte grenzen varieert, was het interessant na te gaan, welke veranderingen optreden, wanneer grote hoeveelheden van het desbetreffende metaal aan het rantsoen werden toegevoegd.

Door de welwillende medewerking van Dr. van der Plank was het mij mogelijk hiervoor 3 gezonde koeien te gebruiken, die op de Veeartsenijkundige Hogeschool aanwezig waren. Van de melk van deze koeien bepaalde ik eerst enige malen onder de normale omstandigheden het koper-, mangaan- en zinkgehalte. Tevens bepaalde ik het koper-, mangaan- en zinkgehalte van de verschillende voedingsmiddelen, waaruit dan te berekenen is de hoeveelheid van het desbetreffende metaal, die iedere koe dagelijks met het voedsel binnenkrijgt.

De bepaling van het metaalgehalte van de voedingsmiddelen geschiedde op dezelfde wijze als voor de melk is beschreven.

Het koper werd bepaald volgens de dithizonmethode, waarbij de  $\text{CCl}_4$ -oplossing van de koperdithizonverbinding zodanig verdund werd, dat het mogelijk was, de kleur met de stufometer te bepalen.

Voor de bepaling van het mangaan werd de permanganaatkleur gemeten door deze te vergelijken met een bekende oplossing van ongeveer gelijke concentratie in een dompelcolorimeter.

Tabel 26 geeft de metaalhoeveelheden van de voedingsmiddelen aan.

Tabel 26.

voedingsmiddel	Cu in mg/kg	Mn in mg per kg	Zn in mg per kg
hooi . . . . .	4,5	12	14
lijnmeel . . . . .	10,0	—*)	58
melkmeel . . . . .	6,0	32	30
maïsmeel . . . . .	1,8	—*)	90
U. B. O. Koek . . . . .	26,4	25	76
lijnkoek . . . . .	14,0	—*)	49

Hieronder volgt het dagelijks rantsoen van koe A en koe C, benevens de hoeveelheden koper en zink, die hierin aanwezig waren.

rantsoen van koe A en koe C	hoeveelheid Cu in mg, hierin aanwezig	hoeveelheid Zn in mg, hierin aanwezig
18 KG hooi . . . . .	81,0	252
1 KG lijnmeel . . . . .	10,0	58
1 KG maïsmeel . . . . .	1,8	90
2 KG U. B. O. koek . . . . .	52,8	152
2 KG lijnkoek . . . . .	28,0	98
	173,6	650

\*) Daar deze voedingsmiddelen niet behoorden tot het dieet van de koe, die extra mangaanzoutvoeding kreeg, werd het mangaangehalte van deze voedingsmiddelen niet bepaald.



Het dagelijks rantsoen van koe B met de daarin aanwezige hoeveelheid mangaan was:

rantsoen van koe B	hoeveelheid Mn in mg hierin aanwezig
18 KG hooi . . . . .	216
1 KG melkmeel . . . . .	32
4 KG U. B. O.-koek. . . . .	100
	<hr/> 348

Aan het dieët van koe A werd dagelijks 2 g  $\text{CuSO}_4$  5 aq. toegevoegd. Na 17 dagen werd deze hoeveelheid tot 3 g per dag verhoogd. De koe kreeg toen ruim 5 maal zoveel koper als bij de oorspronkelijke voeding.

Koe B kreeg 3 g  $\text{MnCl}_2$  4 aq. aan het dagelijkse rantsoen toegevoegd. Na 17 dagen werd deze toegift verhoogd tot 4 gr en weer 18 dagen later werd 7 gr  $\text{MnCl}_2$  dagelijks gegeven. De opgenomen hoeveelheid mangaan was toen ruim 6 maal zo groot als bij de oorspronkelijke voeding.

Aan koe C werd dagelijks 8 g  $\text{ZnSO}_4$  7aq. extra gegeven, deze hoeveelheid werd na 17 dagen verhoogd tot 12,5 gr. De hoeveelheid zink, die de koe kreeg, was toen ruim 5 maal groter geworden.

In de tabellen 27—29 zijn de resultaten van dit onderzoek samengevat.

Tabel 27.

Koe A.

Data	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
13-12	38	12	2,62
18-12	26	10	2,86
21-12	33	12	2,92
gemiddeld	32	11	2,80

vanaf 21-12 dagelijks  
2 gr.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .

2-1	40	10	4,16
5-1	35	10	—

vanaf 7-1 dagelijks  
3 gr.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ .

25-1	39	14	3,94
1-2	28	14	3,56
8-2	34	12	—
gemiddeld	34	12	3,88

Tabel 28.  
Koe B.

Data	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
13—12	50	10	2,92
18—12	32	10	2,55
21—12	40	10	2,86
gemiddeld	41	10	2,77
vanaf 21—12 dagelijks 3 gr. $\text{MnCl}_2$ 4 $\text{H}_2\text{O}$ .			
2—1	42	10	4,30
5—1	28	10	3,56
vanaf 7—1 dagelijks 4 gr. $\text{MnCl}_2$ 4 $\text{H}_2\text{O}$ .			
25—1	35	18	—
vanaf 25—1 dagelijks 7 gr. $\text{MnCl}_2$ 4 $\text{H}_2\text{O}$ .			
1—2	34	16	—
8—2	34	15	—
1—3	65*	20	—
5—3	45	20	—
gemiddeld	44	18	—

\*) Waarschijnlijk koperverontreiniging.

Tabel 29.  
Koe C.

Data	Cu in $\gamma$ per L.	Mn in $\gamma$ per L.	Zn in mg per L.
20—12	37	10	3,50
21—12	—	—	3,56
gemiddeld	—	—	3,53

vanaf 21—12 dagelijks  
8 gr.  $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ .

2—1	25	10	3,94
5—1	32	12	3,56

vanaf 7—1 dagelijks  
12,5 gr.  $ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$ .

25—1	23	14	3,67
1—2	34	—	3,56
8—2	37	14	3,15
gemiddeld	30	13	3,57

Oorspronkelijk was het kopergehalte van de melk van koe A gemiddeld  $32\gamma$  per L. Nadat 7 weken  $CuSO_4 \cdot 5aq.$  aan het dieet was toegevoegd, was het gemiddelde kopergehalte  $35\gamma$  per L. Er kan hier dus niet van een verhoging van het kopergehalte gesproken worden.

Het mangaangehalte van de melk van koe B, dat oorspronkelijk gemiddeld  $10\gamma$  per L bedroeg, was na het toe-



dienen van mangaanzout 18  $\gamma$  per L. Hier is dus wel enige invloed waar te nemen.

Van koe C, die het zinkzout kreeg, vertoonde het zinkgehalte van de melk niet de minste verandering. Dit was oorspronkelijk gemiddeld 3,53 mg/L en aan het einde van de proef gemiddeld 3,57 mg/L.

## HOOFDSTUK XI.

### BESPREKING VAN DE RESULTATEN.

#### A. Het kopergehalte.

Uit het voorgaande is het duidelijk geworden, dat er van invloed van seizoen of voeding op het kopergehalte van melk geen sprake is. Zelfs niet wanneer aan het gewone diëet vijf maal de normale hoeveelheid koper (als  $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ ) werd toegevoegd.

We moeten hieruit concluderen, dat de koeien tijdens de verschillende voederperioden steeds genoeg koper kregen om het kopergehalte van de melk op een constant niveau te houden.

Het kopergehalte van de melk ondergaat alleen verandering dadelijk na de partus. Zoals we gezien hebben, is het dan veel hoger en daalt langzamerhand.

In de literatuur vond ik geen waarden omtrent het kopergehalte van koecolostrum of aanwijzingen, dat het gehalte van koemelk na de partus hoger was.

Het kopergehalte van rauwe en gepasteuriseerde markt-melk blijkt zeer afhankelijk te zijn van de behandeling. Zoals we in hoofdstuk X hebben gezien, was enkel het gieten van de melk door een koperen trechter voldoende om het kopergehalte aanmerkelijk te doen stijgen. Zoals vanzelf spreekt zijn dus voor het kopergehalte van markt-melk geen grenzen op te geven.

Uit mijn bepalingen meen ik echter wel de conclusie te mogen trekken, dat in het algemeen marktmelk een lager kopergehalte heeft dan moedermelk.

Bij de voeding van kleine kinderen met koemelk inplaats van met moedermelk, zal hiermee dus rekening gehouden moeten worden.

In de steden zullen deze verschillen in verband met de grote kans op verhoging van het kopergehalte, voordat de melk gedronken wordt, minder groot zijn dan op het land, waar de melk veelal direct van de koe gebruikt wordt.

Nemen we in aanmerking, dat het kopergehalte van moedermelk, direct na de partus waarschijnlijk nog hoger is dan later, dan is het duidelijk, dat vooral bij de voeding van pasgeborenen met koemelk, die verdund is met water, dat meestal koperarm is, de hoeveelheid koper, die het kind op die manier toegediend wordt, belangrijk lager is dan bij natuurlijke voeding.

Indien we de waarden, die ik voor het kopergehalte van melk heb gevonden, willen vergelijken met die, welke in de literatuur opgegeven zijn, dan zal uit het bovenstaande duidelijk zijn, dat dit alleen mogelijk is, wanneer de „voorgeschiedenis” van de melk bekend is. Meestal delen de onderzoekers echter niets mede omtrent de melk, (zie Tabel 30), zodat we deze melk waarschijnlijk moeten beschouwen als marktmelk. In dit geval lopen de waarden natuurlijk sterk uiteen, zodat het weinig zin heeft deze te gaan vergelijken.

Vergelijken we echter de waarden, die ik gevonden heb voor het kopergehalte van rauwe melk, zoals deze door de koe geproduceerd wordt, met die van andere onderzoekers, dan blijkt, dat het door mij gevonden kopergehalte veelal lager is. (Tabel 30).

Tabel 30.

Onderzoeker.	jaar	Melksoort.	Cu in mg/L	Aantal mon- sters	Scheidings- methode	Bepalings- methode
Fluerent en Levi . . . . .	1920	rauw	1.4	1	—	met $K_4[Fe(CN)_6]$
Bertrand . . . . .	1920	rauw	0.5	1	electrolyse $NH_4OH$	xanthaat
Supplee en Bellis . . . . .	1922	rauw, in glas opgevangen	0.20—0.80 (0.52)	23	—	"
Hess, Supplee, Bellis . . . . .	1923	gepasteuriseerd rauw	0.63 0.55	3 1	"	"
Rice en Miscall . . . . .	1923	moedermelk	0.40—0.61	2	—	"
Mc Hargue . . . . .	1925	rauw, niet met Cu in aanraking geweest	0.50	—	electrolyse $H_2S$	"
King en Etzel . . . . .	1927	rauw, " "	0.38	1	$NH_4OH$	"
		rauw	0.43	5	"	"
Quam en Hellwig . . . . .	1928	gepasteuriseerd	0.62	—	$NH_4OH$	"
Elvehjem en Lindow . . . . .	1929	rauw, in glas opgevangen	0.26—0.52	14	$H_2S$	Biazzo
Elvehjem, Steenbock, Hart	1929	rauw	0.14	3	—	"
		rauw, in glas opgevangen	0.123—0.174	25	"	"
		geitenmelk	0.15	8	"	"
Grendel . . . . .	1930	rauw	0.09—0.14	7	micro- electrolyse	carbamaat
		gepasteuriseerd	0.16—0.36	12	—	"
		moedermelk	0.22—0.28	2	—	"
		geitenmelk in glas opgevangen	0.10—0.28	5	—	"
		rauw, in glas opgevangen	0.24	1	$H_2S$	carbamaat
Keil en Nelson . . . . .	1931	rauw	0.32—11.75	16	—	Biazzo
Gebhart en Sommer . . . . .	1931	rauw	0.15—0.20	90	$NH_4OH$	Warburg
Zondek en Bandmann . . . . .	1931	rauw	0.50—0.60	85	—	xanthaat
		moedermelk	0.15—0.60	15	—	"
		rauw in vertinde emmers opgevangen	0.20—1.4	22	—	"
		handelsmelk (rauw)	0.4—4.0	39	—	"
		gepasteuriseerd	0.092; 0.068; 0.072	3	$H_2S$	carbamaat
Mc Farlane . . . . .	1932	rauw, in glas gemolken	1.4	2	$H_2S$	Biazzo
Remy . . . . .	1932	rauw	0.9	1	—	"
		geitenmelk	0.9	1	—	"
		moedermelk	0.9 en 1.9	2	—	"
Zbinden . . . . .	1932	rauw	0.50—0.85	25	—	electrolytisch
		geitenmelk	0.45	2	—	"
		moedermelk	0.59	2	—	"
Conn c.s. . . . .	1935	rauw, in glas opgevangen	0.05—0.132	18	$H_2S$	carbamaat
Eigen resultaten . . . . .		gepasteuriseerd	0.08—0.74	7	—	"
		rauw, in glas opgevangen	0.015—0.05 (0.03)	—	micro- electrolyse	I carbamaat
		marktmelk	0.062—0.36	4	—	II dithizon
		moedermelk	0.43—0.51 (0.46)	—	—	"
		geitenmelk	0.08—0.12 (0.10)	2	—	"



Uit het literatuuroverzicht is echter wel gebleken, dat de hoge waarden, die *Supplee* en *Bellis*, *Rice* en *Miscall*, en *Quam* en *Hellwig* vonden bij melk, die in glaswerk was opgevangen, toe te schrijven zijn aan verontreinigingen tijdens de bepalingen. Zelfs de vrij lage cijfers van *Elvehjem* en *Lindow*, bleken nog beïnvloed te zijn door koperverontreiniging tengevolge van het gebruik van filtreerpapier.

De waarden, die het meeste met de mijne overeenstemmen zijn de door *Conn* in 1935 gepubliceerde resultaten. *Conn* vond, zoals we gezien hebben, gehalten, die liggen tussen 0,038 en 0,132 mg/L.

Zoals ik reeds in het literatuuroverzicht opgemerkt heb, zijn de hoogste waarden, die hij vond, afkomstig van melk, die in andere Staten van de U. S. A. gewonnen werd, zodat het heel goed mogelijk is, dat bij de winning en verzending koperverontreiniging is opgetreden.

Wanneer we zijn resultaten betreffende de melk uit zijn omgeving (0,038—0,072 mg/L) vergelijken met die, welke door mij gevonden werden, (0,015—0,050 mg/L), dan is het verschil slechts gering.

## B. Het mangaangehalte.

Het mangaangehalte van koemelk bleek wel invloed van de voeding te ondergaan. Hierbij moet echter opgemerkt worden, dat het mangaangehalte van de melk zeer laag was in vergelijking met de waarden, die anderen in Engelse, Amerikaanse en Japanse melk hebben gevonden. (Zie tabel 31).

Door de voeding van tulpenbollen en bietenpulp, waardoor het mangaangehalte steeg, kwam dit op het niveau, dat verschillende onderzoekers hiervoor opgegeven hebben.

Tabel 31.

Onderzoeker.	Jaar.	Melksoort.	Mn mg/L	Aantal monsters.
Mc. Hargue . . . .	1924	rauwe koemelk	0,03	1
		colostrum (koe)	0,2	1
Richards . . . . .	1930	koemelk	0,039—0,043	5
		colostrum (koe)	0,07—0,05	9
Skinner, Peterson . .	1931	koemelk	0,017—0,048	6
		colostrum (koe)	0,044	1
Kemmerer, Todd . .	1931	koemelk	0,03	6
Sato, Murata . . . .	1932	koemelk	0,03	6
		colostrum (koe)	0,06	3
Eigen resultaten . .		koemelk	0,007—0,040	
		colostrum (koe)	<0,007—0,009	6
		moedermelk	0,007	4
		geitenmelk	0,040—0,048	2

Hierdoor zijn we geneigd te denken, dat de koeien, gedurende de eerste tijd van de proef te weinig mangaan met hun voedsel binnen kregen. Vooral omdat bleek, dat de bietenpulp een zeer hoog mangaangehalte (29 mg/kg) had. Het Mn-gehalte van de gebruikte bloembollen kon ik helaas niet bepalen, daar, toen ik een monster vroeg, de bloembollen niet meer aanwezig waren. In een monster andere bloembollen vond ik 10 mg/kg, hetgeen dus niet bijzonder hoog is.

Eigenaardig is echter, dat het mangaangehalte van de melk van de koe, die  $MnCl_2 \cdot 4H_2O$  bijgevoerd kreeg, veel minder toenam dan bij voeding met tulpenbollen of bietenpulp. Dit zou alleen te verklaren zijn, wanneer we aannemen, dat mangaan toegediend in de vorm van een anorganisch zout, niet zo snel opgenomen wordt als organisch gebonden mangaan.

De veronderstelling, dat de koeien oorspronkelijk te weinig mangaan kregen, waardoor een invloed van het voedsel

of van mangaanzoutvoeding op het gehalte van de melk gevonden werd, is in overeenstemming met de resultaten van Kemmerer en Todd, die geen verhoging vonden, wanneer de koeien mangaanzouten kregen. (Zie blz. 17). De oorspronkelijk aanwezige hoeveelheid mangaan in de melk van hun koeien, was n.l. 0,03 mg/L en dus ongeveer op gelijk niveau als bij mijn proeven, toen de koeien tulpenbollen en bietenpulp kregen. Omdat hun koeien waarschijnlijk meer mangaan met hun voedsel binnenkregen, onderging het mangaangehalte van de melk door de mangaanzout voeding geen verandering.

In tegenstelling met het koper- en zinkgehalte nam de hoeveelheid mangaan in de koemelk na de partus niet toe. In een paar monsters vond ik hierin zelfs minder dan vóór de partus. De waarden, die hiervoor in de literatuur opgegeven worden, zijn zeer wisselend. Skinner en Peterson vonden ongeveer evenveel in colostrum als in gewone koemelk, terwijl Richards en Sato c.s. een geringe toename van het mangaangehalte na de partus vonden en tenslotte zou volgens Mc. Hargue in colostrum veel meer mangaan aanwezig zijn. Hoe deze verschillen te verklaren zijn, is echter niet duidelijk.

In de literatuur heb ik geen enkele opgave omtrent het mangaangehalte van moedermelk gevonden, waarschijnlijk hangt dit samen met de geringe hoeveelheid, die in moedermelk aanwezig is. Zoals we gezien hebben, was ook bij mijn proeven in 1 geval de hoeveelheid mangaan in het monster slechts zo groot, dat ik deze bepalen kon.

Hieruit zouden we dus kunnen besluiten, dat de hoeveelheid mangaan, die zuigelingen bij koemelkvoeding krijgen, niet ten achter staat bij de hoeveelheid, die zij bij natuurlijke voeding ontvangen.



## C. Het zinkgehalte.

De waarden, die in de literatuur voor het zinkgehalte van rauwe melk worden opgegeven, komen ongeveer overeen met die, welke ik gevonden heb. (Zie tabel 32). Het feit,

Tabel 32.

Onderzoeker.	Jaar.	Melksoort.	Zn in mg per L.	Aantal Monsters	Methode.
Weitzel . . . . .	1914	koemelk	3,6	1	wegen als ZnO.
" . . . . .	1919	geitenmelk	2,3	1	
		moedermelk	1,3	1	
Birckner . . . . .	1919	marktmelk	3,6—5,6 (4,2)	12	met $K_4 [Fe (CN)_6]$
		rauwe melk	} 2,0—5,4	15	nephelometrisch
		individueel			
		moedermelk	5,6—13,7	3	
Elvehjem, Todd . .	1932	marktmelk	2,68—2,76	7	met $(NH_4)_3 PO_4$ phosphaat colorimetrisch bepalen.
Sato en Murata . .	1932	koemelk (mengmelk)	(3,34)	7	met $K_4 [Fe (CN)_6]$ nephelometrisch
		moedermelk	1,23—7,35	27	
Eigen resultaten . .		koemelk	1,94-4,96 (3,43)		
		moedermelk	3,11-4,06 (3,50)	4	
		geitenmelk	2,14—2,43	2	

dat seizoen noch voeding invloed op het zinkgehalte van de melk hebben, is hiermee dus in overeenstemming.

Evenals Sato en Murata vond ik, dat koemelk na de partus een verhoogd zinkgehalte heeft. Volgens Birckner en Sato c.s. is dit bij moedermelk ook het geval; de hoeveelheid zink daalt echter snel na de partus en is daarna ongeveer gelijk aan het gehalte van koemelk. Van de 4 monsters moedermelk, die ik onderzocht heb, kwam het zinkgehalte overeen met dat van normale koemelk. Daar



echter de hoeveelheid zink in de melk, direct na de partus, hoger is, is het duidelijk, dat pasgeborenen, die met verdunde koemelk gevoed worden, minder zink krijgen dan bij natuurlijke voeding.

## SAMENVATTING.

Voor het bepalen van het koper-, mangaan- en zinkgehalte van melk werd deze gedestruerd volgens de zgn. natte methode met  $H_2SO_4$  en  $HNO_3$ .

De verschillende methodes, die in de literatuur voor het bepalen van kleine hoeveelheden van deze metalen aangegeven zijn, werden nagegaan.

De carbamaatmethode bleek de meest geschikte om hoeveelheden koper, van een dergelijke orde van grootte als in 100 cc melk voorkomen, te bepalen. Bij deze methode was het nodig het koper vooraf uit de melkas af te scheiden, waarvoor de electrolytische methode gebruikt werd.

De dithizonmethode, die tijdens het onderzoek gepubliceerd werd, bleek ook zeer geschikt voor het bepalen van dergelijke hoeveelheden koper. Een voordeel van deze methode is, dat een voorafgaande afscheiding van het metaal uit de melkas niet nodig is.

Voor het bepalen van het mangaan werd de perjodaatmethode gekozen.

Het zink werd met behulp van  $H_2S$  afgescheiden en daarna bepaald volgens de methode van Mousseron.

Na de publicatie van Hibbard werd de jodometrische titratiemethode van Lang gebruikt om het zink te bepalen. Deze methode is minder bewerkelijk.

De invloed van seizoenen en voeding van de koe op het koper-, mangaan- en zinkgehalte van de melk werd nagegaan.

Het bleek, dat seizoen en voedsel weinig invloed hadden. Alleen het mangaangehalte, dat oorspronkelijk zeer laag was, werd hoger bij de voeding van tulpenbollen en bietenpulp en ook enigszins als gevolg van mangaanzoutvoeding.

Gedurende de eerste weken na de partus is het koper- en zinkgehalte van koemelk hoger, het mangaangehalte echter niet.

Bovendien werden de hoeveelheden van genoemde metalen bepaald in z.g. marktmelk, geitenmelk en moedermelk.

Hierbij bleek, dat het kopergehalte van marktmelk over het algemeen belangrijk hoger is dan van melk, zoals deze door de koe geproduceerd wordt. Het mangaan- en zinkgehalte verandert practisch niet bij de gewone wijze van behandeling en distributie van de melk.

Het koper-, mangaan- en zinkgehalte van de twee monsters geitenmelk, die onderzocht werden, was niet minder dan het gemiddelde gehalte van koemelk. Het kopergehalte was zelfs hoger.

Moedermelk bevat meer koper dan koemelk, de hoeveelheid mangaan is waarschijnlijk minder dan die van koemelk, terwijl het zinkgehalte weinig verschilt.

---





## LITERATUUR.

1. Hart, E. B., Steenbock, H., Elvehjem, C. A. en Waddell, J.  
J. Biol. Chem. 77, 797 (1928).
2. Weyers, W. A. M.  
Proefschrift Leiden 1931.
3. Smith Lewis, M.  
J. Americ. med. Ass. 96, 1135 (1931).
4. Schiff, E., c.s.  
Klin. Woch. 9, 2144 (1930).
5. Bertrand, G.  
C. R. Acad. des Sc. 124, 1032—1355 (1897).
6. Skinner, J. T., Peterson, W. H. en Steenbock, H.  
J. Biol. Chem. 90, 65 (1930).
7. Levine, V. E. en Sohm, H. A.  
J. Biol. Chem. 59, 48 (1924).
8. Kemmerer, A. R., Elvehjem, C. A. en Hart, E. B.  
J. Biol. Chem. 92, 623 (1931).
9. Orent, E. R. en Mc Collum, E. V.  
J. Biol. Chem. 92, 651 (1931).
10. Bertrand, G.  
Ann. de l'Inst. Past. 26, 1013 (1912).
11. Faludi, F.  
Deutsche med. Woch. 54, 470 (1928).
12. Titus, R. W., c.s.  
J. Biol. Chem. 80, 565 (1928).

13. Mitchell, H. S. en Miller, L.  
J. Biol. Chem. 85, 355 (1929).
14. Myers, J. C. en Beard, H. H.  
J. Am. med. Ass. 93, 1210 (1929).
15. Krauss, W. G.  
J. Biol. Chem. 90, 267 (1931).
16. Waddell, J., c.s.  
J. Biol. Chem. 84, 115 (1929).
17. Raulin.  
Ann. d. Sc. nat. 11, 93 (1869).
18. Délezenne, C.  
Ann. de l'Inst. Past. 33, 68 (1919).
19. Hubbell, R. B. en Mendel, L. B.  
J. Biol. Chem. 75, 567 (1927).
20. Todd, W. R., Elvehjem, C. A. en Hart, E. B.  
Am. J. Physiol. 107, 146 (1934).
21. Fluereut, E. en Levi, L.  
Bull. Soc. Chim. 27, 441 (1920).
22. Bertrand, G.  
Bull. Soc. hyg. Alim. 8, 49 (1920).
23. Supplee, G. C. en Bellis, B.  
J. Dairy Sc. 5, 455 (1922).
24. Hess, A. F., Supplee, G. C. en Bellis, B.  
J. Biol. Chem. 57, 725 (1923).
25. Rice, F. E. en Miscall, J.  
J. Dairy Sc. 6, 261 (1923).
26. Mc. Hargue, J. S.  
Am. J. Physiol. 72, 583 (1925).
27. King, C. G. en Etzel, G.  
Ind. Eng. Chem. 19, 1004 (1927).
28. Quam, G. N. en Hellwig, A.  
J. Biol. Chem. 78, 681 (1928).
29. Elvehjem, C. A. en Lindow, C. W.  
J. Biol. Chem. 81, 435 (1929).

30. Elvehjem, C. A. en Lindow, C. W.  
J. Biol. Chem. 83, 27 (1929).
31. Walker, R.  
J. Assoc. Off. Agr. Chem. 13, 426 (1930).
32. Conn, L. W., Johnson, A. H., Trebler, H. A. en  
Karpenko, V.  
Ind. Eng. Chem. An. Ed. 7, 15 (1935).
33. Grendel, F.  
Pharm. Weekbl. 67, 913 (1930).
34. Keil, H. L. en Nelson, V. E.  
J. Biol. Chem. 93, 49 (1931).
35. Gebhart, H. T. en Sommer, H. H.  
Ind. Eng. Chem. An. Ed. 3, 24 (1931).
36. Davies, W. L.  
J. Dairy Res. 3, 86 (1931).
37. Zondek, S. G. en Bandmann, M.  
Klin. Wochenschr. 10, 1528 (1931).
38. Mc. Farlane, W. D.  
Bioch. J. 26, 1022 ((1932).
39. Remy, E.  
Z. Unters. Lebensm. 64, 545 (1932).
40. Zbinden, C.  
Le Lait 12, 481 (1932).
41. Dumetrescou en Nicolau.  
Ann. Falsif. 3, 370 (1910).
42. Bertrand, G. en Medigreceanu, F.  
Ann. de l'Inst. Past. 27, 1 (1913).
43. Mc. Hargue, J. S.  
J. Agr. Res. 27, 417 (1924).
44. Richards, M. B.  
Analyst 55, 554 (1930).  
Bioch. J. 24, 1572 (1930).
45. Skinner, J. T. en Peterson, W. H.  
J. Biol. Chem. 88, 347 (1930).

46. Kemmerer, A. T. en Todd, W. R.  
J. Biol. Chem. 94, 317 (1931).
47. Kemmerer, A. T. en Todd, W. R.  
J. of Nutr. 4, 419 (1931).
48. Sato, M. en Murata, K.  
J. Dairy Sc. 15, 461 (1932).
49. Weitzel, A.  
Zentr. Physiol. 28, 766 (1914).
50. Weitzel, A.  
Arb. a. d. Reichsgshtsam. 51, 476 (1918—1919).
51. Birckner, V.  
J. Biol. Chem. 38, 191 (1919).
52. Todd, W. R. en Elvehjem, C. A.  
J. Biol. Chem. 96, 609 (1932).
53. Sato, M. en Murata, K.  
J. Dairy Sc. 15, 451 (1932).
54. Quartaroli, A.  
Ann. chim. applicata 17, 361 (1927).
55. Warburg, O.  
Bioch. Z. 187, 255 (1927).
56. Andresen, K. G. en Nielsen, B.  
Bioch. Z. 261, 22 (1933).
57. Cherbuliez en Ansbacher.  
Helvetica Chim. Acta 13, 187 (1930).
58. Fontis en Thivolle.  
Bull. Soc. Chem. Biol. 4, 614 (1922).
59. Schoorl, N. en Begemann.  
Rec. Trav. Chim. 44, 1077 (1925).
60. Zbinden, C.  
Bulletin Soc. Chim. Biol. 13, 35 (1931).
61. Eyk, van, B. J.  
Proefschrift Amsterdam 1934.



62. Drabkin, D. L. en Waggoner, C. S.  
J. Biol. Chem. 89, 51 (1930).
63. Elvehjem, C. A. en Hart, E. B.  
J. Biol. Chem. 91, 37 (1931).
64. Biazzo, R.  
Ann. Chim. applicata 16, 96 (1926).
65. Clarke, S. G. en Jones, B.  
Analyst 54, 333 (1929).
66. Hurd en Chambers.  
J. Ind. Eng. Chem. 4, 236 (1932).
67. Emmerie, A.  
Chem. Weekbl. 27, 552 (1930).
68. Sarata, U.  
Japan. J. med. Sci II Bioch. 2, 247 (1933).
69. Callan, T. en Henderson, J. A. R.  
Analyst 54, 650 (1929).
70. Delephine, M.  
C. r. 146, 981 (1908).
71. Thatcher, R. W. J.  
J. Am. Chem. Soc. 55, 4524 (1933).
72. Haddock, L. A. en Evers, N.  
Analyst 57, 495 (1932).
73. Handboek van Abderhalden.  
Die biologischen Arbeitsmethoden 1929. Abt. II, Teil  
2/II, p. 2337.
74. Fischer, H. en Leopoldi, G.  
Z. f. Angew. Chem. 47, 90 (1934).
75. Wright, N. C. en Papish, J.  
Sc. 69, 78 (1929).
76. Blumberg, H. en Rask, O. S.  
J. of Nutr. 6, 285 (1933).
77. Zbinden, C.  
Le Lait 11, 113 (1931).

78. Ansbacher, S., c.s.  
Ind. Eng. Chem. An. Ed. 3, 314 (1931).
79. Kolthoff, I. M.  
Pharm. Weekbl. 59, 1351 (1922).
80. Pregl, F.  
Die quantitative organische Mikroanalyse. Berlin,  
1923, p. 164.
81. Wester, D. H.  
Rec. Trav. Chim. 39, 414 (1920).
82. Marshal.  
Chem. News 83, 76 (1910).
83. Willard en Greathouse.  
J. Am. Chem. Soc. 39, 2366 (1917).
84. Reiman en Minst.  
J. Biol. Chem. 42, 329 (1920).
85. Waring, W. G.  
J. Am. Chem. Soc. 26, 4 (1904).  
29, 265 (1907).
86. Weiss, G.  
Ueber die quantitative Bestimmung und Trennung  
von Zink und Nickel. München 1906.
87. Bodansky.  
J. Ind. Eng. Chem. 13, 696 (1921).
88. Fales, H. A. en Ware, G. M.  
J. Am. Chem. Soc. 41, 487 (1919).
89. Fairhall, L. T. en Richardson, J. R.  
J. Am. Chem. Soc. 52, 938 (1930).
90. Fairhall, L. T. en Richardson, J. R.  
J. Am. Chem. Soc. 47, 19 (1925).
91. Kolthoff, I. M.  
Chem. Weekbl. 29, 286 (1932).
92. Mylius, E.  
Z. Anal. Chem. 19, 101 (1880).

93. Lutz, R. E.  
J. Ind. Hyg. 7, 273 (1925).
  94. Hibbard, P. L.  
Ind. Eng. Chem. An. Ed. 6, 423 (1934).
  95. Heyrovsky, J.  
Mikrochemie 12, 26 (1932).
  96. Fahlberg.  
Z. f. Anal. Chem. 13, 379 (1874).
  97. Cone, W. A. en Cady, L. C.  
J. Am. Chem. Soc. 49, 356 (1927).
  98. Kolthoff, I. M.  
Die Massanalyse, deel II, p. 267, 2e druk.
  99. Mousseron, M. M. en Mme M.  
Bull. de la Soc. Chim. Biol. 13, 821 (1931).
  100. Lang, R.  
Z. f. Anal. Chem. 79, 161 (1930).  
93, 21 (1933).
  101. Hibbard, P. L.  
Ind. Eng. Chem. An. Ed. 6, 423 (1934).
-













