

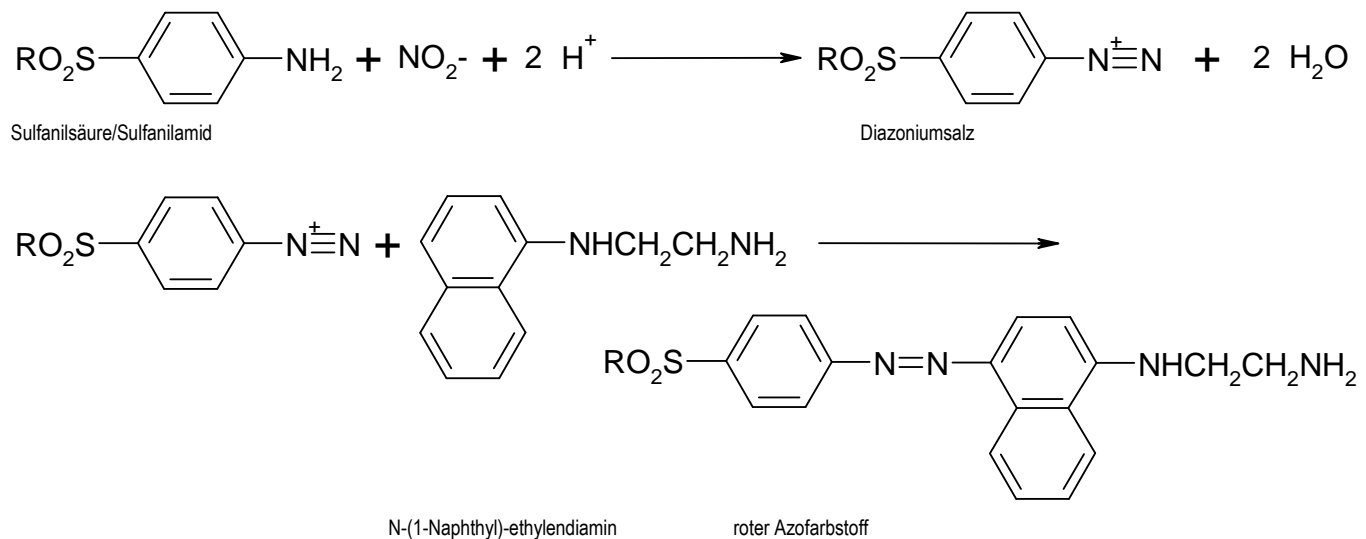
Photometrische Bestimmung von Nitrit

Nitrit ist ein Zwischenprodukt der mikrobiellen Nitrifikation und Denitrifikation. Denitrifizierende Bakterien können auto- oder heterotroph sein (verschiedene Energiequellen benutzen). Denitrifizierer sind nicht näher miteinander verwandt (z. B. das α -Proteobakterium *Paracoccus denitrificans* oder das γ -Proteobakterium *Pseudomonas stutzeri*). Die Nitrifikation wird von verschiedenen Bakterien stufenweise vom Ammonium zum Nitrit (alle beginnen mit Nitroso-, z. B. die β -Proteobakterien *Nitrosomonas*) und vom Nitrit zum Nitrat (alle beginnen mit Nitro-, z. B. die α -Proteobakterien *Nitrobacter*).

Nitrit bildet in saurer Lösung mit primären Aminen, z. B. Sulfanilsäure $R=OH$ oder Sulfanilamid $R=NH_2$, Diazoniumsalze. Diese kuppeln mit nucleophilen Aromaten, z. B. N-(1-Naphthyl)-ethylendiamin (NED), zu einem rot gefärbten Azofarbstoff, der photometrisch gemessen wird.

In Gewässern treten hohe Nitritkonzentrationen nur auf, wenn Teilprozesse der schrittweisen Denitrifikation oder die Nitrit zu Nitrat umwandelnden Bakterien während der **Nitrifikation gehemmt** sind, Während der Nitrifikation entstehen z. B. Protonen, die das Gewässer versauern, wenn es nicht kalkhaltig genug ist (Autoinhibition). Als Eutrophierungsindikator spielt Nitrit keine Rolle. Vielmehr wird es oft nur angegeben, weil es zur Nitratbestimmung gemessen werden muss.

Reaktionen:



Material:

Photometer
 Küvetten (OG) 50mm, 10mm
 25 ml Erlenmeyerkolben
 Messur, Saugkolben-Messpipetten (Fortuna) oder 25 ml Vollpipetten mit Pileusball

Durchführung:

- Probe partikelfrei filtrieren: 0,45 μm Celluloseacetatfilter 50 mm (alternativ bei hohem Gehalt sehr kleiner Partikel: 0,2 μm Celluloseacetat 50 mm, bei gleichzeitiger organischer Analytik: 4 h bei 450°C gegläute Whatman GF/F 47 mm, bei Geldmangel auch: Glasfaser Vorfilter).
- Trübung der Filtrate bei 543 nm in 5cm-Küvette messen,

- 25 ml der filtrierten Proben + 0,5 ml Sulfanilsäureamid-Lösung, 3-5 min warten, 0,5 ml NED-Lösung zugeben, gut mischen und Reaktionszeit von 15 min abwarten,
- Reagenzienblindwert BW_R analog mit 25 ml Reinstwasser herstellen und
- alle Proben bei 543 nm messen.

Kalibrierung:

- Bei Nutzung neuer Reagenzien Kalibriergerade erstellen,
- NaNO_2 -Lösung ansetzen: Salz trocken (1 h bei 100°C), $10 \mu\text{M}$, dann 9 weitere Verdünnungen in äquidistanter Reihe herstellen,
- wie Proben behandeln und messen,
- 10 BW_R ebenso messen.
- Extinktionen (Unabhängige = x) und Konzentrationen (Abhängige = y) linear korrelieren,
- Anstieg ist der Umrechnungsfaktor $F_{\text{NO}_2^-}$ von Extinktion in Konzentration (μM).
- Küvette 1 cm (Achtung: für geringe Extinktionen auch 5 cm, umrechnen in Ext (cm^{-1})!)

Berechnung:

$$\text{NO}_2^- (\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}) = F_{\text{NO}_2^-} \cdot (E_{\text{Probe}} - BW_T - BW_R)$$

hier: BW als Extinktionen einsetzen

BW_T : Probentrübungsblindwert

BW_R : Reagenzienblindwert

Vorschrift:

EN 26777

Qualitätssicherung:

- Täglich (mindestens) eine Leerprobe (Blindwert) messen.
- Täglich (mindestens) einmal einen Referenzwert ($10 \mu\text{M NaNO}_2$) messen.
- Sollwert-Zielkarte anlegen. Zulässige Toleranz $\pm 10\%^1$ prüfen. Bei $10 \mu\text{M}$ Zielwert muss die Konzentration der Referenz zwischen 9 und $11 \mu\text{mol l}^{-1}$ liegen.
- Bei Abweichungen
 1. neuer Aufschluss derselben Referenz,
 2. neue Referenz herstellen, aufschließen und messen,
 3. Reagenzien prüfen (einfacher und doppelter BW_R),
 4. Kalibrierung prüfen und ggf. erneuern.
- Blindwert-Zielkarte anlegen. Nitrit in der Leerprobe muss kleiner als die Bestimmungsgrenze sein ($0,3 \mu\text{mol l}^{-1}$)¹. Bei Abweichungen
 1. neues entionisiertes Wasser verwenden,
 2. saubere Reagenzgläser verwenden,
 3. Reagenzien prüfen.

¹ Zielwerte vom LUNG MV übernommen.

Chemikalien:

- Sulfanilsäureamid-Reagenz (SAN): 5 g Sulfanilsäureamid in einer Mischung aus 300 ml entionisiertem Wasser und 50 ml konzentrierter Salzsäure lösen und auf 500ml mit entionisiertem Wasser auffüllen. Nahezu unbegrenzt haltbar.
- N-(1-Naphthyl)-ethylendiamin-Reagenz (NED): 0,5 g N-(1-Naphthyl-ethylendiamin)- dihydrochlorid in 500 ml dest. Wasser lösen. In dunkler Flasche aufbewahrt ca. 1 Monat haltbar.