Die automatische Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Pflanzenmaterial mit der Cadmiumreduktionsmethode = The automatic determination of nitrate and nitrite in plant material by the cadmium reduction method

Autor(en): **Bachmann, H.J. / Daniel, R.Ch. / Ruf, D.**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **78 (1987)**

Heft 2

PDF erstellt am: **25.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982982

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **78**, 168–181 (1987)

Die automatische Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Pflanzenmaterial mit der Cadmiumreduktionsmethode*

The Automatic Determination of Nitrate and Nitrite in Plant Material by the Cadmium Reduction Method

H. J. Bachmann, R. Ch. Daniel und *D. Ruf*
Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene (FAC), Liebefeld

Einleitung

Die Bestimmung von Nitrat ist in der Landwirtschaft nicht nur wegen seiner potentiellen Schädlichkeit (1) wichtig. Nitrat spielt eine wesentliche Rolle im Stoffhaushalt der Pflanze (2) und wird darum häufig in Pflanzen der Feld- und Vegetationsversuche unserer Forschungsanstalt analysiert. Bis 1984 wurde die Bestimmung mit der nitratsensitiven Elektrode in direkter Potentiometrie durchgeführt. Neben dem Vorteil des grossen dynamischen Messbereiches ist die Methode zumindest für die Analyse von niedrigen Konzentrationen (weniger als 500 mg NO_3-N/kg Trockensubstanz) mit entscheidenden Nachteilen behaftet:

- Geringe Empfindlichkeit. Bis zu einem Drittel der untersuchten Pflanzenproben wiesen Gehalte unterhalb der routinemässigen Bestimmungsgrenze von 200 mg NO_3-N/kg Trockensubstanz (ppm NO_3-N) auf.
- Arbeitsaufwand für die Bestimmung. Wegen der Fällung des die Messung störenden Chlorids, der langsamen Einstellung des Potentials sowie der notwendigen Eich- und Kontrollmessungen ist die Methode arbeitsaufwendig und kann schlecht automatisiert werden.
- Anfälligkeit auf störende Matrixeinflüsse. Sie ist bedingt durch die nicht sehr ausgeprägte Spezifität der Elektrode (3). Auch regelmässige Kontrollmessungen konnten systematische Fehlresultate nicht verhindern.

Die erfolgreiche Einführung der automatischen Phosphatbestimmung mittels Technicon Auto Analyzer und Auswertesystem von Meyenburg in unserem Labor führten zum Entschluss, auf Basis der Arbeit von *Künsch* et al. (4) die automatische Nitratbestimmung nach der Cadmiumreduktionsmethode weiter zu ent-

* Vortrag gehalten von H. J. Bachmann an der 98. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für Analytische und Angewandte Chemie vom 5./6. September 1986 in Pruntrut.

wickeln und in die Routineanalyse von Pflanzenmaterial einzuführen. Zu diesem Zweck waren sowohl die Empfindlichkeit wie der dynamische Messbereich der Methode um mindestens eine Grössenordnung zu steigern. Um dabei die Präzision der Messung nicht zu beeinträchtigen, mussten erhöhte Anforderungen an die Stabilität des Systems gestellt werden. Für die Extraktion war ein möglichst einfaches und zweckmässiges Verfahren zu entwickeln. Die neue Methode musste auf eventuelle Störeinflüsse, vor allem durch die Matrix, untersucht werden.

Die Cadmiumreduktionsmethode basiert auf der Griess-Ilosvay-Reaktion (5): Nitrat wird in einer Kupfer-Cadmium-Kolonne zu Nitrit reduziert; die Nitritionen bilden unter sauren Bedingungen mit Sulfanilamid eine Diazokomponente, welche mit N-(1-Naphthyl)ethylendiamin zu einem roten Azofarbstoff kuppelt. Die Methode erfasst somit die Summe von Nitrat und Nitrit, wobei der Beitrag des letzteren in Pflanzenproben vernachlässigbar klein ist (6). Zur Messung des Nitrits wird der Reduktionsschritt ausgelassen. In dem in der vorliegenden Arbeit beschriebenen System erfolgt die Reaktion kontinuierlich in der Trägerstromlösung, in welche ein Probenehmer abwechslungsweise Probe- und Blindlösung einspritzt. Störende Matrixkomponenten werden durch Dialyse abgetrennt. Die Farbstoffintensität wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 540 nm gemessen. Das Auswertesystem von Meyenburg erfasst die Peaks von Standardlösungen und von Proben und berechnet aus deren Höhe direkt die Konzentration im Probenmaterial unter Berücksichtigung von Basislinien- und Empfindlichkeitsdriften des Systems sowie von Probeneinwaagen und Verdünnungsfaktoren. Die Resultate werden zusammen mit der Probenbezeichnung ausgedruckt und auf Magnetband gespeichert.

Material und Methoden

Instrumentelles

Für die automatische Bestimmung von Nitrat und Nitrit wurde folgendes System verwendet:

- Apparatur für segmentierte Fliessinjektionsanalyse (siehe Abb. 1), bestehend aus einem Probenehmer (Carlo Erba), einer Schlauchquetsch-Proportionierungspumpe Typ II (Technicon), dem System für segmentierte Fliessinjektionsanalyse (Eigenbau mit Komponenten von Technicon), einem Dialysator (Eigenbau mit Technicon-C-Membran), einem Photometer Typ II mit 15-mm-Küvette (Technicon) und einem x/t-Schreiber (Technicon).
- Auswertesystem von Meyenburg, bestehend aus einem Mikroprozessor zur Probenehmersteuerung, Peakerfassung und -speicherung sowie einem Tischrechner HP-85B zur Verarbeitung, Speicherung und Ausdruck der Resultate.

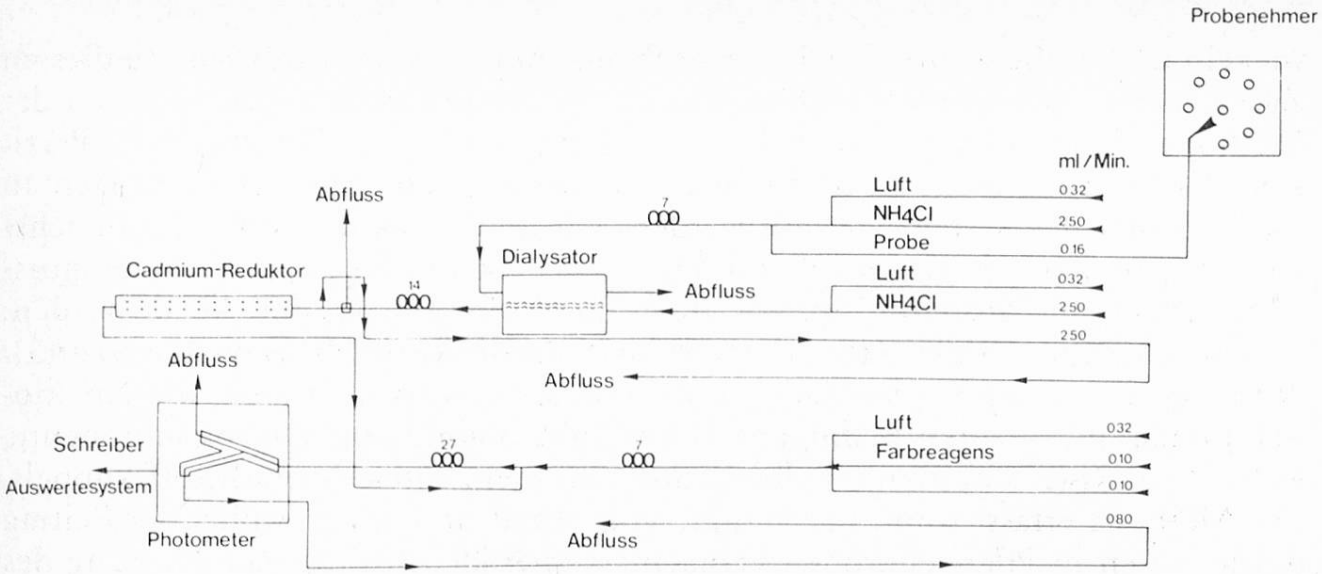


Abb. 1. Schema der Apparatur für segmentierte Fliessinjektionsanalyse

An weiteren Geräten wurde verwendet:

- Schüttelmaschine Bühler Sm-2,
- Waage Mettler PE-160,
- Dilutor Hamilton Microlab-M,
- Vortex-Mischer für flüssige Proben sowie
- Turbula-Mischer (Bachofen) für feste Proben.

Die wesentlichen instrumentellen Parameter waren:

Wellenlänge:	540 nm
Photometereinstellung:	
Std. Cal	6,00–6,70 Skalenteile, auf 100 mV pro µg/ml eingestellt
Damp	2
Auswertesystem:	
Messzyklus	40 Becher
Länge der Basislinie	20 Minuten
Probenfrequenz	18 Proben pro Stunde
Probe	150 Sekunden
Waschzeit	50 Sekunden
Eichstandardlösungen	0 µg NO_3-N/ml (Basislinie)
	2,5 µg NO_3-N/ml
	5 µg NO_3-N/ml
	7,5 µg NO_3-N/ml
	10 µg NO_3-N/ml
	12,5 µg NO_3-N/ml
	15 µg NO_3-N/ml
Korrekturstandardlösung	15 µg NO_3-N/ml (3 Positionen)
Eichung	linear
Minimales r^2	0,9995
Korrektur	Basislinie und Standard

Die Kupfer-Cadmium-Reduktionskolonne besteht aus einem 12 cm langen Rohr aus Braunglas mit einem Innendurchmesser von 0,6 cm. Sie wird mit 13,5 g Cadmium (Merck 2001 und 16441) gefüllt; die grobe Körnung wird am Anfang und am Ende der Kolonne verwendet. Präparation und Vorbereitung des Reduktors erfolgte wie in (4) beschrieben; bei täglichem Gebrauch muss er nach 1 bis 2 Monaten ersetzt werden. Zur Bestimmung von Nitrit wird er durch ein Stück orange-gelben Pumpschlauch ersetzt.

Lösungen

Alle verwendeten Reagenzien waren von analytischer Reinheit. Die Lösungen wurden mit Reinstwasser (Millipore) zubereitet.

- Trägerstromlösung: 10 g Ammoniumchlorid in ca. 800 ml Wasser lösen und pH mit Ammoniak auf 8,6 einstellen. Nach dem Auffüllen auf 1000 ml mit Wasser werden zur besseren Blasenbildung 1 ml Brij-35 (Technicon T 21-0110-17) sowie gegen Pilzbefall 2 ml Formaldehyd (Merck 4003) zugegeben.
- Farbreagenzlösung 1: 10 g Sulfanilamid (Merck 8035) in ca. 200 ml Wasser aufschlämmen, 100 ml Phosphorsäure (85%; Merck 573) zugeben und auf 500 ml auffüllen. 0,5 ml Brij-35 zugeben.
- Farbreagenzlösung 2: 0,5 g N-(1-Naphthyl)ethylendiamindihydrochlorid (Fluka 72720) in ca. 200 ml Wasser lösen und auf 500 ml auffüllen. 0,5 ml Brij-35 zugeben.
- Kupfersulfatlösung: 0,64 g Kupfer(II)sulfat-5-hydrat (Merck 2790) in Wasser lösen und auf 1000 ml auffüllen.
- Nitrat- bzw. Nitriteichlösungen: 7,218 g Kaliumnitrat (Merck 5063) bzw. 6,076 g Kaliumnitrit (Merck 5067), welches bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde, in Kupfersulfatlösung lösen und mit derselben auf 1000 ml auffüllen. Diese Stammlösung enthält 1000 μg NO_3-N bzw. NO_2-N/ml und wird für die Herstellung der Eichlösungen von 2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 und 15 μg No_3-N bzw. NO_2-N/ml mit Kupfersulfatlösung verdünnt.

Extraktion

1 g bzw. für niedrige Nitratgehalte 2 g getrocknetes und gemahlenes (Schlagkreuzmühle mit 1-mm-Sieb) Pflanzenmaterial wird in eine Polyethylenflasche eingewogen und mit 100 ml Kupfersulfatlösung versetzt. Anschliessend wird die Lösung während 20 Minuten linear geschüttelt und abfiltriert (Weissbandfilter 589-2 von Schleicher & Schüll). In der Regel wurden die Extrakte noch am gleichen Tag gemessen; sie sind aber im Kühlschrank (4 °C) mindestens 14 Tage, im Tiefkühler (–18 °C) mindestens 3 Monate haltbar.

Resultate und Diskussion

Messbereich

Die Festlegung der Bestimmungsgrenzen der Methode erfolgte ausschliesslich nach praxisbezogenen Kriterien. Mit dem gewählten oberen Grenzwert von 20 μg NO_3-N/ml Extraktionslösung können etwa drei Viertel aller anfallenden Pflanzenproben ohne Verdünnung vor dem Messen bestimmt werden; unter den üblichen Extraktionsbedingungen entspricht dies einem Höchstgehalt von 2000 ppm NO_3-N in Pflanzentrockensubstanz. Der Messbereich des Auswertesystems beträgt 2048 mV in Schritten von 1 mV; die Auflösung liegt damit bei 1 ppm NO_3-N und ist auch im Bereich niedriger Konzentrationen genügend gross. Der untere Grenzwert wurde auf 0,4 μg NO_3-N/ml Extraktionslösung festgelegt; bei 2 g Einwaage auf 100 ml entspricht dies 20 ppm NO_3-N im Pflanzenmaterial. Wird eine Bestimmung in Proben mit kleineren Nitratgehalten gewünscht, so müssen diese wegen der natürlichen Inhomogenität von Pflanzenmaterial vor der Extraktion speziell homogenisiert werden.

Der analytisch brauchbare Messbereich ist wesentlich grösser. Das Grundrauschen der Basislinie ist kleiner als 0,01 μg NO_3-N/ml Lösung, und die praktische Nachweisgrenze liegt bei 0,02 μg NO_3-N/ml. Sie kann auf 1 ng NO_3-N/ml gesenkt werden, indem die Probelösung unverdünnt der Dialyse zugeführt und das Photometersignal verstärkt wird. Das Weglassen des Dialyseschrittes brachte weder für Nitrat noch für Nitrit eine messbare Steigerung der Empfindlichkeit; im Gegenstromverfahren erfolgt somit ein quantitativer Austausch der Nitrat- und Nitritionen durch die Membran. Für die Gleichstromdialyse wird ein Wirkungsgrad von 25% genannt (7). Die Eichkurven mit Nitrat- und Nitritstandardlösungen zeigen einen linearen Verlauf bis 50 μg NO_3-N bzw. NO_2-N/ml. Die Methode deckt also einen weiten Konzentrationsbereich ab, und das System muss für einen den analytischen Bedürfnissen entsprechenden Messbereich konfiguriert werden.

Extraktionsverfahren

Nitrat lässt sich leicht und rasch aus gemahlenem Pflanzenmaterial extrahieren; nach etwa 5 Minuten Schütteln wird der Gleichgewichtszustand erreicht. Eine schlechte Benetzbarkeit der Probe kann diese Zeit verlängern; für die Routineanalyse wird darum 20 Minuten geschüttelt. Normalerweise wurden 1 g getrocknetes und gemahlenes Pflanzenmaterial mit 100 ml Lösung extrahiert. Bei geringen Gehalten wurden zur Verbesserung der Präzision der Bestimmung auch 2 g eingewogen; die gefundenen Nitratgehalte unterscheiden sich nicht signifikant von denjenigen mit 1 g Einwaage. Als Extraktionsmittel wurden reines Wasser, Natriumsulfat-, Aluminiumsulfat- sowie Kupfersulfatlösungen geprüft. Es konnte kein Unterschied bezüglich Extraktionsverhalten und -vermögen festgestellt werden. Die Zusammensetzung der Extraktionslösung beeinflusst jedoch

stark deren Haltbarkeit. Rein wässerige Natriumsulfat- und Aluminiumsulfatlösungen weisen nach kurzer Zeit (z. T. bereits nach 2 Stunden) sinkende Nitratgehalte auf und neigen zu Pilzbefall. Kupfersulfat verhindert Pilzentwicklung sowie den biologischen Abbau des Nitrats in den Extrakten über längere Zeit: Im Kühlschrank können die Lösungen mindestens 14 Tage, im Tiefkühler mindestens 3 Monate ohne messbare Verluste aufbewahrt werden.

Das Verhalten von Nitrit bei der Extraktion aus Pflanzenmaterial wurde nicht speziell überprüft, da dessen Konzentration, verglichen mit Nitrat, vernachlässigbar klein ist (6) und normalerweise nicht bestimmt wird. In Bodenextrakten, in denen Nitrat und Nitrit analysiert wurden, konnte kein Unterschied zwischen den beiden Ionen im Verhalten bei der Extraktion sowie bezüglich der Haltbarkeit festgestellt werden.

pH-Wert der Trägerstromlösung

Das Reduktionsverhalten der Kupfer-Cadmium-Kolonne ist von entscheidender Bedeutung für die Stabilität des Systems. Dieses wird durch den pH-Wert der Trägerstromlösung beeinflusst (8), wie die Bruttoreaktionsgleichung zeigt:

$$Cd + NO_3^- + 2H^+ \dashrightarrow Cd^{2+} + NO_2^- + H_2O$$

Wenn der pH-Wert zu niedrig ist, wird Nitrit weiter reduziert, während ein zu hoher Wert die Reduktion des Nitrats hemmt; der optimale Bereich liegt zwischen pH 5 und 10 (7). In ungepufferten Lösungen wird der pH-Wert und das Reduktionspotential der Kupfer-Cadmium-Kolonne durch die Probe sowie durch die Reduktion des gelösten Luftsauerstoffes beeinflusst (9). Die Verwendung eines Ammonium/Ammoniak-Puffers in der Trägerstromlösung im basischen Bereich hält sowohl den pH-Wert als auch durch Komplexierung der gebildeten Cadmiumionen das Reduktionspotential konstant. Als pH-Wert wird 8,1 (9), 8,6 (7) und 9,6 (10) empfohlen.

Die Resultate in Tabelle 1 zeigen den Einfluss der Pufferung der Trägerstromlösung auf pH 8,6 bei Mehrfachbestimmung der gleichen Lösung. Die Präzision der Messwerte wird durch die Pufferung deutlich verbessert. Gleichzeitig verringert sich die Basislinien- und die Empfindlichkeitsdrift des Systems. Unter Verwendung der gepufferten Trägerstromlösung kann kein signifikanter Konzentrationsunterschied zwischen Nitrat- und Nitritstandardlösung festgestellt werden; nur die Streuung der Nitritmessungen ist etwas geringer. Die Reduktion erfolgt also quantitativ. Nach diesen Versuchen wurden alle folgenden Messungen mit gepufferter Trägerstromlösung durchgeführt.

Untersuchung von Störeinflüssen

Zur Untersuchung von Störeinflüssen durch die Probenmatrix wurden Extrakte von den untersuchten Pflanzenmaterialien direkt, nach Zugabe von Standard-

lösungen sowie nach Verdünnung mit Extraktionslösung gemessen. Dabei konnten keine Matrixeinflüsse festgestellt werden. Dies ist in erster Linie der effizienten Dialyse zuzuschreiben. Selbst stark gefärbte Extrakte, wie zum Beispiel von Randenproben, zeigen nach der Dialyse keine messbare Färbung mehr.

Tabelle 1. Verbesserung der Stabilität des Messystems durch Pufferung der Trägerstromlösung. Vergleich von Messungen mit und ohne Pufferung

Lösung	Puffer	Mittelwert µg/ml	Maximum µg/ml	Minimum µg/ml	SD µg/ml	RSD %
1	nein	3,823	3,92	3,74	0,085	2,2
1	ja	3,875	3,92	3,82	0,026	0,7
2	nein	14,93	15,06	14,80	0,34	2,3
2	ja	15,15	15,17	15,10	0,07	0,5
3	nein	14,67	14,92	14,49	0,43	2,9
3	ja	15,14	15,20	15,09	0,11	0,7

Lösung 1: Je 31 Messungen der gleichen Extraktionslösung einer Kleeprobe (1 g/100 ml)
Lösung 2: Je 5 Messungen einer 15 µg/ml Nitritstandardlösung
Lösung 3: Je 5 Messungen einer 15 µg/ml Nitratstandardlösung
SD: Standardabweichung; RSD: relative Standardabweichung, bezogen auf den Mittelwert

Der Einfluss von störenden Ionen sowie von Ascorbinsäure wurde durch Zugaben von grossen Mengen derselben (0,5, 2 und 4 mg/ml) in 5 Extrakten untersucht. Jedes Extrakt wurde in 4 Teile geteilt, wovon 3 mit dem Chloridsalz von potentiellen Störionen oder mit Ascorbinsäure in der entsprechenden Menge dotiert wurden; die vierte Teillösung diente als Referenz. Die 4 Teillösungen wurden je dreifach gemessen. Ascorbinsäure führte zu einer rascheren Erschöpfung der Kapazität der Kupfer-Cadmium-Kolonne; dies äussert sich in einer sinkenden Empfindlichkeit, welche durch das Auswertesystem ausgeglichen wird. Die Wirkung hängt stark vom Probenmaterial ab; bei Standardlösungen wird bei 1 mg/ml noch kein Einfluss beobachtet. Nach Absetzen der Ascorbinsäure erholt sich die Kolonne wieder. Die Zugabe von 2 mg/ml Cr(III) verringert die Empfindlichkeit ebenfalls, während Fe(III) bereits ab 0,5 mg/ml die Messung durch Veränderung der Peakform nachhaltig stört; beide Ionen schädigen den Reduktor irreversibel. Mg^{2+} führt in einer Konzentration von 4 mg/ml zu einer leichten Peakdepression. Die übrigen untersuchten Ionen (Fe(II), Mn(II), Ni(II), Zn(II) und Cl^-) zeigten keine Wirkung. In natürlich auftretenden Konzentrationsbereichen konnte überhaupt kein Störeinfluss festgestellt werden.

Reproduzierbarkeit der Nitratbestimmung

Die Reproduzierbarkeit der Messung von Standard- und Extraktionslösungen können anhand der Werte für gepufferte Trägerstromlösung in Tabelle 1 abgeschätzt werden. Die durchschnittliche relative Standardabweichung der gefundenen Werte liegt bei 0,7%; für Nitrat kann kein signifikanter Unterschied zwischen Standardlösungen und Extrakten festgestellt werden. Diese Kontrolle umfasst nur die Reproduzierbarkeit der reinen Messung, welche unabhängig von der Eichkurve ist.

Für die Untersuchung der Reproduzierbarkeit der gesamten Nitratbestimmung, ausgehend vom getrockneten und gemahlenen Pflanzenmaterial, ist sowohl der Einfluss der Eichung wie auch derjenige von Probeninhomogenität und Extraktion mit zu berücksichtigen. Zu diesem Zweck wurde Nitrat aus 31 Pflanzenproben, welche das übliche Spektrum von anfallenden Pflanzenmaterialien abdecken, 5mal nacheinander extrahiert und gemessen. Die Lösungen der 1. Extraktionen wurden aufbewahrt und zusätzlich jeweils zusammen mit den Lösungen der 4 folgenden Extraktionen erneut gemessen. Der Einfluss der Eichung wird aus dem Vergleich der Resultate der 5 Messungen der 1. Extrakte in Tabelle 2 mit den Werten für gepufferte Trägerstromlösungen in Tabelle 1 ersichtlich. Die Reproduzierbarkeit der gesamten Bestimmung kann aus den Resultaten aller 5 Extraktionen in Tabelle 2 abgeschätzt werden, wobei für die 1. Extraktion nur die Werte der ersten Messung berücksichtigt wurden.

In einem zweiten Versuch wurden 29 Muster einer speziell homogenisierten Grasprobe gleichzeitig extrahiert und mit derselben Eichung gemessen (Mehrfachbestimmung). In den folgenden 40 Messzyklen, verteilt über 25 Tage und jeder mit eigener Eichung, wurde jeweils ein weiteres Muster dieser Probe extrahiert und gemessen (wiederholte Bestimmung). Die Resultate beider Versuche sind in Tabelle 2 zusammengefasst; es werden die Mittelwerte der jeweiligen Bestimmungen angegeben.

Der Vergleich der Resultate von Lösung 1 (gepuffert) in Tabelle 1 mit denjenigen der 1. Extraktionslösungen in Tabelle 2 zeigt den Einfluss der Eichung auf die Reproduzierbarkeit der wiederholten Bestimmung: Die relative Standardabweichung der Messwerte in Tabelle 2 beträgt im Durchschnitt 1,3% und ist damit fast doppelt so gross wie bei der Mehrfachbestimmung von Lösungen mit der gleichen Eichung in Tabelle 1. Die Reproduzierbarkeit der Messung der gleichen Lösung hängt also stark von der Reproduzierbarkeit der Eichung ab.

Im Gegensatz zur Mehrfachbestimmung ist die Reproduzierbarkeit der wiederholten Bestimmung, jede mit einer anderen Eichung, vom Nitratgehalt der Lösung abhängig: Im Konzentrationsbereich von 4–20 μg NO_3-N/ml beträgt die relative Standardabweichung ähnlich wie bei Mehrfachmessungen im Durchschnitt 0,7%; für Konzentrationen unterhalb von 4 μg NO_3-N/ml liegt die Standardabweichung unabhängig vom Gehalt zwischen 0,02 und 0,03 μg NO_3-N/ml. Der Grund für diese Konzentrationsabhängigkeit liegt in der unterschiedlichen Präzision der beiden Eichparameter: Die durchschnittliche relative Standardabweichung der aus der linearen Regression von Blindwert und 6 Standardlösungen

hervorgehenden Steigung beträgt 0,7%, während die Standardabweichung des Achsenabschnittes konstant bei 0,01 μg NO_3-N/ml liegt. Bei tiefen Konzentrationen dominiert der Einfluss der Standardabweichung des Achsenabschnittes, bei höheren derjenige der Steigung.

Tabelle 2. Einfluss von Eichung sowie von Probeninhomogenität und Extraktion auf die Reproduzierbarkeit der Nitratbestimmung. Erläuterung im Text

Lösungen	Konz. ppm	RSD %	Rel. Streubereich %
1. Extraktion	404	1,3	2,9
5 Extraktionen	404	2,0	4,8
Mehrfachbestimmung	405	1,6	3,7
Wiederholte Bestimmung	403	1,5	3,3

Konz.: Konzentration in Pflanzentrockensubstanz
RSD: Durchschnittswert der relativen Standardabweichungen der Messungen, bezogen auf den Mittelwert
Rel. Streubereich: Relative Differenz zwischen dem maximalen und dem minimalen Wert der Messungen, bezogen auf den Mittelwert
Alle Werte sind Durchschnittswerte der jeweiligen Bestimmungen.

Der Einfluss von Probeninhomogenität und Extraktion

Die Auswirkung der natürlichen Probeninhomogenität und der Extraktion auf die Reproduzierbarkeit der Nitratbestimmung lassen sich ebenfalls anhand der Werte in Tabelle 2 abschätzen. Deren Einfluss überlagert denjenigen der Eichung, welcher sich auf alle Proben gleichermassen auswirkt. Die ähnlichen Relativwerte für Standardabweichung und Streubereich für Mehrfach- und wiederholte Bestimmungen, welche höher als für die 1. Extraktion liegen, zeigen, dass der Eicheinfluss in diesem Konzentrationsbereich wesentlich geringer ist als derjenige von Probeninhomogenität und Extraktion. Da die im zweiten Versuch verwendete Grasprobe speziell mit einem Turbulamischer homogenisiert wurde, kann der gegenüber der Mehrfachbestimmungen der 1. Extraktionslösungen grössere Streubereich hauptsächlich der Extraktion zugeschrieben werden. Die Probeninhomogenität der unter üblichen Bedingungen vorbereiteten, das heisst nicht speziell homogenisierten Proben wirkt sich zusätzlich zur Extraktion in ähnlich starkem Mass aus. Dies wird aus dem gegenüber den 1. Extraktionen grösseren Streubereich aller 5 Extraktionen ersichtlich, wobei sich beträchtliche Unterschiede zwischen den einzelnen Probenarten zeigten. Im Routinebetrieb muss bei einer Einwaage von 1 g Pflanzenmaterial auf 100 ml Extraktionslösung mit einer

Standardabweichung der Resultate von 4% oder mindestens 15 ppm bzw. bei 2 g Einwaage mit 2% oder mindestens 7,5 ppm NO_3-N, bezogen auf die Trockensubstanz, gerechnet werden.

Die Resultate in Tabelle 2 zeigen, dass der gefundene Durchschnittswert für die Konzentration unabhängig von Eichung, Probeninhomogenität und Extraktion ist; ein systematischer Fehler, der durch einen der genannten Faktoren verursacht wird, kann somit ausgeschlossen werden. Der Streubereich für die wiederholten Messungen der 1. Extraktionslösungen ist kleiner als derjenige aller Extraktionen; die Eichung hat eindeutig einen geringeren Einfluss auf die Reproduzierbarkeit der Bestimmung als Probeninhomogenität und Extraktion. Für die präzise Nitratanalyse ist darum Homogenisierung und Extraktion der Probe von entscheidender Bedeutung, zumal die Güte der Eichung aufgrund statistischer Kriterien sowie durch Messung von Standardlösungen jederzeit und einfach beurteilt werden kann und soll.

Vergleichsmessungen

Die langfristige Reproduzierbarkeit der Resultate im Routinebetrieb wurde durch regelmässige Vergleichsmessungen mit speziell homogenisierten laborinternen Referenzproben überwacht. Während der Methodenentwicklung wurde ein Archiv mit Referenzproben eingerichtet, die den Konzentrationsbereich und das Spektrum der analysierten Pflanzenproben abdeckt. Die über den Zeitraum von einem Jahr gefundene Reproduzierbarkeit der Nitratbestimmung entspricht derjenigen in den oben aufgeführten Versuchen; im weiteren konnte im Laufe dieser Zeit keine signifikante Änderungen in den gefundenen Werten festgestellt werden.

Neben der Messung von laborinternen Referenzproben wurde die Analysenqualität der Nitratbestimmung durch die Teilnahme an internationalen Ringversuchen überwacht. Eine sehr nützliche Hilfe stellt der Ringversuch der Universität Wageningen (NL) dar: Im zweimonatigen Rhythmus werden 6 Pflanzenproben verschiedener Art und Herkunft analysiert. Die rasche Auswertung der Resultate ermöglicht eine schnelle Erkennung von Analysefehlern. Als Besonderheit sind zwei der sechs Proben während eines ganzen Jahres Muster des gleichen homogenisierten Pflanzenmaterials; dies erlaubt eine Bewertung der Analysenkonstanz über einen längeren Zeitraum. In Abbildung 2 ist eine repräsentative Auswahl der 1985 von uns analysierten Wageningenproben mit den ermittelten Werten dargestellt. Sie zeigt eine gute Übereinstimmung mit den ausreisserkorrigierten Zentralwerten des Ringversuches sowie die Reproduzierbarkeit der Messung über einen längeren Zeitraum.

Eine noch nicht abgeschlossene Studie über die Resultate von weiteren Ringversuchen (ALVA, CII und IAG) zeigt eine Abhängigkeit der Resultate von der Bestimmungsmethode. Dies gilt vor allem für niedrige Konzentrationsbereiche, während bei hohen Gehalten die Übereinstimmung der Werte der verschiedenen Laboratorien im allgemeinen gut ist. Eine Untersuchung der Nitratresultate im

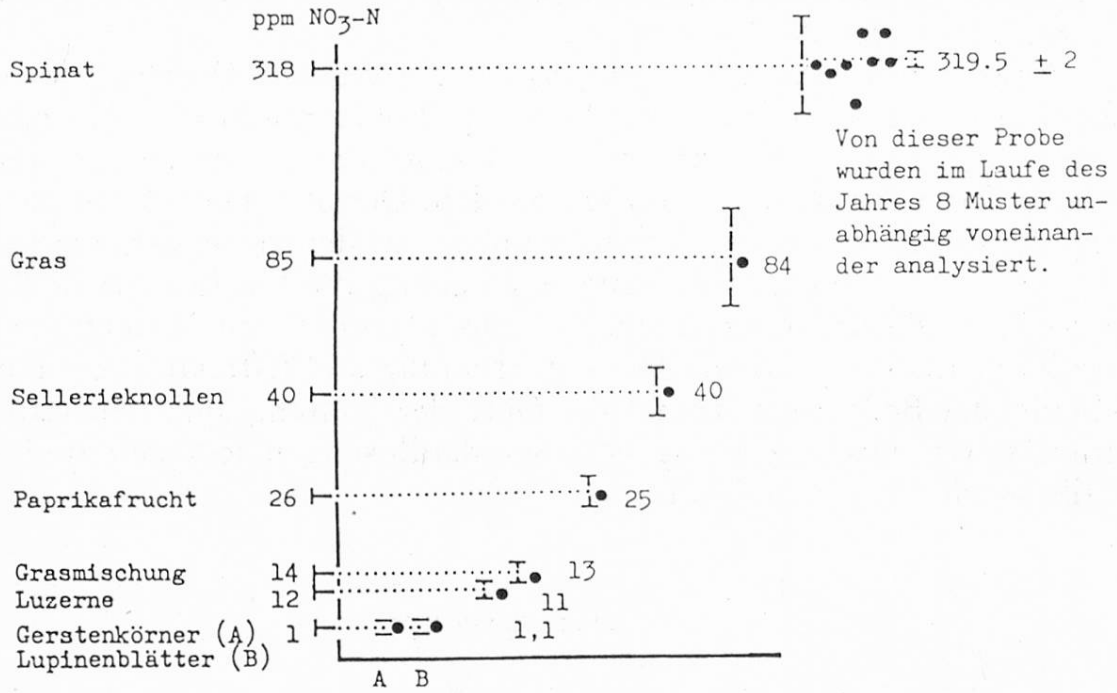
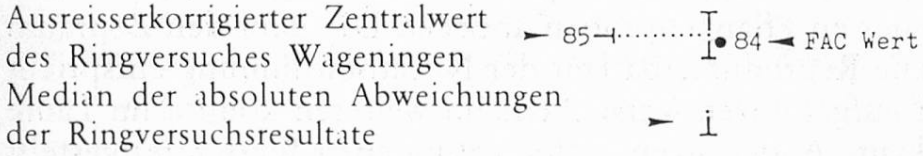


Abb. 2. Nitratresultate der FAC im Ringversuch Wageningen 1985 (8 Proben; 12–20 Laboratorien)



Ringversuch Wageningen während 5 Jahren zeigt, dass der Vergleich von Resultaten verschiedener Laboratorien unterhalb einer Konzentration von 200 ppm NO_3-N in Pflanzentrockensubstanz sehr problematisch ist (11). Bei höheren Gehalten liegt die relative Streuung der ausreisserbereinigten Werte bei etwa 10%.

Betriebliche Aspekte

Der Arbeitsaufwand für die Entwicklung der beschriebenen Nitratbestimmungsmethode betrug 7 Mannmonate. Für den Routinebetrieb wurde ein Labor mit genügend grosser Arbeitsfläche und einem ausreichenden Vorrat an Laborgeschirr eingerichtet. Das Nitratlabor wird im Einmannbetrieb geführt, und es können im langfristigen Durchschnitt 43 Proben pro Arbeitstag analysiert werden. Der Probendurchsatz verdreifachte sich damit gegenüber der Bestimmung mit der nitratsensitiven Elektrode. Wie ein Probebetrieb zeigte, kann er durch den Einsatz einer weiteren Laborperson auf 80 Proben pro Tag gesteigert werden. Der

Grund dafür liegt darin, dass im Einmannbetrieb die eigentliche Messung nur noch 20% der Arbeitszeit beansprucht. Je ein Viertel der letzteren entfallen auf Probenvorbereitung und Resultateverarbeitung. Zur weiteren Steigerung der Analysenkapazität des Nitratlabors ist darum eine weitgehende Automatisierung dieser beiden Arbeitsbereiche geplant.

Schlussfolgerung

Nach mehr als einem Jahr Routinebericht kann festgestellt werden, dass sich die automatische Bestimmung von Nitrat und Nitrit in Pflanzenmaterial mit der Cadmiumreduktionsmethode in der Praxis bewährt. Sie liefert präzise und reproduzierbare Resultate, welche mit denjenigen von anderen Laboratorien vergleichbar sind. Bisher konnte keine Störung durch Matrixeinflüsse festgestellt werden. Um die Leistungsfähigkeit des Analysensystems voll ausnützen zu können, müssen Probenvorbereitung und Resultateverarbeitung ebenfalls automatisiert werden.

Dank

Wir danken all den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, welche bei der Entwicklung und Überprüfung der Methode geholfen haben. Dies gilt insbesondere für Herrn *M. Suchy,* Herrn *M. A. Wegmann,* Frau *U. Linder* und Frau *A. Iannone.*

Zusammenfassung

Nitrat und Nitrit in wässerigen Pflanzenmaterialextrakten werden mit einer automatischen Apparatur für segmentierte Fliessinjektionsanalyse (Technicon Auto Analyzer, Auswertesystem von Meyenburg) bestimmt. Nach der Abtrennung von störenden Probenkomponenten durch Dialyse reduziert eine Kupfer-Cadmium-Kolonne Nitrat zu Nitrit. Die Nitritionen bilden mit Sulfanilamid und mit N-(1-Naphthyl)ethylendiamin einen roten Azofarbstoff, welcher bei einer Wellenlänge von 540 nm photometrisch gemessen wird. Das Auswertesystem ermittelt aus dem Vergleich mit Standardlösungen direkt die Konzentration im Probenmaterial unter Berücksichtigung von Instrumentendrift, Probeneinwaagen und Verdünnungsfaktoren. Der Aufbau der Analysenapparatur und deren Leistungsfähigkeit wird beschrieben. Die durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass unter den verwendeten Betriebsbedingungen kein störender Einfluss von Extraktionslösung, Matrixkomponenten und pH-Wert zu erwarten ist. Die in Ringversuchen erzielten Resultate stimmen mit denjenigen von anderen Nitratbestimmungsmethoden gut überein. Einige Aspekte des Routinebetriebs werden kurz erläutert.

Résumé

Nitrates et nitrites sont déterminés, après extraction aqueuse du matériel végétal, par un appareillage automatique (Technicon Auto Analyzer, système de mise en valeur des résultats von Meyenburg). Après la séparation par dialyse des composés interférant, les nitrates sont réduits en nitrites sur une colonne de cuivre-cadmium. Les nitrites réagissent avec la sulfanilamide et la N-(1-naphthyl)éthylènediamine en développant une couleur azoïque rouge, laquelle est mesurée photométriquement à une longueur d'onde de 540 nm. Le système de mise en valeur des résultats permet à partir d'une gamme étalon d'obtenir directement la concentration en nitrate dans l'échantillon, tout en tenant compte de la dérive de l'instrument, du poids de l'échantillon et du facteur de dilution. La construction de l'appareillage et sa capacité de travail sont décrites. Les essais expérimentaux ont montré que la solution d'extraction, la matrice et le pH n'interfèrent pas dans nos conditions de travail. La comparaison de résultats inter-laboratoires met en évidence un bon accord avec d'autres méthodes de détermination. Certains aspects du travail de routine sont décrits succintement.

Summary

Nitrate and nitrite are automatically determined in aqueous extracts of plant material by segmented flow injection analysis (Technicon Auto Analyzer, computing system von Meyenburg). After separation of interfering matrix components by dialysis nitrate is reduced to nitrite with a copperized cadmium column. Nitrite forms in the presence of sulfanilamide and N-(1-naphthy)ethylendiamine a red azo dye which is photometrically measured at a wavelength of 540 nm. By comparison with standard solutions the computing system directly calculates the concentration in the sample taking into account instrument drift, sample weights and dilution factors. The system and its analytical capacity is described. Under the working conditions used no interference is to be expected from the extraction solution, matrix components and pH value, as the experiments carried out have shown. The values obtained in inter-laboratory studies agree with the results from other nitrate determination methods. Some aspects of routine analysis are briefly discussed.

Literatur

1. *Leu, D., Biedermann, R., Dettweiler, J., Hoigné, J.* und *Stadelmann, F. X.:* Bericht über Nitrat im Trinkwasser—Standortbestimmung 1985. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **77**, 227–315 (1986).
2. *Schnetzer, H. L.:* Nitrat – essentieller Pflanzennährstoff oder Gefahr für die menschliche Gesundheit? Schweiz. Landw. Forsch. **21**, 31–49 (1982).
3. *Kinkeldei, J.:* Nitratbestimmung mit ionenselektiven Elektroden. Labor-Praxis **7**, 268–272 (1983).
4. *Künsch, U., Schärer, H.* und *Temperli, A.:* Zur Automatisierung der Bodenanalyse. Schweiz. Landw. Forsch. **16**, 141–153 (1977).
5. *Pötzl, K.* und *Reiter, R.:* Eine einfache Methode zur Bestimmung von Nitrat-Ionen im atmosphärischen Niederschlag und in Aerosol-Kondensaten mit Anwendung auf Pro-

bleme der Luftelektrizität während Niederschlägen. Z. Aerosol. Forsch. u. Ther. **8**, 252–264 (1960).
6. *Dittrich, W.:* Zur Physiologie des Nitratumsatzes in höheren Pflanzen (unter Berücksichtigung der Nitratspeicherung). Planta **12**, 69–118 (1930).
7. *Henriksen, A.* and *Selmer-Olsen, A. R.:* Automatic method for determining nitrate and nitrite in water and soil extracts. Analyst **95**, 514–518 (1970).
8. *Nydahl, F.:* On the optimum conditions for the reduction of nitrate to nitrite by cadmium. Talanta **23**, 349–357 (1975).
9. *Grasshof, K.:* Zur Bestimmung von Nitrat in Meer- und Trinkwasser. Kieler Meeresforsch. **20**, 5–11 (1964).
10. *Elliot, R. J.* and *Porter, A. G.:* A rapid cadmium reduction method for the determination of nitrate in bacon and curing brines. Analyst **96**, 522–527 (1971).
11. *Houba, V. J. G., Novozamsky, I.* and *van der Lee, J. J.:* Inorganic chemical analysis of plant tissue: possibilities and limitations. Neth. J. Agric. Sci. **34**, 449–456 (1986).

H. J. Bachmann
Dr. R. Ch. Daniel
D. Ruf
Eidg. Forschungsanstalt
für Agrikulturchemie und Umwelthygiene
CH-3097 Liebefeld