



## 55. Nitrit i vand og spyt

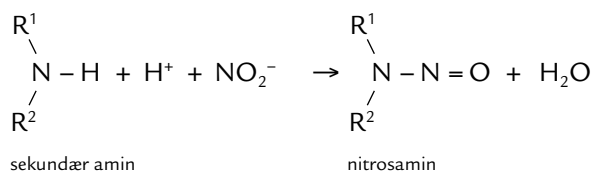
Formålet med dette eksperiment er at bestemme indholdet af nitrit i vand og spyt.

Drikkevand og visse fødevarer (især frugt og grønsager) indeholder nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ), som formentlig er helt uskadelig i sig selv. Men nitrat kan omdannes til nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ), som anses for at være sundhedsskadelig.

Efter indtagelsen af nitratholdig mad og vand optages nitraten i blodet og føres rundt i organismen. Blodet afgiver noget af sit nitratinhold til spyt. I mundhulen sker der en bakteriel reduktion af nitrat til nitrit.

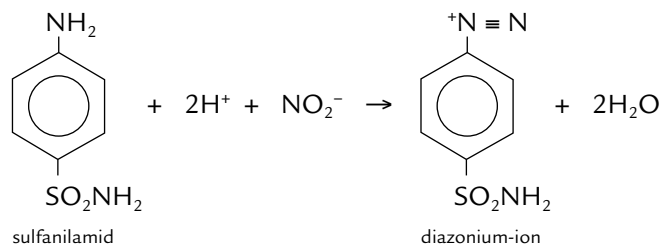
Dertil kommer, at vi indtager lidt nitrit med føden. Nitrit anvendes nemlig som konserveringsmiddel i visse kød- og pålægsvare, og nogle fødevarer indeholder lidt nitrit dannet ved bakteriel reduktion af nitrat.

Man mener, at den sundhedsskadelige virkning af nitrit skyldes, at nitrit kan reagere med sekundære aminer og danne nitrosaminer:

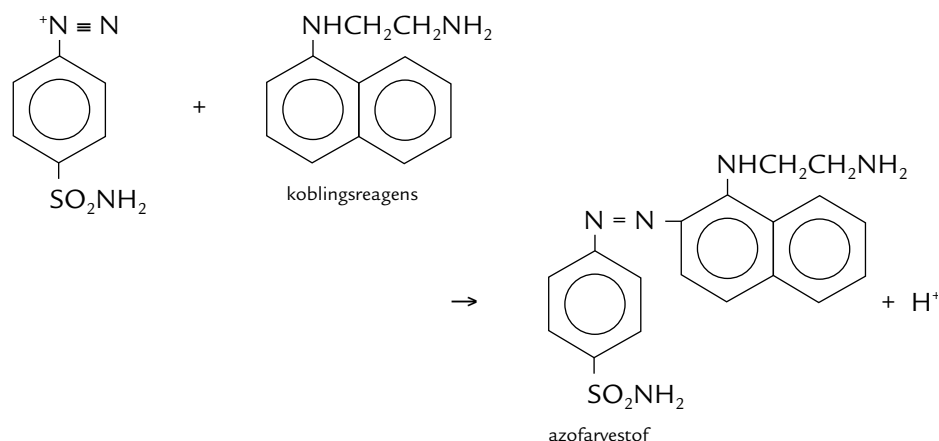


Reaktionen kan foregå i surt miljø, fx i maven. En række nitrosaminer har i dyreforsøg vist sig at være kræftfremkaldende.

Når man skal måle en opløsnings nitritkoncentration, udnytter man, at  $\text{NO}_2^-$  i sur opløsning reagerer med aromatiske primære aminer og danner diazonium-ioner. Vi anvender aminen sulfanilamid:



Diazonium-ioner bringes herefter til at reagere med et stof, som kaldes koblingsreagenset. Derved dannes der et rødt såkaldt azofarvestof:



Hvis den aktuelle stofmængdekonzentration af azofarvestof ikke er for høj, gælder Lambert-Beers lov:

$$A = \varepsilon_{\lambda} \cdot l \cdot [\text{azofarvestof}]$$

hvor  $A$  er absorbansen ved en given bølgelængde,  $\varepsilon_{\lambda}$  er den molare ekstinktionskoefficient ved den pågældende bølgelængde,  $l$  er lysvejens længde, og  $[\text{azofarvestof}]$  er den aktuelle stofmængdekonzentration af azofarvestof i opløsningen.

Nitrit omdannes kvantitativt (fuldstændigt) til azofarvestoffet. Jo større koncentration af  $\text{NO}_2^-$ , desto mere intens bliver opløsningens farve.

Først måles et absorptionspektum for en opløsning, der indeholder azofarvestoffet. Ud fra absorptionspektret bestemmes den bølgelængde, hvor der er maksimal absorbans, og ved denne måles absorbansen i seks standardopløsninger med kendte aktuelle stofmængdekonzentrationer af azofarvestoffet.

Da absorbansen måles ved én bestemt bølgelængde og lysvejen holdes konstant, kan Lambert-Beers lov skrives på formen:

$$A = k \cdot [\text{NO}_2^-]$$

På grundlag af målinger af standardopløsningerne tegnes en standardkurve, som viser  $A$  som funktion af  $[\text{NO}_2^-]$ .

Ved at måle absorbansen for en opløsning med et ukendt indhold af nitrit, kan man ved hjælp af standardkurven bestemme indholdet af nitrit i opløsningen.

**APPARATUR**

- 9 koniske kolber, 100 mL
- Mærkater
- Måleglas, 100 mL
- Pipette, 1,00 mL
- Pipettesuger
- Mærkater
- Reagensglas
- Reagensglasstativ
- Tragt
- Tragt, lille
- Filtrerpapir
- Spektrofotometer
- Kuvetter

**KEMIKALIER**

- Fælles buretter med  $5,00 \cdot 10^{-5}$  M natriumnitrit,  $\text{NaNO}_2$
- Fælles buretter med sulfanilamidopløsning
- Fælles buretter med koblingsreagens

**RISICI**

- $5,00 \cdot 10^{-5}$  M natriumnitrit er farlig ved indtagelse.
- Sulfanilamidopløsningen og koblingsreagenset er sundhedsskadelige.

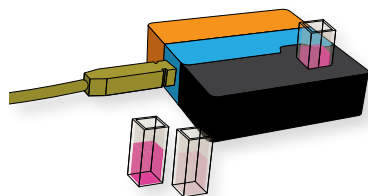
**EKSPERIMENTELT***Del 1: Nitrit i vand*

Der skal anvendes syv 100 mL koniske kolber, som mærkes med tallene fra 1 til 7. Hæld væske i kolberne som angivet i skemaet på næste side.  $\text{NaNO}_2$ -opløsningen aftappes fra burette, demineraliseret vand og drikkevand afmåles med måleglas.

Tilsæt 2 mL sulfanilamidopløsning til hver af kolberne og derefter 2 mL koblingsreagens. Ryst kolberne, så indholdet blandes. Lad opløsningerne stå i ca. 10 minutter inden måling i spektrofotometeret.

Tænd for spektrofotometeret. Følg nøje vejledningen for det anvendte apparat, når det indstilles og kalibreres – kalibreringen skal ske med opløsningen i kolbe 1.

Fyld en kuvette med opløsning 6. Optag et absorptionsspektrum, og bestem den bølgelængde, hvor absorbansen er maksimal. Ved de følgende absorbansmålinger måles der ved denne bølgelængde.



Figur 55.1. Spektrofotometer og kuvetter.

Bølgelængde $\lambda$ , hvor absorbansen er maximal/nm

Mål absorbanserne for opløsningerne 1 til 6 samt for drikkevandsprøven. Notér resultaterne i skemaet på næste side.

Nr.	Volumen $5,00 \cdot 10^{-5}$ M NaNO <sub>2</sub> /mL	Volumen demineraliseret vand/mL	[NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ]/M	A
1	0	50	0	
2	2,0	48	$2,0 \cdot 10^{-6}$	
3	4,0	46	$4,0 \cdot 10^{-6}$	
4	6,0	44	$6,0 \cdot 10^{-6}$	
5	8,0	42	$8,0 \cdot 10^{-6}$	
6	10,0	40	$10,0 \cdot 10^{-6}$	
7	50 mL drikkevand			

### Del 2: Nitrit i spyt

Spyttets aktuelle stofmængdekonzentration af NO<sub>2</sub><sup>-</sup> måles efter metoden i del 1. Selv efter filtrering er en spytopløsning uklar. For at undgå, at dette generer målingen i spektrofotometeret, nulstilles apparatet på en spytopløsning, blot uden koblingsreagens.

Der måles på to forskellige fortyndinger af spyt. Overfør med måleglas henholdsvis 19 mL og 99 mL demineraliseret vand til to rene 100 mL koniske kolber. Rens munden med vandhanevand, og spyt ud, så munden er tømt. Bevæg derefter spyt frem og tilbage i munden i 5 minutter. Spyt ud i en tragt (uden filtrerpapir), som står i et reagensglas.

Overfør med pipette 1,00 mL spyt til hver af de to kolber vand, og omryst grundigt. Mærk *øverst* fire kuvetter med mærkater med påskriften »20«, »20b«, »100« og »100b«. De to kuvetter mærket »b« skal anvendes som blindprøver til nulstilling af spektrofotometeret.

Brug en lille tragt til at filtrere det 100 gange fortyndede spyt, først over i kuvetten mærket »100b«, derefter i »100«. Fyld de to kuvetter ca.  $\frac{2}{3}$  op. Filtrér det 20 gange fortyndede spyt over i »20b« og »20« i nævnte rækkefølge.

Tilsæt 4 dråber sulfanilamidopløsning til hver af de fire kuvetter. To af kuvetterne, »100« og »20«, tilsættes dernæst 4 dråber koblingsreagens. Rør forsigtigt rundt med skaftet af en ren spatel (undgå at ridse kuvetten). Efter ca. 10 minutter måles absorbansen, idet apparatet forinden nulstilles på den tilsvarende blindprøve. Notér resultaterne i skemaet.

Opløsning mærket	20	100
A		

## EFTERBEHANDLING

## Del 1

1. Vis, hvorledes  $[\text{NO}_2^-]$  beregnes for standardopløsningerne 1 til 6. Ved alle målinger anvendes 50 mL opløsning og i alt 4 mL reagens. Bemærk, at koncentrationsangivelserne refererer til opløsningerne inden reagenstilsætningen.
2. Afbild i et koordinatsystem absorbansen  $A$  som funktion af  $[\text{NO}_2^-]$  for standardopløsningerne 1 til 6.
3. Kommentér grafens udseende og argumentér for, at måleresultaterne er i overensstemmelse med Lambert-Beers lov.
4. Anvend standardkurven til at finde  $[\text{NO}_2^-]$  i drikkevandet. Resultatet omregnes til mg  $\text{NO}_2^-$  pr. liter.

	$[\text{NO}_2^-]$	Nitritindhold i mg/L
Drikkevand		

## Del 2

5. Mindst en af de fortyndede spytopløsninger har forhåbentlig en passende absorbans. Beregn for denne  $[\text{NO}_2^-]$  ved hjælp af standardkurven.
6. Beregn  $[\text{NO}_2^-]$  i ufortyndet spyt, og omregn resultatet til mg  $\text{NO}_2^-$  pr. liter spyt.
7. En fastende voksen angives at have en nitritkoncentration i spyttet på ca. 7 mg  $\text{NO}_2^-$  pr. liter, men der kan være ret store forskelle fra person til person. En høj værdi kan skyldes, at forsøgspersonen har spist grønsager mindre end 24 timer før forsøget. Kommentér forsøgsresultaterne.
8. Antag, at en voksen person producerer 1,2 liter spyt pr. døgn, og at nitritkoncentrationen i spyttet svarer til måleresultatet. Hvor mange mg  $\text{NO}_2^-$  produceres der i så fald i mundhulen pr. døgn?