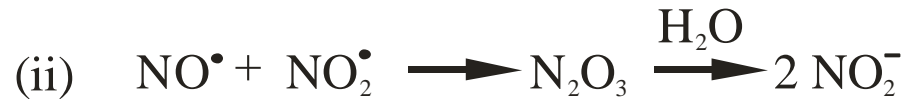


## 2.6 Nitrit-Bestimmung ( $\text{NO}_2^-$ )

Die Bildung von Stickoxid wurde mittels der Griessreaktion über eines seiner Zerfallsprodukte (Übersicht 6), das Nitrit, verifiziert (Hevel & Marletta 1994).



oder



Übersicht 6: Zerfallswege des Stickoxids

Dabei kann die Bildung eines Azofarbstoffes aus Nitrit und dem Griessreagenz spektrometrisch beobachtet werden. Dazu wurden aus den Kulturschalen nach vorsichtigem Schütteln 100  $\mu\text{l}$  Medium entnommen und wie folgt bearbeitet:

### Griess-Reagenz (frisch herstellen)

- 5 ml Lösung A + 5 ml Lösung B
- A) 0,1 % N-(1-Naphthyl)ethylendiamindihydrochlorid in Aqua dest.
- B) 1 % Sulfanilamid in 5%iger Phosphorsäure

### Eichreihe (Stammlösung 0,1 M (0,69 g $\text{NaNO}_2$ / 100 ml Aqua dest.))

- Verdünnungsreihe (eingefroren etwa 2 Monate haltbar) in Aqua dest. herstellen im Bereich 3 - 250  $\mu\text{M}$

### Reaktion

- 100  $\mu\text{l}$  Probe (Kulturüberstand bzw.  $\text{NaNO}_2$ -Standard)
- 150  $\mu\text{l}$  Wasser (Nanopure)
- 250  $\mu\text{l}$  Griess-Reagenz
- 10 min bei 37 °C nach Mixen reagieren lassen
- E 543 gegen Leerwert (statt Probe entweder Wasser oder frisches Zellkulturmedium (DMEM)) ablesen