

ANALYSEVEJLEDNING, Fe²⁺ i felten.

PRINCIP :

Analysen bygger på en kompleks-binding mellem prøvens Fe²⁺ indhold og 2,2'-bipyridin, hvorved der dannes et rødfarvet kompleks. Denne farve er afhængig af koncentrationen af Fe²⁺ og dannes ved et pH fra ca. 3 til 10. Farvens intensitet måles colorimetrisk ved 520 nm.

Ref.: Rainwater & Thatcher 1960: Methods for collection and analysis of water samples, Washington, U.S. Govt.Print.Off. pp 183-187
Heaney & Davison 1977: The determination of ferrous iron in natural waters with 2,2'-bipyridyl, Limnol.Oceanog. 22 pp 753-760.

PRØVEUDTAGNING OG PRØVEFORBEREDELSE :

Prøven udtages med en egnet prøvetager, der kan bestå af en simpel plastflaske (evt. monteret på en stang), et repræsentativt sted i vandløbet (rimelig strøm, ikke spildevandsudløb eller dræn umiddelbart opstrøms). Prøven filtreres hurtigst muligt gennem et 0,45 µm membranfilter (evt. med glasfiber forfilter). Filtrerpatronen fyldes helt, de første ca. 50 ml smides væk og resten af prøven opsamles. Når hele prøven er filtreret, foretages hurtigst muligt og senest 10 min efter filtreringen selve analysen. Er den filtrerede prøve ikke helt farveløs, kompenseres for egenfarve (se Fejlkilder, a).

ANALYSE :

En delmængde af den filtrerede prøve overføres til en 50 ml målekolbe. Denne delmængde må højst indeholde 125 mg Fe²⁺ (se Fortynding). Der anvendes ved lave Fe²⁺-koncentrationer maksimalt 25 ml prøve. Til delmængden tilsættes først 2 ml bipyridin-reagens, derefter 5 ml acetatbuffer. Kolben fyldes med destilleret vand til mærket og omrystes. Absorbansen måles på colorimeter (se Colorimeter) senest 10 min efter reagenstilsætning, idet der noteres antal ml prøve i 50 ml og absorbans aflæst med 3 decimaler (sidste decimal skønnes, evt. angives kun 0 eller 5).

UDREGNING :

Prøvens indhold af Fe²⁺ beregnes ud fra :

$$\text{ppm Fe}^{2+} = \text{fortynding} \times \text{faktor} \times \text{absorbans.}$$

Fortynding = $\frac{50}{\text{anvendt prøvemængde i ml}}$, mindste fortynding er således 2 × (nemlig 25 ml prøve i 50 ml).

Faktoren er normalt 6,7 (se Standardkurve).

APPARATUR :

Til analysen skal benyttes : Prøvetager, Trykfiltreringsapparat med 0,45 µm filtre, 50 ml målekolber, Pipetter, Reagenser, Destilleret vand, Colorimeter med 520 nm filter og 1 cm plastkuvetter.

COLORIMETER :

Til analysen anvendes et Corning 252 Colorimeter forsynet med holder til 1 cm plastkuvetter og med 520 nm filter. Colorimeteret tilsluttes en akkumulator, + og - 12 volt, eller 220 V~. Ved brug i bil kontrolleres om start af blæser, vinduesvisker etc. påvirket colorimeterets udslag, i så fald slukkes for disse apparater under analysen. Inden brug skal colorimeteret varme op i 15 min. En kuvette fyldes med destilleret vand og instrumentets viser stilles på 0 på den øverste skala ved hjælp af 'Set blank' knapperne. Kuvetterne håndteres således at de klare sider ikke berøres, og inden isætningen (med den matte eller riflede side mod skalaen) kontrolleres at der ikke er luftbobler, snavs, ridser el.lign. Prøven holdes i kuvette, denne kontrolleres som ovenfor, og absorbansen aflæses på den øverste skala. Bemærk inddelingerne på skalaen : 0 - 0,1 - 0,2 - 0,3 osv. Der aflæses med 3 decimaler, idet den sidste skønnes eller angives som 0 eller 5. For eksempel angives absorbansen som : 0,247. Analyseres flere prøver, kontrolleres 0-indstillingen jævnligt med destilleret vand i kuvetten. Hvis kuvetteholderen rammes af sollys eller andet kraftigt lys, anbringes en afskærmning over kuvetteholderen.

FORTYNDING :

Absorbansen af prøverne er lineært afhængigt af Fe^{2+} -koncentrationen op til en absorbans på ca. 0,7, men da skalaen er logaritmisk falder aflæsningsnøjagtigheden med stigende absorbans. Derfor skal prøverne evt. fortyndes således at absorbansen er under 0,3 (svarende til en prøve med ca. 2 ppm Fe^{2+}). Fortyndingen udføres med pipetter i målekolber (ved store fortyndinger evt. ad flere gange, afhængig af pipettetype). Fortyndingen opgives som :

$$\frac{50}{\text{antal ml prøve}} \times$$

FEJLKILDER :

a) Hvis den filtrerede prøve har en egenfarve, som absorberer lys ved 520 nm vil aflæsningen blive for høj. Er den filtrerede prøve ikke helt farveløs, måles absorbansen af prøven direkte i colorimeteret. Såfremt der er udslag, kompenseres for prøvens egenfarve ved at måle absorbansen ($A_{\text{prøve}}$) af prøven uden bipyridin, men fortyndet svarende til prøven med reagenser. Idet absorbansen af prøve med reagenser betegnes $A_{\text{reagenser}}$ bliver udregningen :

$$\text{ppm Fe}^{2+} = \text{fortynding} \times \text{faktor} \times (A_{\text{reagenser}} - A_{\text{prøve}})$$

Evt. kan den fortyndede prøve uden bipyridin benyttes til 0-indstilling i stedet for destilleret vand, hvorefter prøve + reagenser måles som sædvanligt. At denne metode er anvendt bør noteres.

b) Fe^{2+} kan ved højt pH hurtigt oxideres til Fe^{3+} , hvilket vil medføre for lave værdier. Denne oxidation sker fra prøveudtagning til reagens-tilsætning, hvorfor denne tid må holdes minimalt.

c) Der kan i den filtrerede prøve være kompleksbundet Fe^{3+} (uorganisk eller organisk) som efter reagenstilsætning kan reduceres til Fe^{2+} og dermed give for høje værdier. Derfor må tiden fra reagenstilsætning til analyse højst være 10 min.

STANDARDKURVE :

I litteraturen angives Fe^{2+} -bipyridin komplekset at have en molær extinktionskoefficient på $8,377 \times 10^3$, hvilket med en 1 cm kuvette giver en faktor på 6,7. Af hensyn til usikkerhed i kuvettelængde, reagenssammensætning mv. bør der lejlighedsvis eller ved mistanke om fejl (gamle reagenser, ny kuvettetype, svingende resultater mv.) laves en standardkurve. Absorbanserne for standarder på 0,5 - 1,0 - 2,0 - 3,0 og 4,0 ppm Fe^{2+} aflæses med destilleret vand som reference, og en kurve tegnes af absorbansen som funktion af koncentrationen. Denne kurve skal være retlinet op til 3 ppm Fe^{2+} . Faktoren til brug ved omregning fra absorbans til ppm Fe^{2+} kan for eksempel beregnes ud fra kurven som :

$$\text{faktor} = \frac{3}{\text{absorbans for standard 3 ppm}}$$

Ved udregning benyttes den fundne faktor afrundet til en decimal. Faktoren bør ligge mellem 6,5 og 6,8 ellers laves ny standardkurve.

Til standardkurven benyttes en 1000 ppm Fe^{3+} stamopløsning, da Fe^{2+} -standarder ikke er holdbare. For eksempel kan kurven laves :
5,0 ml 1000 ppm Fe^{3+} stamopløsning afpipetteres i en 50 ml målekolbe, som fyldes til mærket med destilleret vand og omrystes. Af denne standard, som er 100 ppm, afpipetteres 10,0 ml i en 100 ml målekolbe som fyldes til mærket med destilleret vand og omrystes. Af denne 10 ppm Fe^{3+} standard afpipetteres i en række 50 ml målekolber :
2,5 ml - 5,0 ml - 10,0 ml - 15,0 ml og 20,0 ml.
Kolberne tilsættes 2 ml bipyridin, 5 ml hydroxylaminreagens og fyldes ca. halvt op med destilleret vand. Kolberne henstår i $\frac{1}{2}$ time hvorved hydroxylaminreagenset reducerer Fe^{3+} til Fe^{2+} . Der sker undertiden ingen farveudvikling på dette tidspunkt, da pH er lavt. Efter henstand tilsættes kolberne 5 ml acetatbuffer, fyldes til mærket med destilleret vand og omrystes. Disse standarder er da 0,5 - 1,0 - 2,0 - 3,0 og 4,0 ppm Fe^{2+} .

REAGENSER :

Bipyridin, 0,2% : 1,0 g 2,2'-bipyridin (f.ex. Merck 3098) opløses i 500 ml destilleret vand. Dette reagens er holdbart mindst 2 måneder
Acetatbuffer, 35% : 580 g Natriumacetat, $3\text{H}_2\text{O}$ (f.ex. Merck 6267) opløses i 1000 ml destilleret vand og justeres til pH 5,6 med konc. saltsyre p.a. Dette reagens er holdbart.

Hydroxylaminreagens til standardkurve : 100 g Hydroxylammoniumchlorid (f.ex. Merck 4619) opløses i ca. 500 ml destilleret vand, der tilsættes forsigtigt 40 ml konc. saltsyre p.a. og fortyndes til 1000 ml. Dette reagens er holdbart mindst 2 måneder.

1000 ppm Fe^{3+} stamopløsning : Der kan f.ex. benyttes BDH Ferrinitrat 1000 ppm til AAS.

Destilleret vand : Til alle reagensfremstillinger og til evt. prøvefortyndinger benyttes destilleret vand. Ion-byttet vand kan evt. bruges, i så fald må en Fe^{2+} bestemmelse på dette vand ikke give noget udslag på colorimeteret.

Der gøres opmærksom på at hydroxylaminreagenset må betegnes som sundhedsskadeligt, hvorimod bipyridinreagenset ikke er i nogen fareklasse på grund af den lave koncentration i det færdige reagens.