



Titel: <b>Vandkemi</b>			
Dokumenttype: Teknisk anvisning	TA nr.: M02	Version: 1	Oprettet: 16.03.2018
Forfattere: Henrik Fossing og Jens Würgler Hansen	Gyldig fra: 16.03.2018		
	Sider: 15		
	Sidst ændret:		
TA henvisninger	M01 – M03		

## Indhold

1 Indledning .....	1
2 Metode .....	2
2.1 Tid, sted og periode.....	2
2.2 Udstyr .....	2
2.3 Procedure.....	3
2.3.1 Prøvetagning .....	3
2.3.2 Næringsstoffer.....	5
2.3.3 Svovlbrinte .....	6
2.6 Særlige forholdsregler - faldgruber .....	6
3 Databehandling .....	7
3.1 Beregninger.....	7
3.2 Data og koder.....	7
4 Kvalitetssikring.....	8
4.1 Kvalitetssikring af metode .....	8
4.2 Kvalitetskrav til målinger.....	8
5 Referencer .....	9
6 Bilag .....	10
6.1 Bestemmelse af svovlbrinte (H <sub>2</sub> S) i havvand ifølge Cline .....	10
6.1.1 Reagenser.....	10
6.2.2 Koncentrationsbestemmelse af zinksulfid-stamopløsning..	11
6.2.3 Fremgangsmåde .....	12
6.2.4 Bestemmelse af farvereagensets absorptionskoefficient ...	13
6.2.5 Koncentrationsbestemmelse af H <sub>2</sub> S i ZnAc-konserverede prøver .....	13
7 Oversigt over versionsændringer .....	15

## 1 Indledning

Denne anvisning beskriver håndtering af vandprøver til analyse af uorganiske næringsalte nitrat/nitrit ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ), ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), fosfat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) og silikat (Si) samt total kvælstof (TN) og total fosfor (TP) – de to sidstnævnte inkluderer både uorganisk og organisk bundet kvælstof og fosfor. Desuden beskrives håndtering af svovlbrienteholdige vandprøver og analysen af svovlbrinte ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Der henvises i øvrigt til *Manual for Marine Monitoring in the COMBINE Programme of HELCOM* (se 5. Referencer), der anviser metoder til prøvetagning, analyser, m.v., som er udgangspunktet for denne tekniske anvisning.

## 2 Metode

Vandprøver indsamles med en vandhenter eller pumpe-/slangesystem, hvorfra prøver udtages til næringsstof- og svovlbrinteanalyser (se 2.3 Procedure).

Den kvantitative bestemmelse af næringsalte, TN og TP, samt svovlbrinte er baseret på kolorimetrisk metode. Til prøven tilsættes specifikke reagenser, der sammen med det stof, der skal analyseres, danner et farvet kompleks. Farveintensiteten i prøven er proportional med koncentrationen af stoffet og bestemmes ved at måle absorbansen i prøven ved en specifik bølgelængde. Absorbansen omregnes til en stoffkoncentration ud fra målinger af en standardrække af det pågældende stof.

Inden den kvantitative bestemmelse af TN og TP er det nødvendigt at oxidere prøven med et oxidationsmiddel (peroxodisulfat). Herved omdannes det organiske bundne kvælstof og fosfor til uorganisk nitrat og fosfat, der kan kvantificeres med den kolorimetrisk metode for henholdsvis nitrat og fosfat.

### 2.1 Tid, sted og periode

Prøver til analyse af næringsstoffer og svovlbrinte kan udtages hele året rundt på et vilkårligt tidspunkt af døgnet.

Samtidig med udtagning af vandprøver måles dybde, temperatur og saltholdighed, så oplysningerne efterfølgende kan kobles.

I tilknytning til iltsvindsovervågningen skal der tages prøver til bestemmelse af bundvandets indhold af svovlbrinte, når bundvandet er iltfrit, og der er mistanke om frigivelse af svovlbrinte, hvilket erkendes ved, at vandet har en svag lugt af rådne æg.

### 2.2 Udstyr

- Vandhenter eller pumpe-/slangesystem
  - Vandhenter. Skal have god vandudskiftning under nedsænkningen gennem vandsøjlen og derfor være rørformet med ingen eller ringe indsnævring ved top og bund. Efter udløsning skal vandhenteren lukke helt tæt. Ruttner- og Hjerteklap-vandhenter må ikke anvendes.

- Pumpe-/slangesystem. Der skal anvendes en membranpumpe, hvor pumpehuset er udført i plast eller rustfrit stål. Der skal anvendes armeret gennemsigtig plastslange, så slangen ikke kollapser under pumpning, og det kan kontrolleres, at der ikke er luftbobler i slangen. Af hensyn til diffusionen gennem slangen må silikoneslanger og lign. ikke anvendes.
- Prøvebeholdere til næringsstofprøver (godkendt iht. analyselaboratoriets forskrifter)
- Prøvebeholdere til svovlbrinteprøver (Winkler-flaske eller lign.):
  - gastæt kort slange til overførsel af vandprøve til prøvebeholder
  - reagensglas m/prop
  - 10 ml pipette og 2,5 % ZnAc (0,5 ml/10 ml prøve)
- Køletaske med køleelementer
- Filtreringsudstyr:
  - engangssprøjte af plastic (20 – 100 ml)
  - filtre (godkendt iht. analyselaboratoriets forskrifter)
  - filterholder
  - prøvebeholdere til filtrerede vandprøver (godkendt iht. analyselaboratoriets forskrifter)
- Engangshandsker.

## 2.3 Procedure

Proceduren omfatter håndtering af vandprøver til analyse af næringsstoffer og svovlbrinte.

### 2.3.1 Prøvetagning

Ved prøvetagningen gælder generelt, at

- prøvetagning må ikke påbegyndes før forstyrrelser af vandsøjlen har lagt sig (fx turbulens forårsaget af skibets manøvrer og skruer),
- kontaminering fra skib/båd skal undgås, fx fra skibets kølevand, spildevand og røg. Vær opmærksom på, at der ikke må spules dæk før og under prøvetagningen, da det vil kontaminere det omgivende vand og dermed prøverne
- rengøring, spisning, herunder også slik, samt rygning skal undlades under udtagning og håndtering af prøver
- prøvetageren skal anvende nye engangshandsker under tapping og udtagning af prøver for at undgå kontaminering af næringssaltprøverne
- prøvetageren skal i stationsskema/logfil notere:
  - stationsbetegnelse (nummer, navn eller GPS-position)
  - dato
  - klokkeslæt i UTC
  - vindretning og styrke i m/s
  - vejrforhold (skydække, regn, tåge, etc.)
  - bølgehøjde i meter
  - prøvetagningsdybder for de forskellige parametre.

Vandhenter skal om muligt være sammenkoblet med en CTD (dvs. en CTD-rosettevandhenter) for nøjagtig bestemmelse af prøvetagningsdybde, temperatur og saltholdighed (se *TA M03 CTD-måling*). I lavvandede områder og ved prøvetagning fra småbåde, hvor en CTD-rosettevandhenter ikke kan benyttes, kan en vandhenter benyttes alene, mens temperatur og saltholdighed måles ved brug af en (håndholdt) CTD før eller efter vandprøvetagningen.

Vandhenteren udløses med midten af vandhenteren i prøvetagningsdybden, når det fornemmes, at vandprøven i beholderen repræsenterer det omkringliggende vandvolumen, fx efter at vandhenteren har hængt stille i vandsøjlen i mindst 10 sek. Når vandhenteren igen er på dæk, tappes vandprøver til næringsstoffer og svovlbrinte som beskrevet nedenfor. Hvis der indsamles vandprøver til svovlbrinte, skal disse prøver indsamles først for at undgå iltning af vandprøven og dermed tab af svovlbrinte.

Slangen nedsænkes til det dybdeinterval, hvorfra vandprøven skal hentes. Pumpen tændes og vandet pumpes gennem systemet svarende til minimum 6x pumpe-/slangesystemets død(vands)volumen, dog mindst i 10 sek.

Rengøring af udstyr. Nyt udstyr skal syrevaskes og skylles med ferskvand og demineraliseret vand før anvendelse. Efter hver dags prøvetagning rengøres udstyret omhyggeligt med ferskvand. Pumpe og slange gennemskylles derudover med demineraliseret vand svarende til mindst 6x pumpe-/slangesystemets død(vands)volumen.

Slangen skal opbevares mørkt og køligt mellem hvert togt (og prøvetagning) og skal i videst muligt omfang beskyttes mod direkte sollys, som bl.a. kan udtørre dele af slangen og fremskynde begroning. En gang ugentlig skal slangen desuden skylles i 5 % saltsyre og skylles efter med demineraliseret vand.

### 2.3.2 Næringsstoffer

- Vand overføres direkte fra vandhenter eller pumpe-/slangesystem til én eller flere prøvebeholdere (afhængig af behov)
- eller
- vand fra vandhenter eller pumpe-/slangesystem overføres først til en mindre beholder, hvorfra vandet overføres til én eller flere prøvebeholdere.

Glas kontaminerer vandprøver med silikat, og glasflasker må derfor ikke bruges, hvis prøven skal analyseres for silikat.

Beholdere (også nye), der benyttes til vandprøver, skal være grundigt rengjorte iht. analyselaboratoriets forskrifter. Desuden er det god feltpraksis at skylle beholderen tre gange med noget af vandprøven, inden denne fyldes.

Ved påfyldningen af prøvebeholderen skal det iagttages, at head space over vandprøven reduceres mest mulig for at minimere udveksling mellem vand og luft. Volumen af hver vandprøve bestemmes af analyselaboratoriets forskrifter.

Hvis der først udtages vand til en mindre beholder, hvorfra én eller flere vandprøver til koncentrationsbestemmelse udtages, skal denne mindre beholder vendes rundt mindst tre gange, så prøven blandes grundigt mellem hver udtagelse af vand til de forskellige prøver.

Korrekt opbevaring og behandling af vandprøver er vigtig, idet koncentrationen af næringsstoffer i prøven kan ændres på grund af biologiske processer, der fortsætter, efter at prøven er isoleret i prøvetagningsbeholderen. Håndtering af marine vandprøver til måling af næringsstoffer skal derfor følge nedenstående procedure, efter at vandprøven er overført til prøvebeholderen.

- Prøver opbevares mørkt og koldt (ca. 4 °C) indtil analyse.
- Prøver analyseres hurtigst muligt, og analysen skal være afsluttet senest 24 timer efter prøvetagning.
- Prøver til bestemmelse af opløste næringssalte ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ),  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  og Si) skal filtreres hurtigst muligt og inden 8 timer efter prøvetagning.
- Prøver til bestemmelse af total-puljer (TN og TP) inkluderer partikulært materiale og må derfor ikke filtreres.

Efter prøvetagning sker der forsat omsætning (produktion og forbrug) af næringsstoffer. Nogle af disse processer kræver lys, og for alle vedkommende går omsætningen/produktionen hurtigere ved højere temperaturer. Derfor skal vandprøver opbevares mørkt og koldt. Desuden vil der i prøverne ske adsorption og desorption, som kan påvirke balancen mellem puljerne. For at minimere disse påvirkninger er det vigtigt, at prøver håndteres hurtigst muligt efter prøvetagning.

De kemiske analyser udføres i henhold til Metodedatablade udgivet af Miljøstyrelsens Referencelaboratorium for Kemiske og Mikrobiologiske Miljømålinger.

### 2.3.3 Svovlbrinte

Vandprøven overføres med gastæt kort slange fra vandhenter til Winklerflaske eller lign. ved min. 3 x overløb/gennemskylning.

Med pipette overføres 10 ml af vandprøven straks til reagensglas indeholdende zinkacetat-opløsning (ZnAc; konserveringsmiddel) i blandingsforholdet 20:1, dvs. 10 ml vandprøve i 500 µl 2,5 % ZnAc. Vandprøven tilsættes til ZnAc ved at stikke pipettespidsen helt ned i konserveringsmidlet for at undgå, at vandprøven iltes ved overførslen. Reagensglasset lukkes med prop. ZnAc konserverer H<sub>2</sub>S i koncentration op til 5 mM (170 ppm).

Den konserverede vandprøve rystes omhyggeligt og opbevares i køleskab indtil analyse. Dog kan den konserverede vandprøve transporteres (fx mellem prøvetager og analyselaboratorium) ved alm. temperatur. Ved opbevaring >2 uger skal den konserverede prøve fryses.

Koncentrationen af svovlbrinte (H<sub>2</sub>S) i vandprøven bestemmes i henhold til Metodedatablade udgivet af Miljøstyrelsens Referencelaboratorium for Kemiske og Mikrobiologiske Miljømålinger eller som beskrevet i *Bilag 6.1* eller ved en metode af tilsvarende analysekvalitet.

## 2.6 Særlige forholdsregler - faldgruber

Kontaminering er en alvorlig fejlkilde ved næringsstofanalyser, og ved håndteringen af vandprøverne skal prøvetageren være særligt opmærksom på, at vandprøven ikke kontamineres med næringssalte. Til søs kan (N- og P-holdige) aerosoler fra havvandet, skibets røg og spildevand (dvs. afløb fra dæk) og brugen af ammoniakholdige rengøringsmidler påvirke vandprøverne, særlig hvis de eksponeres til luften i unødigt omfang. Særligt ved analyse af lave næringssaltkoncentrationer kan kontaminering fra luften, fx ammoniak fra gylle, resultere i, at koncentrationen i vandprøven forhøjes i forhold til *in situ*-koncentrationen.

Ved brug af vandhenter eller pumpe-/slangesystem påhviler det brugeren at sikre, at systemet ikke er kontamineret med de næringssalte, der skal analyseres ved omhyggelig rengøring af prøvetagningsudstyret (se 2.3.1 *Prøvetagning*). Ved mistanke om kontaminering af vandhenter eller pumpe-/slangesystemet kan mistanken be- eller afkræftes ved at skylle udstyret med demineraliseret vand, opsamle skyllevandet, og efterfølgende analysere dette for rester af næringssalte.

## 3 Databehandling

For en udførlig beskrivelse af databehandlingen henvises til *DT 01 Vandkemi og feltmålinger*.

### 3.1 Beregninger

Beregninger af næringsstof- og svovlbrintekonzentration udføres som beskrevet for de respektive analysemetoder (se Metodedatablade udgivet af Miljøstyrelsens Referencelaboratorium for Kemiske og Mikrobiologiske Miljømålinger).

### 3.2 Data og koder

Bemærk at data mindre end detektionsgrænsen også skal indrapporteres. Også negative værdier, der ligger inden for usikkerheden på analysen, skal rapporteres (i dette tilfælde som en negativ værdi). Eksempel: Detektionsgrænsen for TP er 3 µg/l – laboratoriet har målt koncentrationen i en prøve til 1 µg/l. Det er denne koncentration (1 µg/l), som skal indrapporteres og ikke fx 0 eller < detektionsgrænse eller < 3 µg/l.

Følgende data skal rapporteres sammen med næringsstof- og svovlbrintekonzentrationerne:

- Stationsoplysninger
- Prøvetagningsdato og tidspunkt i UTC
- Stationsnummer
- Position
- Dybde.

Følgende kvalitetssikringsparametre skal indrapporteres for hver parameter:

- Analysemetode (STANDAT kodesystem)
- Metodens detektionsgrænse
- Analyselaboratorium.



## 4 Kvalitetssikring

### 4.1 Kvalitetssikring af metode

Kvalitetssikring skal sikre, at de indsamlede vandprøver opfylder de kvalitetskrav, der er opstillet til målingerne, og at vandprøverne fragtes til analyselaboratoriet under forhold, der sikrer, at koncentrationen i vandprøverne ikke ændrer sig signifikant ift. *in situ*-koncentrationen på prøvetagningsstationen.

Kvalitetssikringen af metoden omfatter derfor ikke kun den analytisk kemiske del af målingen, dvs. det der hovedsageligt foregår i laboratoriet, men som nedenfor anført også de arbejdsrutiner, der indgår i håndteringen af vandprøverne:

- Planlægning
- Tilknyttede profilmålinger (er beskrevet i Teknisk anvisning *M03 CTD-måling*)
- Prøvetagning
- Prøvehåndtering
- Konservering og lagring
- Transport.

Hver delproces skal derfor kvalitetssikres, hvilket foregår ved, at de kritiske processer identificeres og evt. beskrives fx i en manual til brug for prøvetagerne.

### 4.2 Kvalitetskrav til målinger

Krav til akkreditering, målinger, præcision, detektionsgrænser, intern og ekstern kvalitetskontrol, m.v. fremgår af *Bekendtgørelse om kvalitetskrav til miljømålinger*, som kan 'downloades' fra [retsinformation.dk](https://www.retsinformation.dk), hvor den til enhver tid gældende bekendtgørelse skal anvendes.

## 5 Referencer

Bekendtgørelse om kvalitetskrav til miljømålinger.

<https://www.retsinformation.dk/Forms/R0710.aspx?id=194194>

Cline JD (1969) Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnology and Oceanography* 14:454-458.

Manual for Marine Monitoring in the COMBINE Programme of HELCOM. Opdateres jævnligt. Nyeste version kan downloades fra HELCOMs hjemmeside.

<http://www.helcom.fi/action-areas/monitoring-and-assessment/manuals-and-guidelines/combine-manual>

Metodedatablade udgivet af Miljøstyrelsens Referencelaboratorium for Kemiske og Mikrobiologiske Miljømålinger, se her: <http://www.reference-lab.dk/>

## 6 Bilag

### 6.1 Bestemmelse af svovlbrinte (H<sub>2</sub>S) i havvand ifølge Cline

#### 6.1.1 Reagenser

Til fremstilling af reagenser, fortyndinger samt skylning af glasvarer og apparatur skal anvendes destilleret eller rensset demineraliseret vand, fx fra MILLI-Q anlæg. Alle reagenser skal være af analysekvalitet.

Diamin-reagens: 500 ml koncentreret saltsyre, HCl (densitet = 1,19 g/ml) blandes i 500 ml vand. Efter afkøling til stuetemperatur tilsættes 4,0 g N,N-dimethyl-1,4-phenylendiamin sulfat (det samme som: 4-amino-N,N-dimethylanilin sulfat), (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, og 6,0 g jern(III)klorid, FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O.

Thiosulfat-opløsning, 25 mM: Fremstilles ved at fortynde 0,1 M S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup> (Titrisol®, Merck) 4x med vand.

Stivelsesopløsning, 1 %: 1 g stivelse opløses i 100 ml vand under langsom opvarmning (<90 °C). Ved stuetemperatur konserveres stivelsesopløsningen med 0,1 g salicylsyre, 2-(OH)C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COOH.

Jodopløsning: 1,98 g jod, I<sub>2</sub>, blandes med 15,0 g kaliumiodid, KI, i 1 liter vand.

Saltsyre, ca. 1 M: Tilsæt 80 ml koncentreret saltsyre, HCl (densitet = 1,19 g/ml), til 920 ml vand.

Iod-/syreopløsning: Umiddelbart før brug blandes 2 vol. jodopløsning med 1 vol. 1 M saltsyre. Opbevares mørkt og tillukket.

Zinkacetat-opløsning, 1 %: Tilsæt 10 g zinkacetat, Zn(OOCCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O, til 1 liter vand tilsat 1 ml koncentreret eddikesyre, CH<sub>3</sub>COOH (100 % ~ densitet = 1,05 g/ml).

Iltfrit vand: Gennembobl ca. 1 liter vand med kvælstof, N<sub>2</sub>, > ½ time, hvorefter al ilten er drevet ud.

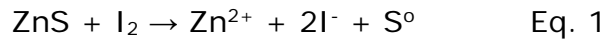
Zinksulfid-stamopløsning, ca. 0,8 mmol/l: 0,20 g krystaller af natriumsulfid, N<sub>2</sub>S·xH<sub>2</sub>O, renses i O<sub>2</sub>-frit vand og aftørres forsigtigt, før de opløses i 1 liter 1 % zinkacetat-opløsning under udfældning af zinksulfid, ZnS. Zinksulfid-stamopløsningens nøjagtige koncentration indstilles ved titrering med 25 mM thiosulfat (se nedenfor).

### 6.2.2 Koncentrationsbestemmelse af zinksulfid-stamopløsning

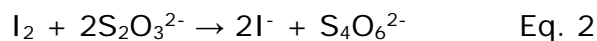
Koncentrationsbestemmelsen sker efter følgende princip:

Når en sur opløsning af jod tilsættes i overskud til zinksulfid, kan den overskydende jod titreres med thiosulfat. Efter denne såkaldte "tilbage-titrering" kan koncentrationen af ZnS i zinksulfid-stamopløsningen beregnes.

Jod oxiderer øjeblikkeligt zinksulfid til frit svovl:



og den overskydende jod titreres derefter med thiosulfat:



Først bestemmes koncentrationen af jod i jod-/syreopløsningen ved titrering med 25,0 mM thiosulfat-opløsning. Jodkoncentrationen,  $A$ , i mM udtrykkes ved

$$A = [\text{I}_2] = 12,5 \cdot \frac{V_1}{V_2} \quad (\text{A})$$

hvor,

$V_1$  er volumen (ml) af 25,0 mM thiosulfat-opløsningen brugt til titreringen  
 $V_2$  er volumen (ml) af jod-/syreopløsningen.

Herefter kan koncentrationen af ZnS i zinksulfid-stamopløsningen bestemmes:

$y$  ml zinksulfid-stamopløsning ( $Y$  mmol/l) tilsættes et overskud af  $a$  ml jod-/syreopløsning ( $A$  mM). Herved forbruges  $y \cdot Y$   $\mu\text{mol}$  jod. Overskuddet af jod, som kan "tilbage-titreres" med 25,0 M thiosulfat-opløsningen, udgør derfor

$$(a \cdot A - y \cdot Y) \mu\text{mol}$$

Zinksulfid koncentrationen,  $Y$ , kan derfor udtrykkes i mmol/l ved

$$Y = [\text{ZnS}] = \frac{(a \cdot A - 12,5 \cdot b)}{y} \quad (\text{B})$$

### 6.2.3 Fremgangsmåde

Jodkoncentrationen i iod-/syreopløsningen beregnes som et gennemsnit af minimum 5 titreringer.

- 1,00 ml jod-/syreopløsning fortyndes med vand til ca. 5 ml.
- Under omrøring titreres med 25,0 mM thiosulfat, indtil den gule farve er næsten forsvundet. Herefter tilsættes en dråbe stivelsesopløsning. Opløsningen farves violet.
- Titreringen med thiosulfat fortsættes, indtil den violette farve forsvinder første gang. Volumen (ml) af forbrugt thiosulfat,  $V_1$ , noteres.
- Jod-koncentrationen (mM) beregnes som

$$A = [I_2] = 12,5 \cdot V_1 \quad (A^*)$$

hvor

$V_1$  er forbruget (ml) af 25,0 mM thiosulfat-opløsningen.

Koncentrationen af ZnS i zinksulfid-stamopløsningen bestemmes ved "tilbage-titrering" og beregnes som et gennemsnit af minimum 5 titreringer.

- 5,0 ml zinksulfid-stamopløsning (udtaget under omrøring; homogent) blandes med 2,0 ml jod-/syreopløsning.
- Under omrøring titreres med 25,0 mM thiosulfat, indtil den gule farve er næsten forsvundet. Herefter tilsættes en dråbe stivelsesopløsning. Opløsningen farves violet.
- Titreringen med thiosulfat fortsættes, indtil den violette farve forsvinder første gang. Volumen (ml) af thiosulfat-forbruget,  $b$ , noteres.
- Zinksulfid-koncentrationen (mmol/l) i zinksulfid-stamopløsningen beregnes som

$$Y = [ZnS] = \frac{(2 \cdot A - 12,5 \cdot b)}{5} \quad (B^*)$$

hvor

$A$  er iodkoncentrationen i mM beregnet ved ( $A^*$ ),

$b$  er forbruget (ml) af 25,0 mM thiosulfat-opløsningen.

#### 6.2.4 Bestemmelse af farvereagensets absorptionskoefficient

1. 4,0 ml af zinksulfid-stamopløsning (ca. 0,8 mmol ZnS/liter, den nøjagtige koncentration bestemt ved "tilbage-titrering") udtages under omrøring og fortyndes til 100 ml med vand.
2. 0,0 ml (dvs. blankprøven), 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml, 5,0 ml, 6,0 ml, 7,0 ml, 8,0 ml, 9,0 ml og 10,0 ml af den fortyndede zinksulfid-stamopløsning udtages under omrøring og overføres til hver sin volumetriske flaske og fortyndes med vand til 10 ml. Efter denne overførsel er zinksulfid-stamopløsningen blevet fortyndet op til 500 x (dvs. ca. 1,5  $\mu\text{M}$  ved at overføre og fortynde 0,5 ml af den 25 gange fortyndede stamopløsning til 10 ml).
3. 800  $\mu\text{l}$  diaminreagens tilsættes, og den volumetriske flaske lukkes hurtigt for at undgå tab af den udviklede  $\text{H}_2\text{S}$ -gas. Det tilsatte diaminreagens blandes ved en kraftig omrystning af opløsningen, der stilles mørkt.
4. Farvereaktionen er fuldstændig efter  $\frac{1}{2}$  time, men prøven kan opbevares i mørke op til 24 timer.
5. Absorptionen af den blå farve måles ved 670 nm i en 1 cm plastic- eller glaskuvette, efter at spektrofotometeret er nulstillet ved brug af blankprøven.
6. Ud fra hældningen af standardkurven beregnes diaminreagensets absorptionskoefficient,  $\alpha$ ,  $\mu\text{M}$  pr. abs. enhed. Kontrollér kalibreringskurven regelmæssigt.

#### 6.2.5 Koncentrationsbestemmelse af $\text{H}_2\text{S}$ i ZnAc-konserverede prøver

1. Svovlbrinte konserveres i ZnAc som partikulært zinksulfid, ZnS, og prøven skal derfor rystes kraftigt, så bundfaldet fordeles homogent, før delprøver udtages.
2. Et kendt volumen overføres med pipette til en 10 ml volumetrisk flaske, hvor ZnS-opløsningen om nødvendigt fortyndes med vand til et totalt volumen af 10 ml. Denne fortynding skal foretages, før diaminreagenset tilsættes.
3. 800  $\mu\text{l}$  diaminreagens tilsættes, og den volumetriske flaske lukkes hurtigt for at undgå tab af den udviklede  $\text{H}_2\text{S}$ -gas. Det tilsatte diaminreagens blandes ved en kraftig omrystning af opløsningen, der stilles mørkt.
4. En blankprøve fremstilles med samme zinkacetatkoncentration som ZnS-prøven.
5. Farvereaktionen er fuldstændig efter  $\frac{1}{2}$  time, men prøven kan opbevares i mørke op til 24 timer.

6. Absorbansen,  $A$ , af den blå farve måles ved 670 nm i en 1 cm plastic- eller glaskuvette, efter at spektrofotometeret er nulstillet ved brug af blankprøven. Absorbansen bør ikke overstige 0,8 abs. enheder, svarende til en  $H_2S$ -koncentration på ca. 30  $\mu M$ .
7. Koncentrationen af  $H_2S$  ( $\mu M$ ) i den konserverede prøve beregnes ved:

$$[H_2S] = \alpha \cdot A \cdot F$$

hvor

$\alpha$  er diaminreagensets absorptionskoefficient,  $\mu M$  pr. abs. enhed,  
 $A$  er absorbansen målt med blankprøven som referenceopløsning,  
 $F$  er fortyndingen af den konserverede prøve.

**HUSK** at korrigere for fortynding af vandprøven i forbindelse med konservering i ZnAc for at kunne beregne *in situ*  $H_2S$ -koncentrationen korrekt.

## 7 Oversigt over versionsændringer

Version	Dato	Emne	Ændring