

Inv. Pesq.	31 (1)	Págs. 17-31	enero 1967
------------	--------	-------------	------------

Determinación espectrofotométrica de hierro en el agua de mar con el reactivo $\alpha\alpha'$ dipiridilo

por

MANUEL LÓPEZ-BENITO *

INTRODUCCIÓN

Para la determinación de hierro en el agua de mar en sus formas soluble y particulado se han propuesto varios métodos analíticos: LEWIS y GOLDGERG (1954), THOMPSON, BREMNER y JAMIESON (1932), RAKESTRAW (1936), SMITH, MC CURDY y DIEHL (1952), PETERSON (1953), SIMONS, MONAGHAN y TAGGART (1953), ARMSTRONG (1957), LEAVASTU y THOMPSON (1958), COLLINS, HARVEY y SMITH (1959).

Entre éstos, los fundamentales, con pequeñas variaciones, son los basados en el uso de tres reactivos y sus derivados, $\alpha\alpha'$ dipiridilo ($C_{10}H_8N_2$), la bathofenantrolina (4,7-difenil, 1,10-fenantrolina) y el sulfocianuro potásico (BARNES, 1959, y HARVEY, 1949).

OBJETO DEL PRESENTE TRABAJO

Sobre la base de lo anteriormente expuesto, consideramos de gran interés, dada la importancia que desde el punto de vista oceanográfico tiene el conocimiento de la concentración de hierro soluble y particulado en el agua de mar, el ensayo de los métodos más habituales de determinación de hierro, en orden a realizar una valoración crítica de los mismos, al objeto de poder elegir, en primer lugar, aquel que sea más conveniente para nuestras campañas oceanográficas, y si fuera preciso introducir las modificaciones necesarias para su utilización en nuestro

* Laboratorio del Inst. de Invest. Pesqueras. Avda. Orillamar, 47. Vigo.

caso concreto. Posteriormente, una vez elegido y modificado el método de determinación de hierro, procede también hacer el estudio espectrofotométrico de la reacción analítica, para poder averiguar cuáles son las condiciones óptimas en su empleo.

Con este fin es necesario realizar en primer lugar un estudio de los diferentes métodos analíticos que permitan determinar hierro en el agua de mar y seguidamente abordar por medio de la técnica espectrofotométrica el complejo Fe-reactivo obtenido.

PARTE EXPERIMENTAL

1. *Discusión de los diferentes métodos de determinación de hierro en el agua de mar*

Entre los métodos usuales para la determinación de hierro en el agua de mar, hemos procedido a poner a punto y ensayar los que a nuestro juicio son base de todos los restantes; el método del $\alpha\alpha'$ dipiridilo ($C_{10}H_8N_2$), el de la bathofenantrolina (4,7-difenil. 1,10-fenantrolina) y el del sulfocianuro potásico.

En vista de los resultados obtenidos, hemos escogido para su utilización en nuestras campañas oceanográficas el método de $\alpha\alpha'$ dipiridilo, no en la forma que lo emplean LEWIS y GOLDBERG (*loc. cit.*), sino después de modificarlo nosotros al objeto de que pueda servir para determinar también hierro soluble en la ría de Vigo.

El hecho de que hayamos escogido el método del $\alpha\alpha'$ dipiridilo para emplearlo en nuestras determinaciones se basa en las siguientes consideraciones:

a) El método del $\alpha\alpha'$ dipiridilo es de gran sencillez, permite obtener valores que se reproducen y su sensibilidad (5γ Fe/litro) es suficiente para determinar la concentración de hierro en las aguas de la ría de Vigo.

b) El método de la bathofenantrolina, descrito por SMITH (*loc. cit.*) y PETERSON (*loc. cit.*), suele emplearse para determinar hierro a menores concentraciones de las que permite la sensibilidad del $\alpha\alpha'$ dipiridilo.

Nosotros hemos puesto a punto este método (LÓPEZ-BENITO, 1966), encontrando que es sumamente laborioso para su sistemática utilización en campañas oceanográficas. Además, al extraer con alcohol isoamílico el color desarrollado, se observan siempre enturbiamientos en la capa alcohólica, muy difíciles de eliminar, lo que impide una correcta lectura en el espectrofotómetro. Para obviar este inconveniente tuvimos que recurrir a la centrifugación, lo que complica enormemente las determinaciones en serie. A estos inconvenientes hay que sumar el del elevado precio del reactivo. No obstante, hemos de destacar que su aplicación

es correcta hasta valores de 0,30 γ Fe/litro, valores que salen fuera de los encontrados por nosotros en la ría de Vigo. Su uso se hace indispensable para determinaciones de hierro en forma soluble y en mar abierto, donde su concentración es menor que en la ría de Vigo. Sin embargo, para el hierro particulado, incluso en mar abierto, puede utilizarse el $\alpha\alpha'$ dipiridilo, filtrando un volumen de agua de mar y determinando hierro en el filtro.

c) El método del sulfocianuro potásico utilizado por THOMPSON y BREMNER (1935) presenta, como hemos podido comprobar (LÓPEZ-BENITO, *loc. cit.*), el grave inconveniente de que el color desarrollado no sigue la ley de Beer. Los resultados varían también con la salinidad y presenta todos los inconvenientes de enturbiamiento de la capa alcohólica de que ya hicimos mención al tratar del método de la bathofenantrolina. La sensibilidad del método es de 1 γ Fe/litro.

2. Estudio espectrofotométrico del $\alpha\alpha'$ dipiridilo y del complejo Fe- $\alpha\alpha'$ -dipiridilo empleado como reactivo colorimétrico del hierro.

Para poder determinar las condiciones en que se realiza la reacción de formación del complejo Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo utilizado como reactivo colorimétrico del hierro, hemos llevado a cabo en primer lugar el estudio espectrofotométrico del reactivo $\alpha\alpha'$ dipiridilo y posteriormente el del complejo que este reactivo forma con el hierro, ambos en disolución acuosa. Todo ello encaminado a determinar la influencia que sobre el complejo Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo puedan ejercer, la variación del pH, la concentración de reactivo, la temperatura, así como comprobar el cumplimiento de la ley de Beer y la estabilidad del sistema frente al tiempo. Se empleó un espectrofotómetro Beckman modelo DU.

Finalmente, y después del estudio espectrofotométrico de la reacción analítica, se señalan las condiciones óptimas para la determinación del hierro con $\alpha\alpha'$ dipiridilo, en la descripción del método operatorio seguido.

3. Preparación de reactivos y método operatorio en las determinaciones de hierro en el agua de mar

Método del $\alpha\alpha'$ dipiridilo

El $\alpha\alpha'$ dipiridilo ($C_{10}H_8N_2$) reacciona con el Fe^{++} originando complejos de color rojo brillante, y con el Fe^{+++} dando lugar a otros de color azul pálido.

En la reacción analítica y después de eliminar el ClO_4H , se reduce con hidroxilamina todo el hierro a ferroso



se tampona a continuación con acetato sódico y finalmente se trata con el reactivo. En presencia del $\alpha\alpha$ -dipiridilo no precipita el $\text{Fe}(\text{OH})_2$.

Un ajuste incorrecto del pH suele ocasionar resultados anormales. De aquí que cuando se trabaje en los límites de pH admitidos sea conveniente hacer un nuevo ajuste de la acidez al final de la reacción, es decir, después de añadir el reactivo.

Preparación de reactivos

a) $\alpha\alpha$ -dipiridilo. — Disolver 0,40 g de reactivo en 100 ml de ácido clorhídrico 0,2 N.

b) *Clorhidrato de hidroxilamina al 10 %*. — Disolver 10 g de clorhidrato de hidroxilamina en 90 cc de agua y, con el fin de eliminar el hierro que contiene, añadir 4 cc de bathofenantrolina y extraer el hierro con alcohol isoamílico, hasta desaparición del color desarrollado.

c) *Ácido acético glacial*. — Reactivo de análisis.

d) *Acetato sódico al 50 %*. — Disolver 50 g de reactivo en 50 cc de agua. Extraer el hierro por idéntico procedimiento al empleado en el uso del clorhidrato de hidroxilamina.

e) *Ácido perclórico al 70 %*. — Reactivo de análisis.

f) *Alcohol isoamílico*.

g) *Disolución 0,001 M de bathofenantrolina*. — Disolver 0,0324 g de reactivo en 50 cc de etanol y 50 cc de agua.

h) *Ácido clorhídrico 1,2 N*. — Reactivo de análisis.

i) *Disolución patrón de hierro*. — Para obtener una disolución que contenga 400 γ Fe/litro se disuelven 0,3455 g de $\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ reactivo en 100 ml de agua con 1,6 cc de ácido clorhídrico concentrado. A partir de esta disolución se hacen las diluciones necesarias.

Método operatorio

Se toman 100 cc de agua de mar, filtrada o no por un filtro de placa 5 F \simeq 0,9 μ según se quiera determinar el hierro soluble o el hierro total. Se pasan a un matraz de Kjeldhal de 500 cc y se tratan con 5 cc de ácido perclórico del 70 %. Se ponen dos perlas de vidrio para evitar salpicaduras y se calienta hasta aparición de humos blancos, continuando con calentamiento suave casi hasta sequedad. El residuo, una vez frío, se disuelve en 100 cc de agua, volviéndose así al volumen primitivo. Se añade 1 cc de disolución de clorhidrato de hidroxilamina, 1 cc de disolución de acetato sódico y se mide el pH, que suele ser aproximadamente 6 (la reacción ha de realizarse entre pH 2 y 7). Se añade 1 cc de disolución de $\alpha\alpha$ -dipiridilo y se mide la absorción a 522 m μ en un espectrofotómetro Beckman DU, previo ajuste del pH a 5,5.

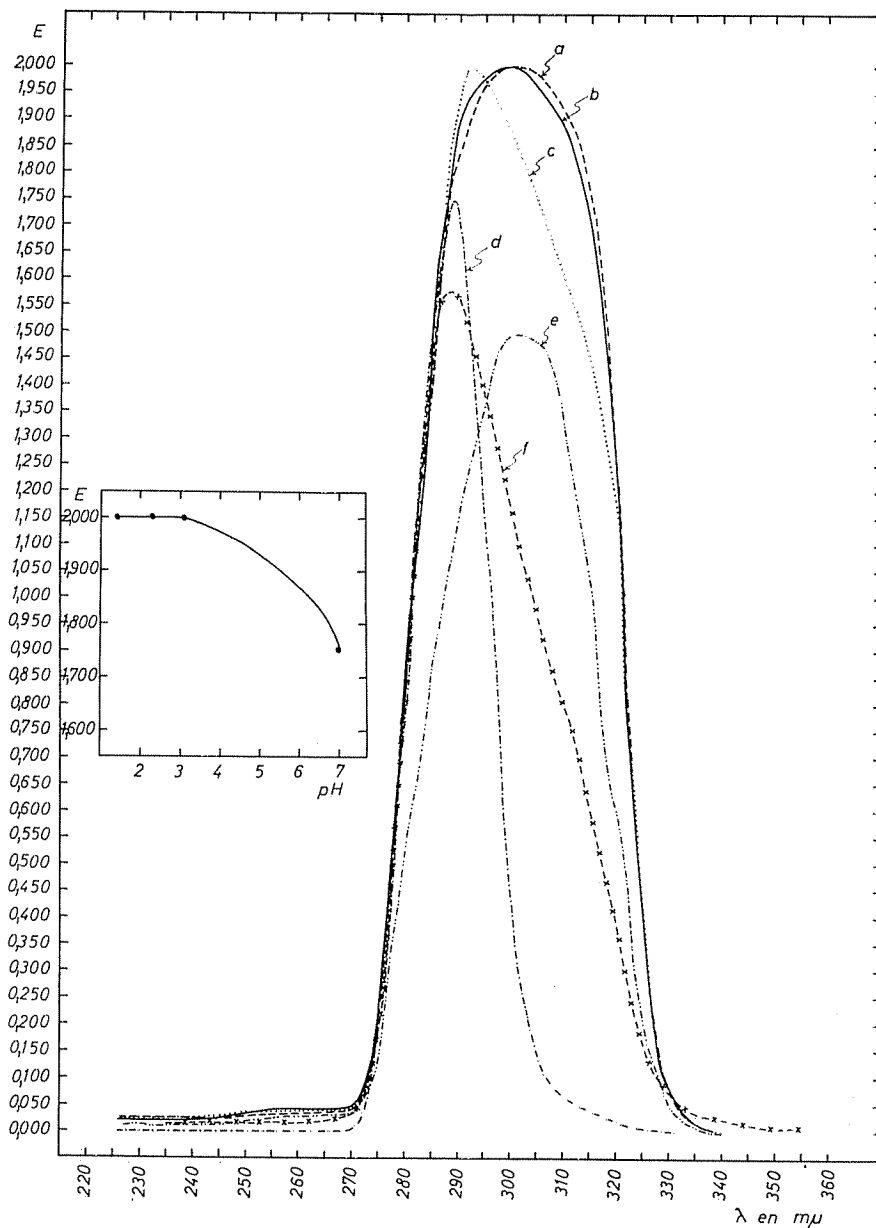


FIG. 1. — Espectros de absorción del reactivo $\alpha\alpha'$ dipiridilo. a) Disolución acuosa de $\alpha\alpha'$ dipiridilo $2,37 \cdot 10^{-4}$ M, pH=1,4. b) Disolución acuosa de $\alpha\alpha'$ dipiridilo $2,37 \cdot 10^{-4}$ M, pH=2,3. c) Disolución acuosa de $\alpha\alpha'$ dipiridilo $2,37 \cdot 10^{-4}$ M, pH=3,03. d) Disolución acuosa de $\alpha\alpha'$ dipiridilo $2,37 \cdot 10^{-4}$ M, pH=7. e) Disolución acuosa de $\alpha\alpha'$ dipiridilo $1,18 \cdot 10^{-4}$ M, pH=1,4. f) Disolución acuosa de $\alpha\alpha'$ dipiridilo $2,37 \cdot 10^{-2}$ M, pH=7,01. En el recuadro: Variación de la extinción con el pH, para disoluciones acuosas de $\alpha\alpha'$ dipiridilo a concentración $2,37 \cdot 10^{-4}$ M y a 290 m μ .

RESULTADOS EXPERIMENTALES

1. Espectros de absorción del reactivo $\alpha\alpha'$ dipiridilo

En la figura 1 se representan los valores de la extinción para disoluciones acuosas de $\alpha\alpha'$ dipiridilo a diferentes concentraciones molares y distintos valores del pH.

Refiriéndonos en primer lugar a las disoluciones de concentración $2,37 \cdot 10^{-4}$ M análoga a la disolución analítica que se emplea como reactivo del hierro, se observa:

1) A medida que disminuye el pH (pH = 7, 3, 2,3, 1,4) el máximo de extinción se desplaza hacia zonas de mayor longitud de onda (de $289 \text{ m}\mu$ a $295 \text{ m}\mu$).

2) El valor de la extinción máxima se mantiene en 2,00 desde el pH = 1,4 hasta el pH = 3,08, descendiendo a 1,75 cuando el pH alcanza valores de 7.

3) Para concentraciones de $\alpha\alpha'$ dipiridilo mayores a las antes señaladas (del orden de $2,37 \cdot 10^{-2}$ M), los máximos de extinción son menores que los de las disoluciones más diluidas. Lo mismo ocurre con disoluciones de reactivo diluidas al doble ($1,18 \cdot 10^{-4}$ M). De donde se deduce que la extinción máxima se presenta a las concentraciones de dipiridilo habituales en la reacción para formar el complejo con el ion Fe^{++} .

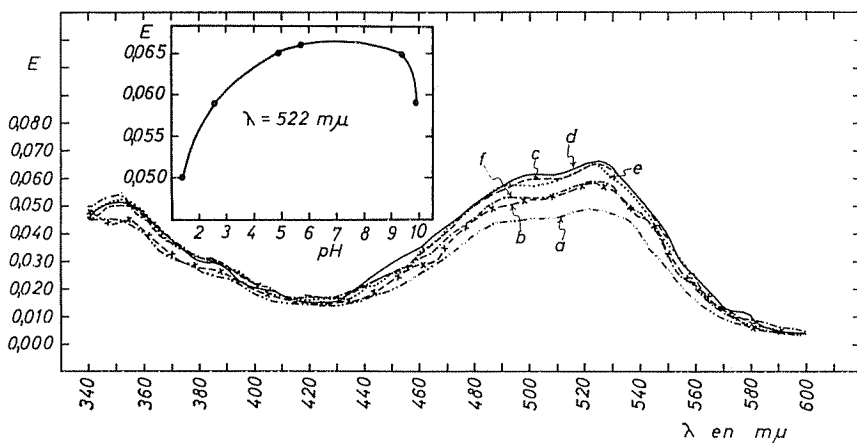


FIG. 2. — Influencia del pH en los espectros de absorción del complejo $\text{Fe}-\alpha\alpha'$ dipiridilo en disolución acuosa. $[\text{Fe}]$ inicial = $0,6942 \cdot 10^{-5}$ M. $[\alpha\alpha'$ dipiridilo inicial] = $2,37 \cdot 10^{-4}$ M. a) pH=1,4. b) pH=2,6. c) pH=4,9. d) pH=5,7. e) pH=9,4. f) pH=9,95. - En el recuadro: Variación de la extinción máxima a $522 \text{ m}\mu$ con el pH.

2. *Influencia del pH en los espectros de absorción del complejo Fe- α 'dipiridilo en disolución acuosa.*

En la figura 2, en la que se representan las curvas de absorción del complejo Fe- α 'dipiridilo en disolución acuosa y a diferentes valores del pH, se observa que la influencia del pH sobre el máximo de extinción es mínima. Este máximo viene definido en todos los casos en la región del visible y a 522 m μ . Su valor sufre pequeñísimas oscilaciones, aunque se puede apreciar un ligero aumento desde el pH = 1,4 al pH = 5,7, para descender posteriormente en medio alcalino, no obstante los valores extremos en el máximo de extinción, no alcanzan diferencias mayores de 0,016, lo que unido al idéntico trazado de todas las curvas demuestra la mínima influencia del pH de que antes hacíamos mención.

3. *Influencia de la cantidad de reactivo*

En la figura 3 se representan los ensayos que hemos verificado para comprobar la posible influencia de la concentración de α 'dipiridilo empleado como reactivo de la reacción colorimétrica.

Se aprecia claramente que los máximos de extinción a 522 m μ de la

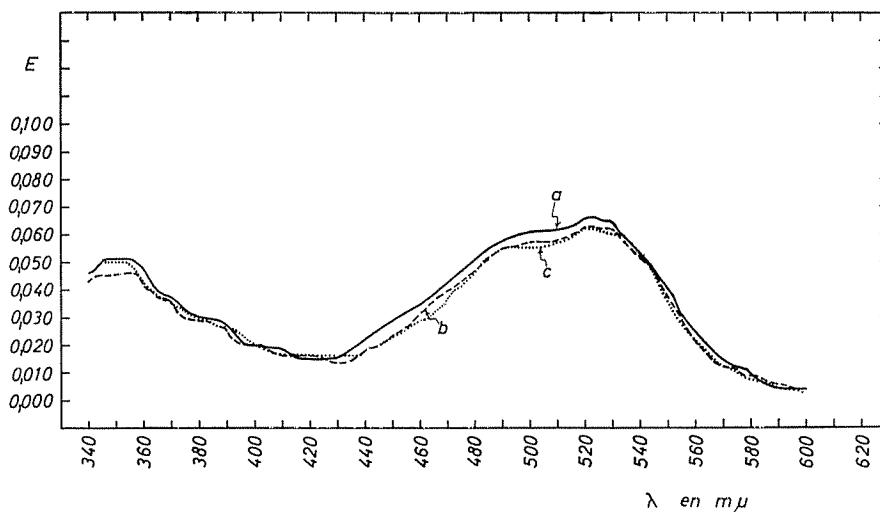


FIG. 3. — *Influencia de la cantidad de reactivo. Espectros de absorción.* a) Disolución acuosa del complejo Fe- α 'dipiridilo. Concentración inicial del reactivo = $2,37 \cdot 10^{-4}$ M. b) La concentración de reactivo se modificó a $4,74 \cdot 10^{-4}$ M. c) La concentración de reactivo se modificó a $2,37 \cdot 10^{-3}$ M. La concentración inicial de Fe en todos los casos era $0,6942 \cdot 10^{-5}$ M y el pH en todas las experiencias se mantuvo a 5,5.

disolución acuosa del complejo Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo permanecen invariables aunque se modifique desde $2,37 \cdot 10^{-4}$ M hasta $2,37 \cdot 10^{-3}$ M la concentración inicial del reactivo, lo que demuestra que este exceso no influye en las propiedades absorciométricas del sistema.

4. Variación de la extinción con la concentración de hierro

La figura 4 representa las diferentes curvas de absorción a distintas concentraciones iniciales de hierro, en ella se puede apreciar la influencia que en el máximo a $522 \text{ m}\mu$ ejerce una variación muy considerable

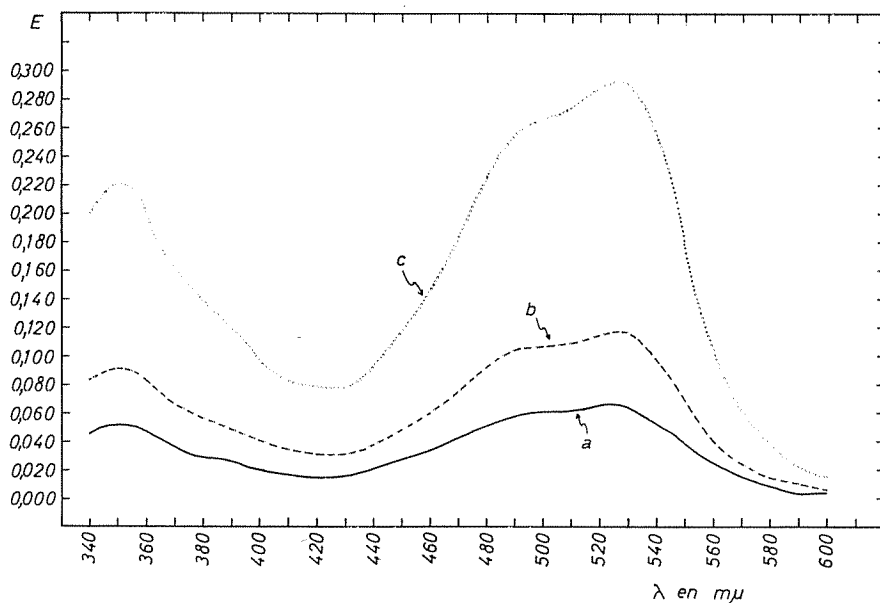


FIG. 4. — Variación de la extinción con la concentración inicial de hierro en el complejo Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo. Concentración inicial de hierro: a) $0,6945 \cdot 10^{-5}$ M. b) $1,38 \cdot 10^{-5}$ M. c) $3,471 \cdot 10^{-5}$ M. Concentración de $\alpha\alpha'$ dipiridilo en todos los casos = $2,37 \cdot 10^{-4}$ M. pH en todos los casos = 5,7.

del catión. La figura 5 demuestra el perfecto cumplimiento de la ley de Beer para la reacción colorimétrica Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo, ya que la extinción se presenta como función lineal de la concentración de hierro entre los límites (0-400 γ Fe/litro) por nosotros estudiados, y en cuyo intervalo se encuentran los valores habituales de hierro total y soluble en el agua de mar.

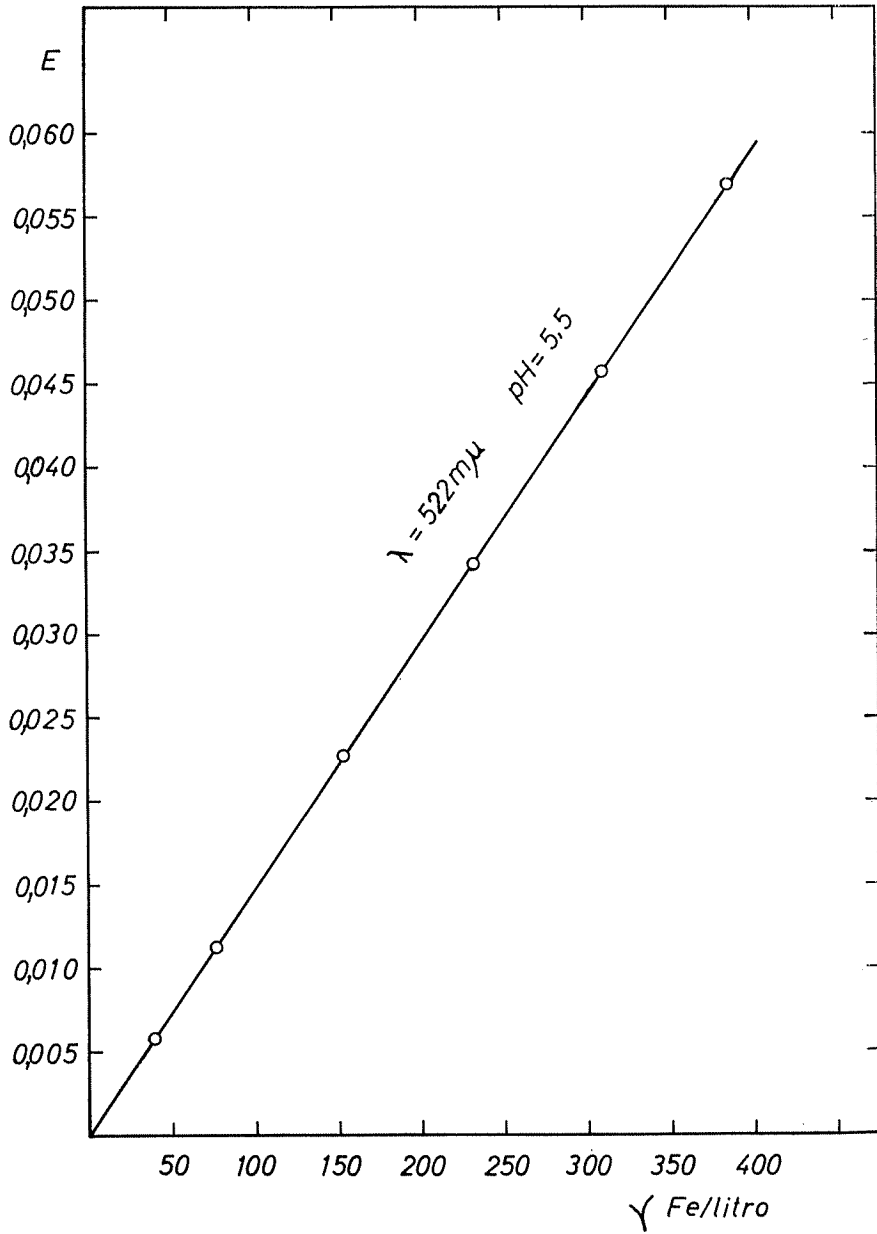


Fig. 5. — Cumplimiento de la ley de Beer.

5. Estabilidad con la temperatura

En el cuadro 1 se demuestra la estabilidad del sistema frente a las variaciones de temperatura, puesto que el máximo observado a 522 m μ permanece invariable entre 6 y 60°C.

CUADRO 1

Influencia de la temperatura en la estabilidad del sistema Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo
 [Fe] inicial = $0,6942 \times 10^{-5}$ M [$\alpha\alpha'$ dipiridilo] inicial = $2,37 \times 10^{-4}$ M
 $\lambda = 522$ m μ pH = 5,5

TEMPERATURA, °C	E	TEMPERATURA, °C	E
6	0,066	19	0,066
8	0,066	20	0,066
10	0,066	30	0,066
12	0,066	40	0,066
14	0,066	60	0,066
16	0,066		

6. Estabilidad en función del tiempo

Hemos asimismo estudiado la influencia del tiempo sobre el desarrollo de la reacción coloreada Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo, encontrándose que los valores de la extinción a 522 m μ no varían al cabo de 48 horas.

7. Interferencias

En primer lugar hemos comprobado las curvas de absorción de los reactivos que acompañan al $\alpha\alpha'$ dipiridilo en la reacción que estamos estudiando.

Así, se ha medido la absorción entre 340 y 360 m μ de disoluciones acuosas de clorhidrato de hidroxilamina, otras de clorhidrato de hidroxilamina y acetato sódico, y por último clorhidrato de hidroxilamina, acetato sódico y $\alpha\alpha'$ dipiridilo, en las concentraciones habituales de la reacción, en todos los casos la extinción es nula en el intervalo de longitudes de onda antes señalada, lo que demuestra que ninguno de estos compuestos es responsable del máximo observado en la reacción Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo a 350 m μ .

Posteriormente, y entre las posibles interferencias, hemos escogido para nuestro estudio la comprobación de los fluoruros y los fosfatos, debido a su importancia, por la probabilidad de complejar con el hierro,

y por ser componentes de concentración notoria en el agua de mar, si se comparan con las habituales de hierro en el mismo elemento.

Comprobación de la posible interferencia de los fluoruros

Se han estudiado las variaciones en el máximo de extinción a 522 m μ de las siguientes disoluciones :

			<u>Extinción</u>
Disolución A	193,75 γ Fe/litro	pH = 5,6	0,027
Disolución B	{ 193,75 γ Fe/litro 350 γ flúor/litro	pH = 5,6	0,027
Disolución C	{ 193,75 γ Fe/litro 700 γ flúor/litro	pH = 5,6	0,027
Disolución D	{ 193,75 γ Fe/litro 1400 γ flúor/litro	pH = 5,6	0,027

Estos valores obtenidos para la extinción demuestran que los fluoruros no interfieren en la reacción Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo cuando se encuentran en las concentraciones estudiadas, y elegidas previamente por los contenidos habituales de fluoruros en el agua de mar.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que el tratamiento con ClO₄H a que se someten las muestras de agua de mar en el método de determinación de Fe con $\alpha\alpha'$ dipiridilo, seguido de la eliminación del ácido perclórico por calentamiento a sequedad, eliminan sin duda los fluoruros, ya que el FH hierve a 120°C, mientras que el ClO₄H lo hace a 200°C.

Comprobación de la posible interferencia de los fosfatos

Se han estudiado las variaciones en el máximo de extinción a 522 m μ de las siguientes disoluciones :

			<u>Extinción</u>
Disolución A	193,75 γ Fe/litro	pH = 5,6	0,027
Disolución B	{ 193,75 γ Fe/litro 56,9 γ P/litro	pH = 5,6	0,027
Disolución C	{ 193,75 γ Fe/litro 113,8 γ P/litro	pH = 5,6	0,027
Disolución D	{ 193,75 γ Fe/litro 227,7 γ P/litro	pH = 5,6	0,027

Estos valores obtenidos para la extinción demuestran que los fosfatos a las concentraciones estudiadas no interfieren en la reacción Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

1. Se ha hecho un estudio crítico del método del $\alpha\alpha'$ dipiridilo, y de los de la bathofenantrolina y sulfocianuro potásico, empleados para la determinación de hierro soluble y particulado en el agua de mar. Al objeto de utilizarlo en las campañas en la ría de Vigo, se escogió el método del dipiridilo, debido a su sencillez y a que la sensibilidad (5γ Fe/litro) es suficiente en nuestro caso concreto.

El método de la bathofenantrolina presenta el inconveniente de ser demasiado laborioso para su sistemática utilización en campañas oceanográficas. Además, es necesario centrifugar al objeto de eliminar los enturbiamientos que se presentan en la capa alcohólica en la extracción con alcohol isoamílico, lo que complica enormemente las determinaciones en serie.

El método del sulfocianuro potásico no sigue la ley de Beer en su reacción coloreada. También la salinidad ejerce una marcada influencia sobre los resultados y ello obliga a realizar una serie de curvas patrón para cada unidad de clorinidad, y luego a situar los valores a analizar entre dos curvas patrón próximas. También presenta los inconvenientes de la bathofenantrolina referentes a enturbiamientos de la capa alcohólica, que impiden una correcta lectura en el espectrofotómetro.

2. Se ha estudiado absorciométricamente el reactivo $\alpha\alpha'$ dipiridilo utilizado en las determinaciones de hierro. Se observa que a medida que disminuye el pH, el máximo de extinción se desplaza hacia zonas de mayor longitud de onda. Este máximo se presenta entre 289 y 295 $m\mu$. Por otra parte, la extinción máxima se deja influir por la variación del pH, manteniéndose los valores más altos entre pH 1,4 a pH 3.

3. Se estudia espectrofotométricamente el complejo Fe- $\alpha\alpha'$ dipiridilo en disolución acuosa, formado en la reacción analítica. Se ha comprobado en primer lugar que la influencia del pH sobre el máximo de extinción a 522 $m\mu$ es mínima. A pH = 5,5 se presenta la absorción máxima, todo ello dentro de límites muy estrechos que en ningún caso alcanzan variaciones en el máximo de absorción mayores de 0,016. Un exceso en la cantidad de reactivo de diez veces la concentración usual, tampoco influye en las propiedades absorciométricas del sistema.

La ley de Beer se cumple perfectamente en el intervalo por nosotros estudiado ($0-400 \gamma$ Fe/litro) y en el que están comprendidos los valores habituales de Fe en el agua de mar.

El complejo es perfectamente estable a variaciones de temperatura

comprendidas entre 6 y 60°C. Igualmente lo es con respecto al tiempo al cabo de 48 horas.

Se estudia la posible interferencia de fluoruros y fosfatos a las concentraciones posibles en el agua de mar, encontrándose que éstas son nulas.

4. Se describe finalmente el método operatorio para determinar hierro soluble y particulado en el agua de mar con el reactivo de $\alpha\alpha'$ bipiridilo, señalando las condiciones óptimas para su utilización.

AGRADECIMIENTO

Nos es grato hacer constar nuestro agradecimiento al Director de este Laboratorio B. ANDREU, por las facilidades que nos ha dado para llevar a cabo este trabajo, y asimismo a las señoritas HERMO y MOURIÑO, por la ayuda prestada en la delineación de gráficas.

S U M M A R Y

A critic study on the method of $\alpha\alpha'$ bipiridile has been made as well as those of bathophenanthroline and potassium thiocyanate used for determination of soluble and particulate iron in sea water. For application in oceanographic work in the ría of Vigo, the bipiridile method was chosen. Its facility and sensibility (5 γ Fe/liter) is sufficient in this concrete case.

The bathophenanthroline method is too laborious for a routine use in oceanographic work. Besides it is necessary to centrifugate to eliminate the turbidity which appears in the alcoholic layer in the extraction with isoamyl alcohol, which greatly complicates the serial analysis.

Potassium thiocyanate method does not follow the Beer's Law in its coloured reaction. Salinity also has a marked influence on the results. Turbidity in the alcoholic layer appears also as in the bathophenanthroline method, what prevents a correct reading in the spectrophotometer.

An spectrophotometric study of bipiridile reagent used in determination of iron has been made. It is observed that as pH decreases, the maximum of extinction is displaced towards zones of greater length of wave. This maximum appears between 289 and 295 $m\mu$. On the other hand, the maximum extinction is influenced by pH variation and the highest values remain between pH 1,4 and pH 3.

An spectrophotometric study on the Fe- $\alpha\alpha'$ bipiridile complex in the aqueous solution which is formed in the analytical reaction is made. First we have proved that influence of pH on the extinction maximum at 522 $m\mu$ is quite small. At pH 5,5 the highest absorbtion appears, but variations within the absorbtion maximum are never higher than 0,016.

An excess in the amount of the reagent, ten times above the usual concentration, does not modify the absorbtion of the system.

The Beer's law is perfectly verified in the interval we have studied (0-400 γ Fe by liter) in which the usual values of Fe in sea water are included.

The stability of the complex does not vary between temperatures from 6 to 60°C, and remains the same after 48 hours.

Fluorure and phosphate do not interfere in the range of their possible concentrations in sea water.

Finally we describe the adopted method for determination of soluble and particulate iron in sea water with $\alpha\alpha$ -bipyridile reagent, and point the best conditions for its use.

BIBLIOGRAFÍA

- ARMSTRONG, F. A. J.—1957. The iron content of sea water. *Journ. Mar. Biol. Assoc.*, U. K. 86:509-517.
- BARNES, H. — 1959. *Apparatus and Methods of Oceanography*, George Allen Unwin, Ltd., London, p. 224.
- BARTON, L. E.; SCOTT, W. W. — 1939. *Standard Methods of Chemical Analysis* (I). Van Nostrand, New York, p. 498.
- BASTIAN, R.; WEBERLING, R., and PALILLA, F. — 1953. Spectrophotometric determination of iron as ferric sulfate complex. *Anal. Chem.*, 25:284-288.
- BERMEJO, F. — 1960. *Química Analítica Cuantitativa*. Imprenta Seminario Conciliar, Santiago de Compostela.
- 1960. *Aplicaciones analíticas del AEDT y análogos*. Imprenta del Seminario Conciliar, Santiago de Compostela.
- BERMEJO, F., y BLAS, A. G. — 1964. Nuevas aplicaciones analíticas de los ácidos etiléter-diamino-tetraacético y 1,2-diaminociclohexano-tetraacético. *Act. Cient. Comps.*, 1:129-138.
- BLY, D., and MELLON, M. G. — 1963. Properties and analytical applications of the iron (II)-2,2-bipyrimidine complex. *Anal. Chem.*, 35:1386-1392.
- COLLINS, F. P. and HARVEY D. — 1959. 2,4,6-tripyridyl-s-triazine as a reagent for iron. *Anal. Chem.*, 31:1862-1867.
- COOPER, L. H. N. — 1948. Some chemical considerations on the distribution of iron in the sea. *Journ. Mar. Biol. Assoc.*, U. K., 27:314-321.
- DIEL, H.; SMITH, G. F. — 1960. *The iron reagents: Bathophenanthroline, 2,4,6-tripyridyl-s-triazine, Phenyl-2-pyridyl-ketoxime*. G. Frederick Smith Chemical Co., Columbus, Ohio.
- HARVEY, H. W. — 1934. Measurement of phytoplankton population. *Journ. Mar. Biol. Assoc.*, U. K., 19:761-763.
- 1949. *Chimie et biologie de l'eau de mer*. Presses Universitaires de France, Paris.
- 1955. *The Chemistry and fertility of sea waters*. Cambridge University, p. 142.
- HARVEY, A. E.; SMART, J. A., and AMIS, E. S. — 1955. Simultaneous spectrophotometric determination of iron (II) and total iron with 1,10-phenanthroline. *Anal. Chem.*, 35:1386-1392.
- HILLEBRAND, W. F., and LUNDELL, G. E. F. — 1953. *Applied inorganic analysis*. 2nd ed., Wiley, New York, p. 461.
- LEAVASTU and THOMPSON, T. G. — 1958. Soluble iron in coastal waters. *J. Mar. Res.*, 16:192-198.
- LEWIS, J. C. — 1962. Iron (II) determination in the presence of iron (III) using 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline. *Anal. Chem.*, 34:348-352.
- LEWIS, G., and GOLDBERG, E. — 1954. Iron in marine waters. *J. Mar. Res.*, 13:183-197.
- LÓPEZ-BENITO, M. — 1966. Estudio del hierro y fosfatos en el agua de mar y equilibrio entre dichos iones. (Tesis doctoral.)
- MELLON, M. G., and BOLTZ, D. F. — 1958. Light absorption spectrometry. *Anal. Chem.*, 30:554-569.
- PETERSON, R. E. — 1953. Improved spectrophotometric procedure for determination of serum iron. *Anal. Chem.*, 25:1337-1339.
- RAKESTRAW, N. W.; MAHNCKE, H. E., and BEACH, E. F. — 1936. Determination of iron in sea water. *Ind. Eng. Chem. Anal.*, 8:136-138.
- SHAFFER, M. B., and BISHOP, Y. M. — 1958. Particulate iron in offshore waters of the Panama Bight and in the Gulf of Panama. *Limnol. Ocean.*, 3:137-149.

- SCHILT, A. — 1963. Formal oxidation-reduction potentials and indicator characteristics of some Cyanide and 2,2'-bipyridine complexes of iron, ruthenium and osmium. *Anal. Chem.*, 35:1599-1602.
- SKOUGSTAD, M. W., and FISHMAN, M. J. — Water analysis. *Anal. Chem.*, 33: 138R-164R.
- SMITH, G. F.; MC CURDY, W. H., and DIEL, J. R. — 1952. The colorimetric determination of iron in raw and treated municipal water supplies by use of 4,7-diphenyl-1,10-phenanthroline. *Analyst.*, 77:418-442.
- SIMMONS, L. H.; MONAGHAN, P. H., and TAGGART, M. S. — 1953. Determination of iron by the *o*-phenanthroline. *Anal. Chem.*, 25:989-990.
- THOMPSON, T. G.; BREMNER, R. G., and JAMIESON, M. — 1932. Occurrence and determination of iron in sea water. *Industr. Engng. Chem. Anal.*, 4:288-290.
- THOMPSON, T. G., and BREMNER, R. W. — 1935. The determination of iron in sea water. *Journ. du Conseil*, 10:33-38.
- 1935. The occurrence of iron in the water of the Northeast Pacific Ocean. *Journ. du Conseil*, 10:39-47.