

Sammenligning mellem ascorbinsyre og metolopløsning som reduktionsmiddel for ammoniumfosformolybdat ved bestemmelse af fosforsyretil i jord

Ved *J. Dissing Nielsen*

813. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Nærværende beretning er et led i undersøgelser over jordbundsanalysernes metodik ved Statens Planteavlslaboratoriums jordbundskemiske afdeling i Lyngby. Det eksperimentelle arbejde er udført og beretningen udarbejdet af videnskabelig assistent, lic. agro. *J. Dissing Nielsen*.

Forstanderne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

Ved bestemmelse af fosfor i jordekstrakter benytter man sig af, at fosfationer i forbindelse med molybdationer (MoO_4^{--}) danner en såkaldt heteropolysyre ($\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$), som kan afledes fra orthofosforsyre (H_3PO_4) ved at substituere et ilt med gruppen Mo_3O_{10} .

Heteropolysyrens ammoniumforbindelse, ammoniummolybdatfosfat ($\text{NH}_4)_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$, reduceres let til en blå opløsning, molybdænblåt, der indeholder molybdæn i iltningsstrin + 5. Som reduktionsmiddel for ammoniummolybdatfosfat anvendes bl.a.: stannochlorid (*Watanabe & Olsen*, 1961), metolopløsning (p-methylaminophenol) (*Bondorff*, 1950) og ascorbinsyre (*Rautenberg & Ossenbergh-Neuhaus*, 1958). Metolopløsning er hidtil anvendt som reduktionsmiddel ved den af landbrugsministeriet foreskrevne frem-

gangsmåde ved erhvervsmæssig bestemmelse af fosforsyretil i jordprøver.

Anvendelsen af såvel metolopløsning som stannochlorid har dog en række ulemper. Den blåfarvning, som fremkommer ved tilsætning af metolopløsning eller stannochlorid til en fosfat-holdig opløsning, ændrer sig en del med tiden, og farveintensiteten skal derfor måles indenfor et bestemt tidsinterval. Ved tilsætning af metolopløsning til jordekstrakterne udvikles der svovldioxid, som har en ubehagelig stikkende lugt. Ved anvendelse af ascorbinsyre som reduktionsmiddel og antimon som accelerator fås en hurtigere, kraftigere og mere konstant farveudvikling end ved anvendelse af metolopløsning, således som det fremgår af fig. 1.

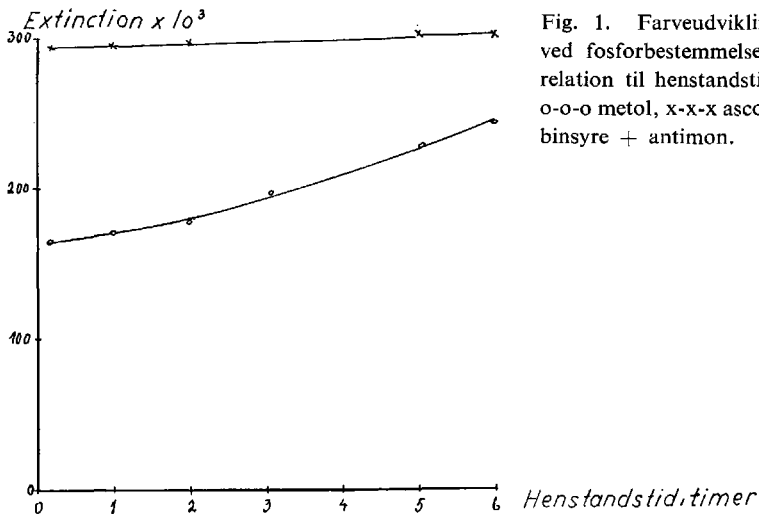


Fig. 1. Farveudvikling ved fosforbestemmelse i relation til henstandstid. o-o-o metol, x-x-x ascorbinsyre + antimon.

Ascorbinsyre som reduktionsmiddel ved fosforbestemmelse anvendtes bl.a. af: *Rauterberg & Ossenberg-Neuhaus* (1958), *Murphy & Riley* (1958) og *Watanabe & Olsen* (1965). Sidstnævnte der anvendte ascorbinsyre som reduktionsmiddel ved fosforbestemmelse i (vandige) jordekstrakter (natriumhydrogencarbonat), tilsatte reagenserne svovlsyre, ammoniummolybdat, ascorbinsyre og antimonkaliumtartrat i en enkelt opløsning, som reagerer med fosforsyre og giver en stabil farve indenfor 10 minutter.

Statens Planteavlslaboratoriums jordbundskemiske afdeling har foretaget en sammenligning mellem den hidtil anvendte fremgangsmåde ved fosforbestemmelse i jordekstrakter, og den af *Watanabe & Olsen* (1965) beskrevne fremgangsmåde, hvor man anvender ascorbinsyre som reduktionsmiddel i stedet for metolopløsning og desuden tilsætter antimon som katalysator.

Reagenser

Reagens A: 12 g ammoniummolybdat ((NH₄)₂MoO₄) opløses i 250 ml demineraliseret vand, og 0,2908 g antimonkaliumtartrat (KSbO₃·C₄H₄O₆) opløses i 100 ml demineraliseret vand. Begge de opløste reagenser blandes omhyggeligt med 1 l ca. 5-n svovlsyre (140 ml konc. svovlsyre pr. l). Efter blandingen overføres opløsningen til en 2 l målekolbe, som fyldes op til mærket med demineraliseret vand, og reagentet opbevares køligt og beskyttet mod lys.

Reagens B: 1,056 g ascorbinsyre opløses i 200 ml af reagens A + 50 ml demineraliseret vand. Reagentet er kun begrænset holdbart og fremstilles umiddelbart før brugen.

Fremgangsmåde

I 100 ml målekolber afpipetteres prøver indeholdende fra 0-100 µg fosfor. Målekolberne fyldes med demineraliseret vand til ca. 70 ml og tilsættes 20 ml af reagens B, hvorefter der fyldes til mærket med demineraliseret vand og blandes omhyggeligt. Der kalibreres med standardopløsninger, der behandles som ovenfor beskrevet.

Farvestyrken blev bestemt i et Engel-kolorimeter med cylinderformede kuvetter (reagensglas, 16 mm d) og med anvendelse af filter nr. 75 (700-785 mµ).

Resultater

I fig. 1 er vist farveudviklingen efter tilsætning af metol- eller ascorbinsyrereagens til en opløsning

med fosfor. Farveudviklingen er ikke afsluttet inden for de første 6 timer efter tilsætning af metolopløsning, men samtidig med farveudviklingen foregår der en farvedbrydning (*Murphy & Riley*, 1958), således at tidsintervallerne ved denne analysemetodik skal overholdes meget nøje for at undgå væsentlige fejl ved analysen.

Derimod er farveudviklingen ved anvendelse af ascorbinsyre og antimon fuldstændig allerede efter 10 min. henstand, og farvestyrken forbliver konstant i mindst 1 døgn.

Det fremgår af fig. 1, at farveintensiteten for den samme fosforkoncentration er næsten dobbelt så stor ved anvendelse af ascorbinsyre som reduktionsmiddel og antimon som katalysator sammenlignet med metolopløsning uden katalysator.

51 jordprøver af alsidig karakter indsendt til rutinebestemmelse af Ft blev analyseret såvel efter den hidtil anvendte som efter den foran beskrevne metode. Resultaterne af denne sammenligning, der for samtlige prøver er foretaget i aliquoter af samme ekstrakt, er vist i tabel 1.

Tabel 1. Sammenligning mellem metolopløsning (M) og ascorbinsyre (A) som reduktionsmiddel ved bestemmelse af fosforsyretal (Ft) i samme jordekstrakt (0,2 n svovlsyre)

Antal prøver	Varia-tions-bredde Ft	Gns-Ft		Regres-sions-koefficient (b)	Korrela-tions-koefficient (r)
		(M)	(A)		
51	1,6-64,0	9,55	9,73	+1,017	+0,9996

$$y = 0,018 + 1,017x$$

Fosfortallene bestemt efter ascorbinsyremetoden er lidt højere end de tilsvarende tal bestemt efter metolmetoden. Regressionskoefficienten beregnet ud fra samtlige 51 prøver er + 1,017, og korrelationskoefficienten ligger meget nær ved 1 (+ 0,9996).

Reproducerbarheden af fosforsyretal-bestemmelsen blev undersøgt såvel for metol- som for ascorbinsyremetoden ved at beregne standardafvigelsen (S) på et materiale af 51 dobbeltbestemmelser og i tabel 2 er givet en oversigt over resultaterne.

Reproducerbarheden af resultaterne er lidt bedre for ascorbinsyre- end for metolmetoden og må i begge tilfælde anses for tilfredsstillende.

Tabel 2. Beregning af standardafvigelse (S) på dobbeltbestemmelse af fosforsyretil (Ft)

Fremgangsmåde	Antal prøver	Gns. Ft	S	S i % af gns.
Metol.	51	9,55	±0,36	±3,77
Ascorbinsyre . .	51	9,73	±0,31	±3,23

Sammendrag

Fosforsyretillet i en jordprøve bestemmes her i landet efter en metode, hvor prøven ekstraheres med 0,2 n svovlsyre. Ekstraktens uorganiske fosfor bringes derefter sammen med molybdat i en kompleksforbindelse, som kan reduceres til en farvet opløsning, hvis farvestyrke afhænger af fosfor-koncentrationen. Som reduktionsmiddel er hidtil anvendt metolopløsning.

Resultaterne af denne undersøgelse viser, at ascorbinsyre sammen med antimon kan erstatte metolopløsning som reduktionsmiddel ved bestemmelsen af fosfor i jordekstrakter. Korrelationen mellem de 2 metoder er meget høj ($r = 0,9996$), og den fundne systematiske afvigelse så lille (regressionskoefficienten = +1,017), at den må anses som uden betydning for resultaternes praktiske anvendelse. Reproducerbarheden er næsten den samme for de 2 fremgangsmåder og må anses for tilfredsstillende. Ascorbinsyre og antimon giver en langt hurtigere, kraftigere og mere stabil farveudvikling og er tillige behageligere at anvende på laboratoriet end metolopløsning.

Summary

Ascorbic acid compared with metol for reduction of phosphomolybdic acid in the determination of phosphate in soil

For colorimetric determination of phosphate in soil

extracts metol is frequently used as a reducing agent for development of the molybdenum-blue colour.

In this investigation it has been found that metol may be replaced by a solution containing ascorbic acid as reducing reagent and antimony for accelerating the colour development. The correlation between the 2 methods is high ($r = +0,9996$) and the systematic deviation is so small (the regression coefficient = +1,017) that it will be of little or no importance for the practical application of the results. Ascorbic acid and antimony gives a quicker, stronger and more stable colour development than metol and is more convenient in the laboratory practice.

Litteratur

- Watanabe, F. S. & Olsen, S. R.*, 1961. – Colorimetric determination of phosphorus in water extracts of soil. – *Soil Sci.*, 93, 183–188.
- Bondorff, K. A.*, 1950. – Studier over jordens fosforsyreindhold. V. En ny fremgangsmåde ved undersøgelse af jordens fosforsyreindhold. – *Tidsskrift for Planteavl*, 53, 336–342.
- Rauterberg, E. & Ossenberg-Neuhaus, H.*, 1958. – Phosphorsäurebestimmung nach der Molybdänblau-Methode mit Ascorbinsäure als Reduktionsmittel. – *Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde*, 82, 46–49.
- Murphy, J. & Riley, J. P.*, 1958. – A single-solution method for the determination of soluble phosphate in sea water. – *J. Mar. Biol.*, 1958, 37, 9–14.
- Watanabe, F. S. & Olsen, S. R.*, 1965. – Test of an ascorbic-acid method for determining phosphorus in water and NaHCO_3 extracts from soil. – *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 29, 677–678.

Hovedtabel. Sammenligning mellem ascorbinsyre (A) og metolopløsning (M) som reduktionsmiddel ved bestemmelse af fosforsyretil (Ft) i samme jordekstrakt (0,2 n svovlsyre)

Løbe			Ft		Løbe			Ft	
nr.	År	Rt	(A)	(M)	nr.	År	Rt	(A)	(M)
<i>Sandjorde</i>					<i>Lerjorde</i>				
160	66	4,9	1,5	1,4	308	67	6,5	4,1	4,0
257	67	7,5	1,6	1,6	92	67	5,2	4,1	4,3
152	66	6,2	2,5	2,3	142	67	7,4	4,7	4,6
260	67	7,4	2,5	2,5	174	67	6,9	5,0	5,0
147	66	5,0	2,8	2,7	180	67	6,8	5,6	5,5
325	67	6,2	3,0	2,8	89	67	7,2	5,7	5,8
146	66	5,7	3,1	2,9	169	67	6,0	5,8	5,7
187	67	6,8	3,6	3,3	124	66	7,4	6,8	6,8
47	67	7,2	3,7	3,7	310	67	6,7	6,9	6,9
128	66	6,6	3,7	3,5	91	67	7,3	7,6	7,6
189	67	5,2	3,8	3,9	178	67	6,2	8,4	8,2
254	67	7,3	3,9	3,9	321	67	7,2	8,4	8,4
50	67	4,3	4,0	4,0	122	66	7,4	9,7	8,6
102	66	6,6	4,1	3,7	315	67	7,6	10,0	9,8
45	67	6,2	4,5	4,5	627	66		11,0	10,4
253	67	8,0	4,9	4,8	90	67	6,7	11,4	11,6
185	67	7,2	5,9	6,1	309	67	6,6	11,6	11,4
183	67	7,4	6,2	6,1	184	67	6,2	11,6	11,6
171	67	6,3	6,3	6,2	631	66		12,4	11,6
129	66	5,8	6,3	6,2	635	66		12,7	12,8
101	66	5,3	6,9	6,8					
170	67	6,7	6,9	6,8					
173	67	6,1	7,8	7,4	<i>Drivhusjorde</i>				
41	67	7,5	10,8	10,5	227	67	6,4	11,0	11,0
172	67	5,6	11,6	11,0	228	67	6,5	23,5	22,8
93	67	5,3	11,6	11,6	234	67	6,0	41,5	41,0
					237	67	6,2	54,5	53,5
					792	66	7,3	65,0	64,0