

Om bestemmelse af fosfor ved hjælp af vanadat-molybdatmetoden, indflydelse af syrekoncentration

On determination of phosphorus by the vanadate molybdate method, influence of acidity

CHRESTEN SØRENSEN

Resumé

Efter foraskning af organisk stof med koncentreret svovlsyre og påfølgende måling af fosfor ved hjælp af vanadat-molybdatmetoden forekom uregelmæssigheder i analyseresultaterne. Indflydelsen af syrekoncentrationen på farveudviklingen

er undersøgt. Ved neutralisering af forskningsopløsningen før udtagning af en aliquot til blanding med farvereagens kunne vanskelighederne overkommes. Analyse af blandinger af organisk stof og KH_2PO_4 viste herefter de forventede udbytter.

Nøgleord: Fosfor, vanadat-molybdat, syrekoncentration.

Summary

After ashing of organic material by concentrated sulfuric acid followed by colorimetric determination of phosphorus by the vanadate-molybdate method unreliable results were observed. The influence of acidity on colour development has

been investigated. The problem was overcome by neutralization of the ashing residue by sodium hydroxide before the colour development. Analyses of mixtures of organic material and KH_2PO_4 gave the expected yield of colour.

Key words: Phosphorus, vanadate-molybdate, acid concentration.

Indledning

Ved anvendelse af vanadat-molybdatmetoden til bestemmelse af fosfor i plantemateriale efter våd foraskning viste det sig, at der kunne opstå uregelmæssigheder i resultaterne. Derfor gennem-

førtes enkelte undersøgelser, der særlig har drejet sig om undersøgelse af betydningen af syrekoncentrationen i den til den kolorimetrisk måling anvendte opløsning.

Emnet har været behandlet af flere. *Baghurst* og *Norman* (2) foretrak på grundlag af deres resultater en syrekonzentration på 1,2 *N* i måleopløsningen og bemærkede, at ved en syrekonzentration lavere end 0,8 *N* var resultaterne svingende og uanvendelige. Man fandt endvidere, at nærværelse af sulfat gjorde den gule farves intensitet uafhængig af temperaturen. *Gee* og *Deitz* (4) foreslår syrekonzentrationen til 0,2–0,6 *N* og påpeger, at forskellen i syrekonzentration i standard og analyse af ukendt materiale ikke bør overstige 0,01 i normalitet. *Benjaminsen* og *Jensen* (3) anvender ca. 0,4 *N* syre i måleopløsningen. *Quinlan* og *De Sesa* (5) konkluderer efter indgående undersøgelser, at syrekonzentrationen bør være 0,4 *N*, og påpeger, at for høj syrekonzentration medfører langsom eller ufuldstændig farvedannelse; målingerne foretoges ved 470 nm.

Metodik

Udgangspunktet for nærværende undersøgelser har været den af de europæiske fællesskaber (1) beskrevne metode for våd foraskning, hvis hovedtræk er følgende: 1 g stof koges med 20 ml koncentreret svovlsyre i 10 minutter, tilsættes koncentreret salpetersyre og bringes i kog, dette gentages eventuelt flere gange, til opløsningen er klar, og svovlsyredampe fremkommer. Prøven afkøles og fortyndes med vand til 500 ml eller således, at der højst er 40 µg P pr. ml (denne opløsning benævnes i det følgende som askeopløsningen). Af askeopløsningen udtages 10 ml, der blandes med 10 ml farvereagens bestående af ammoniumheptamolybdat, ammoniumvanadat og saltpetersyre og er 0,11 *M*, 0,004 *M* og 1,9 *M* mht. henholdsvis Mo, V og HNO₃. Intensiteten af den fremkomne gule farve måles ved 430 nm og sammenlignes med resultater fremkommet ved analyse af standardopløsninger indeholdende kendte mængder af KH₂PO₄ opløst i vand.

Resultater og diskussion

De nævnte forhold medfører, at man ved blanding af 10 ml farvereagens og 10 ml standardopløsning eller askeopløsning får en måleopløsning, der bliver ca. 1 *N* mht. syre, når det drejer sig om standardopløsninger, hvorimod måleopløsningen ved analyse af askeopløsninger yderligere indeholder syre fra foraskningen. Denne syremængde kan variere afhængig af hvor længe og hvor kraf-

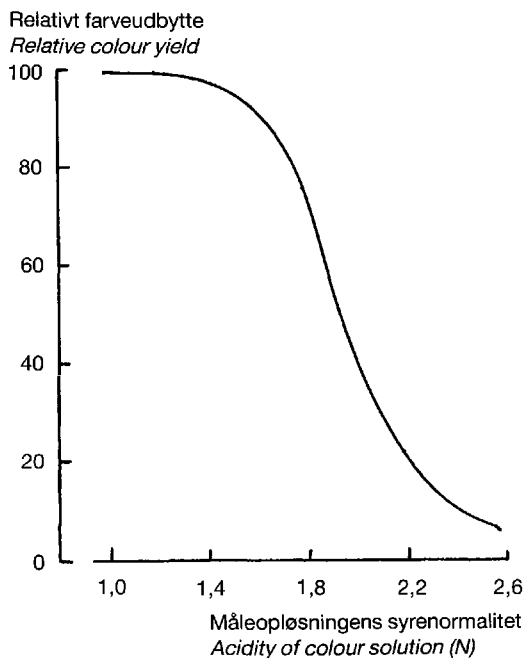


Fig. 1. Relativt farveudbytte ved stigende syrekonzentration i måleopløsningen.
Relative colour yield at increasing acidity in the colour solution.

tigt, der er kogt under destruktionen, stofmængde i arbejde mv.

Den i fig. 1 viste kurve er fremstillet efter analyse af standardopløsninger indeholdende 20 mg P pr. liter, men tilsat stigende mængder svovlsyre, hvorefter der fremkommer måleopløsninger med stigende syrekonzentrationer, som det fremgår af figuren. Opløsningernes farveintensitet er herefter målt ved 430 nm.

Ved destruktion af foderstof startes der med ca. 720 mekv. syre, og afhængig af stoffets art og destruktionsintensitet sluttet der måske med 400–700 mekv. syre svarende til 1,4–1,7 *N* syre i måleopløsningen. Det kan derfor ventes, at variation i syrekonzentration kan medføre variation i resultaterne.

Endvidere konstateredes indledningsvis, at farveintensiteten af standard-måleopløsninger var konstant fra 5 min. efter blanding og indtil 52 døgn, med variationskoefficienter varierende fra 0,2 pct. til 0,8 pct. for de forskellige opløsninger.

Ved analyse af foderstoffer konstateredes det, at såfremt der anvendtes 5 ml askeopløsning, 5 ml

vand og 10 ml farvereagens, var farveudbyttet relativt højere, end når der anvendtes 10 ml askeopløsning og 10 ml farvereagens som foreskrevet. Forholdet illustreres af resultaterne i tabel 1. Destruktion gennemførtes som foreskrevet, og efter dennes slutning tilsattes askeresten 50 ml vand og

kogtes igen for at fjerne kvælstofilter. Askeopløsningerne blev neutraliseret og måleopløsningernes syrenormalitet beregnet ved hjælp af titreringsresultaterne. Forsøget omfattede også prøver af kaliumdihydrogenfosfat, der ligeledes undergik destruktion.

Tabel 1. Udbytte af P ved anvendelse af 5 ml eller 10 ml askeopløsning til farvefremkaldelse og syrekoncentration i måleopløsningen.

Yield of P using 5 ml or 10 ml ash solution for colour development, and acidity of final colour solution.

Analyseret materiale <i>Material analysed</i>	Volumen af askeopløsning til analyse <i>Volume of ash solution analysed</i>			
	5 ml		10 ml	
	Målt fosforkoncentration <i>Concentration of P found</i> µg P pr. ml		Syrekoncentration i måleopløsning, N <i>Acidity of colour solution, N</i>	
KH ₂ PO ₄	19,8	16,5	1,31	1,67
Foderstof 1 <i>Feed 1</i>	13,1	12,4	1,19	1,42
Foderstof 2 <i>Feed 2</i>	43,5	40,6	1,21	1,45
Foderstof 3 <i>Feed 3</i>	11,6	10,9	1,23	1,49

Af KH₂PO₄ blev anvendt en mængde svarende til 200 µg P pr. 10 ml askeopløsning, og der er således, hvor der er udtaget 5 ml askeopløsning, et udbytte på 99 pct. af det forventede, men hvor der er anvendt 10 ml askeopløsning til farvefremkaldelse, er udbyttet betydeligt lavere. Dette forhold svarer til hvad, der måtte forventes i henhold til kurven i fig. 1. Ved anvendelse af 5 ml askeopløsning er syrekoncentrationen i måleopløsningen 1,31 N mod 1,67 N, hvor der er anvendt 10 ml askeopløsning. Hvor forsøgs materialet har været organiske stoffer, er forskellen mellem 5 ml og 10 ml mindre – svarende til, at en del af svovlsyren forbruges under destruktionsprocessen, hvorved syrekoncentrationen i måleopløsningen bliver mindre.

Til undersøgelse af, om neutralisation af askeopløsningen kunne medføre, at der opnåedes det forventede udbytte, gennemførtes følgende forsøg. Til destruktionskolberne sattes en mængde KH₂PO₄ svarende til 0 eller 100 µg P pr. 10 ml askeopløsning. Til hver serie tilførtes 0–1,5 g organisk stof pr. analyse. Materialet deltes herefter i

to grupper, hvoraf askeopløsningerne i den ene gruppe blev neutraliseret med NaOH og tilsat 3 ml 5 N H₂SO₄ før udtagning af 10 ml til farvefremkaldelse, hvorimod den anden gruppe ikke blev neutraliseret. Resultaterne fremgår af tabel 2.

Af resultaterne i venstre halvdel af tabel 2 ses, at der er opnået harmoniske udbytter. Resultaterne i højre halvdel af tabellen er derimod for lave, men det iagttages, at det relative udbytte stiger med stigende stofmængde pr. analyse, hvilket antagelig skyldes det nævnte forhold, at jo større stofmængde, der er i arbejde, des større er forbrugt af svovlsyre under destruktionsprocessen, og des lavere bliver syrekoncentrationen i måleopløsningen. Det lave udbytte for 0 g stof i arbejde svarer til hvad, der måtte forventes i henhold til fig. 1.

I et andet forsøg anvendtes af tre forskellige prøver foderstof 1 g pr. analyse, og der sattes her til før destruktion stigende mængder P som anført i tabel 3. Askeopløsningerne fra den ene gruppe af prøver blev neutraliseret med NaOH før udtagning til farvefremkaldelse.

Tabel 2. Målt $\mu\text{g P}$ pr. 10 ml askeopløsning ved varierende stof- og P-mængder. Neutraliseret og ikke neutraliseret askeopløsning.

Measured $\mu\text{g P}$ per 10 ml ash solution at different amounts of phosphorus and of feeding stuff. Ash solution neutralized and not neutralized.

g foderstof pr. analyse <i>g of feed per analysis</i>	Tilsat P svarende til μg pr. 10 ml askeopløsning <i>Addition of P corresponding to μg per 10 ml ash solution</i>			
	0		100	
	Askeopløsning neutraliseret <i>Ash solution neutralized</i>		Askeopløsning ikke neutraliseret <i>Ash solution not neutralized</i>	
0	0	100	0	79
0,5	66	165	54	132
1,0	130	231	113	197
1,5	192	294	179	256
Udbytte i pct. af forventet, når resultatet for 1 g stof og neutraliseret askeopløsning sættes = 100. <i>Yield as per cent of expected, when 1 g feed and ash solution neutralized equals 100.</i>				
0	–	100	–	79
0,5	102	100	83	80
1,0	100	100	87	86
1,5	98	100	92	87

Tabel 3. Udbytte af fosfor ($\mu\text{g P}$ pr. 10 ml askeopløsning) ved tilsætning af stigende mængder P pr. 1 g foderstof.
Yield of phosphorus ($\mu\text{g P}$ per 10 ml ash solution) at addition of increasing amounts of P per 1 g feed.

Prøve nr: <i>Sample No:</i> Tilsat $\mu\text{g P}$ <i>Added $\mu\text{g P}$</i>	Askeopløsningen <i>Ash solution</i>					
	Neutraliseret <i>Neutralized</i>			Ikke neutraliseret <i>Not neutralized</i>		
	1	2	3	1	2	3
0	130	125	130	113	113	122
50	185	176	178	150	153	166
100	231	223	228	197	188	212
200	335	325	326	278	247	296
Relativt udbytte (pct. af forventet, se tekst) <i>Relative yield (percentage of expected, see text)</i>						
0	100	100	100	100	100	100
50	103	101	99	92	94	97
100	100	99	99	92	88	90
200	102	100	99	89	79	87

Af resultaterne i øverste halvdel af tabel 3 ses, at udbytterne er lavest, når der ikke neutraliseres. Af resultaterne i venstre side af nederste halvdel fremgår, at når askeopløsningen neutraliseres,

opnås omtrentlig det forventede udbytte efter tilsætning af fosfor. Af resultaterne i højre side af nederste halvdel fremgår, at selv om P-udbytterne for ikke neutraliseret og uden tilsætning af P

accepteres, opnås ikke de forventede udbytter af P efter tilsætning af P til analyseprøverne under sådanne forhold. Det fremgår endvidere af nævnte resultater, at det forventede relative udbytte falder med stigende tilsat mængde P.

De lave udbytter ved undladelse af neutralisation kan måske være en følge af lovlig lav Mo-koncentration ved den høje syrekoncentration. *Quinlan* og *De Sesa* (5) fandt, at ved høj syrekoncentration skulle Mo-koncentrationen være højere for at opnå samme farveudbytte som ved lavere syrekoncentration.

Et forhold, der også kan spille en rolle i nærværende forbindelse, er reaktionstidens længde – afhængig af syrekoncentration – fra blanding af askeopløsning og farvereagens og indtil den spektrofotometriske måling. Ved analyse af en serie askeopløsninger udtoges af disse dels 10 ml og dels 5 ml plus 5 ml vand til blanding med farvereagens. Hvor syrekoncentrationen var 1,53 *N* (10 ml prøverne), steg farveudbyttet 3,3 pct. fra 20 min. til 60 min., men hvor syrekoncentrationen var 1,25 *N* (5 ml prøverne) var den tilsvarende stigning kun 1,7 pct.

Syreindholdet i askeopløsningen er afhængig af flere faktorer. Ved titreringer af 84 askeopløsninger fandtes et gennemsnitligt indhold på 559 mekv. syre, *s* = 37 og *cv* 6,7 pct. Denne variation er betydelig og kan reduceres væsentligt bl.a. ved omhu og teknik ved afmåling og titrering.

Det er velkendt, at ved tilsætning af vand til askeopløsningen forekommer der en udvikling af brune dampe. Dette forhold skyldes muligvis, at der ved tilsætning af salpetersyre til den koncentrede svovlsyre under foraskningens slutning og forsæt kogning dannes nitroser og nitroniumioner, der ikke kan bortkoges fra den koncentrede svovlsyre, men hydrolyseres ved tilsætning

af vand. I flere askeopløsninger er målt et indhold på ca. 1,5 mekv. salpetersyre, men koges opløsningen få minutter efter tilsætning af vand, falder dette indhold til mindre end 0,1 mekv. HNO₃. Indholdet af de beskudne mængder salpetersyre (1,5 mekv.) og kvælstofilter påvirker ikke analyseresultatet.

Ved dobbeltanalyser af 28 prøver var variationskoefficienten 1,33 uden neutralisation, men 0,69, når askeopløsningen blev neutraliseret.

Konklusion

På grundlag af resultaterne fra de her gennemførte forsøg, kan en neutralisation af askeopløsningen før blanding med farvereagens fjerne mange af de usikkerheder, metoden kan være forbundet med.

Litteratur

1. *Anonym* 1971. Kommissionens andet direktiv af 18. november 1971 om fastsættelse af fællesskabsanalysemetoder til officiel kontrol af foderstoffer (71/393/EØF). Bestemmelse af totalfosfor 863–65. De Europæiske Fællesskabers Tidende nr. L279/7.
2. *Baghurst, H. C. & Norman, V. J.* 1955. Effect of temperature on photometric determination of phosphorus in steel. *Anal. Chem.* 27, 1070–73.
3. *Benjaminsen, J. & Jensen, J.* 1955. En kolorimetrisk metode til bestemmelse af fosforindholdet i planter. *Tidsskr. Planteavl* 59, 96–105.
4. *Gee, A. & Deitz, V.* 1953. Determination of phosphate by differential spectrophotometry. *Anal. Chem.* 25, 1320–24.
5. *Quinlan, K. P. & De Sesa, M. A.* 1955. Spectrophotometric determination of phosphorus as molybdovanadophosphoric acid. *Anal. Chem.* 27, 1626–29.

Manuskript modtaget den 5. september 1989.