

5. Nachweismethoden

5.2 Photometrie

5.2.3 Molybdänblau: im untersten Konzentrationsbereich, in der Wasseranalytik

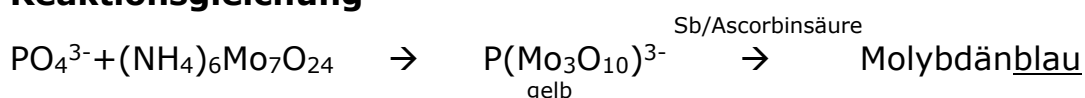
Rhena Schumann, Dana Zimmer

Prinzip

Phosphationen reagieren in saurer Lösung mit Molybdat unter Bildung gelber Phosphormolybdänsäure, die mit Ascorbinsäure zu Molybdänblau reduziert werden kann (Denigès 1921, in der Variante von Murphy & Riley 1962, als Lehrbuchteil von Hansen & Koroleff 1999). Antimonyltartrat stabilisiert den Farbstoff. Molybdänblau ist ein kolloidales Mischoxid, worin dem Molybdän Oxidationsstufen zwischen V und VII zuzuordnen sind. Molybdänblau wird photometrisch quantifiziert.

Störionen, wie Arsenat (Kapitel 5.2.1, vgl. Review: Blomqvist et al. 1993) z. B. in Kläranalgen mit Industrieabwässern, müssen eliminiert werden. Eine weitere und schwerwiegende Störung besteht durch Silikat, einem allgegenwärtigen Ion aus Sand und Glas. Sehr saure Reaktionsbedingungen behindern die Umsetzung von Silikat mit dem Molybdat (Gripenberg 1929). Diese sauren Bedingungen führen jedoch dazu, dass evtl. vorhandene säurelabile organische phosphathaltige Verbindungen, z. B. Glucose-6-Phosphat, Phosphat freisetzen, das dann als Phosphat gemessen wird. Deshalb wird das Ergebnis einer Molybdänblaureaktion unter diesen Bedingungen auch nicht als (ortho-)Phosphat, sondern als Soluble Reactive Phosphorus (SRP) bezeichnet. Das Ergebnis ist im Vergleich zum Phosphat etwas überbestimmt.

Reaktionsgleichung



Konzentrationsbereich

Der Nachteil dieser Methode gegenüber Vanadomolybdängelb und evtl. auch dem Malachitgrüntest (beide enthalten ebenfalls Molybdat in den Reagenzien) liegt in der geringeren Stabilität der verwendeten Reagenzien. Sowohl die Ascorbinsäurelösung als auch das Molybdänmischreagenz

Handbuch zur Auswahl der Aufschluss- und Bestimmungsverfahren für Gesamtphosphor in Umweltproben

haben nur eine kurze Stabilitätsphase. Die Ascorbinsäure wird leicht grünlich (nach ca. 10 d) oder verliert ihre Wirkung und das Mischreagenz ist extrem empfindlich gegenüber Verunreinigungen. Diese stammen aus dem Reinstwasser beim Ansetzen oder aus den Gefäßen, z. B. bei maschinengeschülten Behältern. Aber auch Pipettierfehler verschleppen Verfärbungen, weshalb es besser ist, nicht aus den 100-200 ml Reagenzienbehältern zu pipettieren, sondern 5-20 ml in sehr kleine Gefäße abzufüllen und daraus zu pipettieren (für ca. 20-30 Proben). Durch Licht altern die Reagenzien (werden blau-grün in 2-3 Tagen) zusätzlich, was zu falsch-positiven Ergebnissen führt.

Der lineare Bereich der Methode liegt bei einer Wellenlänge von 885 nm und einer Küvettenlänge von 5 cm zwischen $0,05 \mu\text{mol l}^{-1}$ (Bestimmungsgrenze) und $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ (ca. 0,002 und 0,31 mg P l^{-1}). Damit ist diese Methode gut geeignet für Wasserproben, aber Aufschlüsse P-reicher Materialien müssen an den Messbereich angepasst (stark oder mehrfach in Schritten verdünnt) werden.

Der Molybdänblaunachweis ist eine der empfindlichsten Methoden, wenn auch nicht ganz frei von Matrixeffekten, die zum Beispiel vom Salzgehalt des Meerwassers ausgelöst werden. Deshalb müssen Standards für Salzwasserproben in Meerwassersalinität angesetzt werden (Kapitel 5.2.2). Die Bestimmungsgrenze beträgt üblicherweise $0,05 \mu\text{mol l}^{-1}$ ($1,6 \mu\text{g l}^{-1}$), wenn man eine 5 cm lange Küvette benutzt. Es gibt noch zwei Möglichkeiten, die Bestimmungsgrenze weit in den nanomolaren Bereich zu senken: die Aufkonzentrierung des Analyten (Kapitel 5.5.1) und die Verbesserung der Detektion, z. B. durch noch viel längere Küvetten (Review: Patey et al. 2008, Kapitel 5.5.2).

Durchführung

- ▶ **Kalibriergerade:** Das Probenvolumen muss mindestens 15 ml betragen, damit eine 5 cm Küvette befüllt werden kann. 20 oder 25 ml sind ebenfalls möglich.
 - ▶ Eine weitere Miniaturisierung ist nur zulasten der Bestimmungsgrenze möglich (4 ml für eine 1 cm Makroküvette). Evtl. Verunreinigungen und Pipettierfehler haben bei noch geringerem Probenvolumen einen größeren Einfluss.
 - ▶ Gefäße können 25 oder 50 ml Erlenmeyerkolben (am besten Weithals) oder 50 ml Zentrifugenröhrchen sein (mehrfach wiederverwendbar) (Abb. 5.2.3-1).

- ▶ In der Wasseranalytik sind äquidistante Kalibriergeraden (Kapitel 6.1) mit 10 Messpunkten üblich. Das Bestimmtheitsmaß r^2 soll $> 0,995$ sein.



Abbildung 5.2.3-1 Erlenmeyerkölbchen mit verschiedenen phosphathaltigen und phosphatfreien Proben (Molybdänblau, Standard= 5 μM). Die Filter sind durch das abfiltrierte Seston teilweise sehr stark gefärbt.

▶ Proben ansetzen und messen

- ▶ Proben mit hoher Trübung (Seston, gemahlene Sedimentmaterial) müssen filtriert werden. Mit Vakuumfiltration durch GF 6 (Nennporengröße 1-2 μm) oder bei sehr kleinen Partikeln durch Celluloseacetat (Nennporengröße 0,45 μm) filtrieren. Ohne Unterdruck können gefaltete phosphatfreie Rundfilter (z. B. MN 616 G) genutzt werden (Abb. 5.2.3-2).
- ▶ Ggf. Trübung bzw. Verfärbung der Filtrate FBW bei 885 nm messen (nicht nötig in Persulfataufschlüssen),
- ▶ 25 ml der filtrierten Proben mit 0,25 ml Ascorbinsäurelösung versetzen,
- ▶ 0,5 ml Mo-Mischreagenz zugeben, 20 min warten,
- ▶ Reagenzienblindwert RBW analog zu den Proben mit 25 ml Reinstwasser herstellen und
- ▶ alle Proben bei 885 nm in einer 5 cm Küvette messen.



Abbildung 5.2.3-2 a Filtriergestell mit Filter (GF 6, 47 mm). Anschluss an Pumpe (-200 mbar Druck) links.



Abbildung 5.2.3-2 b Über Faltenfilter filtrierte Bodenproben.

Qualitätsmanagement

- ▶ Pro 10 Proben mindestens 1 Blindwert mitlaufen lassen.
- ▶ Wenn keine echten Probenwiederholungen geplant sind, 2 Messwiederholungen für jede 10. Probe ansetzen.
- ▶ Nur innerhalb des jeweils kalibrierten Bereichs messen.
- ▶ Kontrollkarten nach Kapitel 6.3-6.5 führen.

Berechnung

$$PO_4^{3-} = F \cdot (E_{\text{Probe}} - E_{\text{RBW}} - E_{\text{FBW}})$$

PO_4^{3-}	Phosphatkonzentration ($\mu\text{mol l}^{-1}$)
F	Faktor der Kalibriergeraden ¹
E	Extinktion ²
RBW	Reagenzienblindwert
FBW	Absorption des Filtrats

- ▶ RBW werden abgezogen, wenn das Signal ("Noise") aus den Reagenzien kommen kann.
- ▶ FBW werden nur abgezogen, wenn die Probe trüb ist und nicht filtriert werden kann oder wenn eine nennenswerte Eigenfärbung vorliegt.

¹ Anstieg der Kalibriergeraden, wenn die Extinktion auf der x-Achse steht und die Konzentration auf der y-Achse.

² Immer gleiche Küvettenlänge einsetzen!

Handbuch zur Auswahl der Aufschluss- und Bestimmungsverfahren für Gesamtphosphor in Umweltproben

Chemikalien

- ▶ **Reinstwasser** (RW) ist entionisiertes silikatfreies Wasser: Molybdat reagiert auch mit Silikat, was aus bestimmten Gläsern oder Ionenaustauschern in größeren Mengen stammt. Die Messung natürlicher (geringerer) Silikatkonzentrationen wird durch die Messbedingungen unterdrückt. Auf jeden Fall muss Deionat aus silikatfreien Ionenaustauschern verwendet werden, das z. B. aus dem Rostocker Kraftwerk bezogen werden kann oder mit sehr hochwertigen Reinstwasseranlagen aufbereitet werden muss, z. B. Milli-Q.
- ▶ **Molybdat-Reagenz:** 100 g Ammoniummolybdat $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot\text{H}_2\text{O}$ in 1 l Kraftwerkswasser lösen. Mehrere Monate haltbar.
- ▶ **Antimon-Reagenz:** 2,7 g Antimonyl-Kalium-Tartrat in 200 ml 50%iger Schwefelsäure lösen. Mehrere Monate haltbar.
- ▶ **Misch-Reagenz:** 12,5 ml Mo-Reagenz, 36,5 ml 50%ige Schwefelsäure und 1 ml Antimon-Reagenz mischen. Nimmt das Misch-Reagenz eine blaue Farbe an, muss es neu angesetzt werden.
- ▶ **50%ige Schwefelsäure:** Gleiche Volumina RW und konzentrierte Schwefelsäure vorsichtig und sehr langsam unter Umrühren mischen (Hitzeentwicklung! Stark ätzend! Auffangschale!).
- ▶ **Ascorbinsäure-Reagenz:** 8 g Ascorbinsäure in 100 ml RW lösen. In dunkler Flasche aufbewahrt 1 - 2 Wochen haltbar.
- ▶ **Standards**
 - ▶ KH_2PO_4 bei 60 °C trocknen und im Exsikkator abkühlen lassen.
 - ▶ 1 mM Phosphatstammlösung (molare Masse: 136,19 g mol⁻¹) ansetzen: 136,19 mg in einen 1 l Maßkolben einwiegen, in RW lösen, bis zur Eichmarke auffüllen.
 - ▶ 10 µM Phosphatarbeitslösung herstellen: 5 ml 1 mM Stammlösung in einen 500 ml Maßkolben pipettieren, bis zur Eichmarke mit RW auffüllen, gut schütteln.
 - ▶ Alternativ: kommerziellen P-Standard verwenden

Literatur

- Blomqvist S, Hjellström K, Sjösten A (1993) Interference from arsenate, fluoride and silicate when determining phosphate in water by the phosphoantimonylmolybdenum blue method. *Int J Environ Anal Chem* 54: 31-43, DOI: [10.1080/03067319308044425](https://doi.org/10.1080/03067319308044425)
- Denigès G (1921) Détermination quantitative des plus faibles quantités de phosphates dans les produits biologiques par la méthode céuléo-molybdique. *Compt Rend Soc Biol Paris* 84:875-877
- Gripenberg S (1929) Method of Denigès for the estimation of phosphate. *Det 18 Skandin Naturforsk*

- Hansen H P, Koroleff F (1999) Determination of nutrients. In Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M (Eds.) Wiley-VCH, 3rd edition: 159-251, DOI: [10.1002/9783527613984.ch10](https://doi.org/10.1002/9783527613984.ch10)
- Murphy J, Riley J P (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analyt Chim Acta* 27: 31-36, DOI: [10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
- Patey MD, Rijkenberg MJ, Statham PJ, Stinchcombe MC, Achterberg EP, Mowlem M (2008) Determination of nitrate and phosphate in seawater at nanomolar concentrations. *Trac-Trends Anal Chem* 27: 169-182, DOI: [10.1016/j.trac.2007.12.006](https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.12.006)
- Wasserbeschaffenheit – Bestimmung von Phosphor – Photometrisches Verfahren mittels Ammoniummolybdat (ISO 6878: 2004), DOI: [10.31030/9552789](https://doi.org/10.31030/9552789), zur Gruppe D Anionen DIN 38405 D11-1

For citation: Zimmer D, Schumann R (*year of download*) Kapitel 5.3 Elementaranalysatoren (Version 1.0) in Zimmer D, Baumann K, Berthold M, Schumann R: Handbuch zur Auswahl der Aufschluss- und Bestimmungsverfahren für Gesamtphosphor in Umweltproben. DOI: 10.12754/misc-2018-0001

Handbuch zur Auswahl der Aufschluss- und Bestimmungsverfahren für Gesamtphosphor in Umweltproben