

Bilag 3 Forsøgsvejledninger

Vejledning A: Phosphorindholdet i vand

Indledning

Forsøget her benytter sig af spektrofotometri til bestemmelse af phosphatindholdet i vandige opløsninger. Vejledningen er udarbejdet med inspiration fra "Kemiøvelser MH" af Pilegaard Hansen et al.

Teori

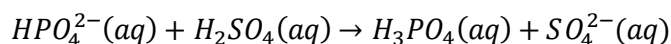
Princip.

Spildevand og gødning indeholder phosphor blandt andet i form af phosphater og polyphosphater. De vandige opløsninger vil, afhængigt af pH, indeholde forskellige former af phosphorsyre.

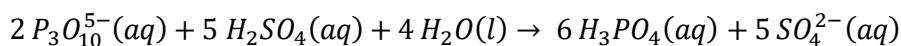
Syrestyrkeeksponenterne er $pK_s(H_3PO_4) = 2,12$, $pK_s(H_2PO_4^-) = 7,21$, $pK_s(HPO_4^{2-}) = 12,38$

Ved pH-værdier under 2 vil H_3PO_4 derfor være den dominerende form. Man behandler derfor de vandige prøveopløsninger med svovlsyre. De vandopløselige uorganiske phosphorforbindelser omdannes derved til phosphorsyre-form.

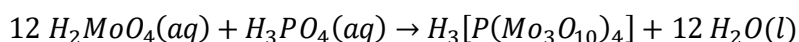
De forskellige former af phosphorsyre og polyphosphater reagerer på følgende måde med svovlsyre;



Den ovenstående reaktion er en simpel syre-basereaktion. Polyphosphat reagerer ligeledes med svovlsyre hvorved der dannes phosphorsyre. Denne reaktion kan opfattes som en hydrolyse af polyphosphat, som er en poly-ester af phosphat.

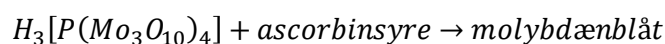


Man kan benytte, at phosphorsyre sammen med molybdænsyre danner en forbindelse, $H_3[P(Mo_3O_{10})_4]$, som kan reduceres af ascorbinsyre til det blå farvestof molybdænblåt.



Når selve prøven og standardkurven skal laves, benyttes den ufærdige phosphatreagens (molybdænsyreopløsning). Molybdænsyre reagerer herefter med phosphorsyre fra prøver eller standarder som beskrevet ovenfor

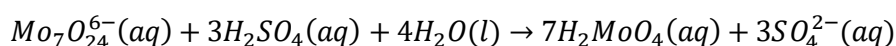
Tilsættes herefter ascorbinsyre bliver forbindelsen $H_3[P(Mo_3O_{10})_4]$ reduceret til molybdænblåt, hvis sammensætning ikke er nøjagtigt kendt. Molybdænblåt er en ikke-veldefineret forbindelse af molybdæn i flere forskellige oxidationstrin.



Der laves standardopløsninger hvor opløsninger med kendte koncentrationer af phosphorsyre omdannes til molybdænblåt. Herefter laves en standardkurve hvor absorbansen ved ca. 880 nm bestemmes. Har man ikke et spektrofotometer, der kan måle ved så høje bølgelængder, kan man vælge 690 nm eller 860 nm.

Fremstilling af phosphatreagens.

I svovlsur opløsning vil molybdat, $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$ fra ammoniummolybdat, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ omdannes til molybdænsyre efter reaktionskemaet:



Denne sidste reaktion katalyseres af kaliumantimon(3+)oxidatrat, $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

Opløsningen er molybdænsyre er det ufærdige phosphatreagens, der kan laves i god tid i forvejen og opbevares køligt.

Materialer

OBS. For at undgå forurening fra phosphatholdige opvaske- og afspændingsmidler, skal alt glasudstyr skylles med 2 M HCl og derefter med demineraliseret vand før det benyttes.

Målekolbe 500 ml to stk. til hhv. phosphatstamopløsning og ufærdigt phosphatreagens.

Målekolber 50 ml, 5 stk. til standard og én til hver prøveopløsning (Spildevand eller andre vandprøver)

Bægerglas eller reagensglas, der kan indeholde 30 ml, 5 stk. til standard og én til hver prøveopløsning

100 ml bægerglas til Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H₂O opløsning

100 ml måleglas eller 100 ml målekolbe

100 ml bægerglas

Fuldpipetter 25,0 ml og 10,0 ml

Pipettebold

Mikropipette 0,5 mL-5,0 mL eller tilsvarende med tilhørende engangsspidser. Skal kunne afmåle fra 0,5 ml til 2,5 ml.

Spektrofotometer, kuvetter, dataopsamlingsprogram - f.eks. LoggerPro

Spatler til omrøring

Kemikalier

Fast, vandfrit KH_2PO_4 til standarder

Ammoniummolybdat, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ til phosphatreagens

Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H₂O (katalysator til phosphatreagens)

Koncentreret svovlsyre

Ascorbinsyre

Udførelse

Trin 1-2 kan laves nogle dage før de spektrofotometriske målinger.

Fremstilling af phosphatreagens.

1. Stamopløsning til brug for fremstilling af standard-opløsninger laves ved at afveje 0,439 g vandfrit KH_2PO_4 som overføres til en 500 mL målekolbe. Denne opløsning kan opbevares i længere tid - gerne køligt.
2. Ufærdigt phosphatreagens fremstilles ved
 - a. at afveje 6,5 g ammoniummolybdat $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, der overføres til en 500 ml målekolbe, opløs i ca. 300 ml demineraliseret vand og tilsæt herefter 60 ml konc. svovlsyre. Afkøl.
 - b. At afveje 0,18 g Kaliumantimon(3+)oxidatrat $\cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$ i et bægerglas og opløs i ca. 50 ml demineraliseret vand, overfør herefter til kolbe med ammoniummolybdat og fyld op til strengen.
 - c. Stil køligt, gerne i brun flaske.

Umiddelbart inden forsøget udføres kan standardopløsningerne samt det færdige phosphatreagens fremstilles.

3. Standardopløsningerne laves umiddelbart før brug ved at udtage hhv. 0,50 mL, 1,00 mL, 1,50 ml, 2,00 ml og 2,5 ml af stamopløsningen. Overføres til 50 ml målekolber og fyld op med demineraliseret vand.
4. Færdigt phosphatreagens fremstilles ved at afmåle 100 ml ufærdig phosphatreagens i måleglas eller kolbe og tilsætte 1 g ascorbinsyre rør/omryst grundigt til al ascorbinsyren er opløst.

Opløsninger til brug i spektrofotometer fremstilles.

5. Blindprøve (reference): overfør med fuld pipette 25,0 ml demineraliseret vand til et bægerglas og tilsæt 2,5 ml (mikropipette) færdigt phosphat-reagens. Omrør.
6. Standardprøver: overfør med fuld pipette 25,0 ml demineraliseret vand til et bægerglas og tilsæt 2,5 ml (mikropipette) færdigt phosphat-reagens. Omrør og lad stå ca. 20 minutter før der måles.
7. Vandprøver fra åer, søer behandles som standardprøverne
8. Spildevand fortyndes 5-10 gange og behandles herefter som standardprøverne

Målinger.

9. Spektrofotometret kalibreres med blindprøven og bølgelængden lægges fast på 880 nm eller 690 nm.
10. Må nu på alle standardopløsningerne ved den valgte bølgelængde. Start med opløsningen med den laveste koncentration og skyl kuvetten med den opløsning, som der skal måles på.
11. Når standardkurven er lavet, måles absorbansen af prøverne ved den valgte bølgelængde. Hvis absorbansen ligger over den højeste absorbans for standardprøverne, laves en fortynding af prøverne, som herefter behandles som standardprøverne.

Arbejdsspørgsmål og databehandling.

A. Forberedelse til forsøg.

1. Beregning af koncentrationerne i standardprøver.

- a. Der opløses 0,439 g KH_2PO_4 i 500 ml vand til stamopløsningen. Beregn koncentrationen af fosfat i mg/L
- b. Standardopløsningerne fremstilles på følgende måde: 0,50 mL, 1,00 mL, 1,50 mL, 2,00 mL og 2,5 mL af stamopløsningen af-pipetteres og fortyndes til 50 mL. Beregn koncentrationerne af standardopløsningerne og indsæt i nedenstående skema (den sidste kolonne er til indsættelse af den målte absorbans).

Standard nr.	V(Stamopløsning)/ml	c(Phosphat)	A
1	0,5		
2	1,0		
3	1,5		
4	2,0		
5	2,5		

B. Databehandling

1. Lav en standardkurve, hvor absorbansen, A, afbilledes som en funktion af koncentrationen fosfat (i mg/L)
2. Phosphorindhold i de faste gødninger
 - a. Find, ud fra absorbanserne af de fortyndede opløsninger koncentrationen af fosfat i spildevandet og de øvrige vandprøver.
 - b. Beregn derefter massen af fosfat i prøven. Husk at tage højde for fortynding.
 - c. Beregn massen af phosphor (mg/L) i den ufortyndede prøve.
 - d. Antag at al phosphor kan udvindes af spildevandet - hvor stor en mængde struvit (g/L) kan der i givet fald fremstilles? Struvit har den kemiske formel NH_4MgPO_4 .

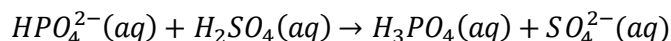
Vejledning B: Phosphorindholdet i jordprøver

Teori

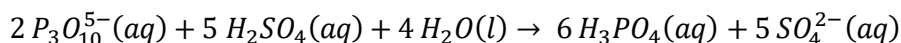
Princip.

Jord indeholder phosphor blandt andet i form af phosphater og polyphosphater. Når der arbejdes med jordprøver, bestemmes ofte phosphortallet eller phosphorsyretallet. Phosphortallet er et mål for de plantetilgængelige opløselige fosfat og polyfosfatforbindelser ved pH omkring 8, mens phosphorsyretallet er et mål for den mængde fosfat, der kan opløses i en ca. 1 M svovlsyreopløsning. Den sidste tal vil typisk være det største. I dette forsøg bestemmes phosphortallet. Dette gøres ved at ekstrahere opløste phosphor-forbindelser i jordprøverne med en 0,5 M natriumhydrogencarbonatopløsning (pH= 8-9).

Herefter bringes de opløste phosphater og polyphosphater på phosphorsyreform. I første trin bringes de forskellige former af phosphorsyre og polyphosphater på phosphorsyreform ved reaktion med svovlsyre, f.eks. ved følgende reaktioner:



Den ovenstående reaktion er en simpel syre-basereaktion.



Den sidste reaktion kan opfattes som en hydrolyse af en polyfosfat, der er en poly-ester af fosfat.

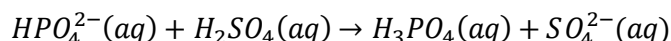
De vandige opløsninger vil, afhængigt af pH, indeholde forskellige former af phosphorsyre.

Syresterkeeksponenterne er $pK_s(H_3PO_4) = 2,12$, $pK_s(H_2PO_4^-) = 7,21$, $pK_s(HPO_4^{2-}) = 12,38$

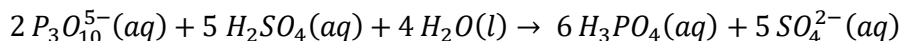
Ved pH-værdier under 2 vil H_3PO_4 derfor være den dominerende form.

De vandopløselige uorganiske phosphorforbindelser omdannes derved til phosphorsyre-form.

De forskellige former af phosphorsyre og polyphosphater reagerer på følgende måde med svovlsyre;



Den ovenstående reaktion er en simpel syre-basereaktion. Polyfosfat reagerer ligeledes med svovlsyre hvorved der dannes phosphorsyre. Denne reaktion kan opfattes som en hydrolyse af polyfosfat, som er en poly-ester af fosfat.



Man kan benytte, at phosphorsyre sammen med molybdænsyre danner en forbindelse, som kan reduceres af ascorbinsyre til det blå farvestof molybdænblåt. Molybdænblåt er en ikke-veldefineret forbindelse af molybdæn i flere forskellige oxidationstrin.

Der laves standardopløsninger hvor opløsninger med kendte koncentrationer af phosphorsyre omdannes til molybdænblåt. Herefter laves en standardkurve hvor absorbansen ved ca. 880 nm bestemmes. Har man ikke et spektrofotometer, der kan måle ved så høje bølgelængder, kan man vælge 690 nm eller 860 nm.

Materialer

OBS. For at undgå forurening fra phosphatholdige opvaske- og afspændingsmidler, skal alt glasudstyr skylles med 2 M HCl og derefter med demineraliseret vand før det benyttes.

Målekolbe 1000 ml til fremstilling af ekstraktionsvæske

Konisk kolbe 250 ml til ekstraktion af jordprøver

Phosphatfrit filterpapir (15 cm)

Tragt

Målekolbe 500 ml to stk. til hhv. phosphatstamopløsning og ufærdigt phosphatreagens.

Målekolber 50 ml, 5 stk. til standard og én til her prøveopløsning (ekstrakt af jord)

Bægerglas eller reagensglas, der kan indeholde 30 ml, 5 stk. til standard og én til hver prøveopløsning

100 ml bægerglas til Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H₂O opløsning

100 ml måleglas eller 100 ml målekolbe

100 ml bægerglas

Fuldpipette 25,0 ml, 10,0 ml

Pipettebold

Mikropipette 0,5 mL-5,0 mL eller tilsvarende med tilhørende engangsspidser. Skal kunne afmåle fra 0,5 ml til 2,5 ml.

Spektrofotometer, kuvetter, dataopsamlingsprogram - f.eks. LoggerPro

Spatler til omrøring

Kemikalier

Fast, vandfrit KH₂PO₄ til standarder

Fast NaHCO₃ til ekstraktion af phosphat i jordprøver.

1M NaOH til justering af pH i ekstraktionsvæske

Ammoniummolybdat, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O til phosphatreagens

Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H₂O (katalysator til phosphatreagens)

Koncentreret svovlsyre

Ascorbinsyre

Udførelse

Trin 1-3 kan laves nogle dage før de spektrofotometriske målinger.

12. Stamopløsning til brug for fremstilling af standard-opløsninger laves ved at afveje 0,439 g vandfrit KH_2PO_4 som overføres til en 500 mL målekolbe. Denne opløsning kan opbevares i længere tid - gerne køligt.
13. Ufærdigt fosphatreagens fremstilles ved
 - a. at afveje 6,5 g ammoniumlybdat, der overføres til en 500 ml målekolbe, opløs i ca. 300 ml demineraliseret vand og tilsæt herefter 60 ml konc. svovlsyre. Afkøl.
 - b. At afveje 0,18 g Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H₂O i et bægerglas og opløs i ca. 50 ml demineraliseret vand, overfør herefter til kolbe med ammoniummolybdat og fyld op til strengen.
 - c. Stil køligt, gerne i brun flaske.

Umiddelbart inden forsøget udføres kan standardopløsningerne samt det færdige fosphatreagens fremstilles.

14. Forberedelse af jordprøver.
 - a. Ekstraktionsopløsning fremstilles ved at opløse 42g NaHCO_3 i ca. 500 ml, der overføres til en 1000 ml målekolbe. Tilsæt 5 ml NaOH og fyld op til strengen. pH skal ligge mellem 8 og 9.
 - b. En jordprøve tørres enten i en ovn 12-24 timer ved 50 °C eller blot ved at lade den på lunt - f.eks. over en radiator i ca. 24 timer.
 - c. 5 g tørret jord overføres til en 250 ml konisk kolbe og der tilsættes 100 ml ekstraktionsopløsning. Denne opslemning står under omrøring eller på rystebad i 30 min.
 - d. Filtrer gennem phosphorfrit filter og udtag derefter 15 ml filtrat til en 100 ml målekolbe, tilsæt 15 ml 2 M svovlsyre og fyld op til strengen. Herefter behandles prøven som standardprøverne.
15. Standardopløsningerne laves umiddelbart før brug ved at udtage hhv. 0,50 mL, 1,00 mL, 1,50 ml, 2,00 ml og 2,5 ml af stamopløsningen. Overføres til 50 ml målekolber og fyld op med demineraliseret vand.
16. Færdigt fosphatreagens fremstilles ved at afmåle 100 ml ufærdig fosphatreagens i måleglas eller kolbe og tilsætte 1 g ascorbinsyre rør/omryst grundigt til al ascorbinsyren er opløst.

Opløsninger til brug i spektrofotometer fremstilles.

17. Blindprøve (reference): overfør med fuld pipette 25,0 ml demineraliseret vand til et bægerglas og tilsæt 2,5 ml (mikropipette) færdigt fosphat-reagens. Omrør.
18. Standardprøver: overfør med fuld pipette 25,0 ml demineraliseret vand til et bægerglas og tilsæt 2,5 ml (mikropipette) færdigt fosphat-reagens. Omrør og lad stå ca. 20 minutter før der måles.
19. Spildevand fortyndes 5-10 gange og behandles herefter som standardprøverne

Målinger.

20. Spektrofotometret kalibreres med blindprøven og bølglængden lægges fast på 880 nm eller 690 nm.

21. Må nu på alle standardopløsningerne ved den valgte bølgelængde. Start med opløsningen med den laveste koncentration og skyl kuvetten med den opløsning, som der skal måles på.
22. Når standardkurven er lavet, måles absorbansen af prøverne ved den valgte bølgelængde.

Arbejdsspørgsmål og databehandling.

C. Forberedelse til forsøg.

2. Beregning af koncentrationerne i standardprøver.
 - a. Der opløses 0,439 g KH_2PO_4 i 500 ml vand til stamopløsningen. Beregn koncentrationen af fosfat i mg/L
 - b. Standardopløsningerne fremstilles på følgende måde: 0,50 mL, 1,00 mL, 1,50 ml, 2,00 ml og 2,5 ml af stamopløsningen af-pipetteres og fortyndes til 50 ml. Beregn koncentrationerne af standardopløsningerne og indsæt i nedenstående skema (den sidste kolonne er til indsættelse af den målte absorbans.

Standard nr.	V(Stamopløsning)/ml	c(Phospat)	A
1	0,5		
2	1,0		
3	1,5		
4	2,0		
5	2,5		

D. Databehandling

3. Lav en standardkurve, hvor absorbansen, A, afbilledes som en funktion af koncentrationen fosfat (i mg/L)
4. Phosphorindhold i de faste gødninger
 - a. Find, ud fra absorbanserne af ekstraktet af jordprøverne, koncentrationen af fosfat.
 - b. Beregn derefter massen af fosfat pr. gram jord
 - c. Beregn massen af phosphor og derefter masse-procenten af phosphor i jordprøven.
 - d.

Vejledning C: Phosphorindholdet i faste gødningsformer

Indledning

Denne vejledning beskriver en metode til at bestemme fosfatindholdet i faste gødningsformer. Metoden er afprøvet med struvit, ammoniummagnesiumphosphat, i form af handelsproduktet PhosphorCare, som Stjernholm A/S fremstiller ud fra spildevand. Metoden kan også anvendes til f.eks. NPK-gødninger

Forsøget benytter sig af spektrofotometri til bestemmelse af phosphatindholdet i vandige opløsninger. Vejledningen er udarbejdet med inspiration fra "Kemiøvelser MH" af Pilegaard Hansen et al.

Teori

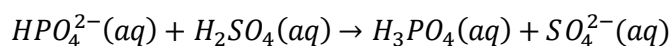
Princip.

Gødning indeholder phosphor blandt andet i form af phosphater og evt. polyphosphater. Der fremstilles vandige opløsninger af kunstgødninger som, afhængigt af pH, indeholde forskellige former af phosphorsyre.

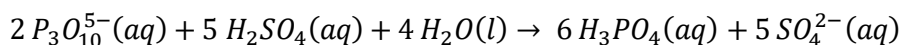
Syrestyrkeeksponenterne er $pK_s(H_3PO_4) = 2,12$, $pK_s(H_2PO_4^-) = 7,21$, $pK_s(HPO_4^{2-}) = 12,38$

Ved pH-værdier under 2 vil H_3PO_4 derfor være den dominerende form. Man behandler derfor de vandige prøveopløsninger med svovlsyre. De vandopløselige uorganiske phosphorforbindelser omdannes derved til phosphorsyre-form.

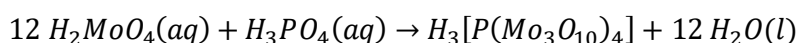
De forskellige former af phosphorsyre og polyphosphater reagerer på følgende måde med svovlsyre;



Den ovenstående reaktion er en simpel syre-basereaktion. Polyphosphat reagerer ligeledes med svovlsyre hvorved der dannes phosphorsyre. Denne reaktion kan opfattes som en hydrolyse af polyphosphat, som er en poly-ester af phosphat.

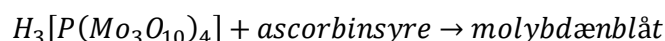


Man kan benytte, at phosphorsyre sammen med molybdænsyre danner en forbindelse, $H_3[P(Mo_3O_{10})_4]$, som kan reduceres af ascorbinsyre til det blå farvestof molybdænblåt.



Når selve prøven og standardkurven skal laves, benyttes den ufærdige phosphatreagens (molybdænsyreopløsning). Molybdænsyre reagerer herefter med phosphorsyre fra prøver eller standarder som beskrevet ovenfor.

Tilsættes herefter ascorbinsyre bliver forbindelsen $H_3[P(Mo_3O_{10})_4]$ reduceret til molybdænblåt, hvis sammensætning ikke er nøjagtigt kendt. Molybdænblåt er en ikke-veldefineret forbindelse af molybdæn i flere forskellige oxidationstrin.



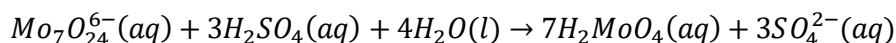
Der laves standardopløsninger hvor opløsninger med kendte koncentrationer af phosphorsyre om dannes til molybdænblåt. Herefter laves en standardkurve hvor absorbansen ved ca. 880 nm bestemmes. Har man ikke et spektrofotometer, der kan måle ved så høje bølgelængder, kan man vælge 690 nm eller 860 nm.

Prøvebehandling

Struvit, som er ammoniummagnesiumphosphat, NH_4MgPO_4 , er tungt opløseligt ved de fleste pH-værdier (se f.eks. artiklen "genindvinding af fosfat fra spildevand". For at bestemme phosphorindholdet i struvit skal det bringes i opløsning ved en lav pH-værdi, hvor fosfat er på phosphorsyreform. NPK-gødninger indeholder mono- eller diammoniumphosphat og kaliumion, og er ret letopløseligt i vand.

Fremstilling af phosphatreagens.

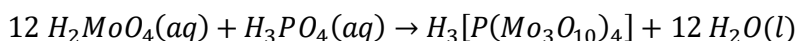
I svovlsur opløsning vil molybdat, $\text{Mo}_7\text{O}_{24}^{6-}$ omdannes til molybdænsyre efter reaktionskemaet:



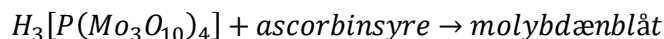
Denne sidste reaktion katalyseres af kaliumantimon(3+)oxidatrat, $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$

Opløsningen er molybdænsyre er det ufærdige phosphatreagens, der kan laves i god tid i forvejen og opbevares køligt.

Når selve prøven og standardkurven skal laves, benyttes den ufærdige phosphatreagens (molybdænsyreopløsning). Molybdænsyre reagerer herefter med phosphorsyre fra prøver eller standarder:



Tilsættes herefter ascorbinsyre bliver forbindelsen $\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$ reduceret til molybdænbåt, hvis sammensætning ikke er nøjagtigt kendt.



Materialer

OBS. For at undgå forurening fra phosphatholdige opvaske- og afspændingsmidler, skal alt glasudstyr skylles med 2 M HCl og derefter med demineraliseret vand før det benyttes.

Målekolbe 500 ml to stk. til hhv. phosphatstamopløsning og ufærdigt phosphatreagens.

Målekolber 50 ml, 5 stk. til standard og én til her prøveopløsning (Spildevand, gødning eller andet)

Bægerglas eller reagensglas, der kan indeholde 30 ml, 5 stk. til standard og én til hver prøveopløsning

100 ml bægerglas til Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H₂O opløsning

100 ml måleglas eller 100 ml målekolbe

100 ml bægerglas

Fuldpipette 25,0 ml

Pipettebold

Mikropipette 0,5 mL-5,0 mL eller tilsvarende med tilhørende engangsspidser. Skal kunne afmåle fra 0,5 ml til 2,5 ml.

Spektrofotometer, kuvetter, dataopsamlingsprogram - f.eks. LoggerPro

Spatler til omrøring

Kemikalier

Fast, vandfrit KH_2PO_4 til standarder

Ammoniummolybdat, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ til phosphatreagens

Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H_2O (katalysator til phosphatreagens)

Koncentreret svovlsyre

Ascorbinsyre

Udførelse

Trin 1-3 kan laves nogle dage før de spektrofotometriske målinger.

23. Stamopløsning til brug for fremstilling af standard-opløsninger laves ved at afveje 0,439 g vandfrit KH_2PO_4 som overføres til en 500 mL målekolbe. Denne opløsning kan opbevares i længere tid - gerne køligt.
24. Ufærdigt phosphatreagens fremstilles ved
 - a. at afveje 6,5 g ammoniumlybdat, der overføres til en 500 ml målekolbe, opløs i ca. 300 ml demineraliseret vand og tilsæt herefter 60 ml konc. svovlsyre. Afkøl.
 - b. At afveje 0,18 g Kaliumantimon(3+)oxidatrat·1/2 H_2O i et bægerglas og opløs i ca. 50 ml demineraliseret vand, overfør herefter til kolbe med ammoniummolybdat og fyld op til strengen.
 - c. Stil køligt, gerne i brun flaske.

Umiddelbart inden forsøget udføres kan standardopløsningerne samt det færdige phosphatreagens fremstilles.

25. Forberedelse af gødningsprøver
 - a. Struvit-opløsning fremstilles ved at afveje 0,200g som overføres til en 1000 ml målekolbe. Tilsæt ca. 500 ml demineraliseret vand og herefter ca. 100 mL konc. svovlsyre. Lad afkøle og fyld op til strengen. Hvis ikke alt er opløst kan det stå under omrøring nogle timer. Denne opløsning skal fortyndes yderligere 20-25 gange før den behandles som standardprøverne.
 - b. Andre faste gødninger (NPK eller andet) bringes i opløsning. Der afvejes så meget, at det svarer til ca. 0,03 g P/L. Opløsningen fortyndes 20-25 gange før den behandles som standardprøverne
26. Standardopløsningerne laves umiddelbart før brug ved at udtage hhv. 0,50 mL, 1,00 mL, 1,50 ml, 2,00 ml og 2,5 ml af stamopløsningen. Overføres til 50 ml målekolber og fyld op med demineraliseret vand.

27. Færdigt phosphatreagens fremstilles ved at afmåle 100 ml ufærdig phosphatreagens i måleglas eller kolbe og tilsætte 1 g ascorbinsyre rør/omryst grundigt til al ascorbinsyren er opløst.

Opløsninger til brug i spektrofotometer fremstilles.

28. Blindprøve (reference): overfør med fuldpipette 25,0 ml demineraliseret vand til et bægerglas og tilsæt 2,5 ml (mikropipette) færdigt phosphat-reagens. Omrør.
29. Standardprøver: overfør med fuldpipette 25,0 ml demineraliseret vand til et bægerglas og tilsæt 2,5 ml (mikropipette) færdigt phosphat-reagens. Omrør og lad stå ca. 20 minutter før der måles.
30. Struvit- eller NPK-opløsningerne fortyndes 20-25 gange. Dette kan f.eks. gøres ved at overføre 10,0 ml (brug fuldpipette) til 250 ml målekolde og fylde op til strengen med demineraliseret vand.
31. Overfør med fuldpipette 25,0 ml demineraliseret vand til et bægerglas og tilsæt 2,5 ml (mikropipette) færdigt fortyndet struvit- eller NPK-opløsning. Omrør og lad stå ca. 20 minutter før der måles.

Målinger.

32. Spektrofotometret kalibreres med blindprøven og bølglængden lægges fast på 880 nm eller 690 nm.
33. Må nu på alle standardopløsningerne ved den valgte bølglængde. Start med opløsningen med den laveste koncentration og skyl kuvetten med den opløsning, som der skal måles på.
34. Når standardkurven er lavet, måles absorbansen af prøverne ved den valgte bølglængde.

Arbejdsspørgsmål og databehandling.

E. Forberedelse til forsøg.

3. Beregning af koncentrationerne i standardprøver.
 - a. Der opløses 0,439 g KH_2PO_4 i 500 ml vand til stamopløsningen. Beregn koncentrationen af fosfat i mg/L
 - b. Standardopløsningerne fremstilles på følgende måde: 0,50 mL, 1,00 mL, 1,50 ml, 2,00 ml og 2,5 ml af stamopløsningen af-pipetteres og fortyndes til 50 ml. Beregn koncentrationerne af standardopløsningerne og indsæt i nedenstående skema (den sidste kolonne er til indsættelse af den målte absorbans).

Standard nr.	V(Stamopløsning)/ml	c(Phospat)	A
1	0,5		
2	1,0		
3	1,5		
4	2,0		
5	2,5		

4. Beregning af koncentration af fosfat i struvit. PhosphoCare (struvit) indeholder ifølge deklARATIONEN 12,6% phosphor. Der fremstilles en opløsning af 0,200 g struvit pr. L. Vis, at dette svarer til en formel koncentration af fosfat på 77,5 mg/L.

F. Databehandling

5. Lav en standardkurve, hvor absorbansen, A, afbilledes som en funktion af koncentrationen fosfat i mg/L.
6. Phosphorindhold i de faste gødninger
 - a. Find, ud fra absorbanserne af de fortyndede opløsninger af de faste gødninger, koncentrationen af fosfat.
 - b. Beregn derefter massen af fosfat i prøven (0,200 g struvit eller anden fast gødning). Husk at tage højde for fortynding.
 - c. Beregn massen af phosphor og derefter masse-procenten af phosphor i den faste gødning. Sammenlign med deklARATIONEN.

G. Perspektiverende spørgsmål og overvejelser

1. Hvor stor en mængde af fast gødning anbefales pr. areal - se deklARATION?
2. Antag at en mark på 1 ha skal tilføres denne mængde gødning, hvor meget phosphor skal da bruges? Hvor stor en del af den årlige import af phosphor udgør dette?
3. Hvis man forstiller sig, at al phosphor fra spildevandet kunne genindvindes, hvor mange hektar landbrugsjord vil man så kunne gøde fra spildevand alene?