

SPECTROFOTOMETRISCHE BEPALING VAN FOSFOR ONDER DE VORM VAN ORTHOFOSFAAT MET EEN DOORSTROOMANALYSESISTEEM

1 DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode beschrijft de bepaling van fosfor onder de vorm van orthofosfaat in watermonsters met een doorstroomanalysestelsel. Ze is toepasbaar op alle types watermonsters, uitlogingen van vaste monsters en destillaten van vaste of watermonsters. Het werkgebied gaat van 0.01 tot 0.5 mg P/l. Dit gebied kan naar boven worden uitgebreid door verdunnen.

Naargelang de monstervoorbereiding kunnen 1 of meerdere fosforcomponenten simultaan bepaald worden. De gebruikte eenheid is dan $\mu\text{g P/l}$ of mg P/l . Indien enkel orthofosfaat wordt bepaald, wordt het resultaat doorgaans uitgedrukt in $\text{mg PO}_4/\text{l}$. In deze procedure worden concentraties uitgedrukt in mg P/l .

2 PRINCIPE

De bepaling is gebaseerd op de reactie van orthofosfaat met ammoniummolybdaat en kaliumantimoontriat in zuur milieu tot fosfor-molybdeenzuur. Reductie met ascorbinezuur geeft aanleiding tot de vorming van een blauwe kleur waarvan de intensiteit gemeten wordt bij 880 nm.

Het monster wordt aangezuurd en ondergaat een dialyse. Hierbij worden alle onoplosbare bestanddelen samen met storende componenten afgezonderd. Dan worden de ammoniummolybdaatoplossing gevolgd door de ascorbinezuuroplossing toegevoegd. Het mengsel wordt verwarmd bij 40°C. Vervolgens vindt de spectrofotometrische bepaling plaats bij 880 nm. De intensiteit wordt opgenomen in functie van de tijd.

Bij een doorstroomstelsel worden de benodigde reagentia continu aan de vloeistofstroom toegevoegd zodat een continu achtergrondsignaal ontstaat. Bij een segment-doorstroomstelsel (SFA) wordt de vloeistofstroom op regelmatige tijdstippen onderbroken door een luchtbel zodat gescheiden segmenten ontstaan die alle even groot zijn.

3 STORINGEN

- Indien in de opstelling een dialysemembraan is opgenomen worden de meeste storende componenten tegengehouden. Toch kunnen gekleurde componenten in het monster, die niet tegengehouden worden bij de dialyse, storen in de fotometer.

Indien in de opstelling geen dialyse is voorzien, moeten de monsters voor analyse gefiltreerd worden.

- Arseen stoort reeds bij lage concentraties en geeft aanleiding tot overschatting. Nitriet en Cr(VI) geven aanleiding tot een onderschatting. Sulfide en silicium zijn mogelijke interferenten maar enkel indien aanwezig in hoge concentraties. De invloed van Si werd gecontroleerd en kan in sommige gevallen niet verwaarloosd worden. De grootte van deze interferentie werd experimenteel vastgesteld en bedraagt ongeveer 0.1% van de siliciumconcentratie (mg/l).

4 MONSTERBEWARING

De bewaringstermijnen zijn afhankelijk van de fosforcomponenten die bepaald moeten worden. Fosforcomponenten kunnen tijdens de bewaring omgezet worden. Enkel indien totale fosfor bepaald dient te worden kunnen de monsters gedurende langere tijd bewaard blijven voor analyse.

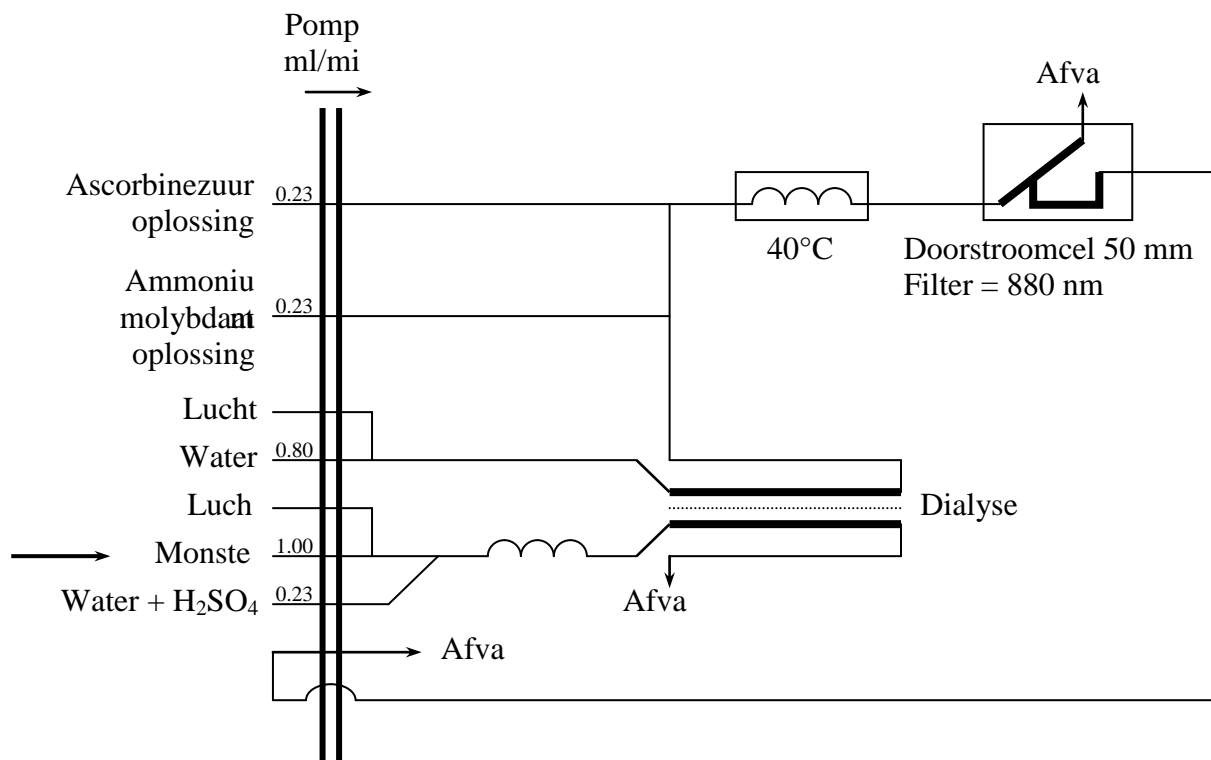
Voor orthofosfaat moet zo snel mogelijk geanalyseerd worden. Bij voorkeur wordt het monster na filtratie ingevroren indien niet binnen 48h na monsternamen geanalyseerd kan worden.

Voor totale fosfor mag tot 28 dagen bewaard worden bij 4°C na toevoeging van 1 ml HCl/l. Het bewaren van monsters met lage fosforconcentraties is problematisch aangezien fosfor geadsorbeerd wordt aan de wanden van het recipiënt. Invriezen is dan de beste oplossing.

5 APPARATUUR EN MATERIAAL

Een SAN^{plus} doorstroomanalyzesysteem van SKALAR met een module voor de bepaling van orthofosfaat (zie Figuur 1)

- een autosampler
- fotometer
- computer met sturings- en verwerkingssoftware



Figuur 1: Schematisch overzicht van het doorstroomanalyzesysteem voor de bepaling van PO₄ in water

6 REAGENTIA EN STANDAARDEN

Alle oplossingen worden bereid met MilliQ water.

- Zwavelzuuroplossing: voor de onderstroom van de dialyse

Producten: Zwavelzuur H_2SO_4 (97%)

FFD6

Voeg voorzichtig en constant roeren 40 ml H_2SO_4 toe aan \pm 900 ml. Leng aan tot 1 l en voeg 2 ml FFD6 toe.

- Water + FFD6: voor de bovenstroom van de dialyse

Voeg aan 1 l water 2 ml FFD6 toe

- Ammonium molybdaatoplossing

Producten: Ammoniummolybdaat $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$

Zwavelzuur (H_2SO_4 97%)

FFD6

Voeg voorzichtig 40 ml zwavelzuur toe aan 800 ml water. Los hierin 4.8 g ammoniummolybdaat op. Leng aan tot 1 l en voeg 2 ml FFD6 toe.

Opmerking: Gebruik geen metalen spatel voor ammoniummolybdaat

- Stockoplossing kaliumantimoontartraat

Producten: Kaliumantimoontartraat $K(SbO)C_4H_4O_6 \cdot 0.5H_2O$

Los 300 mg kaliumantimoontartraat op in 100 ml water.

Opmerking: deze oplossing is 1 maand houdbaar bij 4°C

- Ascorbinezuuroplossing

Producten: Ascorbinezuur $C_6H_8O_6$

Stockoplossing kaliumantimoontartraat

Los 18 g ascorbinezuur op in 800 ml water. Voeg 20 ml stockoplossing kaliumantimoontartraat toe. Leng aan tot 1 l.

Opmerking: Deze oplossing is 1 week houdbaar bij 4°C.

- Stockoplossing 1 g P/l

Producten: Kaliumfosfaat KH_2PO_4

Droog kaliumfosfaat in de droogstoof bij 105°C tot constant gewicht. Weeg 0.4394 g af en los op in 100 ml water. Koel bewaard kan deze stockoplossing meerdere maanden gebruikt worden.

- Stockoplossing 10 mg P/l

Verdun 1 ml stockoplossing 1 g P/l naar 100 ml. Deze standaard is koel bewaard gedurende langere tijd houdbaar (meerdere weken).

- Werkstandaarden

Het normale ijkgebied gaat van 0.1 tot 0.5 mg P/l. Voor lagere concentraties kunnen extra standaarden gemaakt worden van 0.02 tot 0.1 mg P/l. Bereid de standaarden op analoge wijze als aangegeven in de tabel. Dagelijks vers aan te maken.

Standaard (mg P/l)	Volume (ml) 10 mg P/l aan te lengen tot 100 ml
0.02	0.2
0.04	0.4
0.06	0.6
0.08	0.8
0.1	1
0.2	2
0.3	3
0.4	4
0.5	5

- **Fosfaat controlestandaard:** uitgaande van een onafhankelijke commerciële standaardoplossing (fosfaat standaardoplossing 1001 mg PO₄/l, Merck) wordt er door verdunnen een controlestandaard aangemaakt in het werkgebied. Verdun achtereenvolgens met een factor 50 en 20. De bekomen oplossing heeft een concentratie van 0.326 mg P/l. Bereid dagelijks vers uitgaande van de stockoplossing.

Opmerkingen

- Glaswerk dat gebruikt wordt voor de bereiding van de reagentia of standaardoplossingen moeten vooraf gereinigd worden met warm verdund HCl. Bij voorkeur worden zij niet in een afwasautomaat gereinigd met fosforhoudende detergenten.
- De ruime houdbaarheidstermijnen voor de standaardstockoplossingen zijn alleen gerechtvaardigd wanneer er kalibratie-controle uitgevoerd wordt.

7 ANALYSEPROCEDURE

7.1 Voorbehandeling van de monsters

- Voor analyse of verdunning wordt het monster goed gehomogeniseerd.
- Verdun de monsters zodat ze in het werkgebied vallen indien de concentratie bij benadering gekend is. Indien de concentratie te hoog is en het toestel over een verdunner beschikt, worden de monsters automatisch verder verdund en opnieuw gemeten.

7.2 Opstarten van het toestel

- Het opstarten gebeurt volgens voorschrift van de fabrikant.
- Laat het systeem spoelen met reagentia tot de basislijn stabiel is. Indien de basislijn gedurende lange tijd blijft dalen of stijgen, kan best gereinigd worden (zie 7.5).
- Pas de hoogte van de basislijn aan zodat de achtergrond intensiteit onder 5% van de maximale intensiteit blijft.
- Controleer het systeem op onregelmatigheden in de doorstroming. De vloeistofstroom moet met een constante snelheid lopen en de afstand tussen de luchtballen moet vrij constant zijn. Indien hieraan niet voldaan is, kan best gereinigd worden.

7.3 Starten van de meting

- Als de basislijn stabiel is, kan met de meting gestart worden. De basislijn kan als stabiel worden beschouwd als er geen stijgende of dalende trend en geen onregelmatigheden merkbaar zijn.
- De eerste oplossing die gemeten wordt is de zogenaamde tracer. Hiervoor wordt doorgaans de hoogste standaard genomen. Indien nodig wordt de gain van de recorder ingesteld zodat de piekhoogte van de tracer ongeveer 90% van het maximum bedraagt. Dit geeft nog voldoende speling voor signaaldrift.
- Op regelmatige tijdstippen wordt er een drift gemeten. Dit is een standaardoplossing die het mogelijk maakt om te corrigeren voor signaaldrift. Samen met de drift wordt er een wash gemeten. Die wordt gebruikt voor basislijndrift. Het programma geeft de mogelijkheid om automatisch een drift en wash te meten na een bepaald aantal monsters (doorgaans 10). Als drift wordt een standaard genomen met vrij hoge concentratie (meestal de 4e). De wash is zuiver water.
- Indien mogelijk wordt de driftcorrectie opgevolgd in functie van de tijd. Zij wordt bij voorkeur niet groter dan 10%.
- Eerst worden de standaarden en de controlemonsters gemeten, dan de monsters. Er kan meerdere uren gemeten worden met dezelfde kalibratie op voorwaarde dat driftcorrectie wordt toegepast of regelmatig een controlemonster gemeten wordt. De analyse wordt bij voorkeur ook beëindigd met een meting van het controlemonster. In ieder geval wordt er iedere meetdag opnieuw gekalibreerd.
- Monsters mogen direkt na elkaar gemeten worden zonder tussentijdse spoeling indien de concentraties in het werkgebied vallen. Bij overflow is het aangewezen het monster volgend op de overflow ook te hermeten. De kans op overschatting van de concentratie in dit monster door een geheugeneffekt is dan reëel.

7.4 Afleggen van het toestel

Na het beëindigen van de meting wordt het systeem gespoeld en vervolgens uitgeschakeld volgens voorschrift van de fabrikant.

7.5 Reinigingsprocedure

Teneinde contaminatie te vermijden, is het aan te raden het systeem wekelijks gedurende een half uur te spoelen met 1% hypochlorietoplossing. Daarna moet het systeem grondig gespoeld worden met water.

Deze procedure is ook aangewezen in geval van problemen met basislijnstabilisatie of indien het toestel gedurende langere tijd niet meer werd gebruikt.

8 CONTROLE ANALYSE

Om de geldigheid van de calibratie na te gaan wordt er een fosfaatstandaardoplossing aangemaakt in het gebruikte concentratiegebied en meegemeten.

Er wordt een controlekaart bijgehouden waarin de eerste meting van de kalibratie-controle wordt opgenomen. Deze waarde dient binnen de grenzen van de controlekaart te vallen.

Het verdient aanbeveling het controlemonster op regelmatige tijdstippen tijdens de analyse opnieuw te analyseren. Metingen van onbekenden gelegen tussen 2 geldige metingen van een controlemonster mogen gerapporteerd worden. In het andere geval moeten de laatste monsters opnieuw geanalyseerd worden.

9 BEREKENINGEN

Er wordt gecorrigeerd voor signaal- en basislijndrift. Bij de gebruikte opstelling gebeurt dit automatisch door de software.

Na deze correctie wordt een kalibratierechte berekend met lineaire regressie. Met de bekomen functie kunnen de concentraties van de onbekenden berekend worden. Indien de monsters verdund werden, worden de bekomen concentraties vermenigvuldigd met de verdunningsfactor.

10 OPMERKINGEN

- Het doorstroomanalysestelsel kan omgebouwd worden om in een ander concentratiegebied te werken. De beschreven opstelling is voorzien voor het laagst mogelijk bereik waardoor de monsters soms heel sterk verdund moeten worden. Dat heeft het voordeel dat de matrix en dus ook eventueel storende bestanddelen mee verdund worden en meestal weinig invloed gaan uitoefenen op de meting. Anderzijds moet er bij het verdunnen over gewaakt worden dat de representativiteit van het monster bewaard blijft. Er moet dan voor het verdunnen zeer grondig gehomogeniseerd worden. Bovendien introduceert men onvermijdelijk verdunningsfouten bij grote verdunningsfactoren.
- Indien monsters gemeten worden in het lage concentratiegebied (0.01 – 0.1 mg P/l) dan wordt er bij voorkeur een aparte calibratie in dit gebied uitgevoerd. Nochtans voldoen de prestatiekenmerken voor het gebied van 0.01 tot 0.5 mg P/l.

11 VALIDATIEGEGEVENS

Werkgebied	0.01 - 0.5 mg P/l
Laag	0.01 - 0.1 mg P/l
Gebruikelijk gebied	0.1 - 0.5 mg P/l
Detectielimiet	
Funk (o.b.v. kalibratie)	0.005 mg P/l
IUPAC, 3s	0.002 mg P/l
Precisie (als RSD)	
Herhaalbaarheid	< 3 %
Intralab. reproduc.	< 6 %
Controlekaart 2s	
Juistheid	Goede terugvinding van toegevoegde spike

12 REFERENTIES

- 1 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 1992
- 2 Skalar Methods: Phosphate in waste water; Skalar
- 3 W. Maher and L. Woo, *Anal Chim. Acta*, **375** (1998) 5-47.
- 4 J.-Z. Zhang, C.J. Fisher and P.B. Ortner, *Talanta*, **49** (1999) 293