

## 5. Nachweismethoden

### 5.2 Photometrie

#### 5.2.4 Malachitgrün im untersten Konzentrationsbereich, in der Bodenkunde

*Dana Zimmer, Rhena Schumann*

##### **Prinzip**

Wie bei der Molybdänblaumethode (Kapitel 5.2.3) kommt es unter sauren Bedingungen zur Bildung eines Farbkomplexes aus Molybdat, Malachitgrün und Phosphat. Die Extinktion des gebildeten blaugrünen Komplexes wird bei einer Wellenlänge von 623 nm zur photometrischen Bestimmung der P-Konzentration genutzt. Die Methoden nach Altmann et al. (1971) wurde in der Bodenkunde benutzt, um die P-Konzentrationen in  $\text{NaHCO}_3$ - und  $\text{NaOH}$ -Extrakten des Bodens zu bestimmen. Die Kalibriergerade nach Tabelle 5.2.4-1 wurde in einer Wassermatrix erstellt, um den linearen Bereich der Methode auszutesten.

##### **Konzentrationsbereich**

Der lineare Bereich der Methode liegt etwa zwischen 20  $\mu\text{g}$  bzw. 0,6  $\mu\text{mol}$  (BG) bis 250  $\mu\text{g}$  bzw. 8  $\mu\text{mol l}^{-1}$ . Für diesen Bereich war die Bestimmungsgrenze von 39  $\mu\text{g P l}^{-1}$  (1,3  $\mu\text{mol l}^{-1}$ ) sehr hoch, auch wenn ein Regenienblindwert von allen Blindwerten abgezogen wurde. Hier muss die Bestimmungsgrenze mit der Kalibriergeradenmethode (Kapitel 6.2) ermittelt werden.

##### **Durchführung**

###### Vorbereitung:

- ▶ Graduierte 25 ml Reagenzgläser o.ä. Maßkolben mit Reinstwasser (RW) füllen und über Nacht zum Auszehren stehen lassen.
- ▶ Ggf.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  für 2 h bei 40 °C trocknen und im Exsikkator abkühlen lassen, alternativ handelsüblichen P-Standard verwenden.

### Kalibriergerade:

- ▶ Aus der P-Arbeitslösung die in Tabelle 5.2.4-1 genannten ml in 25 ml graduierte Reagenzgläser oder Maßkolben für die Standards pipettieren.
- ▶ Auf 25 ml mit RW auffüllen.
- ▶ Die Kalibranten enthalten bis zu 250 g P l<sup>-1</sup> bzw. 8,1 µmol l<sup>-1</sup>.
- ▶ Für eine lineare Kalibriergerade wird empfohlen, Standards zwischen 20 und maximal 250 µg P l<sup>-1</sup> anzusetzen (Tab. 5.2.4-1).

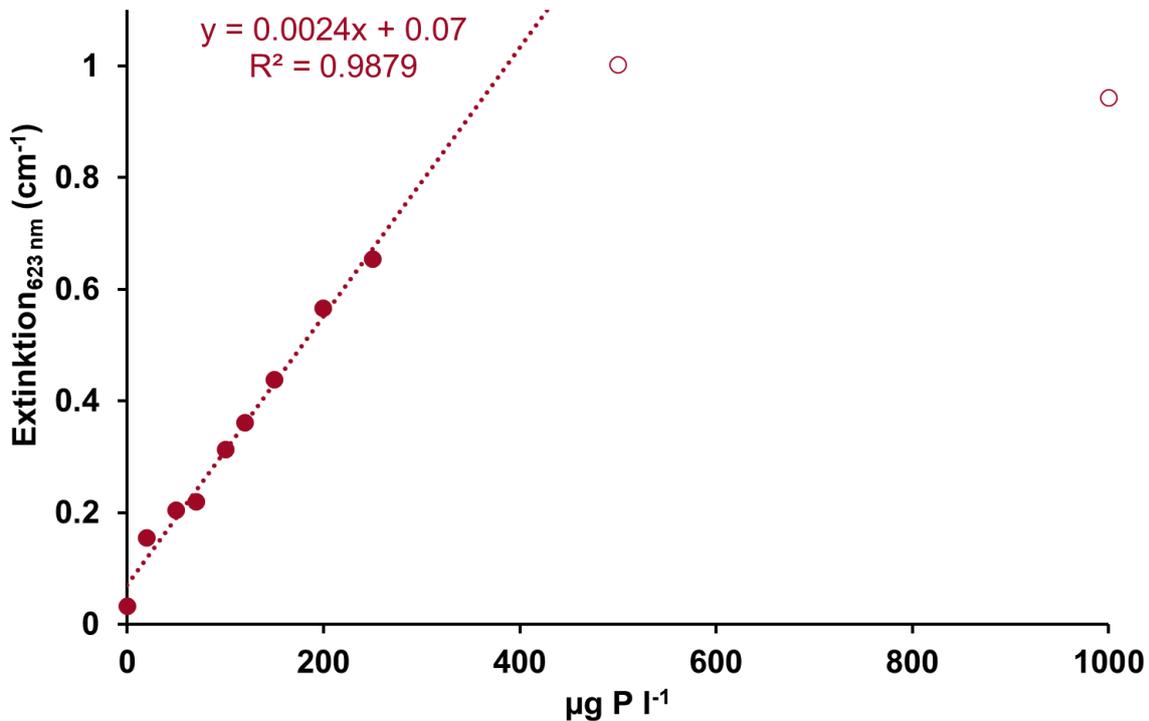
**Tabelle 5.2.4-1** Kalibranten-Nummer, Volumen der Arbeitslösung, absolute P-Mengen und P-Konzentrationen für eine Kalibriergerade zum Austesten des linearen Bereichs nach Auffüllen auf 25 ml in einer Wassermatrix

Kal.-Nr.	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Arbeitslösung ml	0	1	2,5	3,5	5	6	7,5	10	12,5
µg P absolut in 25 ml	0	0,5	1,25	1,75	2,5	3	3,75	5	6,25
µg P l <sup>-1</sup>	0	20	50	70	100	120	150	200	250
µmol P l <sup>-1</sup>	0	0,65	1,61	2,26	3,23	3,87	4,84	6,46	8,07

### Proben ansetzen und messen:

- ▶ In die Standard-Gefäße die gleiche Menge an Kalibranten pipettieren, wie Proben in die Probengefäße gegeben wird (z. B. 10 ml NaHCO<sub>3</sub>-Extrakt).
- ▶ Kalibranten sollen in derselben Matrix gelöst sein wie die Proben.
- ▶ In die Gefäße für Proben und Blindwerte werden entsprechend z. B. 10 ml Probe bzw. Blindwert gegeben.
- ▶ Alle Gefäße (Standards, Proben und Blindwerte) bis auf ca. 12 ml mit RW auffüllen.
- ▶ In alle Gefäße 1,5 ml 24 % H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> zugeben und zur Silikat-Elimination 10 min warten.
- ▶ 2,5 ml Malachit-PV-Lösung zugeben und zum Durchmischen schwenken (nicht zu stark schütteln, sonst Schaumbildung). Etwa 5 min warten.
- ▶ 2,5 ml Molybdatlösung zugeben, Gefäße mit RW auf 25 ml auffüllen und zum Durchmischen schwenken. 1 h zur Farbentwicklung warten.
- ▶ Aliquote in die Küvetten füllen und Extinktion bei 623 nm.
- ▶ Proben mit Extinktionen > 1 verdünnen, erneut in 25 ml Reagenzgläsern oder Maßkolben mit Reagenzien ansetzen und nochmal messen.

Eine sehr weitgefaste Kalibriergerade in einer Wassermatrix zeigt den eingeschränkten linearen Messbereich (Abb. 5.2.4-1). Oberhalb einer Konzentration von  $250 \mu\text{g P l}^{-1}$  (Extinktion 0,62 bei 1 cm Küvetten) kommt es zu Sättigungserscheinungen. Ab einer Konzentration von  $1000 \mu\text{g P l}^{-1}$  flockt das Malachitgrün aus.



**Abbildung 5.2.4-1** Beispiel einer Kalibriergeraden für Malachitgrün-Molybdatblau in einer Wassermatrix. Der Faktor zur Umrechnung in  $\mu\text{g P l}^{-1}$  beträgt hier für eine 1 cm Küvette 410. Die offenen Kreise sind höhere Konzentrationen außerhalb des linearen Messbereichs.

## Qualitätsmanagement

Die Reagenzien des Malachitgrün-Nachweises haben schon selbst eine schwach grüngelbe Färbung. Das bedeutet, dass die Extinktion des Reagenzienblindwerts zwingend von allen Werten abgezogen werden muss (Proben, Blindwerte und Kalibranten).

Gelegentlich wird empfohlen und oft bietet die Software es auch an, dass dies bereits am Photometer eingegeben oder in 2-Strahlpotometern auch als Referenz physisch gesetzt werden kann. Das ist dennoch nicht zu empfehlen, weil bereits einfache Bedienfehler hier schwerwiegende Folgen verursachen können. Das sind z. B. bei dieser Referenzmessung nicht gut "geputzte" Küvetten, eine Trübung des "Blindwerts" durch Fussel u. a.

Auch bleibt eine evtl. Drift oder ein plötzlich höherer Blindwert unbeobachtet und kann später nicht mehr korrigiert werden.

## Berechnung

Die gewisse Einfärbung der Reagenzien erfordert hier unbedingt den Abzug eines Reagenzienblindwerts. Die Frage ist, wie stabil dieser Reagenzienblindwert ist. Für die Kalibriergerade selbst ist es zur Berechnung des Umrechnungsfaktors unwichtig. Der Anstieg wird nur parallel verschoben entlang der y-Achse (Konzentration). Auf jeden Fall muss entweder der die Proben begleitende Reagenzienblindwert oder der aus der Kalibriergeraden von den Messwerten abgezogen werden.

$$\text{PO}_4^{3-} = F \cdot (E_{\text{Probe}} - E_{\text{RBW}} - E_{\text{FBW}})$$

$\text{PO}_4^{3-}$	Phosphatkonzentration ( $\text{mg P l}^{-1}$ )
F	Faktor der Kalibriergeraden <sup>1</sup>
E	Extinktion <sup>2</sup>
RBW	Reagenzienblindwert
FBW	Absorption des Filtrats

## 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.
- ▶ **24 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$** : Etwa 50 ml RW in einen 100 ml Maßkolben geben, in ein kaltes Wasserbad stellen und langsam 25 ml konzentrierter  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (96 %, 18 M) zugeben. Vorsicht, die Lösung wird sehr heiß! Bis kurz unter die Eichmarke mit RW auffüllen, bis zum nächsten Tag abkühlen lassen und auf 100 ml auffüllen.
- ▶ **PVA-Lösung**: 5 g Polyvinylalkohol unter Aufkochen (z. B. über einem Bunsenbrenner) in 500 ml RW im Becherglas lösen (Glasstab zum Rühren verwenden). PVA in kleinen Mengen zugeben (schlecht löslich) und anschließend durch Faltenfilter filtrieren. Es löst sich nicht vollständig, es bleiben Rückstände im Filter!

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

<sup>2</sup> Immer gleiche Küvettenlänge einsetzen!

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

- ▶ **Malachit-Polyviol-Lösung:** 250 ml der PVA-Lösung in ein Becherglas oder Erlenmeyerkolben abmessen, 92,5 mg Malachitgrün hinzugeben, Rühr"fish" hineingeben. Etwa 3 h auf dem Rührer rühren lassen. In einen 500 ml Maßkolben überführen, mit RW spülen, auf 500 ml auffüllen. Die Lösung ist dunkel gelagert 1 Monat haltbar.
- ▶ **0.015 M Molybdat-Lösung:** 1.854 g Hexaammoniumheptamolybdat  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4 \text{H}_2\text{O}$  in etwa 50 bis 70 ml RW in Becherglas mit Rühr"fish" auf dem Magnetrührer lösen. In 100 ml Maßkolben überführen und auf 100 ml mit RW auffüllen.
- ▶ **Standards**
  - ▶ P-Stammlösung: 0.2197 g Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (bei 40 °C für 2 h getrocknet) einwiegen, in einen 1 Liter Kolben überführen und mit RW. Die Lösung enthält 50 mg P l<sup>-1</sup> und ist 1 Woche im Kühlschrank haltbar.
  - ▶ P-Arbeitslösung: 10 ml P-Stammlösung in einen 1 Liter-Kolben geben und mit RW auffüllen. Die Lösung enthält 500 µg P l<sup>-1</sup>.

## Referenzen

- Altmann HJ, Fürstenau E, Gielewski A, Scholz L (1971) Photometrische Bestimmung kleiner Phosphatmengen mit Malachitgrün. Z Anal Chem. 256: 274-276, DOI: [10.1007/BF00537892](https://doi.org/10.1007/BF00537892)
- van Schouenburg JC, Walinga I (1967) The rapid determination of phosphorus in presence of arsenic, silicon and germanium. Anal Chim Acta 37: 269-271, DOI: [10.1016/S0003-2670\(01\)80671-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)80671-1)

**For citation:** Zimmer D, Schumann R (*year of download*) Kapitel 5.2.4 Malachitgrün im untersten Konzentrationsbereich, in der Bodenkunde (Version 1.1) 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