##  植物中磷的测定

##  —— H2SO4- H2O2消煮，钼锑抗比色法

## 全磷 H2SO4-H2O2消煮钼锑抗比色法 岛津，紫外UV-1900i（日本）

**一、方法原理**

溶液中磷的比色原理加钼酸铵于含磷的溶液中，在一定酸度条件下，溶液中的正磷酸与钼酸络合形成磷钼杂多酸。

H3PO4+12H2MoO4=H3［PMo12O40］+12H2O

杂多酸是由两种或两种以上简单分子的酸组成的复杂的多元酸，是一类特殊的配合物。在分析化学中，主要是在酸性溶液中，利用H3PO4或H4SiO4等作为原酸，提供整个配合阳离子的中心体，再加钼酸根配位使生成相应的12-钼杂多酸，然后再进行光度法、容量法或重量法测定。

磷钼酸的铵盐不溶于水，因此，在过量铵离子存在下，同时磷的浓度较高时，即生成黄色沉淀磷钼酸铵(NH4)3[PMo12O40]，这是质量法和容量法的基础。当少量磷存在时，加钼酸铵则不产生沉淀，仅使溶液略现黄色［PMo12O40］3-，其吸光度很低，加入NH4VO3使生成磷钒钼杂多酸。磷钒钼杂多酸是由正磷酸、钒酸和钼酸三种酸组合而成的杂多酸，称为三元杂多酸H3(PMo11VO40)·nH2O。根据这个化学式，可以认为磷钒钼酸是用一个钒酸根取代12-钼磷酸分子中的一个钼酸的结果。三元杂多酸比磷钼酸具有更强的吸光作用，亦即有较高的吸光度，这是钒钼黄法测定的依据。但是在磷较少的情况下，一般都用灵敏的钼蓝法，即在适宜试剂浓度下，加入适当的还原剂，使磷钼酸中的一部分Mo6+离子被还原为Mo5+，生成一种叫做“钼蓝”物质，这是钼蓝比色法的基础。蓝色产生的速度、强度、稳定性等与还原剂的种类、试剂的适宜浓度特别是酸度以及干扰离子等有关。

**二、主要仪器**

1．2，6-二硝基酚或2，4-二硝基酚指示剂溶液：溶解二硝基酚0.25 g于100 mL水中。此指示剂的变色点约为pH 3，酸性时无色，碱性时呈黄色。

2．4 mol·L-1氢氧化钠溶液：溶解NaOH 16 g于100 mL水中。

3．2 mol·L-1（1/2H2SO4）溶液：吸取浓硫酸6 mL，缓缓加入80 mL水中，边加边搅动，冷却后加水至100 mL。

4．钼锑抗试剂：A.5 g·L-1酒石酸氧锑钾溶液：取酒石酸氧锑钾[K(SbO)C4H4O6]0.5 g，溶解于100 mL水中。B.钼酸铵一硫酸溶液：称取钼酸铵[(NH4)6Mo7O24·4H2O]10 g，溶于450 mL水中，缓慢地加入153 mL浓H2SO4，边加边搅。再将上述A溶液加入到B溶液中，最后加水至1 L。充分摇匀，贮于棕色瓶中，此为钼锑混合液。

临用前（当天），称取左旋抗坏血酸（C6H8O5，化学纯）1.5 g，溶于100 mL钼锑混合液中，混匀，此即钼锑抗试剂。有效期24 h，如藏于冰箱中则有效期较长。此试剂中H2SO4为5.5 mol·L-1(H+)，钼酸铵为10 g·L-1，酒石酸氧锑钾为0.5 g·L-1，抗坏血酸为15 g·L-1。

5．磷标准溶液。准确称取在105℃烘箱中烘干的KH2PO4（分析纯）0.2195 g，溶解在400 mL水中，加浓H2SO45 mL（加H2SO4防长霉菌，可使溶液长期保存），转入1 L容量瓶中，加水至刻度。此溶液为50 μg·mL-1 P标准溶液。吸取上述磷标准溶液25 mL，稀释至250 mL，即为5 μg·mL-1 P标准溶液（此溶液不宜久存）。

**三、操作步骤**

1.测定：吸取澄清液或滤液5 mL(对含P，0.56 g·kg-1以下的样品可吸取10 mL)，以含磷（P）在20~30 μg为最好]注入50 mL容量瓶中，用水冲稀至30 mL，加二硝基酚指示剂2滴，滴加4 mol·L-1NaOH溶液直至溶液变为黄色，再加2 mol·L-1(1/2H2SO4)1滴，使溶液的黄色刚刚褪去（这里不用NH4OH调节酸度，因消煮液酸浓度较大，需要较多减去中和，而NH4OH浓度如超过10 g·L-1就会使钼蓝色迅速消退）。然后加钼锑抗试剂5mL，再加水定谷50 mL，摇匀。30 min后，用880 nm或700 nm波长进行比色（注2），以空白液的透光率为100（或吸光度为0），读出测定注的透光度或吸收值。

2．标准曲线：准确吸取5 μg·mL-1，P标准溶液0、1、2、4、6、8、10 mL，分别放入50 mL容量瓶中，加水至约30 mL，再加空白试验定容后的消煮液5 mL，调节溶液pH为3，然后加钼锑抗试剂5 mL，最后用水定容至50 mL。30 min后进行比色。各瓶比色液磷的浓度分别为0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 μg·mL-1P。

**四、结果计算**

从标准曲线上查得待测液的磷含量后，可按下式进行计算：

全磷含量（g·kg-1）

式中：——待测液中磷的质量浓度（μg·mL-1）；

*V*——样品制备溶液的mL数；

*m*——称样质量（g）;

*V*1——吸取滤液mL数；

*V*2——显色的溶液体积（mL）；

10-3——将μg数换算成每kg土壤中含磷的g数；

（1+W%）——将风干土换算成烘干土的换算系数；

W%——烘干土样含水量。