

Phosphatkoncentrationen i cola

På et almindeligt renseanlæg renser man spildevandet for bl.a. opløst phosphat PO_4^{3-} . Målet er at undgå at det udledes til vandmiljøet hvor det kan forårsage algeopblomstring med de negative konsekvenser der kan være af det. Der er mange forskellige kilder til phosphat i spildevand. Et af dem er rester af fødevarer som fx cola der ender i køkkenvasken. I dette forsøg vil vi måle phosphatindholdet i en cola for at få en idé om hvor meget der kan komme fra den kilde.

Princippet i målingen

Man kan måle koncentrationer af phosphat vha. et spektrofotometer. Phosphat er farveløst, men ved at lade det reagere med et bestemt stof i et phosphatreagens, dannes der et produkt der har en kraftigt blå farve. Produktet kaldes molybdænbåt. Jo højere koncentrationen af phosphat er, jo mere molybdænbåt dannes der, og jo mere intenst blå bliver opløsningen.



Det blå stof absorberer lys ved 882 nm, og hvis man kender sammenhængen mellem absorbansen ved denne bølgelængde og koncentrationen af det blå stof, kan man ved at måle absorbansen ved 882 nm i en opløsning med *ukendt* phosphatkoncentration, regne phosphatkoncentrationen ud.

Sammenhængen finder man ved at måle absorbansen ved 882 nm for en række standardopløsninger med *kendt* koncentration af phosphat. Ud fra disse målinger laves en lineær regression - en såkaldt *standardkurve*. Ud fra ligningen for regressionen samt absorbansen af den ukendte phosphatopløsning (colaen) kan man beregne den ukendte phosphatkoncentration.

Metodeproblemer

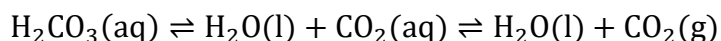
De fleste colaer har en brunlig farve. Man kunne frygte at det brune farvestof også absorberer lys ved 882 nm, for så ved man jo ikke om absorbansen skyldes det brune farvestof eller molybdænbåt. Heldigvis absorberer det colabrune farvestof normalt næsten intet lys ved denne bølgelængde, så det er ikke noget problem. Hvis man er i tvivl, kan man tjekke det ved at måle absorbansen af cola *uden* phosphatreagens.

Et andet metodisk problem er luftboblerne i cola. Luftboblerne forstyrrer nemlig målingerne i spektrofotometeret så de bliver forkerte. Løsningen er at fjerne luftboblerne inden målingerne. Man siger at man afgasser colaen, eller at man "vasker" den.

Phosphatforbindelser kan i nogle tilfælde klæbe til glasvarer og dermed forstyrre målingerne. Phosphat der tidligere har været i glasset, kan øge koncentrationen i den prøve man vil måle på, eller omvendt: Phosphat i ens prøve kan klæbe til glasset og på den måde "forsvinde" fra prøven. I mange tilfælde er det et meget lille problem, men hvis man har mistanke om det, kan man undervejs fjerne fastklæbet phosphat med lidt 0,5 M NaOH(aq).

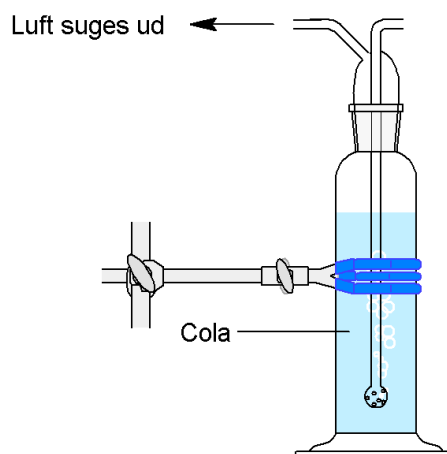
Afgasning

I den kapsellukkede cola er der opløst en del carbonsyre (kulsyre, H_2CO_3). Under kapslen og derfor også i opløsningen er trykket større end udenfor, hvilket gør opløseligheden større. I opløsningen (colaen) og mellem opløsningen og luften lige under kapslen i flasken indstiller dette ligevægtssystem sig:



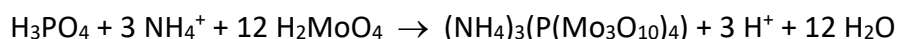
Når man tager kapslen af colaen, falder trykket i colaen med det samme til det som trykket er udenfor flasken, altså normalt omkring 1 bar. Derfor falder opløseligheden af carbonsyre, og ligevægten forskydes derfor mod højre indtil der igen er ligevægt. Undervejs undslipper den dannede carbondioxidgas som bobler/brus. Når ligevægten igen indtræder, er colaen afgasset - der dannes altså ikke flere bobler som kan forstyrre den spektrofotometriske måling.

Overfladen i colaflaskehalsen er meget lille, så det tager lang tid før colaen er afgasset. Processen kan fremskyndes ved at bruge en såkaldt vaskeflaske hvor der bobles atmosfærisk luft igennem colaen. På den måde giver de mange, mange bobler af atmosfærisk luft en enorm overflade mellem væske og luft i colaen, og afgasningen går meget hurtigere.

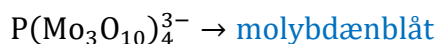


Phosphatreagenset - det med småt

Phosphatreagenset er stærkt surt, så når det blandes i colaen, omdannes PO_4^{3-} i colaen til H_3PO_4 som herefter reagerer med ammoniummolybdat



Det dannede stof som er temmelig kompliceret opbygget, reduceres af ascorbinsyre (C-vitamin) med antimon som katalysator til molybdænblåt.



Det er nødvendigt først at tilsætte reduktionsmidlet ascorbinsyre til phosphatreagenset *umiddelbart før brugen*, for blandingen med ascorbinsyre har kun kort holdbarhed.

Materialer

Vaskeflaske, slange til vakuumpumpe, stativmateriale til at spænde vaskeflaske fast, spektrofotometer med kuvette, bægerglas, fuldpipetter, sugbold, målekolber, cola, værnemidler.

Kemikalier - fremstilles af læreren

Phosphorstamopløsning (200 mg P/L): Opløs 0,8786 g KH_2PO_4 i lidt vand i en 1000 mL målekolbe. Tilsæt 20 mL 2 M H_2SO_4 (konserverende) og fortynd til mærket. Opbevares på køl i mørk flaske i op til tre måneder.

Phosphatreagens: Tilsæt forsigtigt og under køling 280 mL konc. H_2SO_4 til en 1000 mL målekolbe hvor der *forinden* er hældt ca. 500 mL vand (bær beskyttelsesbriller!). Opløs 20 g ammoniumheptamolybdat $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ i ca. 150 mL vand, og tilsæt det til målekolben. Opløs 0,4 g kaliumantimon(III)oxidtartrat $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (giftigt!) i ca. 20 mL vand, og tilsæt det til målekolben. Fortynd til mærket. Opbevares i mørk flaske i op til to måneder. *Umiddelbart før brug* blandes 100,0 mL af denne opløsning med 100,0 mL vand, hvori der opløses 4 g ascorbinsyre - denne sidste opløsning kan ikke gemmes.

Fremgangsmåde

Lærerens forberedelse på dagen

Lav phosphatreagenset helt færdigt ved tilsætning af ascorbinsyre som beskrevet ovenfor i afsnittet *Kemikalier*.

Afgasning af cola

1. Hæld cola i vaskeflasken så den er ca. halv fuld, og sæt forsigtigt proppen med glasrør på. Sørg for at proppen slutter tæt.
2. Spænd flasken fast i et stativ og forbind den ene studs (den rigtige - se tegningen - enormt vigtigt!) til vakuumpumpen vha. en vakuumslange.
3. Tænd vakuumpumpen og vask colaen i ca. 10 minutter. Forbered resten af forsøget mens colaen bliver vasket.
4. Sluk vakuumpumpen, og lad colaen falde til ro i et minut.

Standardkurve

5. Med fuldpipette overføres 25,00 mL phosphorstamopløsning (afpipetter **ikke** direkte fra flasken!!) til en 1000 mL målekolbe, og der tilsættes vand til mærket og omrystes.
6. Fra den i punkt 5 fremstillede opløsning overføres med fuldpipette 50,00 mL til en 250 mL målekolbe, og der tilsættes vand til mærket og omrystes. Denne opløsning kaldes Standard II.
7. 5 stk. 100 mL målekolber mærkes med numre jf. nedenstående skema.
8. Overfør Standard II samt phosphatreagens til målekolberne i mængder jf. skemaet. Der fyldes op til 100 mL mærket med vand og omrystes. Husk at bruge fuldpipetter til afmåling - der skal arbejdes præcist!

Målekolbe nr.	Standard II mL tilsat	Phosphatreagens mL tilsat	Koncentration mg P/L	Absorbans
1	0,0	10,0	0,00	
2	20,0	10,0	0,20	
3	40,0	10,0	0,40	
4	60,0	10,0	0,60	
5	80,0	10,0	0,80	

9. Opløsningerne skal nu stå i 20 minutter da farvedannelsen tager et stykke tid og farveintensiteten først bliver konstant efter ca. 10 minutter. Imens gøres cola-prøverne klar (se nedenfor).
10. Absorbansen måles i spektrofotometret ved bølgelængden 882 nm. Der bruges vand som reference (kalibrering). Læreren viser hvordan spektrofotometret bruges.

Cola med ukendt phosphatkoncentration

11. Lav først en 20 gange fortynding af den afgassede cola ved at overføre 5,00 mL afgasset cola til en 100 mL målekolbe, tilsætte vand til mærket og omryste.
12. 2 stk. 100 mL målekolber mærkes med hhv. nr. 6 og 7 jf. nedenstående skema.
13. Overfør med fuldpipette 10,00 mL af den fortyndede cola (fra punkt 11) til målekolbe nr. 6 (se skemaet nedenfor).
14. Overfør på samme måde med fuldpipette 5,00 mL af den fortyndede cola (fra punkt 11) til målekolbe nr. 7 (se skemaet nedenfor).
15. Tilsæt 10,0 mL phosphatreagens til målekolbe nr. 6 og 7, fyld op med vand til strengen og omryst.

Målekolbe nr.	Fortyndet, afgasset cola mL tilsat	Phosphatreagens mL tilsat	Fortyndingsfaktor	Absorbans
6	10,00	10,0	200	
7	5,00	10,0	400	

16. Lad også disse opløsninger stå i 20 minutter til farven er konstant, og mål derefter absorbansen ved bølgelængden 882 nm.

Databehandling

- Tegn standardkurven, og bestem dens ligning.
- Beregn på baggrund heraf koncentrationen af phosphat i colaen, både ud fra målingen af kolbe nr. 6 og 7. Husk at tage hensyn til fortyndingerne!

Bemærk: Enheden for koncentrationen af phosphat er i dette forsøg mg P/L.

I værdien indgår kun det som P-atomerne vejer, så oxygenatomernes masse tælles ikke med. Det er en meget almindelig måde at angive koncentrationer på i fx renseanlæg.

Overvejelser

- a. Hvis fosfatkoncentration i cola, beregnet ud fra hhv. målekolbe nr. 6 og 7 ikke er ens, hvad kan forklaringen så være? Er der en af de to målinger som vi kan fæste mere lid til end den anden?
- b. Vi antager at al fosfor i cola stammer fra fosfat. Beregn fosforindholdet i den undersøgte cola, og angiv resultatet i mg P/100 g cola. Antag at colaens densitet er 1,00 g/mL.
Sammenlign resultatet med indholdet af fosfor i fødevarerne i denne tabel:

Fødevarer	Fosforindhold (mg P/100 g fødevarer)
Letmælk	95,7
Havregryn	411
Kaffe, drikkeklar	2

Kilde: Fødevaredatabasen Frida. <http://frida.fooddata.dk/> Lokaliseret 25.01.2022.

Bemærk at det er fødevarens samlede fosforindhold der både kan tælle uorganisk, frit fosfat og organisk bundet fosfor.

Hvilken af de fire fødevarer mon bidrager med mest fosfor som renseanlægget skal rense fra?

- c. Find ud af hvorfra fosfat i spildevandet ellers kan komme.
- d. Hvilke negative konsekvenser kan der være ved algeopblomstring i vandmiljøet?