

# P-Bestimmung im Ammoniumacetat + EDTA-Extrakt (1:10)

Version 2.2 (2020)

Code der Referenzmethode	AAE10-P		Mögliche Einsatzbereiche
Einsatzbereich	Düngeberatung	Ackerkulturen und Grasland	x
		Gemüsebau (Freiland / Gewächshaus)	x
		Weinbau, Obstbau, Beerenanbau, Gewürz- und Medizinalpflanzen	X (ausser Gewürz- und Medizinalpflanzen)
	Standortcharakterisierung		
	Schadstoffbeurteilung		x
	Recyclingdünger	Kompost	
		Gärgut fest	
		Gärgut flüssig	
		Klärschlamm	
	Hofdünger	Mist	
Gülle			
Mineraldünger			
Pflanzenkohle			
Forschungsmethoden			
Rechtliche Grundlagen / Vollzugshilfen	Messung von Nährstoffgehalten für den ökologischen Leistungsnachweis (ÖLN) laut der Direktzahlungsverordnung (DZV, Anhang 1, Ziffer 2) und für Düngeberatung laut den Grundlagen für die Düngung landwirtschaftlicher Kulturen in der Schweiz (GRUD).		
Zulassungskriterien für Labors	Die Grenzen des Ringversuches PEP (WEPAL) werden eingehalten. Jährlich wird eine aktuelle Liste der für den ökologischen Leistungsnachweis zugelassenen und für Bodenuntersuchungen zur Düngeberatung empfohlenen Labors auf den Internetseiten von Agroscope und BLW publiziert.		
Analysenprogramm	Probennahme	OW-PN, AF-PN	
	Probenaufbereitung	AF-OW-PA	
	Aufschluss	AAE10-Ex	
	Messung	AAE10-P, AAE10-K-Mg-Ca	

Konzentrations- / Messbereich	GRUD: oberer Bereich 125 mg P / kg Feinerde
Angabe der Ergebnisse	In mg P / kg Feinerde mit Angabe einer Dezimalstelle
Äquivalente Methoden	Bei dieser photometrischen Bestimmung werden organische P-Komplexe nicht mitbestimmt. Aus diesem Grund sind Methoden, die den totalen P-Gehalt im Extrakt messen, wie zum Beispiel die Messung mit ICP-OES, nicht äquivalent.
Sicherheit / Umwelt	Extrakte müssen als Sonderabfall entsorgt werden.



# P-Bestimmung im Ammoniumacetat + EDTA-Extrakt (1:10)

## 1. Prinzip

Im Ammoniumacetat-EDTA-Extrakt wird Phosphat mit Ammoniummolybdat komplexiert. Die beim Erhitzen der Reaktionslösung resultierende Blaufärbung wird photometrisch bei einer Wellenlänge von 750 nm bestimmt.

## 2. Durchführung

### Apparaturen und Geräte

- (A) Analysenwaage (0.01 g Teilung)
- (B) Präzisionswaage (0.001 g Teilung)
- (C) Photometer, Küvette 1 cm, Wellenlänge 750 nm
- (D) Wasserbad (95-100°C)
- (E) Diverse Pipetten, Messkolben, Reagenzgläser

### Reagenzien

- (1) Demineralisiertes Wasser (H<sub>2</sub>O, Leitfähigkeit <5 µS/cm)
- (2) Kaliumdihydrogenphosphat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, M = 136.1 g/mol)
- (3) Ammoniummolybdat-Schwefelsäure Lösung:
  - (3a) Ammoniumheptamolybdat ( (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub> · 4H<sub>2</sub>O, M=1235.9 g/mol)
  - (3b) Schwefelsäure (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p.a. 96%, M=98.1 g/mol; d=1.84)

40.0 g Ammoniummolybdat (3a) in einem 1000 ml Messkolben in etwa 425 ml H<sub>2</sub>O (1) lösen. Messkolben in kaltes Wasser oder auf Eis stellen und vorsichtig, um eine starke Erwärmung zu vermeiden, 555 ml Schwefelsäure (3b) in kleinen Portionen dazugeben. Nach dem Einstellen der Lösung auf Zimmertemperatur, mit H<sub>2</sub>O (1) bis zur Marke auffüllen und gut mischen.

*Anmerkungen: Sollte die Lösung blau gefärbt sein, ist das Reagens unbrauchbar. Das Reagens wird in einer braunen Flasche aufbewahrt (Lagerdauer 5-6 Monate).*

- (4) Ascorbinsäure (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>, M = 176.1 g/mol) 1%  
1.5 g Ascorbinsäure in 150 ml Wasser lösen

*Anmerkung: Lösung stets frisch herstellen.*

- (5) Amidoschwefelsäure (H<sub>2</sub>NSO<sub>3</sub>H p.a., M = 97.1 g/mol):
- (6) Kombiniertes Farbreagens
  - (6a) Unmittelbar vor dem Gebrauch 4.5 g Amidoschwefelsäure (5) in einem 150 ml Messkolben in ca. 50 ml H<sub>2</sub>O (1) lösen. 75 ml Ammoniummolybdat-Schwefelsäure-Lösung (3) zugeben, die Lösung in einem kalten Wasserbad auf etwa 25° abkühlen (nicht länger als 10 Minuten), mischen und auf 150 ml auffüllen.
  - (6b) Die Lösung (6a) sofort nach der Herstellung mit Lösung (4) zu gleichen Teilen mischen.

*Anmerkung: Lösung (6a) sofort weiterverarbeiten, sonst bildet sich ein Niederschlag.*

(7) Extraktionslösung (Methode AAE10-Ex)

(8) Phosphor-Standardlösung:

2.636 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2) in 1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$  (1) lösen. Dies entspricht 600.0 mg P / L

(9) Kalibrationslösungen:

(9a) Extraktionslösung (7) 0 mg P / L

(9b) 0.25 ml Lösung (8) mit Extraktionslösung (7) auf 100 ml auffüllen = 1.5 mg P / L

(9c) 0.5 ml Lösung (8) mit Extraktionslösung (7) auf 100 ml auffüllen = 3.0 mg P / L

(9d) 1.0 ml Lösung (8) mit Extraktionslösung (7) auf 100 ml auffüllen = 6.0 mg P / L

(9e) 2.0 ml Lösung (8) mit Extraktionslösung (7) auf 100 ml auffüllen = 12.0 mg P / L

(9f) 4.0 ml Lösung (8) mit Extraktionslösung (7) auf 100 ml auffüllen = 24.0 mg P / L

*Anmerkung: Die Kalibration ist gegebenenfalls an gerätespezifische Eigenschaften anzupassen.*

### Arbeitsvorschrift

1 ml des zu messenden Extraktes (Methode AAE10-Ex) resp. der Kalibrationslösungen (9a-f) in ein Reagenzglas pipettieren. 9 ml Wasser und 2 ml Farbreagens (6) zugeben und gut mischen. Während 15 Min in das siedende Wasserbad (D) stellen. Proben bei Zimmertemperatur auf 20-25° abkühlen lassen. Mit dem Photometer (C) bei einer Wellenlänge von 750 nm messen.

*Anmerkung: Wenn der P-Gehalt über dem Kalibrationsbereich liegt, wird der Extrakt mit Extraktionslösung (7) verdünnt und die Farbreaktion mit dieser verdünnten Lösung durchgeführt.*

### 3. Berechnung

Extraktion: 10 g Boden in 100 ml Extraktionslösung

Resultat: Gehalt in mg/kg trockenen Boden

a = Ablesung des P-Gehalts in mg P / L

$$\begin{aligned} \text{mg P / kg trockenen Boden} &= a [\text{mg P / L}] \cdot \text{Extraktionsvolumen [L]} / \text{Einwaage [kg]} \\ &= a \cdot 0.1 / 0.01 = a \cdot 10 \end{aligned}$$

*Anmerkung: Verdünnungen der Bodenextrakte sind bei der Berechnung entsprechend zu berücksichtigen.*  
 $\text{mg P / kg trockenen Boden} = a [\text{mg P / L}] \cdot \text{Verdünnungsfaktor} \cdot \text{Extraktionsvolumen [L]} / \text{Einwaage [kg]}$

### 4. Resultatangabe

mg P/kg trockene Feinerde; eine Dezimalstelle

### 5. Bemerkungen

Zu den Neuerungen bei der Ausgabe 2001:

- Die hier beschriebene Heissfärbung entspricht - mit kleinen Vereinfachungen - jener von  $\text{CO}_2\text{-P}$ , die sich bezüglich Robustheit auch bei Extrakten kalkhaltiger Böden bewährt hat. Sie gibt dieselben Resultate wie die bisherige Kaltfärbung bei optimaler Durchführung (siehe „Validierung“), ausserdem wird die Emission von  $\text{SO}_2$  vermieden.
- Der Kalibrationsbereich wurde den Konzentration von landwirtschaftlich genutzten Böden angepasst.
- Zur Kontrolle der Messwerte werden in jeder Serie 2-3 Referenzböden und Blindwerte mituntersucht.

## 6. Validierung

Die Richtigkeit der Phosphorbestimmung kann nicht ohne weiteres absolut validiert werden, da dieses Element in verschiedenen Spezies auftreten kann, von denen je nach Nachweismethode nicht alle erfasst werden. Die Validierung der Richtigkeit der „Heissfärbung“ geschieht deshalb im Vergleich zur bisherigen „Kaltfärbung“.

### Theoretisches

Die hier beschriebene Heissfärbung verwendet 1 ml Extrakt auf 12 ml Reaktionslösung. Verglichen mit der Kaltfärbung, bei der 20 ml Extrakt auf 100 ml Reaktionslösung eingesetzt wurden, entspricht dies einer grösseren impliziten Verdünnung bei der Farbreaktion und damit einer Verringerung von Matrixeffekten. Wegen der grösseren Verdünnung treten keine Niederschläge bei kalkhaltigen Proben auf.

Die Zugabe von Schwefelsäure bei der bisherigen Kaltfärbung genügt für die Farbreaktion zur Ansäuerung bei kalkfreien Proben (pH ca. 1.5,  $[H^+]$  ca. 0.03 M), bei kalkhaltigen Proben bleibt die Reaktionslösung in den Puffergebieten Essigsäure/Acetat sowie  $CO_2 - H_2CO_3 - HCO_3^-$ . Bei der hier beschriebenen Heissfärbung ist immer ein Überschuss von Schwefelsäure gewährleistet.

### Arbeitsbereich und Bezugfunktion

Der Kalibrationsbereich entspricht 15-240 mg P/kg Boden. Die Kalibrationskurve ist linear. 1 mg P/kg Boden ergibt eine Absorption von 0.005.

Die Blindwerte der Messserien betragen  $0.1 \pm 0.2$  mg P/kg Boden (27 Serien). Die mittlere Standardabweichung der einzelnen Blindwerte innerhalb der Serien war 0.1 mg P/kg Boden.

### Reproduzierbarkeit:

85 Proben mit pH-Werten von 5.5-8.6, sowie Gehalten von 0-26% Kalk, 1-20% Humus, 8-68% Ton, 5-65% Schluff und 2-74% Sand wurden 5fach bis 16fach bestimmt und zeigten folgende mittlere Reproduzierbarkeit:

Gehaltsbereich	Median von Standardabweichung	Variationskoeffizient	Anzahl
4 - 75 mg P/kg	1 mg P/kg		60
15 - 280 mg P/kg		4 %.	78

(15 mg P/kg Boden entsprechen der tiefsten Kalibrationslösung 9b.)

[Die unter 6e und AAE10-Ex erwähnten Problemproben sind hier nicht berücksichtigt.]

### Richtigkeit

#### Unabhängigkeit von der Verdünnung

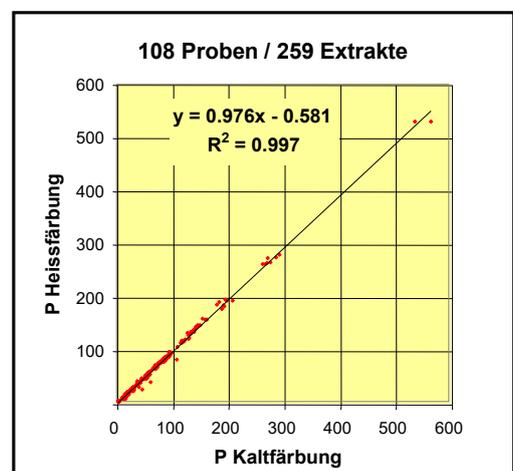
Die weitgehende Abwesenheit von Matrixeffekten zeigt sich darin, dass man dieselben Resultate erhält, wenn die Extrakte vor der oben beschriebenen Farbreaktion mit Extraktionslösung verdünnt werden. (Bei kalkhaltigen Böden bewirken Matrixeffekte bei der Kaltfärbung oft zu hohe Resultate, die beim Verdünnen kleiner werden und dann mit der Heissfärbung übereinstimmen).

#### Vergleich Heiss- und Kaltfärbung

259 Extrakte von 108 verschiedenen Proben zeigten eine gute Übereinstimmung von Heiss- und Kaltfärbung (siehe Graphik).

Mit nur den 78 Proben mit Kalk-Gehalten <5% (179 Extrakte) nähern sich die beiden Methoden noch mehr:

$$P\text{-heiss} = 0.994 \times P\text{-kalt} - 0.8$$



### **Vergleich mit Ringanalysen**

Die 30 Proben der Nährstoff-Ringanalysen 1999 und 2000 wurden mit der hier beschriebenen Heissfärbung analysiert: Die Resultate liegen alle im Toleranzbereich. Sie weichen durchschnittlich nur um  $\frac{1}{4}$  des Toleranzwertes vom Referenzwert ab.

### **Robustheit**

#### **Allgemein**

Bei der Handhabung der Heissfärbung wurden bisher keine Probleme mit der Robustheit festgestellt.

#### **Stabilität der Extrakte**

Die Extrakte sind bezüglich P mindestens 24 Stunden stabil.

#### **Stabilität der Farbe**

Die Farbe ist stabil. Eine Nachmessung nach 24 Stunden von 90 fertig gefärbten Lösungen von 45 verschiedenen Proben ergab dieselben Resultate. Die maximale Abweichung betrug 0.7 mg P / kg Boden.

#### **Einfluss der Spezies**

Die AAE10-Extraktion löst dank der EDTA auch relativ schwerlösliche Orthophosphate (z.B. Eisenphosphat). Eventuell anwesende andere Phosphatspezies, die mit der Kaltfärbung nicht erfasst würden, fallen deshalb nicht ins Gewicht.

### **Limitierung**

Es gibt Proben, die mit der AAE10-Extraktion keine reproduzierbaren P-Gehalte in den Extrakten geben (siehe Methode AAE10-Ex, Kapitel 4d).

## 7. Historie

Version	Art der Änderung	neu	bisher
Version 1 (1995)	Methode erstellt		
Version 1.2 (1996)	editorisch	Vereinheitlichung Methode	
Version 1.3 (1997)	editorisch	Methode auf Französisch übersetzt	
Version 1.4 (1999)	Einsatzbereich erweitert Präzisierung	Spezialkulturen Obs-Wein- und Gartenbau neu dazu Beschreibung Reagenz (5)	
Version 1.5 (2000)	Präzisierung Präzisierung Präzisierung	Wasserbad gestrichen Natriumacetat wasserfrei p.a. Messbeginn kolorimetrische Methode Wichtige Hinweise zur Messung im Kapitel Bemerkungen	
Version 2 (2001)	Änderung der Methode	P mit Heissfärbung (analog CO <sub>2</sub> -P) Kalbereich 0–240 mg /kg	P mit Kaltfärbung Kalbereich 0-300 mg P/kg
Version 2.2 (2020)	Elektronische Veröffentlichung mit geändertem Layout		

### Impressum

Herausgeber	Agroscope Reckenholzstrasse 191 8046 Zürich <a href="http://www.agroscope.ch/referenzmethoden">www.agroscope.ch/referenzmethoden</a>
Auskünfte	Diane Bürge
Copyright	© Agroscope 2020