

Stanovení amoniakálního dusíku a fosfátů jedinou stupňovou titrací

RADOVAN KUBÍČEK, Severomoravské lihovary a konzervárny, n. p., Olomouc

543.846 : 545.78

Již dříve byla vypracována dosud nezveřejněná metoda stanovení obsahu dusíku a kys. fosforečného v sekundárním fosforečnanu amonném (tzv. djamonfosfátu) jedinou stupňovou titrací. Tento způsob měl sloužit jednak k identifikačním účelům (při event. záměně pevných živných solí), jednak k velmi rychlé, provozně dostatečně přesné kontrole obsahu dusíku a P_2O_5 u živných solí při jejich event. znečištění nebo kontrole.

Tato metodika se však jeví jako zvláště vhodná k velmi rychlé kontrole složení roztoků živných solí s plně dostačující přesností stanovení amoniakálního dusíku a kys. fosforečné (P_2O_5), a to skoro ve všech významných kombinacích látek, používaných k přípravě roztoků živných solí. Podle dosažených výsledků vyhovuje přesnost stanovení plně pro provozní účely.

Přihlédneme-li k časové náročnosti stanovení P_2O_5 ať vážkového jako fosfomolybdenan, nebo po srážení hořečnatou solucí jako fosforečnan hořečnatno-amonné a konečně kolorimetrického, znamená navržená metodika vzhledem k neobyčejně snadnému a rychlému provedení možnost zavedení plně únosné provozní kontroly živení fermentačních procesů roztoky živných solí.

Základem popsaného způsobu je titrační stanovení dusíku formolovou titrací lóuhem podle *Hanuše* [1]. Vzhledem k ústojným vlastnostem fosfátů

však bylo nutno nově precizovat podmínky stanovení, s následující titrací třetího stupně kyseliny fosforečné po přídavku přebytku chloridu vápenatého. Tato následná titrace probíhá s uspokojivou přesností rovněž pouze za přesně definovaných podmínek. Jde tedy v podstatě o způsoby obecně známé, skloubené v celek, vhodný pro provozní kontrolu.

Materiál a metodika

K titraci bylo použito 0,1 N hydroxidu sodného ($f = 1,158$) a 0,1 N kyseliny sírové ($f = 0,979$). Jako výchozích látek se použilo:

1. Čistého sekundárního fosforečnanu amonného, připraveného z koncentrované kys. fosforečné a přebytku amoniaku. Preparát byl volně vysušen při teplotě laboratoře. Analyticky odpovídal vzorci $(NH_4)_2 H PO_4$.

Z něho byl připraven přesně 1% roztok (0,0757 M).

2. Sekundární fosforečnan sodný p. a.: roztok 0,076 M.

3. Síran amonné p. a.; 1% roztok (0,0757 M).

4. Kyselina fosforečná p. a., 0,5 N roztok ($f = 1,148$).

5. Amoniak p. a., 0,5 N roztok ($f = 0,977$ a 0,880).

6. Chlorid vápenatý p. a.; 10% roztok $CaCl_2$.

7. 20% roztok formaldehydu (připravený zředěním 40% preparátu 1:1), neutralizovaný na indikátor.

8. Směsný indikátor: 0,2% tetrabromfenolftaleinu a 1% thymolftaleinu v 96% etanolu.

9. Fenolftalein 1% roztok v etanolu.

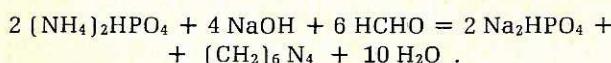
pH se měřilo Multoskopem Labora; skleněná elektroda proti nasycené kalomelové. pH ověřeno jednak pomocí Michaelisova standardního acetátového ústojeho pH 4,62; jednak pomocí fosfátových ústojeh CL v rozmezích pH 5 až 9.

K vlastnímu přezkoušení se použilo běžného technického „diamonfosfátu“.

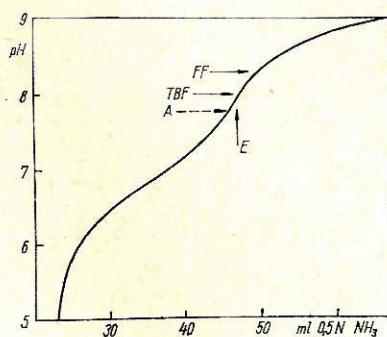
Základními složkami roztoků živných solí pro fermentaci jsou amonné soli kys. fosforečné (sekundární fosforečnan amonné), vodný roztok amoniaku, kys. fosforečná a síran amonné.

Metoda sama byla vypracována a přezkoušena především na sekundárním fosforečnanu amonné, poněvadž tato látka má ve všech možných kombinacích klíčové postavení. Vzhledem k tomu, že je o silně ústojně působící soustavě slabé kyselinu (druhý stupeň kys. fosforečné) a zásady, spočívá hlavní problém na vyřešení správného a spolehlivého způsobu indikace jednotlivých titračních stupňů.

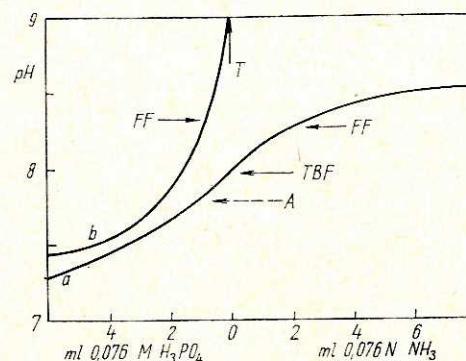
Při stanovení dusíku formolovou titrací podle Hanuše jde vesměs o titraci roztoků amonné solí silných kyselin hydroxidem sodným. Výchozího bodu lze dosáhnout neutralizací roztoku na metylčerveň, a po přídavku formaldehydu dotitrovávat na fenolftalein. Při Sörensenově zjišťování aminodusíku tvoří výchozí bod neutralizace na fenolftalein a dotitrovává se na stejný indikátor. U soustav, jež obsahují větší množství fosfátů a amonné solí nejsou tyto způsoby dobré použitelné. K určení výchozího bodu je třeba použít indikátoru, který by zachycoval dostatečně přesně neutralizaci druhého stupně kys. fosforečné amoniakem. Z tohoto výchozího bodu je možno po přídavku formaldehydu titračně stanovit přítomný dusík amonné solí převedením fosforečnanu amonného na sodný podle reakce:



Končený bod titrace se pohodlně určí na thymol-



Obr. 1. Část titrační křivky titrace 0,5 M H_3PO_4 , 0,5 M NH_3 . FF — počátek reakce fenolftaleinu; TBF — počátek zřejmé reakce tetrabromfenolftaleinu; A — první postřehnutelný počátek reakce tetrabromfenolftaleinu; E — bod ekvivalence — dotitrování 2. stupně kys. fosforečné



Obr. 2

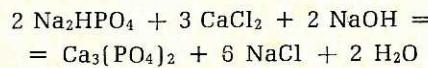
a — změny pH 50 ml roztoku 0,076 M $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ vlivem přídavků 0,076 M H_3PO_4 a 0,076 N NH_3 ; FF — zjištěný počátek reakce fenolftaleinu; TBF — zřetelný počátek reakce tetrabromfenolftaleinu; A — první postřehnutelný počátek reakce tetrabromfenolftaleinu; T — reakce 2. stupně kys. fosforečné; b — změny pH 50 ml roztoku 0,076 M Na_2HPO_4 vlivem přídavků 0,076 M H_3PO_4

ftalein [2]. Vhodný způsob indikace výchozího bodu titrace byl určen na základě průběhu titrační křivky při titraci 0,5 N kys. fosforečné, 0,5 N amoniakem, jež je zachycena na obr. 1. [Uspořádání: aby byly přibližně zachovány podmínky níže uvedených vlastních stanovení, bylo titrováno 20 ml 0,5 M kys. fosforečné ($f = 1,148$) zředěné 125 ml vody prosté CO_2 , 0,5 N amoniakem.] V bodě ekvivalence činí pH soustavy 7,9, a to zachycuje nejlépe tetrabromfenolftalein.*)

Jak bylo podrobně přezkoušeno, prvé známky reakce tetrabromfenolftaleinu je možno zachytit už při pH 7,7; při pH 7,9 až 8,0 je zbarvení zcela zřetelné. V případě použití fenolftaleinu je z křivky zřejmě značné přetitrování.

Na obr. 2 jsou vyznačeny výsledky měření pH v souvislosti s možností vizuální indikace roztoku Na_2HPO_4 (křivka a) a roztoku $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (křivka b), k nimž byla přidána vyznačená množství 0,076 M kys. fosforečné, resp. 0,076 N NH_3 . Je zřejmé, že při titraci na fenolftalein se při určení výchozího bodu dopouštíme asi 5% chyby, při dotitrovávání asi 2% chyby, zatímco při použití tetrabromfenolftaleinu s thymolftaleinem skoro žádné. Z dosažených výsledků vyplývá, že ke stanovení amonného dusíku v uvedených soustavách je nejvhodnější indikace na tetrabromfenolftalein s thymolftaleinem. Oba tyto ftaleinové indikátory mají přednost před jinými proto, že v kyselém prostředí nijak barevně neruší, a jsou-li použity ve vhodném poměru, neovlivňují se vzájemně svými barevnými odstíny. Aby bylo možno přesně zachytit zbarvení thymolftaleinu, byl použit ve směsném indikátoru v pátero- až desateronásobném množství proti tetrabromfenolftaleinu.

Pro stanovení přítomné kys. fosforečné jsme využili třetího titračního stupně — převedení na terciární fosfát hydroxidem za přítomnosti přebytku chloridu vápenatého podle reakce:



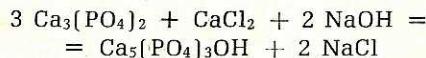
*.) Tetrabromfenolftalein lze pohodlně připravit bromací fenolftaleinu v roztoku v kys. octové. Interval přechodu podle Toička je pH 8,0 až 9,0 [3].

Analyticky se této reakce užívá jen velmi zřídka, poněvadž neprobíhá za všech okolností jednoznačně. Při laboratorní teplotě probíhá neúplně a zvolna, za vyšších teplot sice rychle, avšak reakce není jednoznačná. Má však přednost: žádná z běžných kyselých složek roztoku živných solí nemůže s kyselinou fosforečnou při této reakci interferovat. Zpřesňujeme-li podmínky stanovení, dává i tato reakce velmi dobře reprodukovatelné výsledky. Z praktických důvodů titrujeme při teplotách 60 až 90 °C.

Chlorid vápenatý třeba přidávat v dostatečném přebytku, pokud možno ve stálém množství; jako nejvhodnější se nám osvědčilo dodávat ke vzorku po stanovení dusíku roztok chloridu vápenatého, zahřát k varu a provést během 2 až 4 min titraci, kterou ukončíme při první zřetelné a stálé reakci thymolftaleinu (modré). Růžověfilové zbarvení tetrabromfenolftaleinu velmi citlivě upozorní na blížící se konec titrace.

Za uvedených podmínek není průběh reakce jednoznačný; spotřeba hydroxidu je poněkud vyšší, než odpovídá výše uvedené rovnici, a to jednak vlivem tvorby jistého podílu zásaditého fosforečnanu vápenatého, jednak při použití částečně karbonizovaného hydroxidu i vlivem srážení CaCO_3 .

Při výrazně alkalické reakci — po dosažení syté modrého zbarvení thymolftaleinu — je možno v některých případech za vhodných podmínek pozorovat po několika minutách odbarvení indikátoru; do titrování hydroxidem se podstatně zvýší spotřeba, a odpovídá přibližně reakci



spojené s tvorbou zásaditého fosforečnanu vápenatého. Na tuto okolnost je třeba pamatovat a ukončit titraci při prvním zřetelném zbarvení thymolftaleinu.

Třeba zdůraznit, že hydroxid používaný k titraci, má být co možná nejméně karbonizovaný. Vzhledem k uvedeným okolnostem, je nutné pro stanovení fosfátu užít proti stechiometrické hodnotě přepočítacího koeficientu, jenž se u jednotlivých laboratoří vzhledem k různému stupni karbonizace hydroxidu poněkud liší. Tento koeficient je možno pohodlně stanovit na vhodný čistý preparát, např. na připravený sekundární fosforečnan amonný nebo na fosforečnan sodno-amonného $(\text{NH}_4)_2\text{NaHPO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$.

Pracovní postup

Vlastní návod byl vypracován pro sekundární fosforečnan amonného. 1 g zkoušené soli se rozpustí v destilované vodě a doplní v odměrce na 100 ml. Pipetuje se 10 ml. Přidají se 3 až 4 kapky indikátoru a posoudí zbarvení. Je-li roztok bezbarvý, je třeba titrovat 0,1 N hydroxidem do zřetelně postřehnutelného růžověfilového zbarvení — spotřeba a ml, udávající přebytek kyselin. V opačném případě, je-li roztok výrazně růžový, titrujeme 0,1 N kyselinou do postřehnutelného zbarvení tetrabromfenolftaleinu, a tím se zjistí přebytek zásady. Ke stanovení dusíku přidáme asi 3 ml 20% roztoku for-

maldehydu a titrujeme 0,1 N hydroxidem do výrazně modrého zbarvení thymolftaleinu. Spotřeba b . Ke stanovení fosfátu se přičiní 5 ml 10% roztoku chloridu vápenatého, zahřeje k varu a titruje 0,1 N hydroxidem přes růžověfilové do modrého zbarvení. Spotřeba c . Výpočet obsahu amoniakálního dusíku pro sekundární fosforečnan amonného se provede podle vzorce

$$1,4008 \times b \times f = \% \text{ N}$$

Výpočet obsahu P_2O_5 ze spotřeby c by teoreticky byl

$$7,10 \times c \times f = \% \text{ P}_2\text{O}_5$$

Stechiometrický koeficient 7,10 by vzhledem k výše uvedeným důvodům vedl k příliš vysokým nálezům. Empiricky zjištěná hodnota přepočítacího koeficientu činí obvykle (u nepříliš karbonizovaného hydroxidu) 6,0 až 6,2. Z tabulky je zřejmý veliký význam správného stanovení přepočítacího koeficientu.

V případě, že zkoušený materiál odpovídá zhruba sekundárnímu fosforečnanu amonnému, je možno počítat obsah P_2O_5 z celé spotřeby ($b+c$) ze vzorce

$$2,367 \times (b+c) \times f = \text{P}_2\text{O}_5$$

V tabulce 1 jsou uvedeny výsledky praktických zjištění obsahu dusíku a P_2O_5 , jednak v čistém sekundárním fosforečnanu amonnému, jednak v jiných materiálech (kys. fosforečné, amoniaku, síranu amonnému) a v jejich směsích tak, jak se mohou vyskytovat v roztocích živných solí. Ke srovnání jsou některá stanovení provedena také s indikací fenolftaleinem. Pro výpočet P_2O_5 ze spotřeby c bylo použito empirického koeficientu 6,03, který byl stanoven na roztoku čistého $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

Jak je z tabulky 1 zřejmé, je přesnost nálezů pro provozní účely plně uspokojivá.

Pro stanovení dusíku a P_2O_5 v roztocích živných solí je třeba odměřovat taková množství, aby odpovídala přibližně 0,5 až 2 g substance ve 100 ml a pipetovat 10 ml ke stanovení. Výpočet je obdobný výše uvedenému. Pohodlně je vyjadřovat dusík i P_2O_5 v mg na g substance, resp. ml roztoku živných solí.

Diskuse

Popsaný způsob v nynější formě je vhodný skoro pro všechny roztoky živných solí k fermentačním procesům, pokud ovšem neobsahují výluh superfosfátu, kde vadí přítomnost rozpuštěných vápenatých solí. Vzhledem k vývoji ve fermentačním průmyslu se však zdá, že jako zdrojů živin bude čím dál, tím více používáno látek, skýtajících čiré, snadno připravitelné roztoky, tj. kys. fosforečné, amoniaku, sekundárního fosforečnanu amonného a síranu amonného. Ovšem metodu by bylo lze poměrně snadno upravit i pro případ přítomnosti superfosfátového výluhu, např. tím, že před vlastním započetím titrace by se k odměřenému vzorku (kyselému) přičinilo dostatečné množství roztoku šťovinu draselného, aby se bezpečně přítomné vápenaté soli odstranily, aby nezvyšovaly spotřebu při stanovení dusíku. Ve třetím stupni titrace, tj. při vlastním stanovení P_2O_5 by ovšem musel být pří-

Tabulka 1

Roztok ml	1	2	3	4	Spotř. a 0,1 N NaOH k neutral. ml	Indi- kátor	Spotř. b 0,1 N NaOH po přídavku HCHO ml	Dusík v mg			Spotř. c 0,1 NaOH po příd. CaCl ₂ ml	P ₂ O ₅ v mg			
								obsaženo	nalezeno	chyba %		obsaženo	nalezeno koef. 7,1	nalezeno koef. 6,03	
1a	10	—	—	—	0,00	TBFT	13,0	21,2	20,87	-1,5	7,5	53,7	61,5	52,3	-2,5
1b	10	—	—	—	0,00	TBFT	13,1	21,2	21,19	-0,05	7,7	53,7	63,1	53,7	0,0
1c	10	—	—	—	0,00	TBFT	13,1	21,2	21,19	-0,05	7,7	53,7	63,1	53,7	0,0
1d	10	—	—	—	0,00	TBFT	12,95	21,2	20,95	-1,1	7,75	53,7	63,6	54,1	+0,7
1e	10	—	—	—	0,00	TBFT	12,92	21,2	20,90	-1,4	7,7	53,7	63,1	53,7	0,0
2a	10	—	—	—	0,75	FF	12,0	21,2	19,31	-8,9	7,5	53,7	61,5	—	—
2b	10	—	—	—	0,70	FF	12,2	21,2	19,73	-6,9	7,55	53,7	61,9	—	—
2c	10	—	—	—	0,80	FF	12,0	21,2	19,31	-8,9	7,6	53,7	62,3	—	—
3a	—	2	—	—	18,0 + 17,8	MČ + TBFT	0,0	0,0	—	—	20,6	144	169,—	143,8	-0,2
3b	—	2	—	—	35,8	TBFT	0,0	0,0	—	—	21,0	144	172,2	146,5	+1,7
4a	10	2	—	—	20,50	TBFT	12,95	21,2	20,95	-1,2	18,9	136,1	155	131,9	-3,1
4b	10	2	—	—	21,20	FF	11,8	21,2	19,08	-10,—	20,5	136,1	168,2	143,1	+5,2
5a	10	—	2	—	7,70 H ₂ SO ₄	TBFT	19,8	32,7	32,01	-1,9	7,8	53,7	63,9	54,4	+1,4
5b	10	—	2	—	7,90 H ₂ SO ₄	TBFT	20,0	32,7	32,34	-1,1	7,7	53,7	63,1	53,7	0,0
6a	10	—	—	10	0,00	TBFT	26,1	42,4	42,2	-0,4	7,8	53,7	63,9	54,4	+1,4
6b	10	—	—	5	1,00	FF	18,4	31,8	29,75	-6,4	7,8	53,7	63,9	54,4	+1,4
6c	10	—	—	5	0,00	TBFT	19,6	31,8	31,7	-0,3	7,7	53,7	63,1	53,7	0,0
7a	—	—	—	10	1,00	TBFT	12,0	21,2	19,44	-8,4	0,15	0,0	1,23	1,05	—
7b	—	—	—	10	0,05	MČ + TBFT	12,9	21,2	20,88	-1,5	0,15	0,0	1,23	1,05	—

f 0,1 N NaOH 1,156; TBFT — směsny indikátor; FF — fenolftalein; MČ — metylcerveň; roztok č. 1 : 1,00 % (NH₄)₂HPO₄; roztok č. 2 : 0,5 M H₃PO₄ (f = 1,148); roztok č. 3 : 0,5 N NH₃ (f = 0,880); roztok č. 4 : 1,00 % (NH₄)₂SO₄

davek roztoku CaCl₂ tak volen, aby stačil srazit jak přítomný fosfát, tak i přebytek štovanu.

Uvedenému způsobu stanovení dusíku se však zcela vyvyká močovinový dusík, a to třeba při skladbě živin respektovat. V případě, že v kontrolní laboratoři není k dispozici směsny indikátor v uvedeném složení, je možno nouzově použít i fenolftaleinu s přihlédnutím k nutným korekcím.

Souhrn

Byla vypracována velmi rychlá stupňová titrační metoda k postupnému stanovení dusíku a fosfátu v živných solích a v roztocích živných solí pro fer-

mentaci. Spočívá na stanovení dusíku formolovou titrací na tetrabromfenolftalein a thymolftalein s následujícím titračním stanovením P₂O₅ za přítomnosti chloridu vápenatého.

Při stanovení P₂O₅ třeba použít empirického pře- počítacího koeficientu.

Literatura

- [1] Tomíček, O.: Odměrná analýza, čs. společnost chemická, Praha, 1949, s. 134.
- Jureček, M.: Organická analýza, Přírodovědecké nakladatelství, Praha, 1950, s. 416.
- [2] Tomíček, O.: tamtéž, s. 123.
- [3] Tomíček, O.: Chemické indikátory, Jednota čsl. matematiků a fyziků, Praha, 1946, s. 54.

Došlo do redakce 22. 12. 1965.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АММИАЧНОГО АЗОТА И ФОСФАТОВ ЕДИНЫМ СТУПЕНЧАТЫМ ТИТРОВАНИЕМ
В статье описывается новый, скоростный метод разработанный для определения аммиачного азота и фосфатов. Метод основан на ступенчатом титровании и служит для определения азота и фосфатов в питательных солях и в растворах питательных солей применяемых для ферментации. Азот определяется титрованием по тетрабромфенолфталеину и тимолфталеину с последующим определением P₂O₅ титрованием в присутствии хлористого кальция. При определении P₂O₅ необходимо пользоваться эмпирическим переводным коэффициентом.

DIE AMMONIAKSTICKSTOFF- UND PHOSPHATBESTIMMUNG MITTELS EINER EINZIGEN STUFENTITRATION

Es wurde eine sehr schnelle Stufen-titrationsmethode zur stufenweisen Stickstoff- und Phosphatbestimmung in Nährsalzen und Nährsalzlösungen der Fermentationen ausgearbeitet. Die Methode besteht auf der Stickstoffbestimmung durch Formoltitration auf Tetrabromphenolphalein und Thymolphalein und sukzessiver Titration bestimmt von P₂O₅ in der Anwesenheit von Kalziumchlorid. Bei der P₂O₅-Bestimmung muss ein empirischer Umrechnungsfaktor angewandt werden.

DETERMINATION OF AMMONIA NITROGEN AND PHOSPHATES BY A SINGLE TWO-STAGE TITRATION

A new, time-saving titration method has been developed for the determination of nitrogen and phosphates in nutritive combinations and their solutions used in fermentation processes. Nitrogen is determined by formol titration for tetrabromphenolphalein and thymolphalein. In the subsequent stage P₂O₅ is determined by titration in the presence of CaCl₂. An empirical formula is required for calculating the amount of P₂O₅.

