

Lời nói đầu

TCVN 8559 : 2010 được chuyển đổi từ 10 TCN 307- 2004 theo qui định tại khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 6 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ qui định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật.

TCVN 8559 : 2010 do Viện Thổ nhưỡng Nông hoá biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Phân bón – Phương pháp xác định phốt pho hữu hiệu

Fertilizers – Method for determination of available phosphorus

1. Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định phốt pho hữu hiệu của các loại phân bón có chứa phốt pho dạng khoáng và dạng hữu cơ (phân khoáng đơn, khoáng phức hợp, khoáng hỗn hợp, phân hữu cơ, hữu cơ vi sinh, hữu cơ sinh học, hữu cơ khoáng, than bùn...).

2. Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau đây là cần thiết để áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851-89 (ISO 3696- 1987), *Nước dùng cho phân tích trong phòng thí nghiệm- Yêu cầu kỹ thuật.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong nông nghiệp, "Phốt pho hữu hiệu" là một chỉ tiêu biểu thị mức độ hoà tan của hợp chất phốt pho với một số dung môi quy ước được nhiều nước sử dụng như dung dịch axit xitric 2%, dung dịch amonixitrat pH= 7, dung dịch axit sunfuric 0,1 N.

4 Nguyên tắc

Tiêu chuẩn này sử dụng dung môi là dung dịch axit xitric 2 % hoà tan (chiết) các hợp chất phốt pho "hữu hiệu" trong tất cả các loại phân bón có phốt pho. Hàm lượng phốt pho trong dung dịch chiết được xác định bằng phương pháp trắc quang sau khi đã phân huỷ gốc xitrat. Đo màu vàng của phức chất tạo thành giữa phốt pho và vanadomolybdat, hoặc đo màu xanh molipden do phản ứng của phốt pho với molybdat tạo thành phức đa dị vòng có màu xanh khi bị khử, từ đó suy ra hàm lượng phốt pho "hữu hiệu" trong mẫu. Gốc xitrat cản trở quá trình lên màu phốt pho, nên bắt buộc phải oxy hóa gốc xitrat

trong dung dịch mẫu trước khi đo nồng độ photpho. Phương pháp đo màu vàng vanadomolybdat thích hợp cho các dung dịch mẫu có nồng độ photpho cao, còn phương pháp đo màu xanh molybden thích hợp cho các dung dịch mẫu có nồng độ photpho thấp.

5 Thuốc thử

Hoà chất sử dụng để pha các chất chuẩn đạt loại tinh khiết hoá học, hoá chất sử dụng để phân tích đạt loại tinh khiết phân tích.

5.1 Nước cất, TCVN 4851- 89.

5.2 Dung dịch axit xitric, nồng độ 2 % (dung dịch chiết):

Cân 20 g axit xitric tinh thể vào cốc dung tích 1000 ml, thêm 400 ml nước, khuấy tan, chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml, thêm nước đến vạch định mức. Chuẩn bị dung dịch trước khi dùng.

5.3 Dung dịch tiêu chuẩn photpho, nồng độ 100 mg P/l:

Cân 0,4390 g kali dihydrophosphat (KH_2PO_4) đã sấy khô 2 h ở 105 °C để nguội trong bình hút ẩm vào cốc dung tích 1000 ml, thêm 500 ml nước, khuấy tan thêm 25 ml H_2SO_4 4 N, chuyển dung dịch vào bình định mức dung tích 1000 ml, thêm nước đến vạch định mức, lắc đều, dung dịch có nồng độ photpho 100 mg P/l, bảo quản kín ở 20 °C.

5.4 Hỗn hợp tạo màu vàng vanadomolybdat:

5.4.1 Cân 25 g amoni molybdat [$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$] cho vào cốc dung tích 500 ml, thêm 300 ml nước nóng 60 °C, khuấy tan, để nguội, chuyển vào bình định mức dung tích 500 ml, thêm nước đến vạch định mức (dung dịch 1).

5.4.2 Cân 1,25 g amoni vanadat (NH_4VO_3) vào cốc dung tích 500 ml, thêm 300 ml HNO_3 1 N, khuấy tan, chuyển vào bình định mức dung tích 500 ml, thêm HNO_3 1 N đến vạch định mức (dung dịch 2).

5.4.3 Trộn 2 dung dịch trên với thể tích bằng nhau (1: 1) được hỗn hợp tạo màu vàng vanadomolybdat, trộn trước khi sử dụng.

5.5 Hỗn hợp khử tạo màu xanh, sử dụng cho phương pháp đo màu xanh molybden (xem phụ lục A).

5.6 Chỉ thị màu α dinitrophenol, nồng độ 0,1 %.

5.7 Dung dịch glucoza, nồng độ 10 %.

5.8 Dung dịch kali pemanganat (KMnO_4) nồng độ 5 %.

5.9 Axit sunfuric (H_2SO_4) $d = 1,84$.

5.10 Axit nitric (HNO_3) $d = 1,4$.

5.11 Dung dịch axit nitric (HNO_3), nồng độ 2 N:

Lấy 135 ml HNO_3 $d=1,4$ vào cốc dung tích 1000 ml đã có sẵn 500 ml nước, khuấy đều chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml, thêm nước đến vạch định mức, bảo quản kín.

5.12 Axit clohydric (HCl) $d = 1,18$.

5.13 Natri hydroxyt (NaOH).

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ thông thường trong phòng thí nghiệm và các thiết bị, dụng cụ như sau:

6.1 Máy trắc quang, có bước sóng từ 400 nm đến 800 nm.

6.2 Máy lắc.

6.3 Tủ sấy, có nhiệt độ $200^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

6.4 Cân phân tích, độ chính xác 0,0002 g.

6.5 pH kế.

6.6 Rây, đường kính lỗ 2 mm.

6.7 Bếp cách thủy hoặc cách cát, điều khiển được nhiệt độ.

6.8 Phễu lọc, đường kính 8 mm.

6.9 Giấy lọc mịn.

6.10 Bình tam giác, dung tích 500 ml.

6.11 Cốc chịu nhiệt, dung tích 250 ml.

6.12 Bếp phân huỷ, điều khiển được nhiệt độ.

6.13 Buret, dung tích 50 ml, độ chính xác 0,1 ml.

6.14 Bình định mức, dung tích 50, 100, 1000 ml.

7 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

7.1 Mẫu đem đến phòng thí nghiệm được đảo trộn đều, trải phẳng trên khay nhựa hoặc tấm nilông, lấy mẫu trung bình theo phương pháp đường chéo góc, trộn đều, lấy hai phần đối diện và loại bỏ dần cho đến khi còn khoảng 500 g;

7.2 Chia mẫu trung bình thành hai phần bằng nhau, cho vào hai túi PE buộc kín, ghi mã số phân tích, ngày, tháng, tên mẫu (và các thông tin cần thiết), một phần làm mẫu lưu, một phần làm mẫu phân tích.

7.3. Nghiền mịn mẫu rồi qua rây có đường kính lỗ 2 mm, trộn đều làm mẫu phân tích.

7.4. Các mẫu có ẩm độ cao có thể cân một lượng mẫu xác định, sấy khô ở nhiệt độ 70 °C, xác định độ ẩm, nghiền mịn mẫu khô qua rây có đường kính lỗ 2 mm làm mẫu phân tích. Lưu ý khi tính kết quả phải nhân với hệ số chuyển đổi từ khối lượng mẫu khô sang khối lượng mẫu thực tế ban đầu.

7.5 Các mẫu không thể xử lý theo (7.3) và (7.4) có thể lấy một lượng mẫu khoảng 20 g, nghiền thật mịn làm mẫu phân tích.

8 Cách tiến hành

8.1 Chiết mẫu

8.1.1 Cân 2 g ± 0,001 g mẫu đã được chuẩn bị theo (7.3.3) hay (7.3.4), (7.3.5) cho vào bình tam giác dung tích 500 ml.

8.1.2 Thêm 200 ml dung dịch chiết axit xitric 2 %.

8.1.3 Lắc 60 min (yêu cầu dung dịch chiết và mẫu phải thấm đều; đối với mẫu cứng khó thấm dịch, có thể làm nghiền mẫu trong cối sứ với dịch chiết trước khi lắc lọc).

8.1.4 Lọc dung dịch qua phễu khô giấy lọc mịn vào bình tam giác dung tích 250 ml, lắc đều, thu được dung dịch A.

8.1.5 Chuẩn bị đồng thời 2 mẫu trắng không có mẫu thử, tiến hành đồng nhất điều kiện như mẫu thử.

8.2 Oxy hoá (phân huỷ) gốc xitrat trong dung dịch A

Sử dụng một trong hai cách để oxy hoá gốc xitrat trong dung dịch A:

8.2.1 Cách thứ nhất: Oxy hoá gốc xitrat trong dung dịch A bằng axit HNO₃ và H₂SO₄

8.2.1.1 Dùng pipet lấy chính xác 20 ml dung dịch A cho vào cốc chịu nhiệt dung tích 250 ml.

8.2.1.2 Thêm 2 ml dung dịch H₂SO₄ trong nước tỷ lệ 1: 1 theo thể tích.

8.2.1.3 Đun sôi nhẹ trên bếp cách cát khoảng 30 min.

8.2.1.4 Thêm 10 ml HNO₃ đậm đặc.

8.2.1.5 Đun sôi nhẹ trên bếp cách cát đến gần cạn (không được để cạn khô), có khói SO₂ bay ra, dung dịch mất màu nâu, để nguội.

8.2.1.6 Thêm 10 ml nước cất đun sôi 5 min.

8.2.1.7 Chuyển sang bình định mức dung tích 50 ml, thêm nước đến vạch định mức, lắc đều. Gọi đây là dung dịch B để xác định photpho.

CHÚ Ý 1: Dung dịch sau khi oxy hoá phải không còn màu vàng mới áp dụng phương pháp trắc quang đo màu vàng vanadomolybdat, nếu còn màu vàng phải chuyển sang đo màu xanh molipden.

8.2.2 Cách thứ hai: Oxy hoá gốc xitrat trong dung dịch A bằng KMnO_4 dư trong môi trường axit, sau đó khử mangan bằng dung dịch glucoza.

8.2.2.1 Dùng pipet lấy chính xác 20 ml dung dịch A cho vào cốc chịu nhiệt dung tích 250 ml.

8.2.2.2 Thêm 1ml đến 2 ml dung dịch H_2SO_4 trong nước tỷ lệ 1: 1 theo thể tích và khoảng 5 ml dung dịch KMnO_4 5 %.

8.2.2.3 Đun sôi nhẹ trên bếp cách cát khoảng 15 min cho đến khi dung dịch chuyển sang có kết tủa màu nâu bền (biểu thị đã dư KMnO_4). Nếu dung dịch chưa có kết tủa màu nâu bền, phải tiếp tục cho thêm từng giọt dung dịch KMnO_4 tới xuất hiện kết tủa màu nâu bền.

8.2.2.4 Thêm khoảng 5 ml dung dịch glucoza 10 %, giảm bớt nhiệt độ bếp.

8.2.2.5 Đun sôi nhẹ khoảng 5 min tới mất kết tủa màu nâu. Nếu còn kết tủa màu nâu phải cho thêm glucoza 10 % tới mất kết tủa màu nâu, dung dịch trong suốt.

8.2.2.6 Chuyển sang bình định mức dung tích 50 ml, thêm nước đến vạch định mức, lắc đều. Gọi đây là dung dịch B để xác định photpho.

8.3 Kiểm tra thiết bị trắc quang

Các thiết bị trắc quang có bước sóng từ 400 nm đến 800 nm, độ phân giải bước sóng nhỏ hơn 8 nm, trong khoảng đo độ hấp thụ quang và nồng độ photpho có tương quan theo phương trình $y = ax$ đều có thể sử dụng để phân tích photpho.

8.4 Phương pháp trắc quang xác định "photpho hữu hiệu"- phương pháp đo "màu vàng vanadomolypdat"

Áp dụng cho các mẫu có hàm lượng photpho cao, dung dịch A sau phân huỷ không có màu vàng.

8.4.1 Lập thang chuẩn và vẽ đồ thị đường chuẩn photpho, khoảng nồng độ từ 0 mg P/l đến 20 mg P/l:

8.4.1.1 Pha loãng dung dịch photpho gốc nồng độ 100 mg P/l thành dung dịch làm việc nồng độ 50 mg P/l, đủ dùng trong ngày.

8.4.1.2 Sử dụng 8 bình định mức dung tích 50 ml.

8.4.1.3 Cho vào mỗi bình theo thứ tự số ml dung dịch tiêu chuẩn photpho 50 mg P/l theo bảng 1.

8.4.1.4 Thêm nước và 2 giọt chỉ thị α dinitrophenol, trung hoá axit dư bằng từng giọt NH_4OH 10 % đến khi dung dịch chuyển màu vàng, sau đó axit hoá bằng vài giọt HCl 10 % cho hết màu vàng (hoặc sử dụng chỉ thị giấy congô đỏ).

8.4.1.5 Thêm 10 ml dung dịch HNO_3 2 N vào mỗi bình, thêm nước cất đến khoảng 40 ml.

8.4.1.6 Thêm 5 ml dung dịch vanadomolypdat và thêm nước cất đến vạch định mức 50 ml, lắc trộn đều. Để yên 20 min cho ổn định màu.

8.4.1.7 Đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 420 nm (hoặc 430 nm).

Bảng 1- Hướng dẫn pha thang chuẩn

Nồng độ dung dịch photpho (Từ 0 mg P/l đến 20 mg P/l)	Số ml dung dịch tiêu chuẩn 50 mg P/l cho vào mỗi bình định mức dung tích 50 ml
0,0	0,0
2,0	2,0
4,0	4,0
6,0	6,0
8,0	8,0
10,0	10,0
15,0	15,0
20,0	20,0

8.4.1.8 Lập đường chuẩn (hoặc phương trình) biểu diễn tương quan giữa độ hấp thụ quang và nồng độ dung dịch photpho tiêu chuẩn.

8.4.2 Đo dung dịch mẫu (trong dung dịch B)

8.4.2.1 Lấy chính xác một lượng dung dịch B có khoảng 0,2 mg P đến 1 mg P cho vào bình định mức 50 ml (lượng hút tùy theo hàm lượng photpho trong dung dịch mẫu).

8.4.2.2 Các bước tiếp theo tiến hành như đo thang chuẩn, xem từ (8.4.1.4) đến (8.4.1.7).

8.4.2.3 Căn cứ vào độ hấp thụ quang và đồ thị đường chuẩn xác định được nồng độ photpho trong dung dịch đo, từ đó suy ra hàm lượng photpho trong mẫu.

CHÚ Ý 2:

1) Với mẫu có hàm lượng photpho hữu hiệu từ 1 % P đến 5 % P, lấy 20 ml dung dịch A để oxy hoá gốc xitrat, thì nồng độ photpho trong dung dịch B sẽ trong khoảng từ 40 mg P/l đến 200 mg P/l, lượng hút dung dịch B là 5 ml đem lên màu sẽ phù hợp với thang chuẩn.

2) Mẫu có hàm lượng photpho hữu hiệu cao phải pha loãng để lấy lượng dung dịch phù hợp, pha loãng phải thận trọng để tránh sai số, cần pha loãng trong bình định mức, lượng dịch lấy để pha loãng không ít hơn 5ml.

9 Tính kết quả

9.1. Hàm lượng photpho hữu hiệu theo phần trăm (%) được tính theo công thức:

$$\% P = \frac{a \times V_4 \times V_2 \times V \times 100}{1000 \times V_3 \times V_1 \times m \times 1000}$$

Trong đó:

- a Nồng độ photpho tìm được trên đường chuẩn tính bằng miligam P/lit (mg P/l);
- m Khối lượng mẫu cân đem chiết tính bằng gam (g);
- V Thể tích dung dịch chiết tính bằng mililit (200 ml dung dịch A);
- V₁ Thể tích dung dịch lấy để oxy hoá tính bằng mililit (20 ml);
- V₂ Thể tích dung dịch sau oxy hoá tính bằng mililit (50 ml dung dịch B);
- V₃ Thể tích dung dịch B lấy lên màu tính bằng mililit (ml);
- V₄ Thể tích bình lên màu tính bằng mililit ml (50 ml);
- 100; 1000 Các hệ số quy đổi.

9.2. Hàm lượng photpho hữu hiệu quy đổi về phần trăm P₂O₅ được tính theo công thức:

$$\% P_2O_5 = \% P \times 2,291$$

Trong đó:

2,291 Hệ số quy đổi từ P sang P₂O₅

9.3 Kết quả phép thử là giá trị trung bình các kết quả của ít nhất hai lần thử được tiến hành song song. Nếu sai lệch giữa các lần thử lớn hơn 5 % so với giá trị trung bình của phép thử thì phải tiến hành lại.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm cần bao gồm những thông tin sau:

- Viện dẫn tiêu chuẩn này;
- Đặc điểm nhận dạng mẫu;
- Kết quả xác định lân hữu hiệu;
- Những chi tiết không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy chọn và các yếu tố có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Phương pháp trắc quang xác định photpho

Phương pháp đo "màu xanh molipden"

Phương pháp đo "màu xanh molipden" áp dụng cho mẫu có hàm lượng photpho hữu hiệu thấp, hoặc dung dịch sau phân huỷ có màu vàng.

A.1 Thuốc thử

Hỗn hợp khử và tạo màu

A.1.1 Dung dịch 1, Amoni vanadat 1,25 % trong H_2SO_4 5 N:

A.1.1.1 Cân 12,5 amoni vanadat $[(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O]$ vào cốc dung tích 1000 ml, thêm 200 ml nước nóng 60 °C, khuấy tan, để nguội (dung dịch a), nếu đục phải lọc.

A.1.1.2 Lấy 140 ml axit sunfuric (H_2SO_4 d = 1,84) vào cốc đã có sẵn 500 ml nước, khuấy đều (dung dịch b).

A.1.1.3 Rót từ từ dung dịch b vào dung dịch a rồi thêm nước cho đủ 1000 ml, lắc trộn đều, được dung dịch 1.

A.1.2 Dung dịch 2, Kali antimoantartrat 0,06 % (W/V trong nước).

A.1.3 Dung dịch 3, Axit ascorbic 2 % (W/V trong nước) pha dùng trong ngày.

A.1.4 Hỗn hợp ba dung dịch 1, 2, 3 theo tỷ lệ 2:1:1 (V/V/V) được hỗn hợp khử và tạo màu; sử dụng trong ngày.

A2 Tiến hành thử

A.2.1 Chiết mẫu và oxy hoá gốc xitrat, xem (8.1) và (8.2).

A.2.2 Lập thang chuẩn và vẽ đồ thị đường chuẩn photpho, khoảng nồng độ từ 0 mg P/l đến 1 mg P/l:

A.2.2.1 Pha loãng dung dịch photpho gốc nồng độ 100 ppm P thành dung dịch có nồng độ 10 ppm P.

A.2.2.2 Sử dụng 6 bình định mức dung tích 50 ml, cho vào mỗi bình theo thứ tự ml dung dịch tiêu chuẩn 10 mg P/l theo bảng A.1,

A.2.2.3 Thêm nước cất và 2 giọt chỉ thị α dinitrophenol, trung hoà axit dư bằng từng giọt NH_4OH 10 % cho đến khi dung dịch chuyển màu vàng, sau đó axit hoá bằng vài giọt HCl 10 % cho hết màu vàng (hoặc sử dụng chỉ thị giấy congô đỏ).

A.2.2.4 Thêm nước tới khoảng 30 ml cho mỗi bình, Thêm 8 ml hỗn hợp khử tạo màu và thêm nước cất tới vạch mức, lắc trộn đều, để yên 20 min.

Bảng A.1- Hướng dẫn pha thang chuẩn

Nồng độ dung dịch photpho (Từ 0 mg P/l đến 1 mg P/l)	Số ml dung dịch tiêu chuẩn 10 mg P/l cho vào mỗi bình định mức dung tích 50 ml
0,0	0,0
0,2	1,0
0,4	2,0
0,6	3,0
0,8	4,0
1,0	5,0

CHÚ THÍCH:Thang chuẩn được lập trước khi tiến hành đo mẫu

A.2.2.5 Đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 720 nm hoặc 820 nm (ở 20 °C màu bền 24 h).

A.2.2.6 Lập đồ thị đường chuẩn (hoặc phương trình) biểu diễn tương quan giữa độ hấp thụ quang và nồng độ dung dịch photpho tiêu chuẩn.

A.2.3 Đo dung dịch mẫu:

A.2.3.1 Lấy chính xác một lượng dung dịch mẫu sau phân hủy có khoảng 0,01 mg P đến 0,05 mg P (tùy theo hàm lượng photpho trong mẫu) cho vào bình định mức dung tích 50 ml.

A.2.3.2 Các bước tiếp theo tiến hành giống lập thang chuẩn từ (A.2.2.3) đến (A.2.2.5).

A.2.3.3 Căn cứ vào độ hấp thụ quang và đồ thị tiêu chuẩn xác định được nồng độ photpho trong dung dịch đo, từ đó suy ra hàm lượng photpho trong mẫu.

CHÚ Ý:

Với mẫu có hàm lượng photpho hữu hiệu lớn hơn 0,25 % P, thì nồng độ photpho trong dung dịch A sẽ lớn hơn 0,025 mg P/ml và nồng độ photpho trong dung dịch B sẽ lớn hơn 0,01 mg P/ml, cần phải pha loãng dung dịch B rồi lấy lượng dung dịch phù hợp thang chuẩn, không nên lấy trực tiếp lượng dung dịch B nhỏ hơn 5 ml.

A.3 Tính kết quả: Xem (9.1) và (9.2)