

МЕТОДИ І МЕТОДИКИ

УДК 543.3:547.304.2

DOI <https://doi.org/10.32851/wba.2020.2.16>

ФОТОКОЛОРИМЕТРИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ СПЛУК АМОНІЮ У ПРИРОДНИХ ВОДАХ

Біла Т.А. – к.с.-г.н., доцент,

Ляшенко Є.В. – к.х.н., доцент,

Охріменко О.В. – к.т.н, доцент,

*Херсонський державний аграрно-економічний університет,
kaf.chemistry@ukr.net*

Нітроген є основним компонентом живих організмів. Внаслідок розкладання білків у водоймах утворюється амоніак, який із часом окислюється до нітритів і нітратів. Амоніак вважається одним з найбільш важливих забруднюючих речовин у водному середовищі із-за його високої токсичності і поширеності в поверхневих водних системах.

Коли аміак присутній у воді на досить високому рівні, водним організмам важко нейтралізувати токсикант в достатній мірі, що призводить до накопичення токсичних речовин у внутрішніх тканинах і крові і, можливо, до смерті. Екологічні фактори, такі як рН і температура, можуть впливати на токсичність амоніаку для водних тварин. Присутність амоніаку в концентраціях близько 1 мг/дм³ знижує здатність гемоглобіну риб зв'язувати кисень.

Підвищена концентрація амоніаку та йонів амонію може бути використана в якості індикаторного показника, що відображає погіршення санітарного стану водного об'єкта. Найпоширенішим способом визначення концентрації амонійного азоту є фотоколориметричний метод.

Фотоколориметричні методи визначення йонів амонію з реактивом Несслера та на основі індофенола завдяки простоті методики, дозволяють оперативно та точно вимірювати вміст амонійного азоту у природних водах.

Вміст йонів амонію у ставах для риборозведення Голопристанського рибгоспу Херсонської області експериментально досліджували магістри факультету рибного господарства та природокористування у навчальній хімічній лабораторії кафедри хімії та біології. Вміст йонів амонію у поверхневих водах визначали фотоколориметричним методом з реактивом Несслера. У більшості ставів за результатами проведених досліджень спостерігається підвищений вміст амонійного азоту, що свідчить про забруднення води органічними речовинами та добривами. Це сприяє зменшенню вмісту розчинного кисню у воді та виникненню гіпоксичних умов у водоймі.

Ключові слова: амоній, амоніак, моніторинг природних вод, кількісний аналіз, фотоколориметрія.

Постановка проблеми. Погіршення якості води і забруднення поверхневих і підземних джерел є актуальною проблемою сьогодення. Основні проблеми, що негативно впливають на якість води річок і озер, виникають в результаті невідповідного очищення побутових стічних вод, слабого контролю за скиданням промислових стічних вод, втрати і руйнування водозбірних площ, нераціонального розміщення промислових підприємств, збезлісення та нераціональних методів ведення сільського господарства. Порушується природний баланс водних екосистем, і виникає загроза для живих прісноводних ресурсів.

Тому необхідно проводити якісний і кількісний аналіз води і визначати можливості застосування її для рибництва. Одним із засобів охорони водойм від антропогенного забруднення є хіміко-аналітичний контроль за якістю води.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Якість води визначається складом, концентрацією і властивостями домішок.

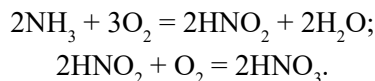
USA агентство з захисту навколишнього середовища (EPA – United States Environmental Protection Agency) значну увагу надає забрудненню води аміаком і солями амонію, які є складовою частиною азотного забруднення [1]. Аміак є однією з декількох форм азоту, які існують в водному середовищі.

Нітроген є основним компонентом живих організмів. У природі, зокрема й у водоймах, постійно відбувається колообіг сполук нітрогену за участю численних процесів, як у живій природі, так і в неживій. Внаслідок розкладання білків у водоймах утворюється амоніак, який із часом окислюється до нітритів і нітратів. Наявність тих чи інших сполук нітрогену дає змогу встановити час надходження забруднених аміачними сполуками стічних вод:

– наявність аміаку і відсутність нітритів і нітратів – з абруднення відбулося недавно;

– одночасна наявність і відновлених, і окиснених сполук нітрогену – з часу скидання стічних вод пройшов певний час;

– високий вміст нітритів і особливо нітратів за відсутності сполук амонію – забруднення давнє – аміак встиг окиснитися:



На відміну від інших форм азоту, які можуть викликати евтрофікацію водойми при підвищених концентраціях, основною проблемою з аміаком є його пряма токсична дія на водну флору і фауну, яка посилюється підвищеним рівнем рН і температурою. Аміак вважається одним з найбільш важливих забруднюючих речовин у водному середовищі із-за його високої токсичності і поширеності в поверхневих водних системах.

Аміак виробляється для комерційних добрив та інших промислових застосувань. Природні джерела аміаку включають розкладання або розщеплення органічних відходів, газообмін з атмосферою, лісові пожежі, відходи тварин і людини і процеси фіксації азоту.

Коли аміак присутній у воді на досить високому рівні, водним організмам важко нейтралізувати токсикант в достатній мірі, що призводить до накопичення токсичних речовин у внутрішніх тканинах і крові і, можливо, до смерті. Екологічні фактори, такі як рН і температура, можуть впливати на токсичність аміаку для водних тварин.

Присутність амонію в концентраціях вище ніж 1 мг/дм³ знижує здатність гемоглобіну риб зв'язувати кисень. Ознаки інтоксикації – біохімічні порушення, судороги риби. Механізм токсичної дії – порушення центральної нервової системи, ураження зябрового епітелію, гемоліз (розрив) еритроцитів. Підвищена концентрація іонів амонію може бути використана в якості індикаторного показника, що відображає погіршення санітарного стану водного об'єкта, процесу забруднення поверхневих і підземних вод, в першу чергу побутовими і сільськогосподарськими стоками.

Нормативними документами дозволено визначати концентрацію йонів амонію потенціометричним методом [2], способом дистилування та титрування амоніаку [3] та фотоколориметричним методом з реактивом Несслера [4]. Останній, вочевидь, найбільш чутливий.

Фотоколориметрія – це метод аналізу, в основі якого лежить визначення поглинання поліхроматичного випромінювання у видимій ділянці спектра (400 – 700 нм). Цей метод визначення концентрації речовини заснований на вимірюванні інтенсивності світлового потоку, який пройшов крізь забарвлений розчин.

Постановка завдання. Магістри ХДАУ спеціальності «Екологія» активно залучаються до науково-дослідницької роботи, що дозволяє найбільш ефективно формувати у них екологічні компетенції та навички, необхідні в їх подальшій професійній діяльності [5]. Одним з проектів у магістерській самостійній роботі було дослідження вмісту сполук амонію у ставах для риборозведення Голопристанського рибгоспу Херсонської області.

Об'єкт дослідження – поверхневі води ставів Голопристанського рибгоспу.

Матеріали і методи дослідження. Фотоколориметричні методи визначення йонів амонію у поверхневих водах.

Існує кілька варіантів визначення амоніаку і йону амонію у розчинах. Найвідоміші з них:

З реактивом Несслера.

Метод базується на утворенні комплексної сполуки червоно-коричневого кольору під час взаємодії амоніаку або солей амонію з реактивом Несслера: $\text{NH}_3 + 2\text{K}_2[\text{HgI}_4] + 3\text{KOH} = [\text{OHg}_2\text{NH}_2] + 7\text{KI} + 2\text{H}_2\text{O}$

Чутливість даного методу дорівнює 0,05 мг/л, що значно нижче від ГДК. Без розбавлення можна визначити концентрації до 4 мг/л йонів NH_4^+ в 1 л води.

У мірну колбу об'ємом 50 мл додають 1 мл реактиву Несслера, доводять об'єм дистильованою водою до мітки і перемішують. Через 3 хвилини вимірюють оптичну густину розчину на фотоелектроколометрі з синім світлофільтром ($\lambda = 400$ нм) в кюветі з товщиною поглинаючого шару 10 мм. Масу йонів амонію у пробі визначають за калібрувальним графіком.

Для побудови градуювальної кривої у мірні колби об'ємом 50 мл приливають 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 мл робочого стандартного розчину, додають по 30-40 мл дистильованої води і по 1 мл реактиву Несслера і проводять аналіз і будують графік залежності $D = f(c)$.

Індофенольний метод (Berthelot reaction).

За чутливості він в 10 разів перевершує метод з реактивом Несслера. Оптимальний діапазон концентрацій азоту 0,3-3 ч. на млн. Цей спектрофотометрический метод заснований на реакції аміаку з фенолом і гіпохлоритом з утворенням індофенолу, що має інтенсивне блакитне забарвлення в лужному середовищі. Максимальний розвиток забарвлення спостерігається в розчині, що містить 0,3 М NaOH і 0,8 % фенолу. Вимірюють інтенсивність забарвлення при 625 нм. При визначенні аміаку в розчині з вмістом 1 ч. на млн. квадратичне відхилення становить 0,03 ч. на млн.

Існує ряд модифікацій виконання індофенольного методу (каталізатори, наприклад, нітропрусид або ацетон; 1-нафтол або фенілантранілова кислота замість фенолу; дихлорізоціанурат як окисник замість гіпохлориту і т.д.) [6].

Результати досліджень. Магістри факультету рибного господарства та природокористування при виконанні самостійної роботи, експериментально визначали вміст амонійного азоту з реактивом Несслера у ставах Голопристанського рибгоспу Херсонської області у період з 26.05.2018 р. по 14.09.2018 р. Результати досліджень наведені в таблиці 1.

Нітроген міститься у прородних водах у вигляді неорганічних та більшого числа органічних сполук. У органічних сполуках нітроген знаходиться головним чином у складі білка тканин організмів та продуктів його розпаду, які утворюються як при відмиранні самих організмів, так і продуктів їх життєдіяльності. У процесі розпаду фіто- та зоопланктону утворюється альбуміноїдний азот, який під дією бактерій нітрифікаторів переходить в амоніак, а потім в нітрит та нітрат-йони. Тобто відбувається

складний процес мінералізації, завдяки якому у водойми повертаються йони амонію та нітрат-йони, які використовуються рослинами для побудови білка.

Таблиця 1. Концентрація амонійного азоту, мг N/дм³ NH₄

№ ставу	Дата								
	26.05	09.06	23.06	07.07	20.07	03.08	17.08	31.09	14.09
1	-	-	-	0,77	3,35	7,60	0,01	5,30	0,62
2	2,65	3,85	2,10	1,67	2,10	1,10	0,17	4,60	0,19
3	2,00	3,85	1,85	3,10	3,85	6,35	0,01	4,10	0,72
4	0,77	0,52	2,35	0,87	1,25	0,75	0,01	5,10	0,52
5	1,63	5,10	3,60	1,42	1,10	0,50	0,01	7,60	0,47
6	0,42	3,10	2,85	1,08	1,85	0,10	0,01	5,10	0,32
7	-	-	-	1,32	1,60	0,75	0,17	5,60	0,75
8	-	-	-	1,38	2,35	0,10	0,01	0,10	0,82
9	1,95	1,07	2,60	0,72	1,00	0,50	0,01	0,35	0,82
10	1,71	12,50	3,85	1,62	0,85	0,85	0,05	3,85	0,72
11	1,90	1,67	1,60	0,97	0,60	1,35	0,05	-	-
12	2,28	2,70	2,35	0,68	0,60	1,35	0,01	0,60	-
13	-	-	-	1,22	2,60	1,25	0,01	1,60	0,42
14	-	-	-	0,87	0,50	0,75	0,01	2,1	0,57
15	2,65	1,42	1,35	1,52	1,35	2,10	0,01	1,85	0,52
16	2,47	7,55	0,10	3,40	1,35	>16,00	0,35	1,35	-
1 P	-	-	-	1,08	3,85	0,75	0,27	0,10	-
2 P	2,68	7,55	3,10	0,87	5,60	0,10	0,01	3,35	-
3 P	2,41	0,24	0,50	0,77	3,10	1,85	0,01	0,10	-
4 P	1,07	0,62	0,10	0,97	2,10	1,10	0,01	2,60	-

Результати аналізу вмісту амонійного азоту у воді показали, що у більшості ставів спостерігається підвищений вміст йонів амонію, що свідчить про те, що гідрохімічний режим ставів досить напружений. Деякі показники часом перевищували допустимі значення, що могло негативно вплинути на розвиток гідробіонтів. Перевищення ГДК призводить до виникнення небажаних явищ у ставу: заморам, зниженню темпу росту риб, збільшення їх захворюваності, зниженню природної продуктивності, небажаному розвитку фітопланктону і ряду інших факторів.

Висновки.

- Біогенні елементи, і зокрема, Нітроген, мають істотне значення для розвитку живих організмів. Концентрація аміачного азоту залежить від інтенсивності біохімічних і біологічних процесів, які відбуваються у водоймах.
- Фотоколориметричні методи широко застосовуються на практиці завдяки простоті методики, високій чутливості і специфічності багатьох реакцій.

– Підвищений вміст йонів амонію у природних водах свідчить про забруднення води органічними речовинами і добривами. Це може привести до зменшення розчинного кисню у воді та створенню гіпоксичних умов для риби.

– Оволодіння методикою визначення аміачного азоту у природних водах дає можливість вирішувати завдання, які стоять перед рибоводами при вирощуванні рибної продукції.

PHOTOCOLORIMETRIC METHOD OF DETERMINATION OF AMMONIUM COMPOUNDS IN NATURAL WATERS

*Bila T.A. – PhD (Agriculture), Associate Professor;
Lyashenko E.V. – Ph.D. (Chemistry), Associate Professor;
Ohrimenko O.V. – Ph.D. (Technics), Associate Professor;
Kherson State Agrarian and Economic University,
kaf.chemistry@ukr.net*

Nitrogen is a major component of living organisms. Ammonia is formed in the water agricultural ponds due to the decomposition of proteins and eventually oxidizes to nitrites and nitrates. It is considered to be one of the most important pollutants in the aquatic environment because of its high toxicity and prevalence in surface water systems.

When ammonia is present in water at a relatively high level, it is difficult for aquatic organisms to neutralize the toxicant sufficiently. This results in accumulation of toxic substances in the internal tissues and blood and possibly death of organism. Environmental factors, such as pH and temperature, can affect the toxicity of ammonia for aquatic animals. The presence of ammonium at concentrations about 1 mg / dm³ reduces the ability of fish's hemoglobin to bind the oxygen.

The increased concentration of ammonium ions can be used as an indicator reflecting the deterioration of the sanitary condition of the water. The most common method for determining of the ammonium nitrogen concentration is the photolorimetric method. During photolorimetry the concentration of the test solution is determined by methods of calibration graph, comparison with standard and method of additives.

Photolorimetric methods for the determination of ammonium ions with Nessler's reagent and indophenol blue method, due to the simplicity of them allow to measure the content of ammonium nitrogen in natural waters quickly and accurately.

The content of ammonium ions in the fish breeding ponds of the Holopristan fish farm in the Kherson region was experimentally investigated by the masters of the Faculty of Fisheries and Environmental Management in the chemical laboratory of the KSAU Department of Chemistry and Biology. The content of ammonium ions in surface water was determined by photolorimetric method with Nessler reagent. According to the results of the researches, the majority of ponds have high content of ammonian nitrogen, which is the evidence of water pollution with organic substances and fertilizers. This would highly possibly results in reducing of soluble oxygen content in the water and the appearance of hypoxic conditions for fish in the reservoir.

Keywords: ammonium salts, ammonia, natural water monitoring, quantitative analysis, photolorimetry.

ЛІТЕРАТУРА

1. Aquatic Life Criteria – Ammonia. (n.d., n.a.) Site: United States Environmental Protection Agency. URL: <https://www.epa.gov/wqc/aquatic-life-criteria-ammonia>.
2. ДСТУ ISO 6778:2003 Якість води. Визначення амонію. Потенціометричний метод (ISO 6778-1984, IDT). URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=72855.
3. ДСТУ ISO 5664:2007 Якість води. Визначення амонію. Метод дистилювання та титрування (ISO 5664:1984, IDT). URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=50531.
4. ПНД Ф (природоохранные нормативные документы федеративные) 14.1:2:3.1-95. Количественный химический анализ вод. Методика измерений массовой концентрации ионов аммония в природных и сточных водах фотометрическим методом с реактивом Несслера. М. 2017. URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293850/4293850892.htm>.
5. Біла Т.А., Ляшенко Є.В., Охріменко О.В. Роль контекстного навчання у формуванні предметної компетентності з біогеохімії у студентів-екологів. «Наукові читання імені В.М. Виноградова»: Матеріали першої відкритої регіональної науково-практичної Інтернет-конференції, присвяченої 5-річчю заснування кафедри лісового та садово-паркового господарства ДВНЗ «ХДАУ». 23-24 травня 2019 р. Херсон: ХДАУ. 2019. URL: <http://dspace.ksau.kherson.ua/bitstream/handle/123456789/905/Vinogra-dov052019.pdf>.
6. Searle, Philip L. (1984). The Berthelot or Indophenol Reaction and Its Use in the Analytical Chemistry of Nitrogen. A Review. *Analyst*, May 1984, Vol. 109, 549–568.

REFERENCES

1. Aquatic Life Criteria – Ammonia. (n.d., n.a.) Site: United States Environmental Protection Agency. URL: <https://www.epa.gov/wqc/aquatic-life-criteria-ammonia>.
2. DSTU ISO 6778:2003. *Yakist vody. Vyznachennia amoniiu. Potentsiometrychnyi metod* [Water quality. Definition of ammonium. Potentiometric method]. URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=72855 [in Ukrainian].
3. DSTU ISO 5664:2007. *Yakist vody. Vyznachennia amoniiu. Metod dystyliuvannia ta tytruvannia* [Water quality. Definition of ammonium. Distillation and titration method] (ISO 5664:1984, IDT). URL: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page?id_doc=50531 [in Ukrainian].
4. PND F (pryrodookhrannye normatyvnye dokumenty federatyvnye) 14.1:2:3.1-95. (Moscow, 2017). *Kolychestvennyi khymycheskyi analiz*

- vod. Metodyka yzmerenyi massovoi kontsentratsyy yonov ammonyia v pryrodnykh y stochnykh vodakh fotometrycheskym metodom s reaktyvom Nesslera* [Quantitative chemical analysis of waters. Method of measurement of mass concentration of ammonium ions in natural and waste waters by photometric method with Nessler's reagent]. URL: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293850/4293850892.htm> [in Russian].
5. Bila, T.A., Lyashenko, Ye.V. & Ohrimenko, O.V. (2019). *Rol kontekstnoho navchannia u formuvanni predmetnoi kompetentnosti z bioheokhimii u studentiv-ekolohiv* [The role of contextual learning in the formation of environmental students subject competence in biogeochemistry]. *Mater. I rehionalnoi nauk.-prakt. internet-konferentsii «Naukovi chytannia imeni V.M. Vynohradova» – Mater. I regional science-practical Internet conference «Scientific Readings named after V.M. Vynohradova.* 172–175. URL: <http://dspace.ksau.kherson.ua/bitstream/handle/123456789/905/Vinogradov052019.pdf> [in Ukrainian].
 6. Searle, Philip L. (1984). The Berthelot or Indophenol Reaction and Its Use in the Analytical Chemistry of Nitrogen. A Review. *Analyst*, Vol. 109, 549–568.