

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 543.422.7

ЦВЕТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АММОНИЯ В ОБРАЗЦАХ ПОЧВЫ**Андрей Владимирович Гармай, Кирилл Владимирович Осколок,
Оксана Викторовна Моногарова, Степан Николаевич Чичулин**Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
химический факультет, кафедра аналитической химии**Автор, ответственный за переписку:** Андрей Владимирович Гармай,
andrew-garmay@yandex.ru

Аннотация. Предложен способ определения аммония в виде индофенольного красителя в образцах почвы методом цифровой цветометрии с помощью бытовых оптических средств получения растровых изображений. Разработанный подход основан на фотометрических способах определения аммония после извлечения хлористым калием из почвы. Этот способ обеспечивает точность и чувствительной цифровой цветометрической методики, близкие к спектрофотометрическим. Адекватность предложенного подхода подтверждена при анализе стандартных образцов и проб почвы, собранных в разных районах Московской области.

Ключевые слова: почва, аммоний, цифровая цветометрия, офисный планшетный фотосканер

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2025-66-3-206-212

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова АААА-А21-121011590089-1 «Развитие высокоинформативных и высокотехнологичных методов химического анализа для защиты экосистем, создания новых материалов и передовых производственных технологий, перехода к экологически чистой и ресурсосберегающей энергетике, развития природоподобных технологий, высокотехнологичного здравоохранения и рационального природопользования».

Для цитирования: Гармай А.В., Осколок К.В., Моногарова О.В., Чичулин С.Н. Определение аммония в образцах почвы // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2025. Т. 66. № 3. С. 206–212.

ORIGINAL ARTICLE

COLORIMETRIC DETERMINATION OF AMMONIUM IN SOILS SAMPLES**Andrei V. Garmay, Kirill V. Oskolok, Oksana V. Monogarova, Stepan N. Chichulin**Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, Division of
Analytical Chemistry, Moscow, Russia**Corresponding author:** Andrey V. Garmay, andrew-garmay@yandex.ru

Abstract. A technique for determining ammonium as an indophenolic dye in soil samples by digital colorimetry using household optical means of obtaining raster images is proposed. The developed approach is based on photometric methods for determining ammonium after extraction with potassium chloride from the soil. This

technique provides accuracy and sensitive digital colorimetric techniques close to spectrophotometric ones. The adequacy of the proposed approach was confirmed by analyzing standard samples and soil samples collected in the districts of the Moscow region.

Keywords: ammonium, soil, digital colorimetry, office flatbed photocopier

Financial Support. The work was carried out within the framework of the state task of the Lomonosov Moscow State University AAAA-A21-121011590089-1 “Development of highly informative and high-tech methods of chemical analysis for the protection of ecosystems, the creation of new materials and advanced production technologies, the transition to environmentally friendly and resource-saving energy, the development of nature-like technologies, high-tech healthcare and rational nature management”.

For citation: Garmay A.V., Oskolok K.V., Monogarova O.V., Chichulin S.N. Colorimetric determination of ammonium in soils samples // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Khimiya. 2025. T. 66. № 3. S. 206–212.

Исследование почвы как объекта окружающей среды является важной и актуальной задачей современной аналитической химии. От качества почвы во многом зависит урожайность сельскохозяйственных культур, а значит, и запас продовольствия для населения [1]. Важнейшим показателем плодородия почвы является содержание в ней элементного азота в аммиачной и нитратной формах.

Для определения аммонийного азота в почве используют многие методы, среди которых наиболее распространены дистилляционный метод Кьельдаля, спектрофотометрия, ионная хроматография и потенциометрия [2, 3]. У каждого из методов есть свои ограничения. Так, например, метод Кьельдаля довольно длительный и трудоемкий [4], ионная хроматография и ионометрия сталкиваются с проблемой недостаточной селективности из-за мешающего влияния сопутствующих компонентов образца [3, 5, 6]. Действительно, поскольку аммоний сильно адсорбируется почвой [7], для его извлечения обычно требуется использование концентрированных солевых растворов, например 2М KCl [3]. При одновременном определении аммония и нитратов в почве 2М раствор хлорида калия является самым подходящим экстрагентом [3]. Одними из наиболее распространенных методов определения аммония являются фотометрические [3, 8]. Аммоний обычно определяют в виде индофенольного красителя [8, 9]. Эти методы приняты в качестве нормативных государственных стандартов в некоторых странах (США [10], Российской Федерации [11] и др.).

Для регулярного мониторинга состояния почв предпочтительны доступные и простые методы,

позволяющие проводить экспрессный анализ недалеко от места сбора проб. Одним из таких методов является цифровая цветометрия. В этом случае в качестве средств измерений аналитического сигнала используют бытовые оптические цветорегистрирующие устройства – фотокамеры смартфонов или офисные планшетные сканеры [12–14]. Таким образом, стоимость анализа определяется, главным образом, ценой реактивов и посуды, при этом проблема, связанная с невысокой скоростью протекания фотометрических реакций, остается. Однако ее влияние на общую продолжительность становится менее выраженным при анализе большого числа образцов. Действительно, для достижения постоянного потенциала ионоселективного электрода может потребоваться от 30 с до нескольких минут [15–17], что приводит к многочасовой общей продолжительности анализа для нескольких десятков проб. Цифровой цветометрический анализ может быть выполнен гораздо быстрее за счет использования многолуночных микропланшетов, позволяющих измерять несколько десятков образцов одновременно без очистки и замены кювет с минимальным расходом реактивов [18, 19], что позволяет не только повысить экспрессность, но и снизить общую стоимость анализа [19]. Наконец, цифровая цветометрия на базе смартфона может быть легко применена в полевых условиях, что позволяет проводить анализы с точностью, близкой к спектрофотометрическому методу, при значительно меньших затратах [18, 20].

Цель настоящей работы – адаптация существующих оригинальных фотометрических методов определения аммония для метода цифровой цветометрии.

Экспериментальная часть

Приборы и материалы

В работе использованы следующие реагенты: хлорид калия, гидроксид натрия, этилендиаминтетрауксусной кислоты динатриевая соль дигидрат (ЭДТА), нитропруссид натрия дигидрат, пентагидрат сульфата меди(II), салицилат натрия, тетрагидрат тартрата натрия калия, водный раствор гипохлорита натрия. Все реактивы производства Sigma-Aldrich, США. Для определения уровня рассеянного излучения использовали черную тушь (АО «ГАММА», Российская Федерация).

Оборудование и вспомогательные материалы для цветиметрического анализа: офисный планшетный фотосканер EPSON Perfection 1670 (Япония), 96-луночный микропланшет из прозрачного полистирола (Greiner AG, Австрия) с плоским дном (емкость лунки 350 мкл), целлюлозная фильтровальная бумага Whatman (Cytiva, США), белые полипропиленовые наконечники емкостью 10 мкл для механической пипетки BioHit (Китай), лабораторный шейкер ЛОИП ЛС-120 (ОАО «Лабораторное оборудование и приборы», Российская Федерация).

Спектры поглощения растворов в видимом диапазоне длин волн измеряли на однолучевом спектрофотометре UV-mini 1240 (Shimadzu, Япония) в стандартных кюветах из полистирола толщиной 1 см.

Извлечение аммония из образцов почвы

Почвенные экстракты готовили в соответствии с известными методиками [11]. В коническую колбу помещали $16,00 \pm 0,01$ г грунта, затем добавляли 40,0 мл 2М раствора хлорида калия. Суспензию встряхивали на лабораторном шейкере ЛОИП ЛС-120 в течение 1 ч и отфильтровывали. На первом этапе методом цифровой цветиметрии проанализированы стандартные образцы дерново-подзолистых тяжелосуглинистых и подзолизованных среднесуглинистых почв. С марта 2022 г. по апрель 2023 г. было проанализировано около 50 проб. Образцы почв были собраны в Московской области.

Приготовление растворов

Поскольку для анализа требуется всего несколько миллилитров окрашивающего раствора, объемы анализируемых растворов и реагентов были уменьшены в 10 раз по сравнению с оригинальной методикой [11]. В колбу емкостью 5,0 мл добавили 0,200 мл анализируемого

раствора, смешали с 4,00 мл окрашивающего раствора и 0,200 мл 0,125%-го раствора гипохлорита натрия. Для приготовления окрашивающего раствора $14,17 \pm 0,01$ г салицилата натрия, $5,60 \pm 0,01$ г тетрагидрата тартрата калия и $6,67 \pm 0,01$ г гидроксида натрия растворили в 180 мл воды и кипятили 20 мин для удаления аммиака. После охлаждения раствора добавили $0,1000 \pm 0,0002$ г нитропруссида натрия и $5,00 \pm 0,01$ г ЭДТА и разбавили раствор деионизированной водой до 250,0 мл. Анализируемый раствор разбавили деионизированной водой в 10 раз.

Раствор гипохлорита натрия (0,125%-й) готовили разбавлением исходного раствора деионизированной водой. Концентрацию исходного раствора устанавливали йодометрическим титрованием, как описано в [11], она составила 1,7%.

Для адаптации оригинальной методики к методу цифровой цветиметрии варьировали объем аликвоты анализируемого раствора и концентрацию гипохлорита натрия (см. раздел «Результаты и их обсуждение»).

Проведение измерений

В «измерительные» лунки (с градуировочными и анализируемыми растворами) и лунки «контрольного опыта» (заполненные деионизированной водой) микропланшета вносили 320 мкл каждого раствора. Содержимое «измерительных» лунок гомогенизировали с помощью механической пипетки Sartorius™. Растровые изображения 96-луночного микропланшета с растворами получали в режиме «на просвет» с помощью офисного планшетного фотосканера. Микропланшет помещали под диффузор электролюминесцентной лампы, смонтированной в крышку фотосканера. Для уменьшения влияния на результат измерений внешних засветок стеклянную столешницу фотосканера ограничивали по периметру защитной рамкой, высота которой равна толщине микропланшета (рис. 1).

Сканирование осуществляли в автоматическом режиме при отключенной функции постобработки изображения (автоматическая коррекция цвета и т.п.). Отсканированные изображения сохраняли в 24-битном tif-формате без потери качества. Для извлечения информации о значениях светлоты цветовых каналов из растровых изображений на стационарном компьютере под управлением ОС Windows использовали бесплатно распространяемую программу IrfanView (разработчик Irfan Skiljan [21]).

Результаты и их обсуждение

Адаптация спектрофотометрической методики для цветометрического определения NH_4^+ . Самодельные устройства для измерения цветовых характеристик твердых или жидких образцов, как правило, включают в себя специальный бокс, одной из основных функций которого является экранирование системы от внешних паразитных засветок. Однако проблему внутренних «засветок» обычный бокс решить не может. Часть лучистой энергии используемого источника света всегда попадает на приемник в обход кюветы с пробой. Уровень рассеянного света в цветометрических установках на 1–2 порядка выше, чем в спектрофотометрах. В результате искажается зависимость условной оптической плотности от содержания окрашенного вещества в пробе, сужается диапазон линейности этой зависимости. Несовершенство оптической схемы цветометрических установок обуславливает необходимость явного учета вклада рассеянного излучения в измеряемый аналитический сигнал. Для оценки этого параметра следует измерить светлоты рабочих цветовых каналов изображения или лунки микропланшета, заполненные черной тушью.

Условную оптическую плотность A_i для i -го цветового канала рассчитывали по формуле

$$A_i = \lg \left(\frac{L_{\text{water},i} - L_{\text{scatter},i}}{L_{\text{sample},i} - L_{\text{scatter},i}} \right),$$

где $L_{\text{water},i}$ – светлота i -го цветового канала для лунки, заполненной деионизованной водой, $L_{\text{scatter},i}$ – уровень рассеянного излучения для i -го цветового канала (для оценки этого параметра измерены светлоты рабочих цветовых каналов изображения лунки микропланшета, заполненной черной тушью), $L_{\text{sample},i}$ – светлота i -го цветового канала для лунки, заполненной анализируемым раствором. Наибольшие изменения светлоты и соответствующей оптической плотности наблюдались для красного (R) канала стандартной RGB -модели.

Для определения аммония построены 6 градуировочных зависимостей. Объем аликвоты стандартных растворов варьировали от стандартного до двойного, а концентрацию раствора гипохлорита натрия – от стандартной (0,125%) до двойной (0,25%) и исходной (1,7%). Стандартные растворы содержали 0; 2,0; 4,0; 8,0; 12,0; 16,0; 20,0; 24,0 $\text{мг} \cdot \text{л}^{-1}$ аммония, что соответствует содержанию азота в почве от 5 до 60 млн^{-1} . Использование

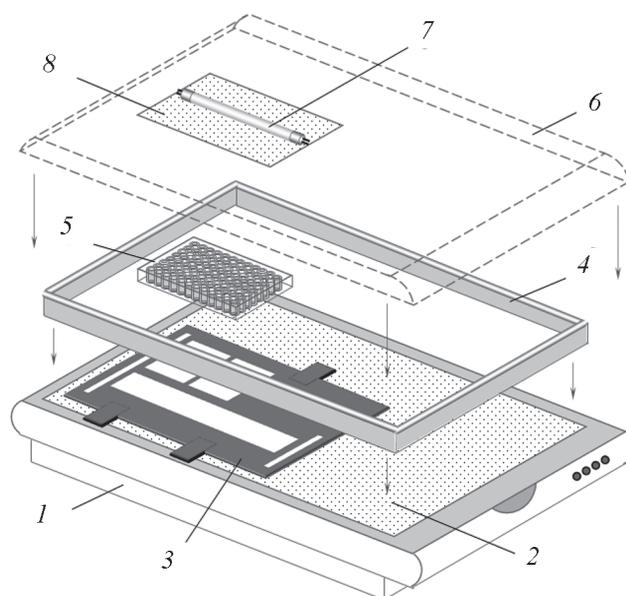


Рис. 1. Схема экспериментальной установки на основе офисного планшетного фотосканера для проведения анализа методом цифровой цветометрии: 1 – корпус фотосканера, 2 – стеклянная столешница, 3 – слайд-адаптер, 4 – защитная рамка, 5 – 96-луночный микропланшет, 6 – крышка фотосканера, 7 – электролюминесцентная лампа, 8 – диффузор

двойной аликвоты раствора приводит к увеличению коэффициента чувствительности (рис. 2). При использовании стандартной аликвоты гипохлорита оптическая плотность для минимальных концентраций аммония (2 и 4 мг·л⁻¹) пренебрежимо мала. Увеличение концентрации гипохлорита приводит к росту оптической плотности и коэффициента чувствительности. Однако для исходного раствора поглощение несколько ниже, чем для 0,25%-го раствора, и оптическая плотность для малых концентраций незначимо отличается от нуля. Поэто-

му для дальнейших измерений использовали 0,25%-й раствор гипохлорита натрия.

Для проверки адекватности разработанного цветометрического способа определения аммония проанализировано несколько стандартных образцов почвы (таблица). Полученные результаты согласуются с паспортными данными.

Разработанный цветометрический способ определения аммония применен для анализа различных образцов почвы наряду со спектрофотометрическим методом [11]. Соответствующая корреляционная диаграмма приведена

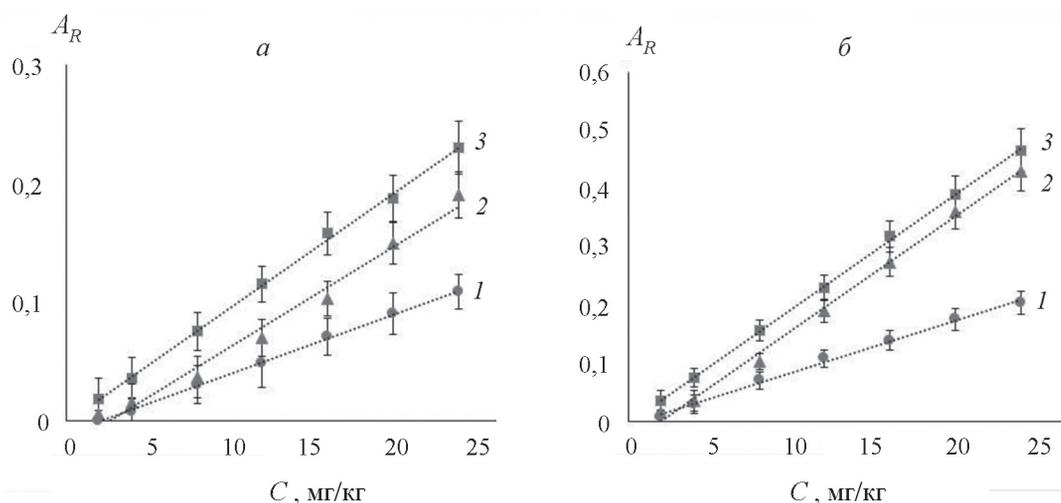


Рис. 2. Градуировочные зависимости, полученные с использованием офисного планшетного фотосканера: «условная оптическая плотность R -канала – содержание аммонийного азота, млн⁻¹» с объемами аликвот: (а) стандартная – 0,20 мл; (б) двойная – 0,40 мл. Концентрация раствора гипохлорита натрия, %: 1 – 0,125; 2 – 0,25; 3 – 1,7

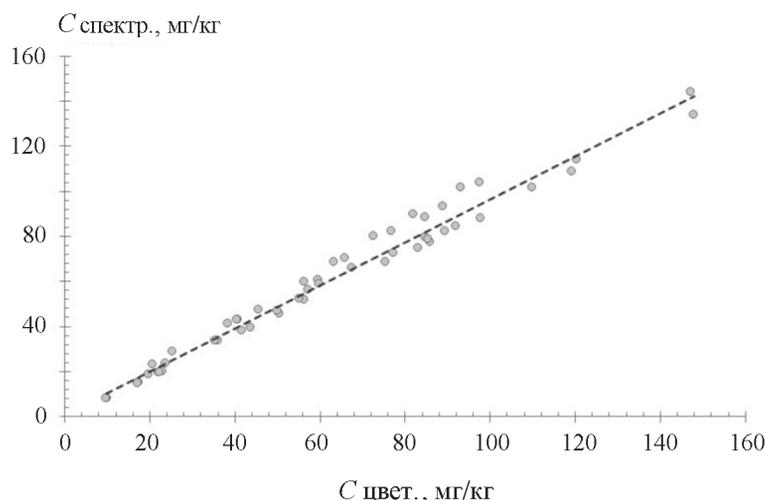


Рис. 3. Корреляционная диаграмма «концентрация аммонийного азота, полученная методом спектрофотометрии – концентрация аммония, полученная методом цифровой цветиметрии»

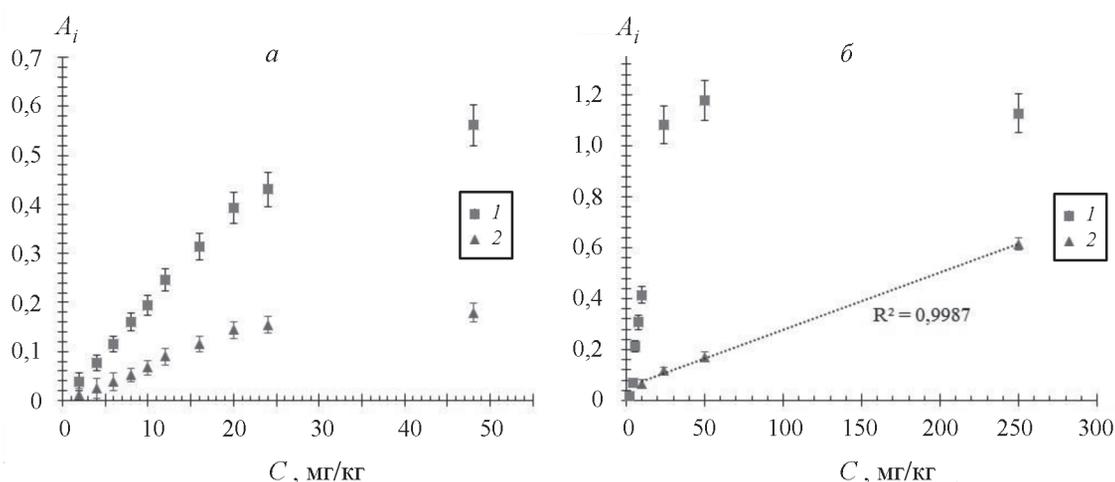


Рис. 4. Градуировочные зависимости для больших (>24 мг/л) концентраций аммонийного азота: 1 – канал R, 2 – канал G; (а) аликвота раствора аммония 0,40 мл, концентрация раствора гипохлорита натрия 0,25%; (б) аликвота раствора аммония 0,40 мл, концентрация раствора гипохлорита натрия 10%

на рис. 3. Среднее относительное отклонение результатов цветометрического определения от результатов анализа методом спектрофотометрии составило 9%, что находится в пределах, заданных стандартным методом [11].

Расширение диапазона линейности градуировочной зависимости. Анализ более концентрированных растворов аммония (с содержанием азота более 24 мг/л) в выбранных условиях требует разбавления, поскольку при более высокой концентрации градуировочная зависимость отклоняется от линейности, выходя на плато (рис. 4, а). При этом наблюдается небольшой рост оптической плотности по G-каналу, также выходящий на плато при больших концентрациях. Небольшие значения A_i свидетельствуют о химических, а не спектральных причинах наблюдаемого отклонения. Использование более концентрированного раствора гипохлорита натрия (10%, согласно стандартизации по тиосульфату натрия) приводит к увеличению угла наклона градуировочной функции, при этом нижний предел определения оказывается на уровне 4 мг/л (10 мг/кг аммонийного азота в почве), а при концентрации более 24 мг/л функция снова загибается (рис. 4, б). Однако большие значения оптической плотности и светлота R-канала, сопоставимая с уровнем

рассеянного излучения, могут свидетельствовать о спектральных причинах такого поведения градуировочной зависимости. Действительно, использование G-канала в этом случае позволяет решить проблему, при этом нижний предел определения возрастает до 10 мг/л (25 мг/кг) аммонийного азота, а верхний предел – до 250 мг/л (625 мг/кг). Растворы, соответствующие верхним точкам градуировки, при проведении реакции приобретают не голубую, а выраженную зеленую окраску.

Заключение

Таким образом, оригинальные фотометрические методики [11] определения аммонийного азота были успешно адаптированы для метода цифровой цветометрии. Использование бытовых цветорегистрирующих устройств вместо специализированного аналитического оборудования позволяет существенно снизить стоимость анализа, а также проводить одновременное измерение нескольких десятков образцов с минимальным расходом реагентов, благодаря использованию 96-луночного микропланшета. Работа с двумя цветовыми каналами позволяет существенно расширить рабочий диапазон концентраций индофенольного метода без необходимости разбавления анализируемой пробы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дурынина Е.П., Егоров В.С. Агрохимический анализ почв, растений, удобрений. М., 1998. 113 с.
2. Choosang J., Numnuam A., Thavarungkul P.,

Kanatharana P., Radu T., Ullah S., Radu A. // Sensors. 2018. Vol. 18. P. 3555 (DOI: 10.3390/s18103555).

3. Griffin G., Jokela W., Ross D., Pettrinelli D., Morris T., Wolf A. (2011) Recommended soil nitrate N tests. P. 27 / Sims JT, Wolf A (eds) Recommended Soil Testing Procedures for the Northeastern United States. Northeast Regional Bulletin 493, 3rd edn. Agricultural Experiment Station, University of Delaware, Newark.
4. Śaez-Plaza P., Navas M.J., Wybraniec S., Michałowski T., Asuero A.G. // Crit. Rev. Anal. Chem. 2013. Vol. 43. P. 224 (DOI: 10.1080/10408347.2012.751787).
5. Fayose T., Thomas E., Radu T., Dillingham P., Ullah S., Radu A. // Anal. Sci. Adv. 2021. Vol. 2. N 5–6. P. 279 (DOI: 0.1002/ansa.202000124).
6. Choosang J., Numnuam A., Thavarungkul P., Kanatharana P., Radu T., Ullah S., Radu A. // Sensors. 2018. Vol. 18. P. 3555 (DOI: 10.3390/s18103555).
7. Bolt G.H., Bruggenwert M.G.M., Kamphorst A. Adsorption of Cations by Soil. // G.H. Bolt, M.G.M. Bruggenwert (eds). Developments in Soil Science. Vol. 5A. Soil chemistry. A. Basic Elements. 1976. P. 54 (DOI: 10.1016/S0166-2481(08)70633-0).
8. López Pasquali C.E., Fernández Hernando P., Durand Alegría J.S. // Anal. Chim. Acta. 2007. Vol. 600. P. 177 (DOI: 10.1016/j.aca.2007.03.015).
9. Singh P., Singh M., Beg Y.R., Nishad G.R. // Talanta. 2019. Vol. 191. P. 364 (DOI: 10.1016/j.talanta.2018.08.028).
10. EPA method 350.1. Determination of Ammonia Nitrogen by automated colorimetry. Revision 2.0. August 1993.
11. ГОСТ 26489-85. Почвы. Определение обменного аммония по методу ЦИНАО. Москва, 1985.
12. Моногарова О.В., Осолок К.В., Апяри В.В. // Журн. аналит. химии. 2018. Т. 73. № 11. С. 857.
13. Чапленко А.А., Моногарова О.В., Осолок К.В., Гармай А.В. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2022. Т. 63. № 2. С. 87.
14. Апяри В.В., Горбунова М.В., Исаченко А.И., Дмитриенко С.Г., Золотов Ю.А. // Журн. аналит. химии. 2017. Т. 72. № 11. С. 963.
15. Cheremisinoff N.P. Condensed Encyclopedia of Polymer Engineering Terms. 2001, Elsevier. P. 147 (DOI: 10.1016/B978-0-08-050282-3.50014-7).
16. HACH Intellical ISENH3181 Ammonia (NH⁺) Ion Selective Electrode User manual, 6th edition. 2021, DOC022.53.80107
17. Vernier NH4-BTA Ammonium Ion-Selective Electrode User manual. 2023.
18. Christodouleas D.C., Nemiroski A., Kumar A.A., Whitesides G.M. // Anal. Chem. 2015. Vol. 87. P. 9170 (DOI: 10.1021/acs.analchem.5b01612).
19. Осолок К.В., Моногарова О.В., Гармай А.В., Пастухова А.А. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2: Химия. 2021. Т. 62. № 2. С. 109.
20. Choodum A., Kanatharana P., Wongniramaikul W., NicDaeid N. // Talanta. 2013. Vol. 115. P. 143 (DOI: 10.1016/j.talanta.2013.04.037).
21. <https://www.irfanview.com>

Информация об авторах

Андрей Владимирович Гармай – мл. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (andrew-garmay@yandex.ru);

Оксана Викторовна Моногарова – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (o_monogarova@mail.ru);

Кирилл Владимирович Осолок – доцент кафедры аналитической химии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. хим. наук (k_oskolok@mail.ru);

Степан Николаевич Чичулин – студент химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова (chichulinsn@gmail.com).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических стандартов

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

Статья поступила в редакцию 11.12.2023;
одобрена после рецензирования 16.03.2024;
принята к публикации 25.09.2024.