

WIKTOR OWSIEJCZUK

## Badanie jakościowe i ilościowe mocznika w paszach sypkich

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Białymstoku  
Kierownik: dr MIKOŁAJ WILCZYŃSKI

Z uwagi na częste reklamacje hodowców, kwestionujące jakość pasz mocznikowych, oraz bezpieczeństwo zwierząt hodowlanych, wykrywanie i oznaczanie mocznika w paszach nabiera szczególnego znaczenia (5, 13, 14). Dotychczasowe metody oznaczania mocznika w płynach fizjologicznych nie zawsze dają się zastosować do oznaczeń mocznika w paszach sypkich (3). Wymagają one bardzo często uprzedniego modyfikowania. Poza tym trudności w nabywaniu odczynników, aparatury, pracochłonność czynią je mało przydatnymi w skromnych laboratoriach usługowych. Podobnie jest z wagową metodą oznaczania mocznika, której największym mankamentem jest brak na rynku krajowym podstawowego odczynnika — ksantrodolu (3, 4). Dotychczasowa metoda stosowana przez Szwabowicza jest zbyt długa (bardzo trudno zmieścić się w czasie z wykonaniem jednego oznaczenia w ciągu 7 godz.), a uzyskiwane wyniki są rozbieżne i niepowtarzalne (15). Metoda oznaczania mocznika w roztworze wodno-spirytusowym oparta na reakcji z podchlorynem sodu, fenolem i kwasem solnym, także daje wyniki problematyczne (8). Podchloryn sodu (NaClO) jest odczynnikiem nietrwałym, w handlu raczej niespotykanym. NaClO otrzymany z wapna chlorowanego jest zanieczyszczony i nie nadaje się do dłuższego przechowywania. Ciągłe przygotowywanie i mianowanie roztworu NaClO jest pracochłonne i niewygodne.

Wobec powyższego tutejsza pracownia chemiczno-toksykologiczna postanowiła opracować możliwie szybką metodę wykrywania i oznaczania mocznika w paszach sypkich, łatwą do wykonania w skromnych warunkach laboratorium, w oparciu o dostępne odczynniki i aparaturę.

Mocznik jest dwuamidem kwasu węglowego. Jest to substancja bardzo łatwo rozpuszczalna w wodzie, metanolu, etanolu, na gorąco w alkoholu n-propylowym i n-amyłowym. Trudno rozpuszcza się w acetonie i eterze. Praktycznie nie rozpuszcza się w benzynie, chloroformie i czterochlorku węgla. W roztworach stężonych alkoholowych mocznik bardzo łatwo reaguje z kwasem szczawiowym dając połączenie szczawianu mocznika, trudno rozpuszczalnego w eterze i nierozpuszczalnego w benzenie (2, 6, 10, 12, 16).



W związku z tym wykorzystano wyżej wymienione właściwości mocznika do wykrywania i oznaczania jego ilości w paszach sypkich.

Odczynniki:

1. Benzen cz. d. a.
2. Kwas szczawiowy kryst. cz. d. a., metanolewony nasycony roztwór.
3. Kwas siarkowy cz. d. a. (d = 1,84), roztwór ściśle 0,1N.
4. Metanol cz.d.a.
5. Siarczan miedziowy kryst. cz.d.a.
6. Siarczan potasowy kryst. cz.d.a.
7. Wodorotlenek baru cz.d.a., wodny nasycony roztwór, lub 10% roztwór węglanu baru cz.d.a.
8. Wodorotlenek sodu cz.d.a., wodny 40% roztwór, roztwór ściśle 0,1N.
9. Wskaźnik Tashiro (100 ml roztworu zawierającego 0,03 g czerwieni metylowej rozpuszczonej w 60% alkoholu etylowym i 15 ml roztworu wodnego 0,1% błękitu metylowego).

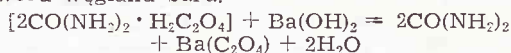
Sprzęt i aparatura:

1. Aparat Parnasa-Wagnera składający się z: kolby destylacyjnej a 250—500 ml, chłodnicy, odbieralnika, generatora do wytwarzania pary.
2. Bagietka szklana.

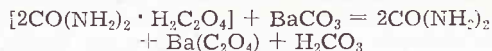
3. Bibuła filtracyjna.
4. Biureta a 50 ml.
5. Kolba Kjeldahla a 200 ml.
6. Lejek szklany  $\varnothing$  5 cm.
7. Łażnia wodna.
8. Parownicza szklana a 15 ml, 50 ml.
9. Pipeta Mohra a 25 ml, 50 ml.
10. Zlewka szklana a 100 ml.

Wykrywanie mocznika.

Do zlewki a 10 ml odważyć na wadze technicznej 10—20 g paszy (w zależności od stężenia). W cylindrze miarowym odmierzyć 50 ml metanolu, podzielić na trzy części (20 + 15 + 15) i kolejno ekstrahować mocznik ze zlewki mieszając bagietką po około 1—1,5 min. Ekstrakty przesączyć do szklanej parownicy a 50 ml. Zawartość zagęścić na łaźni wodnej pod wyciągiem przy temperaturze 80—85° do objętości 1 ml. Ostudzić, dodać około 2 ml metanolewego nasyconego roztworu kwasu szczawiowego, osad odsączyć i na sączku przemycić benzenem. Przemity osad szczawianu mocznika przenieść do suchej szklanej parownicy a 15 ml, rozpuścić w małej ilości wody 2—3 ml, i dodać nasyconego roztworu wodorotlenku baru, lub 10% roztworu węglanu baru.

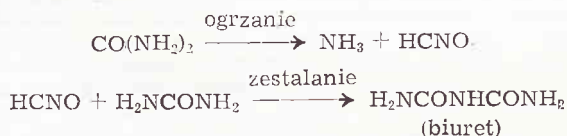


lub



Zawartość odparować do suchości na wrzącej łaźni i suchy osad ługować metanolem, który rozpuszcza mocznik. Następnie można z nim wykonać charakterystyczne reakcje chemiczne, jak biuretową i inne.

Np. po odsączeniu i odparowaniu alkoholu, mocznik przenieść do suchej próbówki, ogrzać łagodnie przez 1—2 min. do temperatury nieco tylko powyżej temperatury topnienia mocznika. Początkowo wydziela się amoniak (zapach), a pozostałość została się z utworzeniem biuretu.

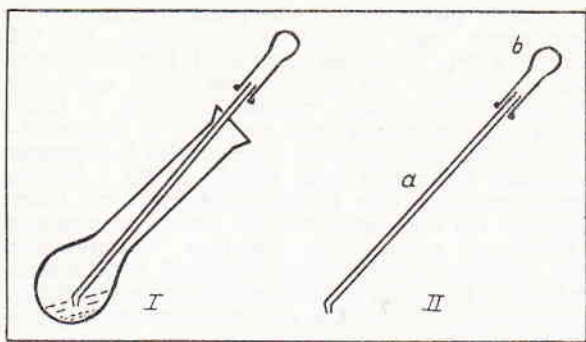


Stop rozpuścić w około 5 ml wody i dodać 1 kroplę bardzo rozcieńczonego roztworu siarczanu miedzi oraz 2 krople 10% roztworu NaOH; powstaje fioletowe zabarwienie (6, 10, 12, 16).

Oznaczanie ilościowe.

Nadesłaną próbkę paszy należy przygotować do badania wg Polskiej Normy PN-62/R-64769, p. 3, str. 4. (11). Do zlewki a 100 ml odważyć około 10—20 g paszy z dokładnością 0,002 g. Odmierzyć ściśle pipetą lub z biurety (z uwagi na bezpieczeństwo) 50 ml metanolu i przenieść do zlewki z paszą. Wymieszać bagietką w ciągu 1—1,5 min., przesączyć. Z kolei pipetą lub z biurety odmierzyć ściśle 25 ml danego ekstraktu (przesączonego) i przenieść do kolby Kjeldahla o pojemności 200 ml. Kolbę Kjeldahla z zawartością umieścić na łaźni wodnej pod wyciągiem. Płyn odparować w temperaturze 85—90° do objętości 1 ml. Kolbę ostudzić, wsypać około 1 g sproszkowanego kwasu szczawiowego. Powstały osad szczawianu mocznika zdekantować 2—3-krotnie benzenem przy pomocy pipety biorąc po 3—4 ml benzenu. Rys. 1.

Osad rozpuścić w bardzo małej ilości wody 8—10 ml, dodać 0,5 g siarczanu miedziowego, 5 g siarczanu potasu i 10 ml stężonego potasu i 10 ml stężonego



Rys. I. I sposób dekantacji II a) pipeta, b) smoczek

Rys. 1. I sposób dekantacji, II a) pipeta, b) smoczek

kwasu siarkowego ( $d = 1,84$ ). Ogrzewać początkowo łagodnie, następnie w miarę przejaśniania się płynu ogrzewanie zwiększać, aż ciecz będzie przezroczysta, zielonkawa i jeszcze w ciągu co najmniej 20–30 min. (1, 2, 7, 9). Ochłodzić, rozcieńczyć wodą do około 50–80 ml., przelanie ilościowo do kolby destylacyjnej aparatu Parnasa-Wagnera. Odmierzyć do kolby stożkowej a 200–250 ml, 50 ml 0,1N kwasu siarkowego dodając kilka kropli (4–5) wskaźnika Tashiro. Odbieralnik z 0,1N kwasem siarkowym wstawić u wylotu chłodnicy aparatu, tak aby jej koniec był zanurzony w kwasie. Do kolby destylacyjnej wlać 40% roztworu wodorotlenku sodowego, aż do chwili szernienia płynu. Destylować z parą wodną w ciągu 8–12 min. Koniec chłodnicy popuścić wodą do odbieralnika i miareczkować 0,1N roztworem wodorotlenku sodu, aż do przechodzenia barwy fioletowej w zieloną. Wykonać próbę ślepą z daną partią odczynników. Różnica daje ilość ml 0,1N kwasu siarkowego, zużytych do miareczkowania amoniaku. Procentową zawartość mocznika obliczyć wg wzoru:

$$X = \frac{a \cdot 0,003003 \cdot b \cdot 100}{c \cdot d}$$

gdzie:

a — ilość mililitrów 0,1N kwasu siarkowego otrzymana z różnicy ilości ml 0,1 N kwasu siarkowego wziętego do odbieralnika a ilości mililitrów 0,1N wodorotlenku so-

dowego zużytego do miareczkowania destylatu

0,003003 — ilość mocznika w gramach odpowiadającego 1 ml 0,1N kwasu siarkowego.

b — ogólna objętość w ml metanolu wzięta do ekstrakcji.

100 — współczynnik procentowy.

c — wielkość odważki paszy w gramach.

d — ilość ekstraktu wziętego do oznaczenia.

Np. odważono 10,0012 g paszy, pobrano do ekstrakcji 50 ml metanolu, odmierzono 25 ml przesączu (ekstraktu) do oznaczenia, użyto 40,95 ml 0,1N kwasu siarkowego.

% zawartość mocznika w danej próbce =  $\frac{40,95 \cdot 0,003003 \cdot 50 \cdot 100}{10,0012 \cdot 25} = 2,46\%$

Czas jednego oznaczenia nie przekracza 3,5 godz. Czystość i dokładność przygotowanych odczynników, łącznie wykonana mineralizacja, szczelność i czystość aparatury gwarantuje wysoką dokładność oznaczenia.

#### Piśmiennictwo

1. Bobrański B.: Koliczestwiennyj analiz organiczeskich sojedinenij, 85, Moskwa 1961.
2. Farmakopea Polska, wyd. IV, t. I, 575, Warszawa 1965.
3. Hcmolka J.: Diagnostyka Biochemiczna, przekład, wydanie III, 281–285, Warszawa 1961.
4. Jerzmanowska Z.: Analiza jakościowa związków organicznych, wydanie III, 120–122, Warszawa 1963.
5. Juszkiewicz T.: Medycyna Wet. 2, 65, 1966.
6. Karrer P.: Kurs organiczeskiej chemii, 236–265, Moskwa 1938.
7. Krauze S., Bożyk Z., Piekarski L.: Podręcznik laboratoryjny analytika żywnościowego, 168, Warszawa, 1962.
8. Kalmykow S. T., Bielajew M. G.: Wieterynaria 12, 61–62, 1965.
9. Lipiec T., Szmal Z.: Chemia analityczna z uwzględnieniem półmikroanalizy jakościowej, 386, 487, Warszawa 1966.
10. Moszew J.: Chemia organiczna, wydanie V, 391–398, Łódź — Warszawa — Kraków, 1964.
11. Polska Norma PN-62/R-64769, Pasze sylvkie. Pobieranie próbek i przygotowanie średniej próbki laboratoryjnej.
12. Struszyński M.: Jakościowa analiza organiczna, 429, Warszawa 1960.
13. Szwabowicz A.: Medycyna Wet. 6, 330, 1962.
14. Szwabowicz A.: Przel. Hodow. 30, 38, 1962.
15. Szwabowicz A.: Przgl. Hodow. 2, 17, 1964.
16. Vogel A. J.: Preparatyka organiczna, przekład, 447, Warszawa 1964.

Adres autora: Wiktor Owsiejczuk, Zakład Higieny Weterynaryjnej, Białystok, ul. Sz. Żółtkowska 26.

## RECENZJE I BIBLIOGRAFIA

MSG — SRSR LWOWSKIJ ZOOWIETIERINARNYJ INSTYTUT: Tezy do powidiej i powidomleń XXII Naukowej Konferencji po pidsumkach naukowodoslidnoj roboty Instytutu za 1965 rok. 25–28 kwietnia 1966 r. Lwiv 1966, stron 390. Cena 1 krb.

Lwowski Instytut Zooweterynaryjny co roku przeprowadza podsumowanie swej działalności naukowej za ubiegły rok kalendarzowy. Następnie tezy prac są drukowane w postaci rocznika, zawierającego krótkie streszczenia w języku ukraińskim lub rosyjskim. Materiały XXII Konferencji omawiającej 1965 r. opracowane są przez redakcję w składzie: doc. Stojanowski S. W. (odpowiedzialny redaktor Instytutu), doc. Moroz I. G. (z-ca redaktora, prorektor), prof. Skowroński W. A., prof. Amelin I. S., doc. Gaulszko E. M., doc. Korz B. A., doc. Gordijenko M. F. i doc. Kinasz A. S. (sekretarz).

Materiał jest podzielony na 3 sekcje: sekcja nauk społecznych, sekcja weterynaryjna, sekcja zootechniczna. Sekcja nauk społecznych obejmuje tezy 17 prac (ogółem 51 stron) i zajmuje się takimi zagadnieniami jak walki KPZU z ideologią ukraińskiego nacjonalizmu, zagadnienia metodologiczne badań nad położeniem proletariatu, działalność przemysłowa i handlowa Zjednoczonej Republiki Arabskiej, stosunek Iwana Franko do pisarzy zagranicznych itp.

Sekcja weterynaryjna obejmuje 99 prac (ogółem ok. 182 strony). Obejmują one wszystkie dziedziny, którymi zajmuje się nauka i praktyka weterynaryjna: zagadnienia fizjologii i patologii rozrodu, choroby zakaźne i pasożytnicze, fizjologię zwierząt domowych, toksykozy i zatrucia chemiczne, choroby ryb itp. Wiele z tych prac zasługuje na uwagę czytelników polskich. Niektóre z nich zostaną podane w streszczeniach z naukowych prac zagranicznych w „Medycynie Wet.”.

Sekcja zootechniczna obejmuje 81 prac (ok. 145 stron). Dotyczą głównie zagadnień hodowlanych, żywieniowych, niektórych fizjologicznych i anatomicznych zwierząt domowych. Całość wskazuje na dużą aktywność naukową Lwowskiego Instytutu Zooweterynaryjnego. Należy podkreślić staranne opracowanie materiału do druku i estetyczne wydanie.

T. Jastrzębski

SCHWARZE E.: Kompendium der Veterinär — Anatomie, Band V, Anatomie des Hausgeflügels (Zarys anatomii weterynaryjnej, tom V, Anatomia ptaków domowych) Gustaw Fischer Verlag, Jena 1966, stron 218 + XI, rycin 75, opr.

Zapowiedziany w roku 1965 przez prof. dr E. Schwarze'go, a wydany niedawno przy współudzia-