

URINSTOFF - NITROGEN

Prinsipp

Ved kondensasjons- og oksydasjonsreaksjon mellom urinstoff, 2,3-butandionmonoksim og antipyrin dannes et gult fargestoff med absorpsjonsmaksimum ved 460 nm. Tilsetning av arsensyre medvirker til hurtig og fullstendig reaksjon. Ammoniakk medbestemmes ikke, bare urinstoff og noen urinstofforbindelser som allantoin og citrullin.

Reagenser

1. Triklorediksyre, 10 %
2. Fargereagens. 1 g 2,3-butandionmonoksim og 3 g antipyrin overføres til 100 ml målekolbe, tilsettes aq.dest. og 5 ml iseddik, løses og justeres til merket med aq.dest. Løsningen oppbevares på mørk flaske i kjøleskap.
3. Svovelsyre-arsensyre-løsning. 150 g arsensyre (Baker and Adamson H_3AsO_4 , Reagent, Crystals) veies i et 2-liters begerglass. Det tilsettes 800 ml destillert vann, deretter forsiktig 200 ml konsentrert svovelsyre p.a. under stadig omrøring til alt er løst. Begerglasset settes i isvann for nedkjøling.
4. Grunnløsning urinstoff. 2,143 g urinstoff løses i aq.dest. til 100 ml. En dråpe kloroform tilsettes for konservering, og løsningen oppbevares i kjøleskap. Løsningen har en urinstoff-N-konsentrasjon på 10 mg/ml.
5. Arbeidsstandard urinstoff. 2 ml grunnløsning (reagens 4) fortynnes til 100 ml med aq.dest. 1 dråpe kloroform tilsettes, og løsningen oppbevares i kjøleskap. Ny løsning lages hver uke. Løsningens urinstoff-N-konsentrasjon er 0,2 mg/ml.

Utstyr

- a. Homogenisator
- b. Vannbad
- c. Begerglass, 500 ml
- d. Filtrerpapir, Whatman nr. 1
- e. Plast-sprøyteflaske
- f. Kyvette, 10 mm, optisk justert rør, gradert ved 10 ml (Coleman nr. 14-302).
- g. Coleman spektrofotometer.

Utførelse

Konsentrasjonen urinstoff-N bør ligge på 0,1-0,8 µg/ml slutt-fase.

5 g homogen råfiskprøve eller 1 g tørket mel overføres til 500 ml begerglass, tilsettes 100 ml aq.dest. og behandles med homogeni-sator. Videre tilsettes 100 ml reagens 1, blandes godt og filtreres etter 5 minutters henstand.

En alikvot filtrat (1-20 ml), avpasset etter prøvematerialets innhold av urinstoff, pipetteres over i 100 ml målekolbe, fortynnes med aq.dest. til merket og blandes. 1 ml av denne fortynningen pipetteres over i glassrør, gradert ved 10 ml. Det tilsettes 1 ml reagens 2 og justeres til 10 ml med reagens 3 fra plast-sprøyteflaske. Innholdet blandes, og røret stilles på kokende vannbad i 20 minutter. Prøven nedkjøles 3 minutter i kaldt vann. Det justeres påny til merket og blandes. Prøven overføres til kyvette, og absorpsjonen av-leses ved 460 nm.

Det tas alltid paralleller.

Standardkurve

Fra arbeidsstandard (reagens 5) måles ut alikvoter på henholds-vis 0,5-1-2-3 og 4 ml. Hver alikvot fortynnes med aq.dest. til 100 ml i målekolbe. 1 ml fra hver fortynning overføres til glassrør, gradert ved 10 ml. Som blindprøve utmåles 1 ml aq.dest. Analysen utføres videre som beskrevet ovenfor.

Absorpsjon (y-aksen) avsettes mot konsentrasjon urinstoff-N i µg/ml sluttfase (x-aksen) for fremstilling av standard-kurve.

Beregning

Med de angitte fortynninger, beregnes urinstoff-N etter formel:

$$\text{Urinstoff-N, g/100g} = \frac{20 C}{W X}, \text{ der}$$

C = Den konsentrasjon urinstoff-N i µg/ml sluttfase som avleses av standardkurven når absorpsjonen er målt

W = Initialt innveid mengde prøve i gram.

X = Antall ml ekstrakt som fortynnes videre til 100 ml med aq.dest.

Resultatet angis med en desimal.

Henvisning

Cerioti, G. og Spandrio, L., Clinica Chimica Acta 8, 295-299, 1963.