



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 156 458** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) МПК<sup>7</sup> **G 01 N 33/00, 33/48, 33/50**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21), (22) Заявка: 99111126/13, 28.05.1999  
(24) Дата начала действия патента: 28.05.1999  
(46) Дата публикации: 20.09.2000  
(56) Ссылки: Кларк Г.Т. Руководство по качественному и количественному органическому анализу. ОНТИ НКТП Государственное научно-техническое издательство Украины, 1934, с.314-316. Колосов С.Г. и др. Физико-химические методы контроля ингредиентов, питательных сред и биопрепаратов./ Методическое пособие для биофабрик и ветеринарных лабораторий. М., 1970, с.4-11.  
(98) Адрес для переписки:  
141300, Московская обл., г. Сергиев Посад,  
ул. Птицеградская 21а, кв.63, Цаплину А.К.

(71) Заявитель:  
Головачев Александр Федорович,  
Цаплин Алексей Константинович  
(72) Изобретатель: Головачев А.Ф.,  
Цаплин А.К.  
(73) Патентообладатель:  
Головачев Александр Федорович,  
Цаплин Алексей Константинович

(54) **СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЗОТА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ**

(57) Реферат:  
Изобретение относится к пищевой промышленности, сельскому хозяйству, агрохимии и может быть использовано при диагностике питания растений в процессе выращивания, а также при контроле качества сельскохозяйственной продукции, то есть для количественного определения азота в природных и промышленных продуктах. Способ определения азота в биологических образцах включает отбор пробы, внесение перекиси водорода и серной кислоты, нагрев до выделения белого дыма и полного обесцвечивания, охлаждение, добавление дистиллированной воды, далее в смесь дополнительно вносят боратный буфер, нейтрализуют раствором NaOH, затем вносят растворы марганца, гипохлорита натрия, KJ,

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, добавляют крахмал и титруют до обесцвечивания, потом аналогичную процедуру выполняют и для контрольной пробы, после чего определяют содержание азота по формуле  $X = (0,1166(V_0 - V_1) \cdot 100 \cdot 100\%) : m \cdot V_2$ , где V<sub>0</sub> - объем Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, пошедший на титрование контрольной пробы, мл; V<sub>1</sub> - объем Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, пошедший на титрование пробы, мл; V<sub>2</sub> - объем зольного раствора пробы, взятой на анализ, мл; m - масса навески, мг; 0,1166 - количество мг азота, эквивалентное 1 мл 0,025 н. раствора Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; 100 - исходный объем зольного раствора пробы, мл. Данный способ позволяет сократить время проведения анализа, а также улучшить воспроизводимость результата и повысить точность определения аммонийного азота.



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 156 458** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) Int. Cl.<sup>7</sup> **G 01 N 33/00, 33/48, 33/50**

RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 99111126/13, 28.05.1999

(24) Effective date for property rights: 28.05.1999

(46) Date of publication: 20.09.2000

(98) Mail address:  
141300, Moskovskaja obl., g. Sergiev Posad,  
ul. Ptitsegradskaja 21a, kv.63, Tsaplinu A.K.

(71) Applicant:  
Golovachev Aleksandr Fedorovich,  
Tsaplin Aleksej Konstantinovich

(72) Inventor: Golovachev A.F.,  
Tsaplin A.K.

(73) Proprietor:  
Golovachev Aleksandr Fedorovich,  
Tsaplin Aleksej Konstantinovich

(54) **METHOD OF ASSESSING NITROGEN IN BIOLOGICAL SAMPLES**

(57) Abstract:

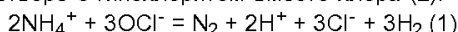
FIELD: analytical methods in agriculture and food industry. SUBSTANCE: invention is designed for use when diagnosing plant nutrition and also when controlling quality of agricultural produce and consists in quantitative determination of nitrogen in natural and industrial products. Nitrogen in biological samples is determined as follows. Hydrogen peroxide and sulfuric acid are first added to sample. The latter is heated until white smoke appears and decoloration is completed. After that, distilled water and (in which novelty consists) borate buffer are added. Mixture is neutralized with NaOH. Manganese, sodium hypochlorite, potassium iodide, and sulfuric acid solutions and then starch are added to

mixture, after which mixture is titrated to decoloration. The same procedure is repeated with reference sample and nitrogen content is determined from following equation:  $X = (0,1166(V_0 - V_1) \cdot 100 \cdot 100\% / m \cdot V_2)$ , in which  $V_0$  is volume of sodium thiosulfate solution consumed for titration of reference sample, ml;  $V_1$  the same for titration of biological sample, ml;  $V_2$  volume of sol solution of biological sample, ml;  $m$  weight of biological sample, mg; 0.1166 is number of mg of nitrogen corresponding to 1 ml of 0.025 N sodium thiosulfate; and 100 is initial volume of sol solution of biological sample, ml. EFFECT: reduced duration of analytical procedure, improved reproducibility and accuracy.

Изобретение относится к пищевой промышленности, сельскому хозяйству, агрохимии и может быть использовано при диагностике питания растений в процессе выращивания, а также при контроле качества сельскохозяйственной продукции, то есть для количественного определения азота в природных и промышленных продуктах.

Известен способ определения азота в органических веществах - метод Кьельдаля, включающий отбор пробы, внесение перекиси водорода и серной кислоты, нагрев до выделения белого дыма и полного обесцвечивания, охлаждение, добавление дистиллированной воды (Г.Т.Кларк "Руководство по качественному и количественному органическому анализу". ОНТИ НКТП Государственное научно-техническое издательство Украины, 1934, с. 314-316).

После того, как Кьельдаль предложил метод определения азота в органических веществах, начались поиски способа исключения громоздкой и трудоемкой процедуры отгонки аммиака. К этому времени Гофманом была уже открыта реакция между аммиаком и хлором, в результате которой образуется элементарный азот, составляющий 3 часть объема хлора (1). Позже она была проведена в водном растворе с гипохлоритом вместо хлора (2).



Однако попытки применить ее для определения аммонийного азота оказались безуспешными, поскольку не удавалось добиться необходимой точности. Когда гипохлорит был заменен на гипобромит (3), благодаря чему получались вполне удовлетворительные результаты, интерес к ней был окончательно потерян. Высказывалось предположение, что в этой реакции параллельно основной протекает какая-то побочная (4).

Таким образом, недостатком известного способа является невозможность определения аммонийного азота в органических веществах и большая продолжительность анализа.

Существующий в настоящее время метод определения протеина (белка) в кормах не позволяет своевременно выполнить анализ, и данные по питательности кормов, например, лаборатория птицефабрики получает после того, как корма скормлены. Практическая ценность такого анализа практически равна 0. Предлагаемый способ определения белка дает возможность получить данные в течение 1 часа и, в случае необходимости, своевременно доработать до нужных показателей. Это позволяет избежать срывов в технологии производства и экономических потерь.

Цель изобретения - сокращение времени проведения анализа, улучшение воспроизводимости результатов, точность определения аммонийного азота.

Поставленная цель достигается тем, что в предлагаемом способе определения азота в биологических образцах, включающем подготовку образца, внесение перекиси водорода, серной кислоты, нагрев до появления белого дыма и полного обесцвечивания, охлаждение, добавление дистиллированной воды, в смесь дополнительно вносят боратный буфер,

нейтрализуют раствором NaOH, затем вносят растворы марганца, гипохлорита натрия, KJ, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, добавляют крахмал и титруют до обесцвечивания, далее аналогичную процедуру выполняют и для контрольной пробы, после чего определяют содержание азота по формуле:

$$X = \frac{0,1166(V_0 - V_1) \cdot 100 \cdot 100\%}{m \cdot V_2}$$

где V<sub>0</sub> - объем Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, пошедший на титрование контрольной пробы, мл;

V<sub>1</sub> - объем Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, пошедший на титрование пробы, мл;

V<sub>2</sub> - объем зольного раствора пробы, взятой на анализ, мл;

m - масса навески, мг;

0,1166 - количество мг азота, эквивалентное 1 мл 0,025 н. раствору Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>;

100 - исходный объем зольного раствора пробы, мл.

Способ осуществляется следующим образом.

Раствор гипохлорита готовят из коммерческого препарата "Белизна" в боратном буфере в концентрации 0,075 н. Нужный pH доводился растворами NaOH или H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Стандартный раствор аммония готовился из фиксанала хлористого аммония (0,1 г-экв). Активный хлор определяется методом йодометрии. Йод оттитровывался 0,025 н. раствором тиосульфата натрия, приготовленного из фиксанала (0,1 г-экв).

Абсолютные спектры реакционной смеси регистрировались на дифференциальном спектрофотометре SPECORD (ФРГ), pH определялось на ORION RESEARCH (США), азот измерялся на автоанализаторе CONTIFO (Венгрия) (реакция индофенольной зелени) после определения Cl<sup>+</sup>. Окислительно-восстановительный потенциал измерялся на pH 340.

Определение азота в биологических образцах по методу Кьельдаля проводилось следующим образом. В колбу бралась навеска около 500 мг, затем в нее вносили 5 мл 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и 10 мл концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. После бурного кипения колба нагревалась на электроплитке в течение 10-15 минут, затем ставилась на асбестовую ткань для охлаждения. После повторного внесения 5 мл перекиси водорода колба вновь нагревалась до выделения белого дыма и полного обесцвечивания содержимого. При необходимости эта процедура повторялась вновь.

Объем охлажденной пробы доводят до 100 мл дистиллированной водой.

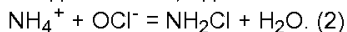
50 мл зольного раствора брались для отгонки аммиака в 0,05 н. раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, приготовленный из фиксанала (0,1 г-экв). Титр раствора щелочи уточнялся 0,05 н. раствором H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Оставшийся зольный раствор доводился водой до 100 мл и использовался в предлагаемом методе.

Многими авторами было показано, что промежуточными продуктами реакции (1) являются хлорамины, причем какой преимущественно хлорамин образуется зависит от pH смеси. При pH более 7 преобладает NH<sub>2</sub>Cl, а в пределах от 5 до 4 NHCl<sub>2</sub>, и менее 2-NCl<sub>3</sub> (5, 6). Каждый из них

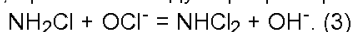
находился в равновесии со своим соседом, и при любом данном pH в системе не может существовать более двух хлораминов (7). В этой работе реакция исследуется только в слабощелочной среде.

Посмотрим, что происходит по мере прибавления гипохлорита к раствору аммония. Для удобства изложения обозначим хлор с валентностью +1, так называемый "активный хлор" через  $\text{Cl}^+$ , мольное отношение исходного  $\text{Cl}^+$  к исходному аммоний -R и мольное отношение израсходованного в реакции  $\text{Cl}^+$  к исходному аммоний -г.

Следовательно, идет известная реакция:



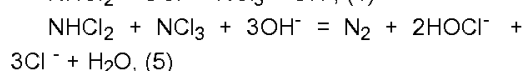
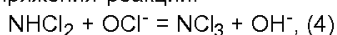
Дальнейшее увеличение соотношения хлора к азоту до  $R = 1$  вызывает смещение равновесия реакций (2) вправо, о чем свидетельствует повышение максимума поглощения. При эквимолярном соотношении структура спектра резко меняется. Во-первых, снижается содержание  $\text{NH}_2\text{Cl}$  в системе и появляются еще два максимума поглощения при 206 нм и 292 нм. Последний соответствует иону гипохлорита (8), а другой обусловлен присутствием дихлорамина. Дело в том, что спектр дихлорамина имеет два максимума поглощения: при 206 нм и 295 нм (9), но поскольку гипохлорит поглощает при 292 нм, их полосы накладываются. В смеси эти соединения можно дифференцировать по более выраженной полосе поглощения дихлорамина (206 нм), так как его коэффициент молярной экстинкции при этой длине волны в 7 раз превосходит коэффициент при 295 нм (9). Таким образом, по мере увеличения R до значения, равного 1.5, протекает следующая реакция:



При  $R = 2$  в смеси содержится незначительное количество хлораминов в равновесии с гипохлоритом. Спектр при более высоком значении R (3.0) демонстрирует полное отсутствие хлораминов и преобладание в системе гипохлорита.

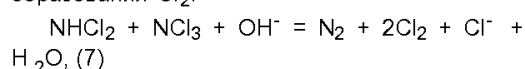
Были исследованы результаты количественного контроля за содержанием азота и  $\text{Cl}^+$ , проведенного параллельно качественному анализу. Потеря как азота, так и  $\text{Cl}^+$ , хотя и незначительная, происходит даже тогда, когда в системе преобладает монохлорамин, но наиболее резкая наблюдается при  $R > 1.0$ . При эквимолярном соотношении реакция (1) прореагировала приблизительно на 80%. Полное завершение ее достигается при исходном мольном соотношении хлора к азоту, равном 2.25.

Фактическое потребление  $\text{Cl}^+$  на окисление аммония до молекулярного азота на 10% выше теоретически рассчитанного по реакции (1). Причина потери хлора, возможно кроется в механизме последующих реакций дихлорамина. Было показано (10), что стабильность его сохраняется только до тех пор, пока в системе присутствует ион аммония. При исчерпании  $\text{NH}_4^+$ , вызванного избытком гипохлорита идут следующие сопряжения реакции:



Образование хлорноватистой кислоты можно наблюдать визуально по желтовато-зеленоватой окраске смеси в период наиболее бурного протекания реакции ( $1 < R < 1.5$ ). Обесцвечивание обусловлено диссоциацией  $\text{HOCl}$  на ионы  $\text{H}^+$  и  $\text{OCI}^-$ . Гипохлорит включается в реакцию (4), ускоряя ее, поэтому распад дихлорамина является аутокаталитическим процессом.

Как показали дальнейшие опыты, потеря хлора предотвращается присутствием в реагирующей смеси иона марганца в боратном буфере при pH 8,5 гипохлорит не окисляет  $\text{Mn}^{++}$ , но внесение в эту смесь  $\text{NH}_4^+$  вызывает помутнение раствора, обусловленное образованием двуокиси марганца, точнее ее гидрата  $\text{MnO}(\text{OH})_2$ . Такое же помутнение происходит при пропускании через смесь боратного буфера с  $\text{Mn}^{++}$  (pH 8,5) как  $\text{Cl}_2$ , так и  $\text{NCl}_3$ . Вероятно реакция (5) протекает через стадию образования  $\text{Cl}_2$ .



Если уравнение реакции (8) умножить на 2 и почленно сложить с уравнением (7), получится уравнение (5), выделявшаяся двуокись марганца определяется методом йодометрии аналогично определению  $\text{Cl}^+$ .

Мольное отношение израсходованного хлора к исходному аммоний (г) в этом случае получается равным 1.5, что соответствует отношению стехиометрических коэффициентов в уравнении (1).

С увеличением pH в системе преобладает  $\text{NH}_2\text{Cl}$ , а с уменьшением  $\text{NHCl}_2$ , то максимум скорости реакции, вероятно, достигается при оптимальном соотношении монохлорамина и дихлорамина. В присутствии  $\text{Mn}^{++}$  г, принимает значение, равное теоретическому в интервале 7,5-9,5. Резкое снижение г за пределами этого интервала вызвано тем, что реакция не идет до конца, и оставшиеся часть азота содержится в форме  $\text{NHCl}_2$  в более кислой среде и  $\text{NH}_2\text{Cl}^-$  в более щелочной.

Полученные данные позволили подобрать оптимальные условия для протекания реакции (1) и позволили применить ее для определения азота в биологических образцах, подвергнутых кислотному разложению по Кьельдалю.

А. Приготовление зольного раствора пробы.

В мерную на 100 мл колбу берут 100-200 мг (в зависимости от содержания азота) тщательно измельченного и перемешанного образца, вносят 5 мл 30% перекиси водорода, 4 мл концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Колбу ставят на электроплитку и нагревают до появления белого дыма (15 минут), а затем снимают и ставят на асбестовую ткань для охлаждения (10 мин). В остывшую колбу вновь вносят 5 мл перекиси и ставят на электроплитку для дальнейшего сжигания до появления белого дыма и обесцвечивания содержимого (25 минут). Объем колбы, остывшей на асбесте, доводят дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

Все перечисленные операции

параллельно выполняют и для слепой (контрольной) пробы, содержащей только 4 мл концентрированной  $H_2SO_4$ .

Б. Приготовление реактивов.

1. Раствор йодистого калия. Растворяют 50 г KI в 1 л дистиллированной воды. Раствор хранят в темной посуде.

2. Раствор серной кислоты (2 н.). В мерную колбу на 1 л берут 53,6 мл концентрированной  $H_2SO_4$ , доводят до метки дистиллированной водой.

3. Раствор гипосульфита натрия (0,025 н.). Растворяют фиксанал, содержащий 0,1 г-экв  $Na_2S_2O_3$  в 4 литрах дистиллированной воды.

4. В полученный раствор вносят 400 мг  $Na_2CO_3$  или 1 г  $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$ .

5. Раствор крахмала. Отвешивают 0,5 г "растворимого крахмала" и тщательно растирают его с несколькими миллилитрами холодной дистиллированной воды. Полученную пасту вливают в 100 мл кипящей дистиллированной воды, кипятят 2 минуты и горячим фильтруют. Хранят в холодильнике.

6. Раствор гидроокиси натрия. Растворяют 100 г NaOH в 1 л дистиллированной воды.

7. Приготовление рабочего раствора гипохлорита. Растворяют в мерной колбе на 1 л 30 г бурой в 800 - 900 мл теплой дистиллированной воды и вносят 50 мл 2 н.  $H_2SO_4$ . Затем определяют объем исходного раствора гипохлорита (бытовой препарат "Белизна") для получения 0,075 н. рабочего раствора. Для этого вносят в колбу на 250 мл с магнитной мешалкой 1 мл "Белизны", 50 мл дистиллированной воды, 10 мл раствора KI и 10 мл 2 н.  $H_2SO_4$ . Выделившийся йод титруют 0,025 н. раствором  $Na_2S_2O_3$  до соломенно-желтой окраски, после чего прибавляют около 0,5 мл раствора крахмала и титруют до обесцвечивания синей окраски от одной капли. Объем (V) определяют по формуле

$$V = \frac{1 \text{ мл} \cdot 0,075 \text{ н} \cdot 1000 \text{ мл}}{0,025 \text{ н} \cdot a}, \quad (1)$$

где а - объем 0,025 н. раствора гипосульфита, пошедший на титрование.

После внесения найденного объема "Белизны" колбу доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают, pH полученного раствора должен быть в пределах 8,5.

8. Раствор сернокислого марганца. Растворяют 2,5 г  $MnSO_4 \cdot 5H_2O$  в 100 мл дистиллированной воды.

9. Боратный буфер. В мерную колбу на 1 литр берут навеску фенолфталеина, равную 15 мг, вносят некоторое количество дистиллированной воды и 1 мл раствора NaOH (N 5), перемешивают и растворяют 30 г тетрабората натрия теплой дистиллированной водой.

10. Объем доводят до метки.

В коническую колбу на 250 мл вносят 10-20 мл зольного раствора пробы, 10 мл боратного буфера. Смесь нейтрализуют на магнитной мешалке раствором NaOH до слабо-розовой окраски. Затем последовательно вносят 2 мл раствора марганца, 20 мл гипохлорита натрия, 10 мл KI и 10 мл 2 н.  $H_2SO_4$ , после чего добавляют около 0,5 мл крахмала и титруют до обесцвечивания синей окраски от одной капли. Аналогичную процедуру выполняют и

для слепой (контрольной) пробы. Процентное содержание азота в пробе (X) определяют по формуле:

$$X = \frac{0,1166(V_0 - V_1) \cdot 100 \cdot 100\%}{m \cdot V_2},$$

где  $V_0$  - объем  $Na_2S_2O_3$ , пошедший на титрование контрольной пробы, мл;

$V_1$  - объем  $Na_2S_2O_3$ , пошедший на титрование пробы, мл;

$V_2$  - объем зольного раствора пробы, взятой на анализ, мл;

m - масса навески, мг;

0,1166 - количество мг азота, эквивалентное 1 мл 0,025 н. раствору  $Na_2S_2O_3$ ;

100 - исходный объем зольного раствора пробы, мл.

Если почленно сложить уравнение (2)-(6), умножив (2), (3), (6) на 2, то получится уравнение (1). Таким образом, конечные продукты этой реакции являются результатом сложной цепи последовательных превращений исходных продуктов. При этом  $Cl^+$  с валентностью +1, превращаясь в хлорид с валентностью -1, проходит стадию с нулевой валентностью, и в этом состоянии возможна его потеря.

Определенный вклад в эту потерю может вносить и треххлористый азот потому, что он обладает более выраженным по сравнению с  $NH_2Cl$  и  $NHCl_2$  гидрофобными свойствами. В двухфазной системе, по имеющимся данным (7), отношения распределения между  $Cl_4C$  и водой равно 0,058, 0,88 и 32,0 соответственно для  $NH_2Cl$  и  $NHCl_2$  и  $NCl_3$ . Поэтому некоторая часть  $NCl_3$  вместе с  $Cl_2$ , вероятно, увлекается бурно выделяющимся газообразным азотом, приводя к потере "активного хлора". Марганец, очевидно, вызывает резкое смещение реакции (7) вправо, поскольку  $Cl_2$  расходуется на образование двуокиси.

Равенство г отношения стехиометрических коэффициентов исходных продуктов реакции (1) в присутствии  $Mn^{++}$  дает возможность рассчитать титр раствора гипосульфита по азоту. Между тем в некоторых предлагаемых гипобромитных методах определения азота это далеко не всегда возможно, и тогда титр гипосульфита уточняется по стандартному раствору аммония (11).

Чаще всего в качестве индикатора при доведении pH до нужного значения в предлагаемых методах с гипобромитом используют окись ртути, так как органические индикаторы окисляются гипогалогенами, искажая результаты анализа. В данном случае для доведения pH реакционной смеси до 8,5 применен фенолфталеин таким образом, что количество его одинаково как в слепой (контрольной), так и в исследуемых пробах ошибка, связанная с расходом  $Cl^+$  на окисление индикатора, уничтожается в формуле (2). Поскольку предел pH, в которых значение g равно 1,5, сравнительно широкий, требования к точности доведения реакционной среды - невысокие.

Нормальность 0,075 рабочего раствора гипохлорита рассчитана на определение азота в пределах от 0 до 3 мг в реакционной смеси, но этот интервал можно расширить, повысив концентрацию  $Cl^+$ .

Сжигание биологических образцов проводится в концентрированной  $H_2SO_4$  с окислителем ( $H_2O_2$ ) без добавления каких-либо катализаторов, так как они мешают определению азота. Рекомендуемые некоторыми авторами способы удаления катализаторов из минерализата (12) сложны и неоправданно увеличивают время анализа. Перекись значительно эффективнее катализаторов, но и она тоже может вносить помеху в случае неполного испарения, завышая результаты анализа. Однако, как показали исследования,  $H_2O_2$  в нем отсутствует, если сжигаемая смесь кипит с выделением белого дыма ( $330^\circ C$ ).

Гипохлорит натрия является более доступным окислителем, чем гипобромид, поэтому иногда в предлагаемых гипобромидных методах применяется KBr, окисляющийся гипохлоритом до гипобромита.

Однако реакция (1), в отличие от гипобромитной, применима только для метода обратного титрования, так как она идет до конца только при значительном избытке гипохлорита.

#### Выводы

1. Точность предлагаемого метода определения азота в биологических образцах близка к точности метода Кьельдаля.

2. Участие иона марганца в данной реакции является важным условием достижения этой точности.

3. Для полного завершения реакции исходное молярное отношение хлора к аммонии должно быть не менее 2.25.

4. Оптимальная для протекания реакция pH в пределах 7,5-9.0.

#### Источники информации

1. Hofmann A. Ber. 1882 15. 2664.
2. Hentschell W. Ber. 1897. 30. 1434.
3. Rapp E., Rossler E. Arch. Farm. 1905. 243. 104.
4. Dowell C. Bray W. Am. Chem. Soc. 1917.

39. 896.

5. Chapin R. J. Am. Chem. Soc. 1931. 53. 912.

6. Metcalf W. J. Chem. Soc. 1932. 148.

5 7. Czech F., Fuches R., Antezak H. Anatyt. Chem. 1961. 33. 705.

8. Anber M. J. Chem. Soc. 1954. 1105.

9. Soulard M. Bloc F., Hatterer A. J. Chem. Soc. 1981. 2300.

10. Sisler H. J. Inorg. Chem. 1983. 22. 1449.

10 11. Belcher R., West T., Williams M. J. Chem. Soc. 1957. 4323.

12. Hashmi M., Ali E., Umar M. Analyt. Chem. 1962. 34. 988-991.

#### Формула изобретения:

15 Способ определения азота в биологических образцах, включающий отбор пробы, внесение перекиси водорода и серной кислоты, нагрев до выделения белого дыма и полного обесцвечивания, охлаждение, добавление дистиллированной воды, отличающийся тем, что дополнительно вносят боратный буфер, нейтрализуют раствором NaOH, затем вносят растворы марганца, гипохлорита натрия, KJ,  $H_2SO_4$ , добавляя крахмал и титруют до обесцвечивания, далее аналогичную процедуру выполняют и для 20 контрольной пробы, после чего определяют содержание азота по формуле

$$X = \frac{0,1166(V_0 - V_1) \cdot 100 \cdot 100\%}{m \cdot V_2},$$

30 где  $V_0$  - объем  $Na_2S_2O_3$ , пошедший на титрование контрольной пробы, мл;

$V_1$  - объем  $Na_2S_2O_3$ , пошедший на титрование пробы, мл;

$V_2$  - объем зольного раствора пробы, взятой на анализ, мл;

35 m - масса навески, мг;

0,1166 - количество мг азота, эквивалентное 1 мл 0,025 н раствора  $Na_2S_2O_3$ ; 100 - исходный объем зольного раствора пробы, мл.

40

45

50

55

60