

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТА / БЕЛКА В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ И КОРМАХ

М.Джэйкоб (M.Jakob), LECO Europe, Нидерланды
michael_jakob@leco.com

Описан подход к определению азота/белка по методу Дюма, реализованный в анализаторе LECO FP628, где для исключения неполноты сгорания анализируемых проб применяется их сжигание в вертикальной печи в атмосфере чистого кислорода при температуре до 1050°C. Для повышения производительности процесса и снижения расходов на выполнение анализов произведена оптимизация рабочих параметров прибора. Изучена зависимость точности производимых измерений от величины аликвоты пробы, типа газа-носителя и времени анализа, определяемого настройками прибора. Показано, что погрешность анализов с помощью LECO FP628 является допустимой при работе в высокопроизводительном режиме, с экономичной петлей малого объема и при использовании аргона в качестве газа-носителя.

Как правило, содержание белка в пищевых продуктах и кормах определяется не напрямую, а рассчитывается, исходя из концентрации азота. Для расчетов используются определенные для разных продуктов коэффициенты. Для большинства пищевых продуктов и кормов используется коэффициент 6,25.

Существует несколько методов определения азота в продуктах и кормах. Наибольшее распространение получил метод, разработанный датским химиком Йоханом Кьельдалем в 1883 году. Метод основан на минерализации органического вещества пробы в концентрированной серной кислоте в присутствии катализатора. При этом азот, входящий в состав органических соединений, количественно переходит в аммиак, образующий при взаимодействии с серной кислотой сернокислый аммоний. При прибавлении избытка щелочи сернокислый аммоний разлагается, а образовавшийся аммиак отгоняют, поглощают раствором H_2SO_4 или HCl , после чего избыток кислоты определяют титриметрически. На основании результатов титрования рассчитывают количество органического азота.

Метод Кьельдаля хорошо известен и применяется аналитиками на протяжении долгого периода времени. Однако при этом он имеет значительное число недостатков. Наиболее критичные из них – большая длительность процесса, низкая производительность, необходимость использования концентрированных кислот и щелочей и высокая стоимость анализа.

Всего этого лишен альтернативный метод определения азота – метод Дюма, в основе которого лежит превращение азота в N_2 и оксиды при сжигании образца. Оксиды азота затем также каталитически восстанавливаются, как правило, медью или вольфрамом до молекулярного азота, суммарное содержание которого определяется измерением теплопроводности в токе гелия или аргона. При этом весь аналитический процесс занимает существенно меньшее время, чем по методу Кьельдаля (3–4 мин вместо 2–3 ч), здесь не используются едкие кислоты и щелочи и нет токсичных отходов, а стоимость проведения анализа не высока. Благодаря этому, метод Дюма с конца 90-х годов прошлого века был включен в большое число стандартов по определению азота/белка (ГОСТ, АОАС, ISO и т. д.).

Существует несколько вариантов приборной реализации метода Дюма. Один из них основан на хроматографическом разделении продуктов сжигания, второй – на использовании ловушек. Оба подхода имеют существенные недостатки. Во-первых, в обоих случаях необходимо производить разделение всего объема выделившегося газа, что увеличивает расход реагентов, повышает затраты на их приобретение и приводит к необходимости осуществлять более частое техническое обслуживание прибора. Во-вторых, имеет место проблема неполного сгорания проб. Не представляется возможным реализовать их полноценное сжигание в чистом кислороде,

поскольку это ведет к уменьшению ресурса реагентов, нейтрализующих избыток этого газа для предотвращения его попадания в ячейку катарометра. Следствием же осторожной дозированной подачи O_2 становится зависимость результатов анализа от однородности и типа образца.

В анализаторе азота/белка LECO FP628 реализован третий подход приборной реализации метода Дюма, лишенный приведенных выше недостатков. Здесь сжигание анализируемых проб происходит в вертикальной печи в атмосфере чистого кислорода при температуре до $1050^\circ C$. Для большинства пищевых продуктов и кормов используется один и тот же метод и одна калибровка. При высокотемпературном сжигании в атмосфере чистого кислорода удается гарантированно свести на нет проблемы неполного сгорания проб и формирования метана. Образцы пищевых продуктов и кормов содержат значительное количество влаги, которая после сжигания проб попадает в аналитическую систему. Для удаления влаги из газовой смеси используется высокоэффективный термоэлектрический охладитель.

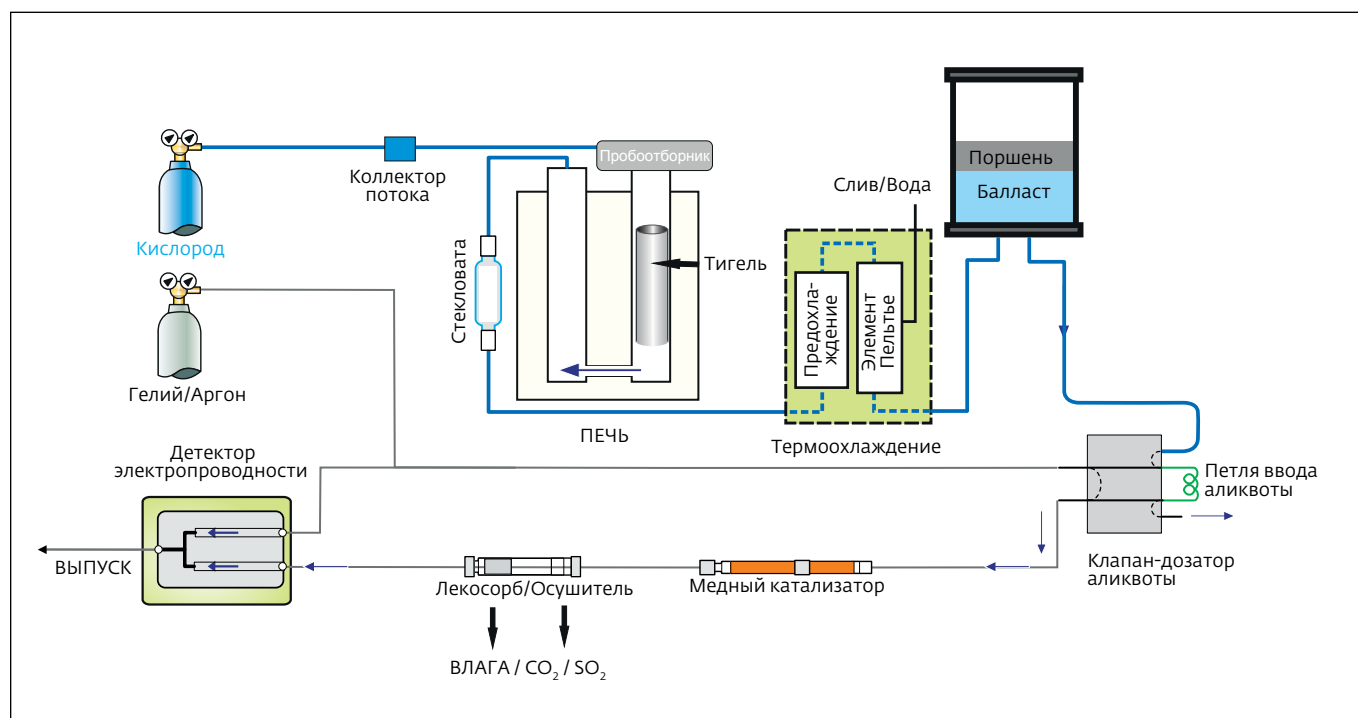
Вся образовавшаяся после сжигания образца газовая смесь (кислород, азот, оксиды азота, CO_2 и другие газы) собирается в балластной емкости. После завершения процесса из балластной емкости отбирается представительная аликвота газовой смеси, которая в токе инертного газа проходит



Анализатор LECO FP628

сначала через каталитическую печь для удаления остатков кислорода и восстановления оксидов азота. CO_2 удаляется из газового тракта с помощью Лекосорб (Lecosorb), азот детектируется ячейкой теплопроводности. Газовая схема анализатора LECO FP628 показана на рисунке.

Пробы пищевых продуктов и кормов зачастую не являются гомогенными. Для получения точных и воспроизводимых результатов анализов по опреде-



Газовая схема анализатора LECO FP628

Таблица 1. Общее время анализа и производительность при выборе режимов "высокая точность" или "высокая производительность" на анализаторе азота/белка по методу Дюма LECO FP628

Параметры метода	Газ-носитель: гелий		Газ-носитель: аргон	
	высокая точность	высокая производительность	высокая точность	высокая производительность
Минимальное время анализа (с)	40	40	60	60
Время стабилизации базовой линии (с)	10	6	10	6
Время стабилизации балластной емкости (с)	30	10	30	10
Время стабилизации аликвотного объема (с)	8	4	8	4
Общее время анализа (мин)	4	3,5	4,5	4
Производительность (количество образцов/ч)	15	17	13	15

лению азота/белка в данных пробах масса образца варьируется от 100 мг до 1 г. Твердые образцы помещаются в оловянную фольгу или в оловянные капсулы. Жидкие образцы помещаются в большие оловянные капсулы.

Весь цикл анализа от ввода образца для получения результата занимает при использовании стандартной методики не более 4 мин. В данной методике используется гелий в качестве газа-носителя и аликвотный объем взятого из балластной емкости газа, равный 10 мл. Далее в статье будут рассмотрены варианты изменения параметров стандартного метода для достижения более высокой производительности и сокращения расходов на проведение анализов без ухудшения при этом основных метрологических характеристик, включая воспроизводимость и точность.

Рассмотрены три основных параметра.

1) Размер аликвоты

Очевидно, что использование меньшей аликвоты приведет к двум последствиям: 1) некоторому уменьшению чувствительности из-за сокращения количества анализируемого газа и 2) снижению расходования таких материалов, как Медные палочки (Copper Sticks) и Лекосорб (Lecosorb). Изменение аликвоты никак не повлияло на время анализа. Стандартная петля аликвоты объемом 10 мл была заменена на петлю аликвоты объемом 3 мл. Благодаря этому в три раза было увеличено время жизни расходующихся материалов и, как следствие, межсервисный интервал (например, Медные палочки будут обеспечивать проведение 2000 анализов вместо ~600).

2) Тип газа-носителя

Обычно в качестве газа-носителя используются такие газы как гелий или аргон. Чувствительность измерительной ячейки катарометра зависит от разности в теплопроводностях газа-носителя и измеряемого газа, в данном случае от разницы в теплопроводности азота (измеряемого газа) и гелия/аргона (газа-носителя). В случае использования гелия в качестве газа-носителя чувствительность ячейки возрастает более чем в пять раз по сравнению с аргоном. Преимуществом использования аргона может являться его низкая стоимость и неограниченная доступность. При использовании аргона слегка увеличивается время анализа и немного снижается чувствительность. При этом разница в чувствительности и точности измерения не существенны, поэтому аргон может применяться для анализа реальных образцов.

3) Настройки прибора

В настройках прибора существует несколько устанавливаемых временных интервалов, которые могут быть оптимизированы для ускорения процесса измерения. В результате был создан специальный метод, ускоряющий процесс анализа для увеличения производительности. Он получил название "высокопроизводительный" и был сравнен с другим, названным "высокоточным" (табл.1*).

* Все экспериментальные данные взяты из работы "Optimizing a Total Protein Combustion Instrument", Dennis Lawrenz, Mason Marsh, Jeffery Gast, Fred Schultz – LECO Corporation, St. Joseph, MI.

Таблица 2. Образцы кормов. Среднее значение, среднее квадратическое отклонение (СКО) и относительное среднее квадратическое отклонение (ОСКО %) при выборе режимов "высокая точность" или "высокая производительность" для разного объема аликвоты газообразных продуктов сгорания и при изменении используемого газа-носителя. Анализатор азота/белка по методу Дюма LECO FP628

Образцы кормов	Масса образца, количество анализов (n)	Показатели	Аликвота 10 мл, газ-носитель: гелий		Аликвота 3 мл, газ-носитель: гелий		Аликвота 10 мл, газ-носитель: аргон	
			высокая производительность	высокая точность	высокая производительность	высокая точность	высокая производительность	высокая точность
			%N	%N	%N	%N	%N	%N
Фураж, образец А	~0,25 г n=5	Среднее значение	6,28	6,297	6,272	6,258	6,246	6,238
		СКО	0,006	0,007	0,023	0,024	0,018	0,021
		ОСКО %	0,10	0,11	0,37	0,38	0,29	0,34
Фураж, образец В	~0,25 г n=5	Среднее значение	4,801	4,814	4,606	4,765	4,775	4,794
		СКО	0,004	0,014	0,021	0,014	0,022	0,01
		ОСКО %	0,06	0,29	0,44	0,29	0,46	0,21
Сухой корм для домашних животных, образец А	~0,25 г n=5	Среднее значение	4,449	4,411	4,444	4,424	4,429	4,412
		СКО	0,01	0,006	0,031	0,015	0,029	0,013
		ОСКО %	0,22	0,18	0,70	0,34	0,65	0,29
Сухой корм для домашних животных, образец В	~0,25 г n=5	Среднее значение	5,712	5,702	5,676	5,691	5,713	5,687
		СКО	0,017	0,017	0,012	0,028	0,058	0,024
		ОСКО %	0,30	0,30	0,21	0,49	1,02	0,42

Из всех возможных изменяемых параметров были проверены три: а) газ-носитель гелий с объемом аликвоты 10 мл; б) газ-носитель гелий с объемом аликвоты 3 мл; в) газ-носитель аргон с объемом аликвоты 10 мл. Все три конфигурации были протестированы как на высокопроизводительном режиме, так и на высокоточном. В сравнительных тестах использовались различные образцы муки, фуража и кормов для животных. Результаты представлены в табл.2 и 3.

Продукты питания были представлены четырьмя образцами муки: пшеницы, ржи, риса и кукурузы. Все четыре образца являются калибровочными образцами LECO с аттестованными значениями азота/белка.

Очевидно, что использование различных настроек дает расхождение в результатах, которое укладывается в пределы, допускаемые для изме-

рений в одной лаборатории. Необходимая точность измерения была достигнута для образцов фуража и муки. Причем сравнивая высокоточный и высокоскоростной методы, можно увидеть, что по точности они сопоставимы. Сопоставление измерений с использованием 10 мл и 3 мл аликвотной петли при использовании гелия и 10 мл аликвотной петли при использовании аргона позволяет отметить, что точность во втором случае немного снижается, но в целом остается в рамках 1% ОСКО за некоторыми исключениями.

Использование высокоскоростного метода приводит к сокращению времени анализа и увеличению производительности на 13%. Примерно на ту же величину последняя снижается при замене гелия более дешевым аргоном. Переход с петли для аликвоты 10 мл на аликвоту 3 мл при использовании газа-носителя гелия ведет к снижению

Таблица 3. Образцы продуктов питания. Среднее значение, среднеквадратическое отклонение (СКО) и относительное среднеквадратическое отклонение (ОСКО %) при выборе режимов "высокая точность" или "высокая производительность" для разного объема аликвоты газообразных продуктов сгорания и при изменении используемого газа-носителя. Анализатор азота / протеина по методу Дюма LECO FP628

Образец, артикул, партия, сертиф. значение	Масса образца, количество анализов (n)	Показатели	Аликвота 10 мл, газ-носитель: гелий		Аликвота 3 мл, газ-носитель: гелий		Аликвота 10 мл, газ-носитель: аргон	
			Высокая производительность	Высокая точность	Высокая производительность	Высокая точность	Высокая производительность	Высокая точность
			%N	%N	%N	%N	%N	%N
Пшеничная мука №502-274 Лот 1015 2,68±0,03%N	~0,25 г n=5	Среднее значение	2,673	2,671	2,665	2,667	2,680	2,670
		СКО	0,007	0,013	0,007	0,007	0,024	0,013
		ОСКО %	0,26	0,49	0,26	0,26	0,90	0,49
Ржаная мука №502-275 Лот 1007 1,74±0,06%N	~0,25 г n=5	Среднее значение	1,749	1,747	1,735	1,721	1,698	1,717
		СКО	0,005	0,008	0,008	0,005	0,016	0,029
		ОСКО %	0,29	0,46	0,46	0,29	0,94	1,69
Рисовая мука №502-278 Лот 1013 2,17±0,05%N	~0,25 г n=5	Среднее значение	1,197	1,119	1,197	1,179	1,159	1,154
		СКО	0,004	0,002	0,007	0,03	0,02	0,012
		ОСКО %	0,33	0,17	0,58	2,54	1,73	1,04
Кукурузная мука №502-563 Лот 1014 1,21±0,02%N	~0,25 г n=5	Среднее значение	1,218	1,226	1,228	1,226	1,206	1,21
		СКО	0,009	0,006	0,019	0,008	0,019	0,014
		ОСКО %	0,74	0,49	1,55	0,65	1,58	1,16

стоимости анализа на 15%. При одинаковой петле для аликвоты 10 мл замена гелия на аргон снижает стоимость анализа на 7%.

ВЫВОДЫ

Оптимизирован режим работы анализатора общего азота/белка LECO FP628. При этом производительность анализатора была увеличена без какого-либо ухудшения результатов анализа. Как при работе с малой аликвотой, так и при использовании более дешевого аргона анализатор демонстрировал допустимую точность для всех видов пищевых продуктов и кормов. При анализе в оптимизированном режиме средние значения азота/белка не обнаруживали каких-

либо отклонений. При использовании предлагаемых изменений настроек и замене газа-носителя точность измерений (ОСКО) незначительно снижается, однако остается приемлемой для всех видов продуктов, то есть за некоторым исключением, в рамках 1%.

Анализаторы LECO FP628 позволяют определять азот/белок методом Дюма по ГОСТ Р ИСО 16634 и ГОСТ Р 54390 в продуктах питания и кормах. Минимальное время анализа, отсутствие пробоподготовки, полная автоматизация цикла и применимость для разнородных образцов обеспечивают максимально возможную в отрасли производительность при высокой точности и низкой стоимости анализа.

