



Михаэль Якоб

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АЗОТА/ПРОТЕИНА В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ

ОПТИМИЗАЦИЯ РАБОТЫ АНАЛИЗАТОРА ОБЩЕГО АЗОТА/ПРОТЕИНА
ДЛЯ ДОСТИЖЕНИЯ МАКСИМАЛЬНОЙ ПРОИЗВОДИТЕЛЬНОСТИ И
МИНИМАЛЬНОЙ СТОИМОСТИ АНАЛИЗА



Как правило, содержание протеина в продуктах питания и кормах не определяется прямым методом, этот показатель рассчитывается на основании количества содержащегося в образце азота. Число, выражающее количество азота, умножается на определенный коэффициент (в зависимости от типа белка) и таким образом вычисляется содержание общего протеина. Наиболее часто используемые коэффициенты – 6,25 (базовый), 6,38 (молочные продукты) и некоторые другие.



Рис. 1: Анализатор LECO FP628

Существует несколько методов для определения азота в продуктах питания и кормах. Вот уже более 100 лет широко используется метод Кельдаля. Метод основан на использовании классических инструментов мокрой химии, включает в себя этапы химического расщепления и титрования, он широко распространен и признан. В процессе анализа навеска массой от нескольких сот мг до 1 гр. помещается в раствор концентрированной серной кислоты с катализатором, в результате реакции азота с раствором образуется сульфат аммония, для титрования применяется концентрированный гидроксид натрия (NaOH), который добавляется в NH_3 . Несмотря на широкую известность и популярность, этот метод имеет массу недостатков и неудобств. Большое время анализа, невысокая производительность, работа с агрессивными и опасными компонентами (горячие кислоты и основания), высокая стоимость анализа послужили причиной поиска альтернативного метода. Таким методом стал метод Дюма. Метод Дюма использует принцип сжигания навески, в процессе чего азот, содержащийся в пробе, принимает форму N_2 или NO_x . Из оксидов азот восстанавливается с помощью нагретой меди или иногда вольфрама, затем количество азота измеряется в ячейке теплопроводности. В процессе измерения прибор сравнивает значение теплопроводности азота со значением теплопроводности газа-носителя и рассчитывает содержание азота. Как правило, в качестве газа-носителя используется гелий или аргон.

Метод Дюма имеет некоторые преимущества перед методом Кельдаля. Анализ занимает несколько минут против нескольких часов, нет токсичных отходов, процедура анализа безопасна и, наконец, стоимость анализа существенно ниже. Эти преимущества привели к тому, что метод Дюма наряду с методом Кельдаля с конца 1990-х годов также является эталонным методом при анализе многих продуктов питания и кормов. (Стандарты AOAC, ISO и др.)

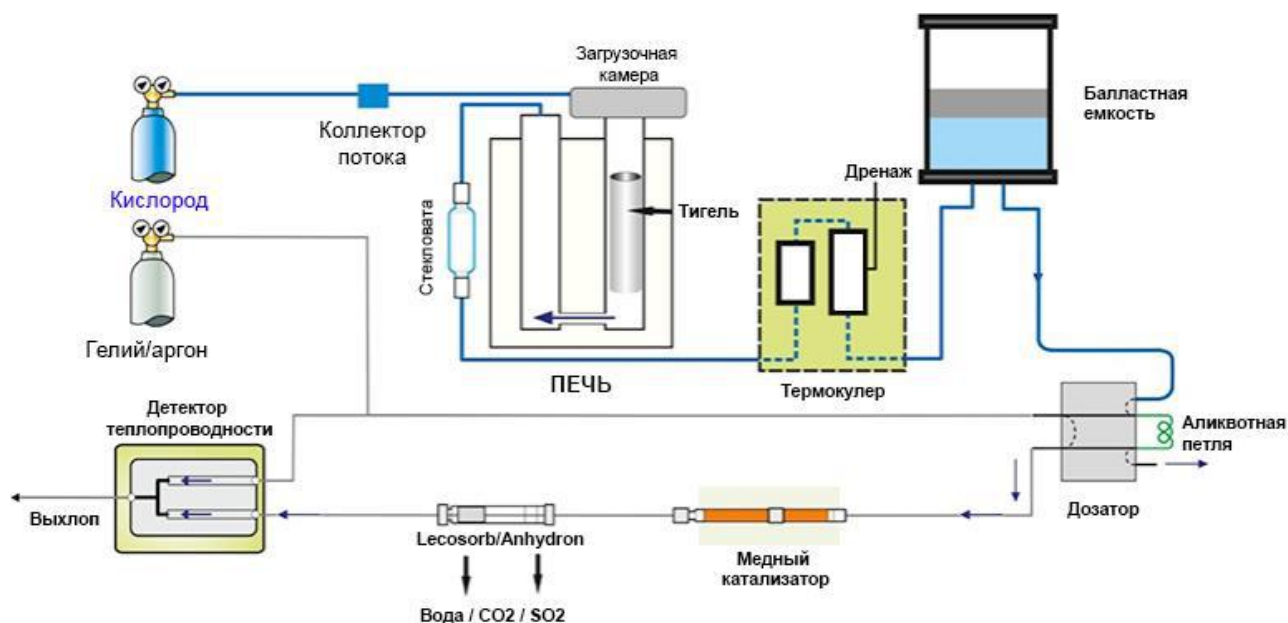


Рис. 2: Схема газового тракта LECO FP628

Технически метод Дюма может быть реализован по-разному: например, с помощью технологии газовой хроматографии и с помощью системы поглотителей. Оба варианта имеют некоторые недостатки. Первый заключается в том, что газы, которые образовались в результате процесса сгорания, проходят систему газового тракта в полном объеме, что приводит к большому расходу химических реагентов и сокращению межсервисного интервала.

Вторая проблема относится к процессу сжигания. В связи с тем, что все газы должны пройти через ячейку теплопроводности, возникает необходимость очень осторожной дозировки кислорода для того, чтобы избежать повышенного расхода химических реагентов. Это делает невозможным сжигание в чистом кислороде, что может вызвать неполное сгорание навески и перекрестную зависимость матриц. Третий широко используемый способ реализован несколько иначе, его необходимо описать более подробно. В частности, этот метод нашел применение в анализаторах компании LECO.

Как правило, масса навески, используемая в этом способе, колеблется между 100 мг и 1 гр. Для того, чтобы преодолеть трудности, возникающие при работе с неоднородными образцами, есть модели анализаторов, предназначенные для работы с навесками в макро диапазоне. Твердые образцы могут заворачиваться в оловянную фольгу, помещаться в оловянные или гелевые капсулы или анализироваться без специальной упаковки. Жидкие образцы с помощью пипетки помещаются в большие оловянные капсулы.



В анализаторе LECO FP628 сжигание происходит в вертикальной печи при температуре до 1050°C в потоке чистого кислорода. Практически для всех типов матриц, встречающихся в пищевых продуктах и кормах, достаточно одного аналитического метода и одного типа калибровки, чтобы работать в необходимом аналитическом диапазоне. Применение высоких температур и чистого кислорода устраняет такие проблемы, как неполное сгорание навески или образование метана. Как правило, образцы продуктов питания и кормов содержат высокое количество воды, которая склонна накапливаться в конструктивных элементах анализатора. Для ее удаления из газов в LECO FP628 применяется специальный высокоэффективный термоэлектрический охладитель. Далее все газы, образующиеся в результате процесса сгорания навески (в основном кислород, азот и его оксиды, углекислый газ и некоторые другие) собираются для смешивания в балластной емкости, что обеспечивает хорошую гомогенизацию газов. В анализаторе реализована система отбора представительной аликвоты из балластной емкости. Отобранная аликвота транспортируется по газовому тракту прибора в потоке инертного газа-носителя. Далее с помощью нагретого медного катализатора из аликвоты удаляется избыточный кислород для восстановления азота из оксидов. В последствии CO₂ (SO₂ и другие газы) убираются с помощью реагента Lecosorb (гидроксид натрия) и в конце концов азот определяется в ячейке теплопроводности, на основе сравнения значений теплопроводности азота и теплопроводности газа-носителя (см. Рис. 2).

Таблица 1: Настройки методов ВТ (высокая точность) и ВП (высокая производительность)

Параметры	Гелий		Аргон	
	ВТ	ВП	ВТ	ВП
Мин. время анализа (сек)	40	40	60	60
Установка базовой линии ячейки теплопроводности (сек)	10	6	10	6
Гомогенизация в балластной емкости (сек)	30	10	30	10
Гомогенизация в аликвотной петле (сек)	8	4	8	4
Общее время анализа (мин)	4	3,5	4,5	4
Производительность (образцов/час)	15	17	13	15

Весь процесс от загрузки пробы до получения результата при стандартных настройках занимает 4 минуты или 240 секунд. Под стандартными настройками подразумевается использование гелия в качестве газа-носителя и отбор аликвоты в объеме 10 см³. В рамках данной статьи мы будем рассматривать возможности для увеличения производительности анализатора и уменьшения стоимости анализа при сохранении аналитической точности и эффективности.



В рамках данного исследования мы рассмотрим изменения 3 параметров:

1) Величина аликвоты

Очевидно, что уменьшение величины аликвоты приведет к двум последствиям: снижение чувствительности прибора в следствие меньшего объема анализируемого газа и снижение расхода реагентов (медный катализатор и Lecosorb). На скорость работы анализатора объем аликвоты существенного влияния не оказывает. Стандартный объем аликвотной петли в 10 см³ может быть заменен петлей объемом 3 см³. Это позволяет примерно в 3 раза увеличить срок службы реагентов (например, замена медного катализатора потребуется через 2000 анализов, а не через 600, как в случае с петлей в 10 см³.)

2) Тип газа-носителя

Как правило, в качестве газа-носителя используется гелий или аргон. Чувствительность ячейки теплопроводности зависит от разницы теплопроводности газа-носителя и газа, который определяется, в нашем случае, это гелий / аргон и азот. В случае использования гелия, разница в значениях теплопроводности достигает 5 раз. Основное преимущество аргона – низкая стоимость и широкая доступность. При использовании аргона несколько увеличивается время анализа и снижается чувствительность прибора. Эти особенности необходимо учитывать при решении каждой конкретной задачи.

3) Настройки анализатора

Изменение ряда настроек (см. Таблицу 1) может вызвать снижение времени анализа. Для демонстрации этой возможности в рамках настоящей статьи был создан отдельный высокоскоростной режим работы прибора, который был назван «Высокая производительность» (или ВП). Также был создан другой режим, названный «Высокая точность» (или ВТ).

В качестве практических примеров мы будем рассматривать работу с тремя доступными конфигурациями анализатор: а) гелий в качестве газа-носителя, аликвотная петля - 10 см³, б) гелий, 3 см³, в) аргон, 10 см³. Все три конфигурации были проверены в работе в режиме «Высокая производительность» и «Высокая точность». Анализ проводился с использованием образцов муки, фуража и корма для домашних животных. Результаты испытаний отображены в таблицах 2 и 3.



Таблица 2: Анализ образцов кормов

Образцы кормов	Масса навески/ число анализов		Гелий, 10 см ³		Гелий, 3 см ³		Аргон, 10 см ³	
			ВП	ВТ	ВП	ВТ	ВП	ВТ
			% N	% N	% N	% N	% N	% N
Фураж, образец А	0,25 гр/5	Сред. знач.	6.28	6.297	6.272	6.258	6.246	6.238
		Станд.откл.	0.006	0.007	0.023	0.024	0.018	0.021
		СКО %	0.10	0.11	0.37	0.38	0.29	0.34
Фураж, образец В	0,25 гр/5	Сред. знач.	4.801	4.814	4.808	4.765	4.775	4.794
		Станд.откл.	0.004	0.014	0.021	0.014	0.022	0.01
		СКО %	0.08	0.29	0.44	0.29	0.46	0.21
Сухой корм, образец А	0,25 гр/5	Сред. знач.	4.449	4.411	4.444	4.424	4.429	4.412
		Станд.откл.	0.01	0.008	0.031	0.015	0.029	0.013
		СКО %	0.22	0.18	0.70	0.34	0.65	0.29
Сухой корм, образец В	0,25 гр/5	Сред. знач.	5.712	5.702	5.676	5.691	5.713	5.687
		Станд.откл.	0.017	0.017	0.012	0.028	0.058	0.024
		СКО %	0.30	0.30	0.21	0.49	1.02	0.42

Использовавшиеся четыре образца муки (пшеница, рожь, рис, кукуруза) – это стандартные образцы LECO с сертифицированными значениями содержания азота/протеина.

Данные, полученные в ходе этой работы с применением различным типов конфигураций анализатора, идентичны тем, что могут быть воспроизведены в условиях стандартной



аналитической лаборатории. Во всех испытаниях уровень погрешности не превышает допустимый. Это можно видеть по тому, что значения содержания азота в каждом из методов находятся на приблизительно одном и том же уровне. Чувствительность несколько снижается при последовательном сравнении результатов, полученных при работе с конфигурациями гелий/10 см³, гелий/3 см³, аргон/10 см³, но в целом она остается в пределах 1% СКО за редкими исключениями.

Таблица 3: Образцы продуктов питания

Образцы муки	Масса навески/ число анализов		Гелий, 10 см ³		Гелий, 3 см ³		Аргон, 10 см ³	
			ВП	ВТ	ВП	ВТ	ВП	ВТ
			% N	% N	% N	% N	% N	% N
Пшеничная мука, 502-274, № лота 1015, Сертифиц. значение 2,68 ± 0,03% N	0,25 гр/5	Сред. знач.	2.673	2.671	2.665	2.667	2.680	2.670
		Станд.откл.	0.007	0.013	0.007	0.007	0.024	0.013
		СКО %	0.26	0.49	0.26	0.26	0.90	0.49
Ржаная мука, 502-275, № лота 1007, Сертифиц. значение 1,74 ± 0,06% N	0,25 гр/5	Сред. знач.	1.749	1.747	1.735	1.721	1.698	1.717
		Станд.откл.	0.005	0.008	0.008	0.005	0.016	0.029
		СКО %	0.29	0.46	0.46	0.29	0.94	1.69
Рисовая мука, 502-278, № лота 1013, Сертифиц. значение 1,17 ± 0,05% N	0,25 гр/5	Сред. знач.	1.197	1.199	1.197	1.179	1.159	1.154
		Станд.откл.	0.004	0.002	0.007	0.03	0.02	0.012
		СКО %	0.33	0.17	0.58	2.54	1.73	1.04
Кукурузная мука, 501-563, № лота 1014, Сертифиц. значение 1,21 ± 0,02% N	0,25 гр/5	Сред. знач.	1.218	1.226	1.228	1.226	1.206	1.21
		Станд.откл.	0.009	0.006	0.019	0.008	0.019	0.014
		СКО %	0.74	0.49	1.55	0.65	1.58	1.16



Скорость анализа и производительность была увеличена на 13% при использовании метода «Высокая производительность». Это примерно тот уровень снижения производительности, который происходит при использовании аргона вместо гелия.

Если говорить о стоимости анализа, то наибольшее снижение в 15% достигается при работе с конфигурацией гелий/3 см³ вместо гелий/10 см³. Если вместо гелий/10 см³ использовать конфигурацию аргон/10 см³, то стоимость анализа снижается всего на 7%.

Заключение:

Данная статья и проведенные анализы продемонстрировали, что изменение параметров анализатора LECO FP628 с целью увеличения производительности и сокращения стоимости анализа не приводит к ухудшению точности работы анализатора. Даже при использовании аликвотной петли малого объема или более дешевого аргона, анализатор демонстрирует высокий аналитический уровень чувствительности при работе со всеми типами рассматриваемых образцов продуктов питания и кормов. Значение среднего квадратичного отклонения находится в целом в пределах допустимого 1% или меньше (за несколькими исключениями).

Примеры взяты из работы «Оптимизация анализатора общего протеина, работающего по методу сжигания», авторы Дэнис Лауренц, Мэйсон Марш, Джеффри Гаст, Фрэд Шульц (LECO Corporation, Сент-Джозеф, Мичиган, США).



БЫСТРЫЙ И ТОЧНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО ПРОТЕИНА В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ



Для решения задачи по определению содержания азота/протеина в продуктах питания компания LECO предлагает анализаторы LECO TruMac® and FP628. Максимально быстрое время анализа обеспечивает максимальную производительность, также анализаторы предлагают возможность работы в широком диапазоне массы навески. Вы получите результаты высокой точности при низкой стоимости анализа.

Преимущества:

- Быстрое время анализа (от 3,5 до 5 минут)
- Максимальная производительность при минимальной потребности в обслуживании
- Надежная, почти не требующая обслуживания автоматика обеспечивает эффективность и простоту работы
- Увеличенный срок службы реагентов, включая возможность выполнения до 2000 анализов без замены медного реагента обеспечивает низкую стоимость анализа
- Возможность работы с навесками в макро диапазоне с различными органическими материалами



*Анализатор LECO TruMac N –
масса навески от 50 мг до 3 г*



*Анализатор LECO FP628 –
масса навески от 50 мг до 1 г*

ЧАСТНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ «ЛЕКО УКРАИНА»

Киев, ул. Полевая, 24д, офис 117, 03056, Украина

тел./факс: +38 (044) 494-17-20/21

E-mail: info_ua@leco.com

www.ua.leco-europe.com