

Pivovarství a sladařství

Stanovení dusíkatých látek v ječmenu a sladu přístrojem Rapid-N

863.421:543.846
863.439.1:543.846

Ing. JIŘÍ ŠROGL, Ing. PAVLA BENDOVI, Západočeské pivovary, n. p., Plzeň

Stanovení dusíkatých látek, resp. bílkovin se stává jednou z nejdůležitějších analýz, prováděných v pivovarských laboratořích. Odedávna je snahou pivovarských technologií vést výrobní postup tak, aby se vyloučil vysoký obsah látek bílkovinného charakteru, zejména vysokomolekulárních. V tomto směru mají samozřejmě rozhodující vliv suroviny, tj. jejich skladba. O obsahu dusíkatých látek v mladině a pivě rozhoduje tedy jejich množství v ječmenu, použitém na výrobu sladu.

Snahou šlechtitelů je získat takové odrůdy ječmene, které by měly nízký obsah bílkovin a na druhé straně vysoký obsah sacharidového extraktu. Na úseku šlechtění odrůd sladovnického ječmene dosáhl výzkum v ČSSR významných úspěchů, čs. odrůdy patří k nejlepším na světě. Složení ječných obilí není však dáno pouze odrůdou, nýbrž závisí do značné míry na agrotechnice a vegetačních podmínkách. Souhrn všech uvedených okolností je velmi významný zejména pro exportní pivovary, protože ty jsou nuceny případný vyšší obsah vysokomolekulárních bílkovin různými postupy upravovat (např. srážecí, resp. absorpční stabilizací).

Je přirozené, že z těchto důvodů jsou pivovary postaveny před otázkou kontroly obsahu vysokomolekulárních dusíkatých látek v surovinách.

Metodiky stanovení dusíkatých látek jsou velmi početné. Jejich přehled uvádí např. Doležalová [1].

V našem národním podniku jsme původně používali extrakční kolorimetrickou metodu podle Johnsona a Craneye [2], později jsme přešli na metodu podle Kunitake a Kobayashiho [1].

Po zkušebním provozu v roce 1978 jsme v roce 1979 přistoupili k podrobné kontrole používaných ječmenů zejména po stránce obsahu bílkovin. K tomuto účelu používáme přístroj Mikro Rapid-N od firmy Heraeus-Hanau (NSR). Jde o automatický přístroj, používající v podstatě metodu podle Dumase v modifikaci Mertze.

Tabulka 1. Výsledky první série pokusů

Číslo vzorku	n	X %		R %		S		Sr %
		N	bílkoviny	N	bílkoviny	N	bílkoviny	
1	15	1,387	8,67	0,194	1,212	0,0565	0,353	4,073
2	11	1,357	8,48	0,328	2,050	0,0952	0,595	7,016
3	30	1,637	10,231	0,126	0,788	0,0354	0,221	2,164

Vzorek organické látky (např. ječmene, sladu) se nejprve spálí při vysoké teplotě v proudu čistého O_2 . Spaliny se potom vedou na kolonu CuO (oxidační část). Čistým CO_2 se vytěšňují spaliny do trubice s čistou drátkovou mědí. Vzniklé kysličníky se zde zredukuje a zachytí se O_2 . Kysličníky dusíku se zredukuje na elementární dusík. Spaliny procházejí dále chladičem a odtud do automatické plynoměrné byrety, jejíž spodní část je naplněna 50% roztokem KOH . Zde se pohltí CO_2 , pocházející ze zkoumaného vzorku, dále pak CO_2 použitý jako nosný plyn pro vyplachování spalin ze systému. Do plynoměrné části přístroje (tzv. azotomatu) se tedy dostává pouze dusík.

Provoz přístroje je zcela automatický, jedno stanovení trvá asi 5 minut. Přístroj je velmi náročný na čistotu použitých plynů, zejména CO_2 . Je nutné, aby jeho čistota byla 99,99 %. Spotřeba těchto plynů je však malá. Obsluha přístroje je velmi jednoduchá, provoz má po zvolení vhodného programu a teplot zcela automatický průběh.

V naší práci (stanovení bílkovin v ječmeni a sladu) jsme používali tyto podmínky (obr. 1).

Zóna č. 1 — náplň CuO — teplota 950 °C
Zóna č. 2 — bez náplně — teplota 1030 °C (spalovací zóna)

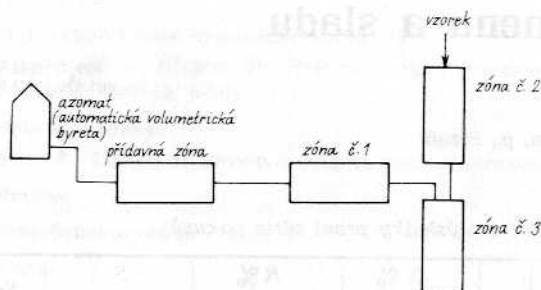
Tabulka 2. Výsledky druhé série pokusů

Číslo vzorku	n	X(%)		R(%)		S		Sr (%)
		N	bílkoviny	N	bílkoviny	N	bílkoviny	
4	30	1,389	8,68	0,062	0,39	0,0169	0,106	1,219
5	30	1,405	8,78	0,092	0,57	0,0189	0,118	1,346
6	27	1,391	8,69	0,057	0,36	0,0154	0,096	1,133

Tabulka 3

Číslo vzorku	n	Interval spolehlivosti (L1,2)	
		%N	% bílkovin
4	30	1,389 ± 0,0734	0,106 ± 0,046
5	30	1,405 ± 0,0502	0,118 ± 0,031
6	27	1,391 ± 0,0445	0,096 ± 0,028

kde $L_{1,2}$ je uvažován pro hladinu významnosti $1-\alpha = 0,95$ (použito Studentovo rozdělení)



Obr. 1

Zóna č. 3 — náplň CuO — teplota 950 °C
Přídavná zóna — náplň Cu — teplota 630 °C

Prozatím je nutno používat dovážených chemikálií (Cu, CuO), proto je vhodné při objednávce přístroje počítat s touto skutečností. Stejně je nutné mít v zásobě dostatečné množství spalovacích trubic, které jsou vyráběny z křemenného skla. Firma Heraeus má v ČSSR dobře fungující servis, který zajišťuje jeden pracovník n. p. Labora.

Výsledky zkušebního provozu

Ječmen nebo slad k analýze je nutno velmi jemně rozemlít. Je to dáno tím, že navážky pro vlastní rozbor jsou poměrně malé — 30 až 50 mg. To klade značné nároky na homogenitu navažovaného substrátu. Ječmen nebo slad jsme mleli na mlýnku, vyrobeném firmou Retsch, který dodavatelská firma Heraeus pro daný účel doporučuje a který byl v našem případě součástí dodávky. Na tomto mlýnku je substrát možno mlet při dvou rychlostech, které podmiňují odlišnou jemnost vzniklé moučky.

Na počátku zkušebního provozu jsme zkoušené vzorky ječmene mleli při nižší rychlosti a vyzkoušeli jsme reprodukovatelnost metody [3].

Význam symbolů:

n — počet paralelních stanovení,
X — aritmetický průměr [% hm.],
R — rozptyl [% hm.],
S — směrodatná odchylka,
Sr — relativní směrodatná odchylka (variační koefi-

Tabulka 4. 1. série — ječmen

Vzorek	Kjeldahlova metoda		Rapid N % $N_R = R$	$f = \frac{P}{R}$
	% N_p	bílkovin (% $N_p \cdot 6,25$) = R		
1	1,454	9,09	1,449	6,27
2	1,585	9,91	1,584	6,26
3	1,475	9,22	1,486	6,20
4	1,426	8,91	1,426	6,25
5	1,491	9,32	1,539	6,06
6	1,510	9,44	1,527	6,18
7	1,450	9,06	1,506	6,02
8	1,776	11,1	1,790	6,20
9	2,000	12,5	2,032	6,15
10	1,888	11,8	1,903	6,20
11	1,776	11,1	1,790	6,20
12	1,824	11,4	1,887	6,04
13	1,76	11,0	1,806	6,09
Průměr				6,16

Tabulka 5. 2. série — slad

Vzorek	Kjeldahlova metoda		Rapid N % $N_R = R$	$f = \frac{P}{R}$
	% N_p	bílkovin (% $N_p \cdot 6,25$) = P		
1	1,554	9,71	1,595	6,09
2	1,554	9,71	1,589	6,12
3	1,507	9,42	1,539	6,12
4	1,710	10,69	1,751	6,11
5	1,586	9,91	1,583	6,26
6	1,840	11,50	1,849	6,22
7	1,590	9,94	1,574	6,32
8	1,570	9,81	1,572	6,24
9	1,565	9,78	1,561	6,27
10	1,680	10,50	1,675	6,27
Průměr				6,20

cient) [%],

N — obsah dusíku [% hm.],

bílkoviny — N · 6,25 [% hm.].

Při zhodnocení výsledků jsme konstatovali vcelku dobrou reprodukovatelnost, avšak některé hodnoty poněkud vybočily. Projevilo se to např. v poměrně vysokých hodnotách rozptylu.

Při vizuální prohlídce analyzovaného šrotu byly postřehnutelné některé větší částčky. Proto jsme přistoupili k vyšší rychlosti mletí; tím vznikl jemnější šrot. Tentokrát byly výsledky značně příznivější, proto jsme v dalším provozu používali pouze jemnější mletí. Z výsledků analýz vzorků 4, 5, 6 vyplývají též poměrně příznivé intervaly spolehlivosti.

Při stanovení bílkovin podle Dumase v Mertzově modifikaci je poněkud odlišné spalování vzorku než u klasické Kjeldahlovy metody. Vzhledem k tomu, že se v přístroji Rapid-N mohou spálit i takové dusíkaté sloučeniny, které se mineralizací podle Kjeldahla nepřivedou do stanovitelné formy (některé heterocykly), mohou se výsledky obou metod o málo lišit. Není potom teoreticky možné počítat obsah bílkovin v ječmeni nebo sladu násobením obsahu dusíku faktorem 6,25, protože tento faktor je platný pouze u Kjeldahlovy metody. Snahou všech metodik však musí být získání

Tabulka 6. Srovnání výsledků mezi metodami stanovení bílkovin

Vzorek	Kjeldahlova metoda	Rapid N		Kunitake—Kobayshi	
		obsah bílkovin	rozdl od Kjeldahla	obsah bílkovin	rozdl od Kjeldahla
1	9,09	8,98	-0,11	8,4	-0,69
2	9,91	9,82	-0,09	10,0	+0,09
3	9,22	9,21	-0,01	8,9	+0,32
4	8,91	8,84	-0,07	8,4	-0,51
5	9,32	9,54	+0,22	9,6	+0,28
6	9,44	9,47	+0,03	9,1	-0,34
7	9,06	9,34	+0,28	8,8	-0,26
8	11,1	11,1	0	11,5	+0,4
9	12,5	12,6	+0,1	11,9	-0,6
10	11,8	11,8	0	11,4	-0,4
11	11,1	11,1	0	10,7	-0,4
12	11,4	11,7	+0,3	11,1	+0,3
13	11,0	11,2	+0,2	11,2	+0,2

výsledků, které by se s rozhodčí, tj. Kjeldahlovou metodou co nejvíce shodovaly. Rozhodli jsme proto zjistit takový faktor, který by po násobení zjištěného obsahu dusíku dal výsledek co nejvíce se přibližující výsledku rozhodčí metody.

K tomu jsme provedli dvě série rozborů ječmenů a sladů souběžně oběma metodami.

To nám umožnilo výpočet faktoru, který by co nejvíce sblížil výsledky obou metod. Na základě zjištěných hodnot jsme zvolili pro výpočet obsahu bílkovin faktor

$$f = 6,20$$

místo faktoru 6,25, který se používá u Kjeldahlovy metody. S použitím vypočteného faktoru jsme potom srovnali výsledky analýz s použitím přístroje Rapid-N, Kjeldahlovy metody a metody podle Kunitake a Kobayshiho.

Z výsledků lze odvodit, že přesnost stanovení bílkovin v ječmeni přístrojem Rapid-N je vyšší než u metody podle Kunitake a Kobayshiho. Průměrné odchylky (v absolutních hodnotách) jsou u obou metod:

Rapid N	— 0,11 % hm.,
Kunitake - Kobayshi	— 0,37 % hm.

Vcelku je možno říci, že přístroj Rapid-N se osvědčil pro stanovení dusíkatých látek v ječmenu a sladu. Získané výsledky jsou přesné, metodika je dobře reprodukovatelná. Z tabulek 2 a 3 vyplývá též příznivé srovnání s Kjeldahlovou metodou [4], oba způsoby stanovení dusíkatých látek jsou přibližně stejně přesné. Značnou výhodou u přístroje Rapid-N je rychlost analýz. Nevýhodou je poměrně značná závislost přesnosti rozborů na teplotních změnách místnosti, ve které se přístroj nachází. Tento faktor je však u nových typů přístroje vyřešen, protože plynoměrná byreta je umístěna v teplotně regulovaném prostředí.

V našem národním podniku jsme v září — listopadu 1979 provedli na přístroji Rapid-N více než 500 analýz ječmene i sladů. Tím se velmi podstatně zlepšila vstupní i mezioperační kontrola technologického procesu.

Literatura

- [1] DOLEŽALOVÁ A., VRTELOVÁ H.: Kvasný průmysl, 21, 1975 s. 6, 31
- [2] ŠROGL J., KLASOVÁ V.: Kvasný průmysl, 21, 1975, s. 124
- [3] EKSCHLAGER K.: Chyby chemických rozborů, SNTL Praha, 1971
- [4] KOSAR K.: Kvasný průmysl, 23, 1977, s. 169

Šrogl, J., Bendová, P.: Stanovení dusíkatých látek v ječmenu a sladu přístrojem Rapid-N. Kvas. prům. 26, 1980, č. 6, 121—123.

Popis automatického přístroje na rychlé stanovení obsahu dusíku Mikro Rapid-N fy Heraeus, Hanau (NSR). Porovnávací stanovení N potvrdila dobrou reprodukovatelnost a přesnost výsledků ve srovnání s klasickou metodou podle Kjeldahla a podle Kunitake-Kobayshiho. Značnou výhodou přístroje Rapid-N je rychlost: jedno stanovení trvá 5 min. Nevýhodou je náročnost na čistotu používaných plynů, zvláště CO₂, a citlivost na teplotní změny v pracovním prostředí.

Obr. 1

Шрогл, Ю. — Бендова, П.: Определение с помощью прибора Микро Рапид-Н содержания азотистых соединений в ячмене и солоде. Квас. прум. 26, 1980, № 6, стр. 121—123.

V статье описаны принцип и устройство прибора Микро Рапид-Н, выпускаемого заводом Хэрэус в Хану (ФРГ) и предназначенного для скоростного автоматического определения содержания азотистых соединений в ячмене и солоде. По сравнению с так наз. классическими методами Кьелдаля и Кунитакэ-Кобайши обеспечивает прибор Микро Рапид-Н повышенную достоверность результатов и лучшую воспроизводимость. Ценным преимуществом прибора является экономия времени, так как анализ занимает всего лишь 5 минут. Определенным недостатком можно считать высокие требования, предъявляемые к чистоте применяемых газов, в особенности к CO₂, и чувствительность к колебаниям окружающей температуры.

Šrogl, J. - Bendová, P.: Determining the Content of Nitrogenous Compounds in Barley and Malt with the Mikro Rapid-N Apparatus. Kvas. prům. 26, 1980, No. 6, pp. 121—123.

The authors outline the principles of the Mikro Rapid-N automatic apparatus manufactured by Heraeus, Hanau (West Germany) and designed for rapid determination of nitrogenous compounds in barley and malt. Comparison measurements confirm the accuracy and reproducibility of results. In these respects the apparatus is more reliable than the apparatuses used in laboratories applying either the Kjeldahl or Kunitake-Kobayshi conventional methods. The Mikro Rapid-N saves much time, since one analysis takes only 5 minutes. As far as its disadvantages are concerned, it is necessary to mention high requirements put to the purity of applied gases, especially of CO₂ and sensitivity to the fluctuation of room temperature.

Šrogl, J. - Bendová, P.: Bestimmung der stickstoffhaltigen Substanzen in Gerste und Malz mit dem Apparat Rapid-N. Kvas. prům. 26, 1980, No. 6, S. 121—123.

In dem Artikel wird die automatische Apparatur zur Schnellbestimmung des Stickstoffgehalts Mikro Rapid-N der Firma Heraeus, Hanau (BRD) beschrieben. Die Vergleichsbestimmung des N-Gehalts bestätigte die Genauigkeit und gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse im Vergleich mit der klassischen Kjeldahl-Methode und der Methode nach Kunitake-Kobayshi. Der wesentliche Vorteil des Apparats Rapid-N liegt in der Schnellbestimmung — eine Analyse dauert 5 Min. Als Nachteil werden die hohen Ansprüche auf die Reinheit der benutzten Gase, insb. des CO₂ und die Empfindlichkeit auf die Temperaturänderungen im Arbeitsraum angeführt.