

## **ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЛІЗИНУ В КОРМОВИХ ДОБАВКАХ МЕТОДОМ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ**

*Т. Р. Левицький, Г. П. Ривак, Г. В. Кушнір, Р. О. Ривак*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів  
та кормових добавок

*У статті наведено результати визначення вмісту лізину у кормових добавках методом капілярного електрофорезу на приладі «Капель-105/105М», обладнаного спеціальним програмним забезпеченням на основі персонального комп'ютера. Впровадження методу є особливо актуальним у зв'язку з постійним поповненням ринку України новими амінокислотними кормовими добавками та збільшенням випадків їх фальсифікації.*

При балансуванні раціонів сільськогосподарських тварин та птиці особливо важливо приділяти увагу незамінним амінокислотам (лізин, метіонін, триптофан, цистин тощо), оскільки потреба організму в них може забезпечуватись тільки за рахунок їх надходження з кормами. Це необхідна умова для ефективного використання кормів, забезпечення відтворення, росту тварин, їх продуктивності.

Серед амінокислот суттєве місце займає лізин, необхідний для ефективного використання організмом кормів, забезпечення відтворення, росту тварин та їх продуктивності. Він міститься в кормових матеріалах рослинного та тваринного походження, однак, засвоюваність лізину із них значно коливається, в результаті чого його вміст в раціоні не завжди задовольняється. Для балансування раціонів за вмістом лізину використовують найчастіше його синтетичні кормові добавки, які добре засвоюються організмом тварин та дають позитивні результати, збільшуючи середньодобові прирости і знижуючи витрати кормів на одиницю продукції.

Ринок України щорічно поповнюється новими амінокислотними кормовими добавками різних фірм Європи та Азії, які широко застосовуються при виробництві преміксів, білково-вітамінно-амінокислотних добавок та комбікормів для сільськогосподарських тварин та птиці. Це, як і багатокомпозиційні амінокислотні кормові добавки, рідкі та порошкоподібні форми з органічними та неорганічними наповнювачами тощо, так і окремі форми амінокислот, зокрема лізину.

Зважаючи на широкий вибір кормових добавок лізину, виробникам кормів важливо визначитися з якісним продуктом, який забезпечував би оптимально всі потреби виробництва та годівлі тварин і птиці.

На сьогоднішній день для визначення вмісту лізину використовуються хімічні методи досліджень, метод вискоєфективної рідинної хроматографії, а також метод капілярного електрофорезу, який дозволяє аналізувати іонні та нейтральні компоненти різноманітної природи з високою ефективністю.

Традиційно капілярний електрофорез порівнюють з вискоєфективною рідинною хроматографією, оскільки в обох методах розділення проходить в обмеженому просторі (капілярі або колонці) з участю рухомої рідкої фази (буферного розчину або елюента) і для реєстрації сигналів використовують подібні принципи детектування і програмної обробки даних.

Перевагами методу капілярного електрофорезу є:

- висока ефективність розділення зразка;
- невеликий об'єм аналізованої проби і буферів, при цьому практично непотрібне застосування високочистих, дорогих органічних розчинників;

- відсутність колонки, сорбента;
- швидкість досліджень.

Метод капілярного електрофорезу з успіхом застосовується для аналізу різноманітних речовин (неорганічних і органічних катіонів і аніонів, амінокислот, вітамінів, барвників, білків тощо) та для технологічного контролю виробництва, вхідного контролю сировини, аналізу фармацевтичних препаратів і харчових продуктів, в криміналістиці, медицині, біохімії тощо.

Виходячи з вищесказаного в лабораторії контролю кормових добавок і преміксів ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок адаптовано і впроваджено даний метод для контролювання якості амінокислотних кормових добавок, амінокислотних сумішей, преміксів за вмістом лізину.

**Матеріали і методи.** Для визначення вмісту лізину в кормових добавках було застосовано метод капілярного електрофорезу, в основі якого закладено електрокінетичні явища — електроміграція іонів та інших заряджених частинок і електроосмос. Ці явища виникають у розчинах при розташуванні їх в електричному полі, переважно, високої напруги. Якщо розчин знаходиться в тонкому капілярі то електричне поле, яке знаходиться вздовж капіляра, викликає в ньому рух заряджених частинок і пасивний потік рідини, в результаті чого проба розділяється на індивідуальні компоненти, так як параметри електроміграції специфічні для кожного виду заряджених частинок. Дослідження проводили за допомогою системи капілярного електрофорезу «Капель-105/105М» із позитивною полярністю джерела високої напруги (внутрішній діаметр капіляру 50 мкм, повна довжина капіляру 75 см, ефективна довжина 65 см), оснащена спеціальним програмним забезпеченням на основі персонального комп'ютера.

У період проведення дослідження в приміщенні лабораторії дотримувались наступні умови: температура повітря 23 °С; вологість повітря 58 %; напруга в мережі 220 В; частота перемінного струму (50±1) Гц.

Для проведення досліджень було взято зразки кормових добавок L-лізину гідрохлориду 98,5 % та суміші амінокислот (лізину, триптофану та треоніну), вміст лізину в якій згідно сертифікату аналізу становив 45 % та проведено наступні роботи: підготовка капіляру до роботи, приготування буферних, градувальних і контрольних розчинів, градування системи капілярного електрофорезу «Капель-105/105М» і підготовка проб.

Аналіз зразків проводили за відповідних параметрів приладу, які наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

**Параметри приладу «Капель-105/105М»**

Вихідні компоненти (в порядку виходу)	Лізину монохлорид
Введення проби	30 мбар, 10 сек
Довжина хвилі, нм	200
Напруга, кВ	25
Температура, °С	30
Ведучий електроліт	Буферний розчин

**Результати й обговорення.** Для визначення вмісту лізину у кормових добавках було побудовано калібрувальний графік та перевірено його стабільність за допомогою контрольного розчину, аналізуючи не менше двох разів в умовах, відповідних аналізу градуйованого розчину. Встановлено ширину вікна ідентифікації 5 % і на отриманих електрофореграмах перевірено автоматичну ідентифікацію компонентів.

Отримані дані щодо калібрувального графіка та його стабільності наведено на електрофореграми — рисунок 1 та таблиця 2.

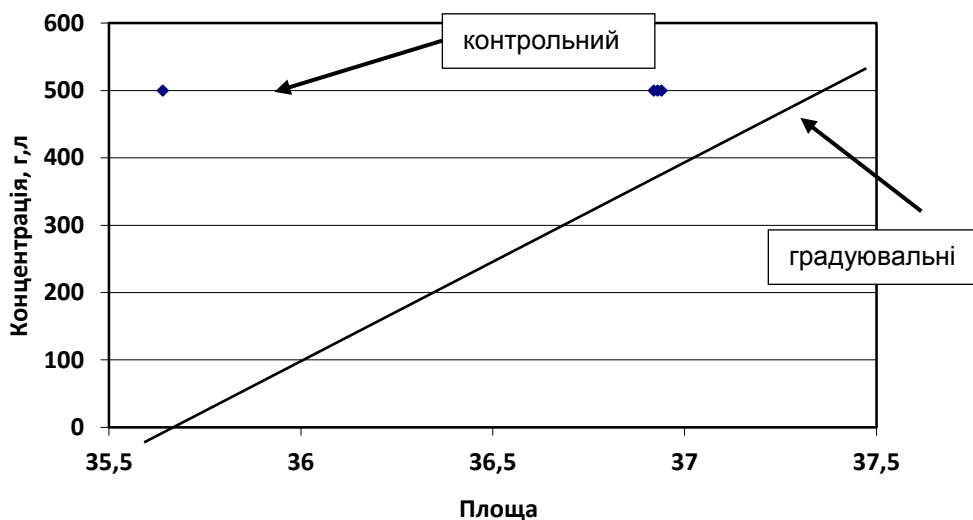


Рис. 1. Калібрувальний графік та контрольний розчин його стабільності

Таблиця 2

Дані побудови калібрувального графіка та визначення його стабільності

Назва розчину	Час виходу піку, хв.	Висота піку	Площа піку	Концентрація, мг/л	Відхилення, %
Град. р-н № 1	4,607	1,031	36,94	500	1,2
Град. р-н № 2	4,603	1,031	36,92	500	1,1
Град. р-н № 3	4,605	1,031	36,93	500	1,15
Контр. р-н	4,585	1,019	35,64	500	2,4

Із даних таблиці можна зробити висновок, що відхилення між паралелями калібрувального графіку становлять 1,1–1,2 %, тоді як при вимірюванні контрольного розчину приготованого згідно методики відхилення збільшується у два рази.

Результати визначення вмісту лізину у кормовій добавці лізину 98,5% у вигляді електрофореграми подано на рисунку 2, дані щодо результатів — у таблиці 3.

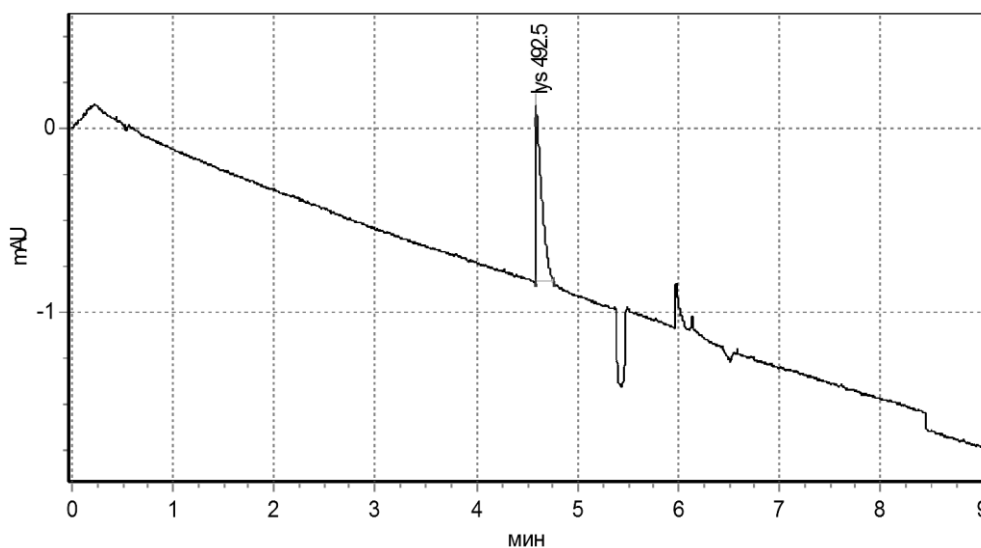


Рис. 2. Електрофореграма результатів вмісту лізину в кормовій добавці лізину 98,5 %.

## Дані щодо результатів визначення вмісту лізину у кормовій добавці лізину 98,5 %

Назва розчину	Час виходу піку, хв.	Площа піку	Концентрація, мг/л	Вміст лізину, %
1 паралель	4,592	35,95	492,5	98,9
2 паралель	4,597	36,20	497,8	99,6

Вирахувавши середнє значення між двома паралельними визначеннями отримаємо 99,25 % вмісту лізину моногідрохлориду в досліджуваній кормовій добавці, що на 0,75 % вище задекларованого значення.

Результати досліджень суміші амінокислот за вмістом лізину подано в табл. 4, електрофореграма отриманих результатів наведена на рисунку 3.

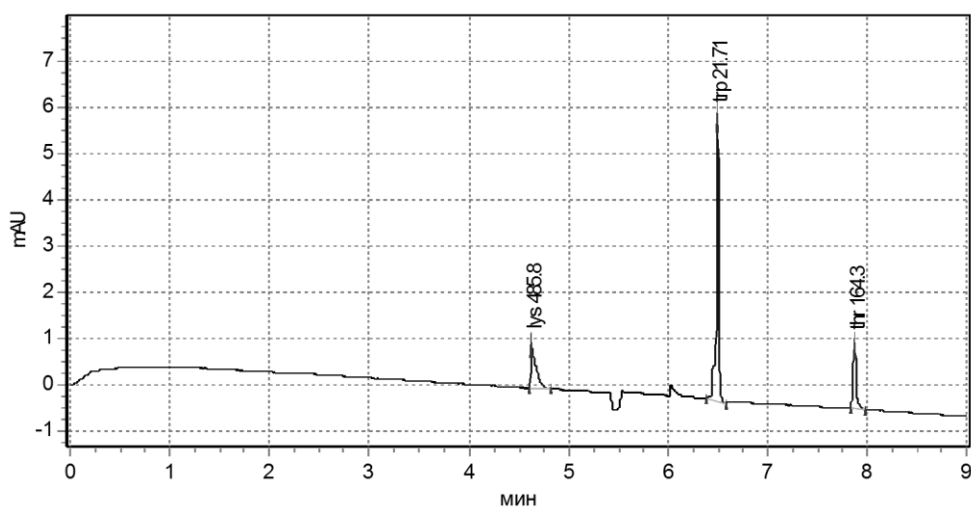


Рис. 3. Електрофореграма результатів умісту лізину в суміші амінокислот

## Дані щодо результатів визначення вмісту лізину в суміші амінокислот

Назва розчину	Час виходу піку, хв.	Площа піку	Концентрація, мг/л	Вміст лізину, %
1 паралель	4,622	35,47	485,8	48,6
2 паралель	4,630	35,53	482,6	48,7

Середнє арифметичне двох паралельних визначень становить  $48,65 \pm 0,5$  % вмісту лізину моногідрохлориду в досліджуваній кормовій добавці, що на 3,65 % вище задекларованого значення.

При розрахунку відсоткового вмісту лізину в амінокислотній суміші спостерігається збільшення відхилення отриманого результату від задекларованого значення, оскільки компонентний склад добавки, наповнювач (матриця) суттєво впливають на час, висоту та площу піку і в кінцевому результаті на масову концентрацію досліджуваної амінокислоти.

## В И С Н О В К И

Отримані результати досліджень свідчать, що метод капілярного електрофорезу на приладі «Капель-105/105М» є достатньо точним та вірогідним у випадку досліджень кормових добавок лізину та суміші амінокислот за вмістом лізину і коливається в межах 5 % в залежності від виду кормової добавки.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження будуть спрямовані на впровадження та відпрацювання методу капілярного електрофорезу при визначенні вмісту

метіоніну, треоніну та триптофану у кормових добавках, а також при визначенні вмісту амінокислот у кормах та кормовій сировині.

## **DEFINITION THE LYSINE CONTENT IN THE FEED ADDITIVES CAPILLARY ELECTROPHORESIS METHOD**

*T. R. Levytskyj, H. P. Ryvak, G. V. Kushnir, R. O. Ryvak*

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives

### **S U M M A R Y**

The results of the determination of lysine in the feed additives by capillary electrophoresis using the equipment "Kapel-105/105M" equipped with software for the personal computer. Implementation of the method is especially important due to the constant replenishment of the Ukrainian market with new amino acid feed additives and increased incidence of fraud.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЛИЗИНА В КОРМОВЫХ ДОБАВКАХ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА**

*Т. Р. Левицкий, Г. П. Рывак, Г. В. Кушнир, Р. О. Рывак*

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок

### **А Н Н О Т А Ц И Я**

В статье представлены результаты определения содержания лизина в кормовых добавках методом капиллярного электрофореза с использованием оборудования «Капель-105/105М» оснащенным программным обеспечением с использованием персонального компьютера. Внедрение метода особенно актуально в связи с постоянным пополнением рынка Украины новыми аминокислотными кормовыми добавками и учащением случаев их фальсификации.

### **Л І Т Е Р А Т У Р А**

1. *Комаров Н. В., Каменцев Я. С.* Практическое руководство по использованию системы капиллярного электрофореза «Капель». Санкт-Петербург, 2008. — 208 с.
2. М 04-63-2010 «Кормовые добавки. Методика измерений массовой доли лизина моногидрохлорида, метионина, треонина, триптофана методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель-105/105М», Санкт-Петербург, 2010. (Свидетельство № 04.04.045/2010 от 14.04.2010 аттестации методики метрологической службой).
3. *Величко І. М.* Нова форма кормового концентрату лізину та ефективність його використання в годівлі свиней // Сучасні проблеми вет. медицини, зооінженерії та технологій продуктів тваринництва. — Львів, 1997. — С. 458–459.
4. *Венедиктов А. М., Ионас А. А.* Химические кормовые добавки в животноводстве: Справочная книга. — М.: Колос, 1979. — С. 44–59.
5. Eurolysine — европейский лидер в области биотехнологий // Комбикорма. — 1999. — № 7. — С. 49.
6. *Тараненко Г. А.* Лизин и метионин в кормлении // Животноводство.— 1974.— № 1. — С.43–44.