



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОТЕИНОГЕННЫХ АМИНОКИСЛОТ В КОМБИКОРМАХ И СЫРЬЕ

Методика М-04-38-2009

(Издание 2014 г.)
(ФР.1.31.2015.19761)

ГОСТ Р 55569-2013

ГОСТ 31480-2012

ВВЕДЕНИЕ

Методика предназначена для определения массовой доли аминокислот **в кормах, комбикормах и в исходном сырье для их производства** в форме фенилизотиокарбамильных производных (далее – ФТК-производных). Для триптофана предусмотрено также прямое определение без получения ФТК-производного.

Методика измерений позволяет определять общее содержание аминокислот в пробах (суммарно свободные и связанные формы). Поскольку в процессе разложения проб аспарагин и глутамин количественно гидролизуются до аспарагиновой и глутаминовой кислот соответственно, то данные по содержанию аспарагиновой и глутаминовой кислот представляют собой суммарное содержание этих кислот и соответствующих амидов. Аналогично, данные по содержанию цистина представляют собой суммарное содержание цистина и цистеина, после их предварительного окисления до цистеиновой кислоты. В условиях проведения измерений лейцин и изолейцин не разделяются, поэтому предусмотрено их суммарное определение.

В условиях проведения анализа невозможно отдельное определение индивидуальных форм аминокислот и их солей. Результат анализа представляется в суммарном виде в пересчете на аминокислоту.

Методика измерений не предназначена для определения индивидуальных форм D- и L- оптических изомеров аминокислот и гидроксипроизводных аминокислот.

На основе методики «ЛЮМЭК» разработан и введен в действие **ГОСТ Р 55569-2013** «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Определение протеиногенных аминокислот методом капиллярного электрофореза». Для прямого определения триптофана (без получения ФТК-производного) рекомендуется применять **ГОСТ 31480-2012** «Комбикорма, комбикормовое сырье. Определение содержания аминокислот (лизина, метионина, треонина, цистина и триптофана) методом капиллярного электрофореза».

МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Метод основан на разложении проб кислотным или (только для триптофана) щелочным гидролизом с переводом аминокислот в свободные формы, получении ФТК-производных, дальнейшем их разделении и количественном определении методом капиллярного электрофореза. Детектирование проводят в УФ-области спектра при длине волны 254 нм. Для модификаций «КАПЕЛЬ®-105/105M/205» возможно проводить прямое количественное определение триптофана без получения ФТК-производного, регистрируя поглощение при длине волны 219 нм.

ДИАПАЗОН ИЗМЕРЕНИЙ

Перечень определяемых аминокислот и диапазоны измерений массовой доли приведены в таблице.

Аминокислота	Символ	Диапазон измерений, %*	Аминокислота	Символ	Диапазон измерений, %*
Аланин	Ala	0,25–10,0	Метионин	Met	0,25–10,0
Аргинин	Arg	0,5–10,0	Пролин	Pro	0,25–10,0
Аспарагиновая к-та + аспарагин	Asp+Asn	0,5–10,0	Серин	Ser	0,25–10,0
Валин	Val	0,5–10,0	Тирозин	Tyr	0,25–10,0
Гистидин	His	0,5–10,0	Треонин	Thr	0,5–10,0
Глицин	Gly	0,25–10,0	Триптофан	Trp	0,1–10,0
Глутаминовая к-та + глутамин	Glu+Gln	0,5–10,0			0,1–2,0**
Лейцин+изолейцин	Leu+Ile	0,25–10,0	Фенилаланин	Phe	0,25–10,0
Лизин	Lys	0,25–20,0	Цистин	Cys-Cys	0,1–10,0

* в расчете на навеску 100 мг ** по ГОСТ 31480-2012



ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

При выполнении измерений применяют следующие оборудование и реактивы:

- система капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ®» любой модификации;
- L-аминокислоты, ≥98%;
- фенилизотиоцианат, ≥98%;
- β-циклодекстрин (β-ЦД), ≥99%;
- натрия тетраборат, 10-водный, х.ч.;
- натрия карбонат, 10-водный, х.ч.;
- натрия дигидрофосфат, 12-водный, х.ч.;
- натрия гидрофосфат, (дигидрат), х.ч.;
- натрия гидроксид, х.ч.;
- бария гидроксид, 8-водный, х.ч.;
- спирт этиловый ректификованный;
- спирт изопропиловый, х.ч.;
- кислота серная, х.ч.;
- кислота соляная, х.ч.;
- кислота муравьиная, х.ч.;
- водорода пероксид, 30%, х.ч.;
- метиловый красный, индикатор, ч.

Сбор, обработку и вывод данных осуществляют с помощью персонального компьютера с операционной системой не ниже «Windows® 7/8/10», на котором установлена соответствующая программа сбора и обработки данных.

ПРИМЕРЫ АНАЛИЗА

УСЛОВИЯ РАЗДЕЛЕНИЯ:

Фоновый электролит: фосфатный с добавкой β-циклодекстрина

Капилляр: L_{эфф}/ L_{общ} = 75/65 см, ID= 50 мкм

Ввод пробы: 300 мбар*с

Напряжение: +25 кВ

Детектирование: 254 нм

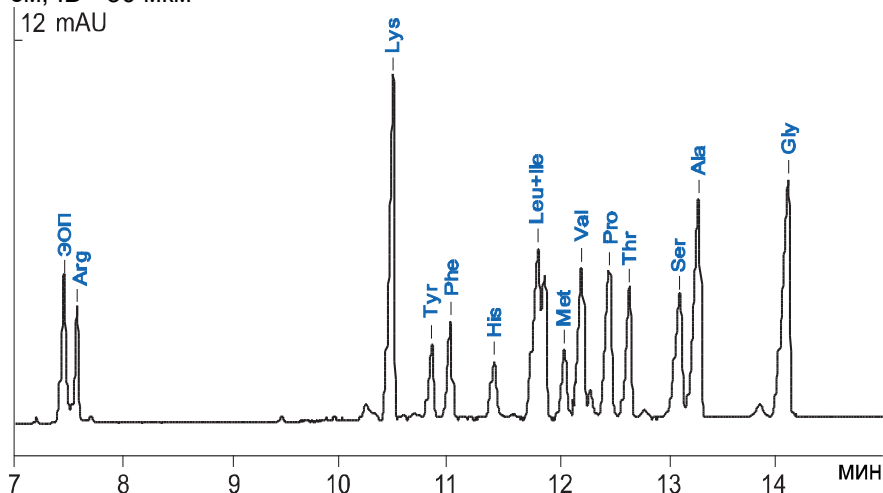
Температура: 30 °С

Проба: кислотный гидролизат

рыбной муки

Найдено, %:

Arg	3,3	Val	2,9
Lys	4,8	Pro	3,3
Tyr	1,8	Thr	2,4
Phe	2,3	Ser	2,9
His	1,1	Ala	3,8
Leu+Ile	6,6	Gly	5,2
Met	2,0		



УСЛОВИЯ РАЗДЕЛЕНИЯ:

Фоновый электролит: боратный

Капилляр: L_{эфф}/ L_{общ} = 75/65 см, ID= 50 мкм

Ввод пробы: 300 мбар*с

Напряжение: +25 кВ

Детектирование: 219 нм

Температура: 30 °С

Проба: щелочной гидролизат

рыбной муки

Найдено, %:

Trp 0,65

