

## ДИНАМІКА АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ПРІСНОВОДНОЇ ВОДОРОСТІ LEMNA MINOR, ЗА ВНЕСЕННЯ В ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ РІЗНИХ ДОЗ ЙОДУ

В. О. Величко<sup>1</sup>, д-р вет. наук

С. В. Мерзлов<sup>2</sup>, д-р с.-г. наук

Р. О. Ривак<sup>1</sup>, здобувач

<sup>1</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок  
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

<sup>2</sup>Білоцерківський національний аграрний університет  
пл. Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117, Україна

*У статті обґрунтовано актуальність проведення досліджень з вивчення динаміки амінокислотного складу прісноводній водорості Lemna Minor за внесення в поживне середовище різних доз йоду, описано методи досліджень, а також наведено отримані результати, зроблено їх аналіз і висновки. Вирощування прісноводної водорості Lemna Minor за внесення різних доз йоду в поживне середовище позитивно впливає на динаміку білка в сухій біомасі водорості. Різні дози йоду в поживному середовищі не мають суттєвого впливу на такі важливі “незамінні” амінокислоти, як лізин, метіонін, треонін. Виявлено також тенденцію до підвищення вмісту одних амінокислот і зниження — інших “замінних” та “незамінних”.*

**Ключові слова:** БІОМАСА, LEMNA MINOR, АМІНОКИСЛОТИ, МЕТОД КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ, АКУМУЛЯЦІЯ, ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНІ ЯВИЩА.

У складному процесі обміну речовин на всіх стадіях життєдіяльності організму, мінеральний обмін перебуває в тісному взаємозв'язку з протеїновим, вуглеводним і вітамінним. Встановлено, що при збалансованості раціонів за мінеральними речовинами, поліпшується використання азоту і синтез білка. Існує і зворотна залежність, коли за оптимального забезпечення тварин поживними речовинами (білки, жири, вуглеводи) покращується використання мінеральних речовин [1].

Одним із таких життєво необхідних для живлення організму тварин мінеральним елементом є йод, який приймає участь у синтезі тироксину та обміні тиреоїдних гормонів. Тироксин в свою чергу є важливим регулятором окисно-відновних процесів у клітинах, білкового, вуглеводного обмінів. Участь йоду в утворенні білкових сполук пов'язують з його каталітичною роллю в синтезі гемоглобіну [2]. Кількість йоду в організмі тварин не перевищує 0,6 мг/кг, і хоча цей елемент виявлений у всіх тканинах і органах, концентрується в основному в щитовидній залозі у вигляді йодпротеїну. На засвоєння йоду в організмі впливають макро- і мікроелементи (магній, кальцій, марганець, фтор), амінокислоти, вітамін А, хоча вплив цей здійснюється опосередковано, через щитовидну залозу [3].

Для профілактики йодної недостатності сільськогосподарських тварин на практиці найчастіше застосовують неорганічні солі йоду, зокрема калію йодид та інші в складі кухонної солі, полісолей, брикетів, мінеральних сумішей і преміксів. У застосовуваних підкормках введений неорганічний йод переважно нестабілізований, тому його сполуки руйнуються, вступаючи у взаємодію з іншими біологічно активними речовинами, або окисляючись у молекулярний йод. До 70% йоду втрачається вже протягом декількох місяців

зберігання. Крім цього, використання йодидів при виробництві преміксів недоцільне через їх погану збереженість і агресивність по відношенню до вітамінів.

Найбільш природнім та ефективним є включення в раціон морських та прісноводних водоростей, які містять органічні сполуки йоду, а також володіють унікальною особливістю акумулювати його із поживного середовища. Крім того, біомаса водоростей містить повноцінний білок і повний набір незамінних та замінних амінокислот, які сприяють кращому засвоєнню йоду в організмі.

Прісноводна водорість *Lemna Minor* (Ряска мала) є класичним представником родини Lemnaceae (Ряскових), як і всі водорості володіє хорошою здатністю акумулювати з води мінеральні речовини і цю властивість можна використати для збагачення її йодом. У біомасі *Lemna Minor* міститься 1,52% повноцінного білка, в складі якого є весь набір незамінних і замінних амінокислот, 1,3% золи, 0,8% клітковини, 0,1% жиру, а обмінна енергія становить 20,2 ккал/100 г [4].

Метою наших досліджень було встановлення впливу внесення різних доз йоду в поживне середовище, за вирощування прісноводної водорості *Lemna Minor*, на вміст у її біомасі білку і амінокислот, які в подальшому могли б сприяти кращому засвоєнню акумульованого йоду.

**Матеріали і методи.** Для проведення досліджень нами було приготовано поживні середовища з внесенням 100, 500, 1000, 2000 мг/дм<sup>3</sup> йоду, в яких впродовж 30 днів проводилося вирощування прісноводної водорості *Lemna Minor*, взятої з природного середовища. У кінці досліду, з метою вивчення динаміки білка, проведено дослідження його вмісту методом К'ельдаля, згідно з ДСТУ ISO 5983:2003, вмісту вологи — згідно з ДСТУ ISO 6496:2005.

Для визначення вмісту амінокислот застосовували метод капілярного електрофорезу, в основі якого закладено електрокінетичні явища — електроміграція іонів та інших заряджених частинок і електроосмос. Дослідження проводили за допомогою системи капілярного електрофорезу “Капель-105/105М”, яка обладнана спеціальним програмним забезпеченням на основі персонального комп'ютера. “Капель-105/105М” для даного методу працює від джерела високої напруги з позитивною полярністю і аналіз проводиться у касеті з капіляром, внутрішній діаметр якого 50 мкм, повна довжина капіляру 75 см, ефективна довжина 65 см.

Метод базується на розкладі проб кислотним гідролізом (соляною кислотою впродовж 16 год.) з переходом амінокислот у вільні форми фенілізотіокарбамільних похідних (ФТК-похідних), подальшому їх розділенні і кількісному визначенні методом капілярного електрофорезу. Детектування проводять в УФ-області спектру при довжині хвилі 254 нм [5].

При підготовці та виконанні досліджень у лабораторії дотримували наступні вимоги: температура повітря 22,5 °С; вологість повітря 58-62%; напруга в мережі 220 В; частота перемінного струму (50±1) Гц.

Перед проведенням досліджень було здійснено такі роботи: підготовка капіляру до аналізу, приготування буферних і контрольних розчинів, приготування розчинів для одержання ФТК-похідних, підготовка проб за допомогою кислотного і лужного гідролізів. Перевірено стабільність калібрувальних кривих за допомогою контрольних розчинів, аналізуючи його не менше двох разів в умовах, відповідних аналізу.

При виконанні аналізу в приладі були встановлені такі параметри: довжина хвилі 254 нм, температура в капілярній системі 30 °С, напруга 25 кВ, введення проби проводилося при тиску 30 мбар впродовж 5 с, загальний час аналізу 15 хв., провідні електроліти – фосфатний і боратний буфери, приготовані згідно з методиками [6].

Даним методом проведено визначення масової частки амінокислот: аргініну, лізину, тирозину, фенілаланіну, гістидину, лейцину та ізолейцину (сумарно), метіоніну, валіну, проліну, треоніну, серину, аланіну, гліцину, цистину, триптофану, глутамінової і аспарагінової

кислот.

**Результати й обговорення.** В натуральній біомасі прісноводної водорості *Lemna Minor* міститься 92,8% води, 7,2% сухої речовини, в т. ч. 1,52% білка, що становить 21,1% у перерахунку на абсолютно суху речовину. Дослідження показали, що при внесенні різних доз йоду, вміст води зменшується з 92,4% до 91,3% а сухої речовини — збільшується з 7,6% до 8,5%, відповідно. Результати вмісту білка у вологій та сухій біомасі водорості, залежно від внесення в поживне середовище різних доз йоду, наведені в таблиці 1.

Таблиця 1

**Вміст білка в біомасі прісноводної водорості *Lemna Minor* за різних доз йоду,  $M \pm m$ ,  $n=5$**

Дози внесення йоду в поживне середовище, мг/дм <sup>3</sup>	Вміст на фактичну вологу, %	Вміст на абсолютно суху речовину, %
100	1,65 ± 0,11	21,5 ± 0,10
500	1,74 ± 0,09	22,3 ± 0,07
1000	1,92 ± 0,12	23,7 ± 0,16
2000	2,05 ± 0,15	24,1 ± 0,23

Отримані результати свідчать, що спостерігається підвищення вмісту білка в біомасі прісноводної водорості *Lemna Minor* прямопропорційно до збільшення вмісту сухої речовини у ній. При внесенні в поживне середовище 100 мг/дм<sup>3</sup> йоду, вміст білка у сухій речовині водорості зріс на 1,9%, при внесенні 500 мг/дм<sup>3</sup> — на 5,6%, при 1000 мг/дм<sup>3</sup> — на 12,3%, 2000 мг/дм<sup>3</sup> — на 14,2%, у порівнянні з натуральною сухою біомасою.

Дослідження амінокислотного складу сухої біомаси натуральної прісноводної водорості *Lemna Minor*, проведені за допомогою системи капілярного електрофорезу “Капель-105/105М”, подано на електрофореграмі (рис. 1).

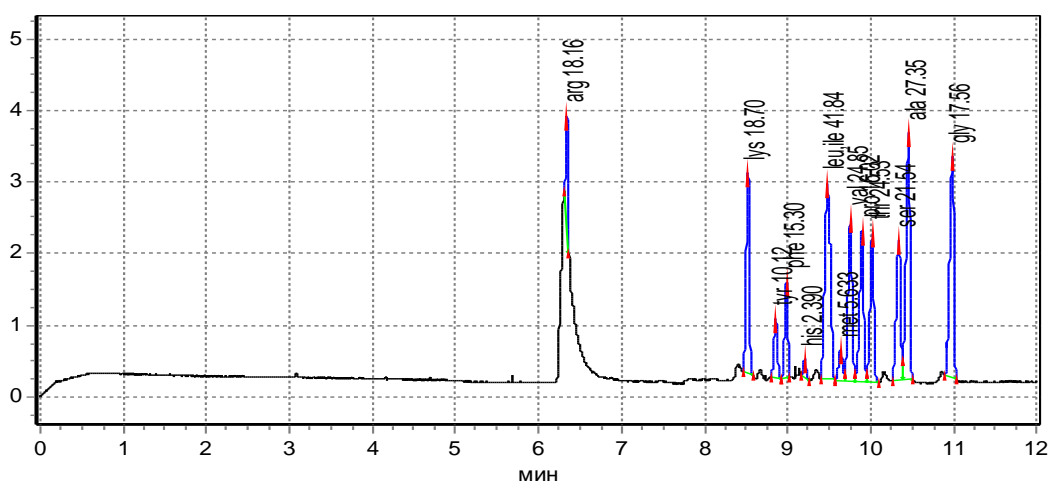


Рис. 1. Електрофореграма вмісту амінокислот у сухій біомасі натуральної прісноводної водорості *Lemna Minor*

Отримані концентрації амінокислот було розраховано за відповідною формулою з врахуванням наважки та розведень. Результати динаміки вмісту амінокислот у сухій біомасі *Lemna Minor* за внесення різних доз йоду в поживне середовище наведено в таблиці 2.

При дослідженні вмісту амінокислот у сухій біомасі прісноводної водорості *Lemna Minor* спостерігається збільшення вмісту аргініну при внесенні 1000 мг/дм<sup>3</sup> на 9,5%, при 2000 мг/дм<sup>3</sup> — на 16,4%. Вміст лізину, метіоніну, треоніну суттєво не відрізнявся, а вміст тирозину на 8-15%, валіну на 5,9-25,9%, проліну на 17,5-60%, аланіну на 6,5-21,6% знижувався порівняно з біомасою натуральної водорості. Сумарний вміст лейцину та ізолейцину поступово зростав з 4,0% до 10,0%, відповідно зі збільшенням йоду в поживному середовищі.

**Динаміка амінокислотного складу сухої біомаси прісноводної водорості *Lemna Minor* за різних доз йоду,  $M \pm m$ ,  $n=3$**

Амінокислоти	Натуральна прісноводна водорість <i>Lemna Minor</i>	Вміст йоду, мг/дм <sup>3</sup>			
		100	500	1000	2000
Аргінін (arg)	2,31 ± 0,12	2,32 ± 0,09	2,38 ± 0,06	2,53 ± 0,10	2,69 ± 0,15
Лізін (lys)	1,20 ± 0,07	1,08 ± 0,08	1,15 ± 0,05	1,17 ± 0,06	1,26 ± 0,07
Тирозин (tyr)	0,84 ± 0,03	0,73 ± 0,07	0,77 ± 0,02	0,74 ± 0,05	0,71 ± 0,08
Фенілаланін (phe)	0,53 ± 0,11	0,76 ± 0,15	0,85 ± 0,12	0,89 ± 0,19	1,11 ± 0,21
Гістидин (his)	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,16 ± 0,04	0,13 ± 0,03	0,15 ± 0,05
Лейцин + ізолейцин (Leu, ile)	2,71 ± 0,18	2,82 ± 0,13	2,85 ± 0,16	2,91 ± 0,22	2,98 ± 0,20
Метіонін (met)	0,40 ± 0,07	0,34 ± 0,02	0,35 ± 0,04	0,34 ± 0,03	0,44 ± 0,09
Валін (val)	1,60 ± 0,20	1,27 ± 0,11	1,38 ± 0,14	1,51 ± 0,17	1,45 ± 0,12
Пролін (pro)	1,14 ± 0,15	0,74 ± 0,09	0,75 ± 0,10	0,71 ± 0,06	0,97 ± 0,13
Треонін (thr)	1,55 ± 0,10	1,45 ± 0,05	1,66 ± 0,15	1,54 ± 0,08	1,79 ± 0,18
Серин (ser)	1,41 ± 0,17	1,25 ± 0,10	1,32 ± 0,08	1,44 ± 0,16	1,56 ± 0,11
Аланін (ala)	1,91 ± 0,23	1,63 ± 0,16	1,57 ± 0,12	1,83 ± 0,21	1,87 ± 0,25
Гліцин (gly)	1,25 ± 0,04	1,21 ± 0,07	1,31 ± 0,10	1,46 ± 0,13	1,48 ± 0,05
Глутамінова кислота (glu)	1,19 ± 0,10	1,15 ± 0,12	1,28 ± 0,06	1,53 ± 0,24	1,56 ± 0,23
Аспарагінова кислота (asp)	2,33 ± 0,31	2,31 ± 0,26	2,27 ± 0,18	2,92 ± 0,39	2,95 ± 0,35
Цистин (cys)	0,15 ± 0,05	0,18 ± 0,03	0,22 ± 0,10	0,23 ± 0,05	0,20 ± 0,02
Триптофан (trp)	0,12 ± 0,04	0,17 ± 0,07	0,12 ± 0,01	0,21 ± 0,06	0,25 ± 0,05

Кількість серину, гліцину, аспарагінової і глутамінової кислот спочатку знижувалася при внесенні 100 і 500 мг/дм<sup>3</sup> йоду в поживне середовище, а при внесенні 1000 і 2000 мг/дм<sup>3</sup> зростала максимально на 10,6, 18,4, 26,6 і 31,1%, відповідно. Найбільш суттєво зріс вміст фенілаланіну поступово в 1,5–2 рази, гістидину — вдвічі при дозі внесення 500 мг/дм<sup>3</sup> йоду, цистину — на 53,3% при дозі внесення 1000 мг/дм<sup>3</sup> йоду і триптофану — вдвічі при дозі внесення 2000 мг/дм<sup>3</sup>, порівняно з натуральною біомасою.

## В И С Н О В К И

1. Отримані результати досліджень свідчать, що прісноводна водорість *Lemna Minor* є джерелом повноцінного білка, в склад якого входить весь набір незамінних і замінних амінокислот і може застосовуватися для балансування раціонів сільськогосподарських тварин і птиці, а також риб, за їх вмістом.

2. Вирощування прісноводної водорості *Lemna Minor* за внесення різних доз йоду в поживне середовище позитивно впливає на динаміку білку в сухій біомасі водорості. Різні дози йоду в поживному середовищі не мають суттєвого впливу на такі важливі “незамінні” амінокислоти, як лізін, метіонін, треонін. Зниження вмісту тирозину, валіну, проліну і аланіну спостерігалось у всіх дозах, тоді як вміст серину, гліцину, аспарагінової і глутамінової кислот спочатку знижувався в нижчих дозах, а при внесенні 1000 і 2000 мг/дм<sup>3</sup> зростав. Виявлено тенденцію до збільшення “замінної” амінокислоти аргініну та “незамінних” — ізолейцину, лейцину, а також позитивний вплив на вміст таких незамінних амінокислот, як гістидин, фенілаланін, триптофан і “умовно незамінної” амінокислоти — цистину.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення макроелементного складу прісноводної водорості *Lemna Minor* та його динаміки за різних концентрацій йоду, внесених у поживне середовище для її вирощування.

# **DYNAMICS AMINO ACID COMPOSITION OF FRESHWATER ALGAE LEMNA MINOR FOR MAKING DIFFERENT IN CULTURE MEDIUM DOSES OF IODINE**

*V. O. Velichko<sup>1</sup>, S. V. Merzlov<sup>2</sup>, R. O. Ryvak<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,  
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

<sup>2</sup> Bila Tserkva National Agrarian University  
8/1 Soborna area, Bila Tserkva, Kyiv region, 09117, Ukraine

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

In the article the relevance of studies on the dynamics of the amino acid composition of freshwater algae Lemna Minor for inclusion in the culture medium of various doses of iodine, describes research methods and results are done their analysis and conclusions. Growing freshwater algae Lemna Minor for making various doses of iodine in the culture medium positively influences the dynamics of protein in the dry biomass of seaweed. Different doses of iodine in culture medium have no material impact on such important "essential" amino acids, lysine, methionine, threonine. Also found a tendency to increase the content of some amino acids and reduction – other "substitute" and "essential".

**Keywords:** BIOMASS, LEMNA MINOR, AMINO ACIDS, CAPILLARY ELECTROPHORESIS METHOD, ACCUMULATION, ELECTRO-KINETIC PHENOMENA.

## **ДИНАМИКА АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ПРЕСНОВОДНОЙ ВОДОРОСЛИ LEMNA MINOR ПРИ ВНЕСЕНИИ В ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ЙОДА**

*В. О. Величко<sup>1</sup>, С. В. Мерзлов<sup>2</sup>, Р. О. Рывак<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок  
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

<sup>2</sup>Белоцерковский национальный аграрный университет  
пл. Соборная, 8/1, г. Белая Церковь, Киевская обл., 09117, Украина

## **А Н Н О Т А Ц И Я**

В статье обоснована актуальность проведения исследований по изучению динамики аминокислотного состава пресноводной водоросли Lemna Minor при внесении в питательную среду различных доз йода, описаны методы исследований, а также приведены полученные результаты, сделано их анализ и выводы. Выращивание пресноводной водоросли Lemna Minor при внесении различных доз йода в питательную среду положительно влияет на динамику белка в сухой биомассе водоросли. Различные дозы йода в питательной среде не имеют существенного влияния на такие важные "незаменимые" аминокислоты, как лизин, метионин, треонин. Установлена также тенденция к повышению содержания одних аминокислот и снижению – других "заменимых" и "незаменимых".

**Ключевые слова:** БИОМАССА, LEMNA MINOR, АМИНОКИСЛОТЫ, МЕТОД

КАПИЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА, АККУМУЛЯЦИЯ, ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИЕ ЯВЛЕНИЯ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Зинченко Л. И., Погорелова И. Е.* Минерально-витаминное питание коров. — Л.: Колос, 1980. — 80 с.
2. *Кальницкий Б. Д.* Минеральные вещества в кормлении животных. — Л.: Агропромиздат, 1985. — 207 с.
3. Мінеральне живлення тварин. За редакцією *Г. Т. Кліценка, М. Ф. Кулика, М. В. Косенка, В. Т. Лісовенка* — Київ: Світ, 2001. — 575 с.
4. Корми та кормова сировина. Визначення вмісту амінокислот методом капілярного електрофорезу з використанням системи капілярного електрофорезу «Капель-105/105М» // *Коцюмбас І., Левицький Т., Ривак Г., Кушнір Г., Ривак Р.* // Методичні рекомендації (ТК 132 Держспоживстандарту України «Засоби захисту тварин, корми та кормові добавки», протокол № 10 від 22.10.2013 р. і НМР Держветфітослужби України, протокол № 1 від 19.12.2013 р.)
5. *Комаров Н. В., Каменцев Я. С.* Практическое руководство по использованию системы капиллярного электрофореза «Капель». Санкт-Петербург, 2008. — 208 с.

**Рецензент** — Т. Р. Левицький, к. с.-г. н., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.