

УДК 612.12:577.16+612.661.5:577.16

ВЗАИМОСВЯЗЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ОБРАЗЦОВ МОЛОКА КОРОВ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ**Зайцев С.Ю., Воронина О.А.**

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Дубровицы, Российская Федерация

Согласно требованиям технического регламента, на молоко и молочные продукты Евразийского Экономического Союза, который вошел в силу с января 2020 года, необходим обязательный контроль за уровнем соматических клеток в молоке. Исследованы основные биохимические параметры образцов молока коров черно-пестрой породы (Московской области), включая суммарное количество водорастворимых антиоксидантов (СКВА). Выявлена взаимосвязь между СКВА, определенным амперометрическим методом, и биохимическими показателями молока по 3 группам коров, которые были сформированы по значениям количества соматических клеток (КСК, $\cdot 10^3$ кл/см³): 1) меньше 200, 2) от 200 до 499, 3) от 500 до 999. Полученные данные имеют важное значение как при оценке физиолого-биохимического статуса, так и состояния системы антиоксидантной защиты организма коров. **Ключевые слова:** молоко коров, количество соматических клеток, биохимия, антиоксидантная активность.

RELATIONSHIP BETWEEN ANTIOXIDANT ACTIVITY AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF MILK SAMPLES FROM BLACK-AND-WHITE COWS**Zaitsev S.Yu., Voronina O.A.**

Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Dubrovitsy, Russian Federation

According to the requirements of the technical regulations for milk and dairy products of the Eurasian Economic Union, which came into force in January 2020, mandatory control over the level of somatic cells in milk is required. The main biochemical parameters of milk samples from black-and-white cows were studied (Moscow region), including the total amount of water-soluble antioxidants (TAWSA). A relationship was revealed between TAWSA, determined by the amperometric method, and the biochemical parameters of milk in 3 groups of cows, which were formed according to the values of the somatic cells count (SCC, $\cdot 10^3$ cells/cm³): 1) less than 200, 2) from 200 up to 499, 3) from 500 to 999. The data obtained are important in assessing the physiological-biochemical status, as well as the state of the antioxidant defense system of the cow's body. **Keywords:** cow milk, somatic cell count, biochemistry, antioxidant activity.

Введение. В последнее время, наряду с биохимическими параметрами, большое значение имеет изучение антиоксидантной активности (АОА) биологических жидкостей животных [1-3]. Интерес в исследовании антиоксидантов и системы защиты организма от активных форм кислорода вызывается несколькими причинами. Во-первых, данные АОА являются ценным источником информации «о состоянии здоровья и уровне стрессоустойчивости человека и продуктивных животных в производственных условиях» [4]. Во-вторых, это связано с поиском «функциональных продуктов» в системе «антиоксидантной нутрициологии» человека и в кормлении животных [4]. Такое внимание к изучению системы антиоксидантной защиты привело к огромному разнообразию методов исследования ее работы [5-7]. Не имея возможности перечислить все известные способы исследования АОА, остановимся только на электрохимическом методе, который связан с амперометрическим детектированием сигнала реакции окисления [5-7]. Амперометрическое детектирование широко применяется в качестве одного из надежных, доступных и простых в практическом применении методов определения антиоксидантов [5-7]. Как известно, величина электрического тока зависит от природы анализируемого вещества, материала рабочего электрода, приложенного к электроду потенциала и т.д. [5-7]. Чувствительность амперометрического детектора очень высокая из-за малых величин шумов, порядка 10^{-12} А [5-7]. Методы и подходы к определению и анализу основных биохимических параметров молока коров описаны в большом числе работ [8-11], только несколько из которых будет процитировано в данной статье. Кроме того, многие из этих современных методов описаны в соответствующих ГОСТ, монографиях и пособиях [4,12-14].

Согласно требованиям технического регламента, на молоко и молочные продукты Евразийского Экономического Союза, который вошел в силу с января 2020 года, необходим обязательный контроль за уровнем соматических клеток в сыром молоке [12]. В здоровом состоянии количество клеток не превышает 200 тысяч клеток в 1 мл молока от одной конкретной коровы. Нормативные документы базируются всегда на сборном молоке, поэтому ранее было требование - менее 1 миллиона клеток ($1,0 \cdot 10^6$ кл/см³), затем - до 750 тысячи клеток и до 500 тысяч клеток в 1 мл молока [12]. Для сравнения, по требованиям Европейского Союза пороговое значение по числу соматических клеток в молоке составляет до 200 тысяч клеток ($2,0 \cdot 10^5$ кл/см³). Количество соматических клеток в молоке зависит от многих факторов: породы животных, возраста, стадии лактации, количества отелов и состояния здоровья. Молоко маститных коров вызывает пищевые отравления бактериального

происхождения, расстройства функций желудочно-кишечного тракта, стрептококковую ангину у взрослых людей, и особенно у детей риски возрастают на порядок.

В связи с этим большой интерес представляет исследование корреляций основных биохимических параметров образцов молока коров с определенными значениями суммарного количества водорастворимых антиоксидантов (СКВА). Например, в работе арабских ученых [15] были детально изучены показатели общего числа соматических клеток (КСК) и их трех типов макрофагов, лимфоцитов и полиморфоядерных лейкоцитов, а также антиоксидантной активности ряда ферментов: каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы. Ими [15] были выбраны случайным образом 43 образца молока от коров из 8 ферм в Тунисе с ноября 2005 по февраль 2006, все образцы были разделены на четыре группы в соответствии с числом КСК: менее $1000 \cdot 10^3$ кл/см³, от 1000 до $1500 \cdot 10^3$ кл/см³, более $1500 \cdot 10^3$ кл/см³ и среднее по сумме всех 43 образцов [15]. Кроме биохимических параметров, авторами [15] показано, что каталаза и глутатионпероксидаза коррелируют с достаточно высокой степенью (около 0,66) как с общим числом КСК, так и с количеством нейтрофилов. Величины их активности являются важными маркерами мастита у коров [15], что используется для оценки физиолого-биохимического статуса (ФБС) и здоровья коров [14-16].

Целью работы являлось исследование основных биохимических параметров образцов молока коров черно-пестрой породы в хозяйствах Московской области, включая определение суммарного количества водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом и оценка их взаимосвязей.

Материалы и методы исследований. Образцы молока коров черно-пестрой породы получены из хозяйств Московской области в количестве 61 единицы. Методы и подходы к определению и анализу основных биохимических параметров молока коров описаны в большом числе работ [8-14]. В данной работе для анализа основных биохимических параметров молока коров использовали автоматическую установку CombiFoss-7 [14]. Для исследования суммарного количества водорастворимых антиоксидантов (СКВА) был использован амперометрический метод. Измерения выполнены на приборе «ЦветЯуза 01-АА» [5,10-12, 16]. СКВА определяли по измерению силы электрического тока, возникающего при окислении молекул на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале. В качестве стандарта при измерении СКВА образцов использовали растворы галловой кислоты, приготовленные из базового (100 мг/дм^3) с массовой концентрацией 0,2; 0,5; 1,0 и 4,0 мг/дм³, что детально описано в работах [5-7]. Расчет массовой концентрации антиоксидантов (X, мг/г) проводят эквивалентно галловой кислоте по градуировочному графику с учетом разведения (если оно проводилось), что детально описано в работах [5-7]. Результаты измерения общей антиоксидантной активности образцов статистически обрабатывали в программе «Microsoft Excel».

Результаты исследований. В результате проделанной работы получено большое количество данных по биохимическому составу и антиоксидантной активности молока коров черно-пестрой породы (61 образец) Московского региона (табл. 1-3). Значения СКВА составили от 6,8 мг/г до 27,9 мг/г (усредненное значение – $15,43 \pm 3,7$ мг/г). Обнаружены относительно слабые корреляции между СКВА и следующими параметрами молока: массовая доля жира (МДЖ) – 0,27; массовая доля белка истинная и общая (МДБ 1 и 2) – 0,18 в обоих случаях; лактоза – 0,14; сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО) – 0,14; сухое вещество СВ – 0,28; точка замерзания (ТЗ) – 0,03; pH – (-0,16); количество соматических клеток (КСК) – (-0,01).

На втором этапе анализа были оценены СКВА и средние биохимические показатели по 3 группам коров, которые были сформированы по значениям КСК. Такое деление было проведено нами, согласно требованиям технического регламента, на молоко и молочные продукты Евразийского Экономического Союза, который вошел в силу с января 2020 года [12]. Согласно этим требованиям, классификация сортности молока основывается на числе соматических клеток в молоке, которое в здоровом состоянии коровы не превышает 200 тысяч клеток в 1 мл молока от одной коровы [12]. Как известно, КСК в молоке коров зависит от многих факторов: породы животных, возраста, стадии лактации, количества отелов и состояния здоровья [8-11, 14]. Именно поэтому были сформированы 3 группы (по значениям КСК) для образцов молока коров черно-пестрой породы Московского региона.

Группа 1 (сформирована по значениям КСК меньше $200 \cdot 10^3$ кл/см³) является самой многочисленной (33 образца) молока коров черно-пестрой породы (таблица 1).

Таблица 1 - Основные параметры молока коров черно-пестрой породы (33 образца); группа 1

№	МДЖ	МДБ1	МДБ2	СКВА	Лактоза	СОМО	СВ	ТЗ	pH	КСК
M	5,16	3,22	3,45	15,95	4,87	9,16	14,37	-0,540	6,57	99,33
±m	0,14	0,07	0,07	0,74	0,09	0,09	0,17	0,01	0,01	9,20
Mean	4,93	3,13	3,38	16,00	4,90	9,11	14,11	-0,538	6,56	73
Min	3,62	2,65	2,89	6,80	4,51	8,24	12,68	-0,568	6,47	27
Max	7,30	4,49	4,75	27,91	5,32	10,80	19,93	-0,526	6,84	194
CV,%	15,88	12,74	11,96	26,72	3,98	5,38	6,90	-1,77	1,07	56,64
SD	0,82	0,41	0,41	4,26	0,19	0,49	0,99	0,01	0,07	52,87

Значения СКВА среди 33 образцов молока коров группы 1 составили от 6,80 мг/г до 27,91 мг/г, а усредненное значение – 15,95±3,7 мг/г (таблица 1). Получены средние значения для следующих параметров: МДЖ – 5,16 %; МДБ1 и МДБ2 – 3,22 % и 3,45 %; лактоза – 4,87 %; СОМО – 9,16 %; СВ – 14,37 %; ТЗ – 0,540 °С; рН – 6,57 отн.ед.; КСК – 91*10³ кл/см³. Обнаружены корреляции между СКВА и следующими параметрами молока: МДЖ – 0,305; МДБ1 и МДБ2 – 0,197 и 0,210; лактоза – 0,156; СОМО – 0,276; СВ – 0,399; ТЗ – 0,112; рН – 0,114; КСК – (-0,052).

Группа 2 сформирована по значениям КСК от 200 до 499 для молока коров (15 образцов) черно-пестрой породы Московского региона (таблица 2).

Таблица 2 - Основные параметры молока коров черно-пестрой породы (15 образцов); группа 2

№	МДЖ	МДБ1	МДБ2	СКВА	Лактоза	СОМО	СВ	ТЗ	рН	КСК
M	4,72	3,26	3,49	14,45	4,80	9,14	13,92	-0,539	6,53	333,3
±m	0,19	0,08	0,08	0,84	0,06	0,02	0,19	0,01	0,02	24,6
Mean	4,84	3,31	3,53	14,81	4,79	9,14	14,00	-0,541	6,52	299
Min	3,61	2,60	2,84	8,90	4,28	8,36	12,28	-0,556	6,42	208
Max	6,02	3,78	4,03	18,99	5,32	9,63	14,80	-0,519	6,67	499
CV,%	15,44	9,04	8,51	22,64	4,51	3,55	5,28	-1,91	1,01	28,61
SD	0,73	0,29	0,31	3,27	0,22	0,32	0,73	0,01	0,06	95,4

Значения СКВА среди 15 образцов молока коров группы 2 составили от 10,46 мг/г до 18,99 мг/г (усредненное значение – 14,45±3,5 мг/г). Получены средние значения для следующих параметров: МДЖ – 4,72; МДБ1 и МДБ2 – 3,20 и 3,49; лактоза – 4,80; СОМО – 9,14; СВ – 13,92; ТЗ – 539; рН – 6,53; КСК – 333*10³ кл/см³. Обнаружены корреляции между СКВА и следующими параметрами молока: МДЖ – 0,332; МДБ1 и МДБ2 – 0,296 и 0,303; лактоза – (-0,308); СОМО – 0,159; СВ – 0,391; ТЗ – 0,226; рН – (-0,211); КСК – 0,193.

Группа 3 сформирована по значениям КСК от 500 до 999 для молока коров черно-пестрой породы (13 образцов) Московского региона (таблица 3).

Таблица 3 - Основные параметры молока коров черно-пестрой породы (13 образцов); группа 3

№	МДЖ	МДБ1	МДБ2	СКВА	Лактоза	СОМО	СВ	ТЗ	рН	КСК
M	5,40	3,58	3,81	16,05	4,51	9,21	14,67	-0,540	6,54	805,2
±m	0,23	0,17	0,18	0,63	0,12	0,22	0,37	0,01	0,02	44,1
Mean	5,35	3,49	3,72	15,40	4,55	9,20	14,72	-0,544	6,52	903
Min	4,06	2,48	2,71	13,60	3,51	7,92	12,72	-0,550	6,42	542
Max	6,84	4,57	4,81	22,25	5,14	10,60	17,02	-0,520	6,68	973
CV,%	15,26	17,32	16,66	14,12	9,52	8,48	9,07	-0,78	1,33	19,76
SD	0,82	0,62	0,64	2,27	0,43	0,78	1,33	0,01	0,09	159,0

Значения СКВА молока коров (таблица 3) составили от 10,46 мг/г до 18,99 мг/г (усредненное значение – 16,04±3,6 мг/г). Получены средние значения для параметров: МДЖ – 5,40 %; МДБ1 и МДБ2 – 3,58 % и 3,81 %; лактоза – 4,51 %; СОМО – 9,21 %; СВ – 14,67 %; ТЗ – 0,542 °С; рН – 6,53 отн.ед.; КСК – 791*10³ кл/см³. Обнаружены корреляции между СКВА и следующими параметрами молока: МДЖ – (-0,352); МДБ1 и МДБ2 – (-0,411) и (-0,401); лактоза – (-0,166); СОМО – (-0,462); СВ – (-0,504); ТЗ – (-0,766); рН – (-0,047); КСК – (-0,698).

Заключение. Из полученных нами результатов можно выделить не только вклад каждого показателя в исходном молочном сырье, но и корреляции между СКВА и указанными выше параметрами молока коров, которые были получены впервые. Обнаружены относительно сильные корреляции (в большинстве своем – отрицательные) между СКВА и указанными выше параметрами молока коров для группы 3 (высокое содержание КСК) по сравнению с группами 1 (низкое содержание КСК) и 2 (среднее содержание КСК). Эти данные дополняют известные модели и могут быть использованы для более детального анализа сложных биологических процессов в организме животных, оценке их физиолого-биохимического статуса и молочной продуктивности.

Благодарности.

Авторы благодарны Савиной А. А., Сермягину А.А., Боголюбовой Н. В. за помощь в работе.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках выполнения госзадания (рег. номер ЕГИСУ темы НИР FGGN 0445-2021-0002).

Литература. 1. Halliwell, B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge // Oxford university press, USA. - 2015. 2. Bohn, T. Carotenoids and markers of oxidative stress in human observational studies and intervention trials: Implications for chronic diseases / T. Bohn // Antioxidants. – 2019. – Т. 8. – № 6. – С. 179. 3. Метод ВЭЖХ для определения природных полифенолов-антиоксидантов / А. Я. Яшин [и др.] // Лаборатория и производство. – 2021. – № 2. – С. 17. 4. Дигидрокверцетин и арабиногалактан — природные биорегуляторы в жизнедеятельности человека и животных, применение в сельском хозяйстве и пищевой промышленности

ленности / Ю. П. Фомичев [и др.]. – Москва : Научная библиотека, 2017. – 702 с. 5. Контроль качества и безопасности пищевых продуктов методом ВЭЖХ / А. Я. Яшин [и др.] // Лаборатория и производство. – 2019. – № 1. – С. 78-90. 6. Амперометрическое детектирование антиоксидантной активности модельных и биологических жидкостей / А. А. Савина, О. А. Воронина, Н. В. Боголюбова, С. Ю. Зайцев // Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. – 2020. – Т. 58, № 2. – С. 97-103. 7. Comparative study of the water-soluble antioxidants in fodder additives and sheep blood serum by amperometric and biochemical methods / S. Y. Zaitsev [et al.] // Animals. – 2020. – Т. 10. – № 7. – С. 1186. 8. Юрова, Е. А. Современные инструментальные методы контроля молочной продукции / Е. А. Юрова, Т. В. Кобзева // Пищевая промышленность. – 2011. – № 4. – С. 38-40. 9. Зайцев, С. Ю. Биологическая химия: от биологически активных веществ до органов и тканей животных / С. Ю. Зайцев. – Москва : ЗАО «Капитал Принт», 2017. – Т. 507. 10. Зайцев, С. Ю. Тензиометрический и биохимический анализ крови животных: фундаментальные и прикладные аспекты / С. Ю. Зайцев. – Дубровицы, 2016. – 192 с. 11. Comprehensive analysis of the colloid biochemical properties of animal milk as complex multicomponent system / S. Y. Zaitsev [et al.] // BioNanoScience. – 2017. – Т. 7. – С. 26-31. 12. TP TC 033/2013 Технический регламент Таможенного союза "О безопасности молока и молочной продукции" (с изменениями на 10 июля 2020 года). 13. Матвеева, Т. А. Исследование качественных характеристик молока питьевого / Т. А. Матвеева, И. Ю. Резниченко // Достижения и перспективы научно-инновационного развития АПК. – 2022. – С. 549-552. 14. Рекомендации по контролю физиологического состояния и здоровья коров с использованием биомаркеров состава молока / А. А. Сермягин, Г. Г. Карлюкова, И. А. Лашнева, М. В. Корнелеева. – Дубровицы : ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, 2022. – 52 с. 15. Hamed, H. Total and differential bulk cow milk somatic cell counts and their relation with antioxidant factors / H. Hamed, A. El Feki, A. Gargouri // Comptes rendus biologiques. – 2008. – Т. 331. – № 2. – С. 144-151. 16. Зайцев, С. Ю. Антиоксидантная активность молока / С. Ю. Зайцев. – Дубровицы : ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Эрнста, 2022. – 56 с.

Поступила в редакцию 26.10.2023.

УДК 57.085.23:612.017.1:615.076 (043.3)

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛИПОЛИСАХАРИДОВ *BACILLUS SUBTILIS* ПО ЭКСПРЕССИИ ПОВЕРХНОСТНЫХ МАРКЕРОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК

*Красочко П.А., **Гончаров А.Е., **Дуж Е.В., *Красочко И.А., *Чайковский В.В., ***Попова П.Ю.

*УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

**ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

***ФГБОУ ВО «Смоленская государственная сельскохозяйственная академия», г. Смоленск, Российская Федерация

Целью настоящих исследований является оценка иммуностимулирующего действия липополисахарида из *Bacillus subtilis* по экспрессии поверхностных маркеров иммунокомпетентных клеток. Установлено, что уровень экспрессии молекул CD80, CD86, CD273 и HLA-DR на дендритных клетках (ДК) был в 1,5-2 раза выше ($p < 0,05$) при сравнении с соответствующей контрольной группой, что свидетельствует об иммунобиологической активности липополисахарида из *Bacillus subtilis*. **Ключевые слова:** липополисахарид, *Bacillus subtilis*, дендритные клетки, поверхностные маркеры иммунокомпетентных клеток.

EVALUATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF *BACILLUS SUBTILIS* POLYSACCHARIDES BY THE EXPRESSION OF SURFACE MARKERS OF IMMUNOCOMPETENT CELLS

*Krasochko P.A., **Hancharou A.Y., **Duzh E.V., *Krasochko I.A., *Tchaikovsky V.V.,

***Popova P.Yu.

*Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

**Institute of Biophysics and Cellular Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

***Smolensk State Agricultural Academy, Smolensk, Russian Federation

The aim of these studies is to evaluate the immunostimulating effect of lipopolysaccharide from *Bacillus subtilis* on the expression of surface markers of immunocompetent cells. It was found that the expression level of CD80, CD86, CD273 and HLA-DR molecules on dendritic cells (DC) was 1,5-2 times higher ($p < 0,05$) when compared with the corresponding control group, which indicates the immunobiological activity of lipopolysaccharide from *Bacillus subtilis*. **Keywords:** lipopolysaccharide, *Bacillus subtilis*, dendritic cells, surface markers of immunocompetent cells.

Введение. Успехи иммунологии последних лет способствовали совершенствованию существующих и получению новых эффективных препаратов для иммунизации человека и животных. Бурное развитие иммунологии, микробиологии, химии (органического и неорганического синтеза), фармакологии и других смежных наук привело к тому, что появилось новое направление в иммунологии – иммунологическая регуляция. Приемы иммунотерапии, направленные на исправление дефекта иммунорегуляции, можно объединить общим термином «иммунокоррекция». Для обозначения отдельных ее направлений используются такие термины, как «иммунорегуляция», «иммуно-