

Е.В. ПЕТРУШКО, А.И. БУДЕВИЧ, И.С. ПЕТРУШКО,
В.Н. КУЗНЕЦОВА, А.С. КУРАК, М.В. БАРАНОВСКИЙ,
Н.Л. ЗАРЕМБА, И.В. МИХЕДОВА

ХАРАКТЕРИСТИКА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МОЛОКА КОЗ-ПРОДУЦЕНТОВ ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

Сравнительный анализ физико-химических показателей молока коз-продуцентов лактоферрина человека и нетрансгенных животных показал отсутствие различий по показателям молочной продуктивности, массовой доли жира и количества соматических клеток между группами. При этом отмечалось достоверное повышение содержания в молоке животных-продуцентов rhLF массовой доли белка, лактозы и СОМО. Установлено, что показатель количества соматических клеток (КСК) в молоке коз-продуцентов rhLF не носил постоянный характер, а его среднее значение по данной группе было ниже, чем у контрольной.

Ключевые слова: козы-продуценты, лактоферрин, молоко, соматические клетки, физико-химические показатели.

E.V. PETRUSHKO, A.I. BUDEVICH, I.S. PETRUSHKO, V.N. KUZNETSOVA,
A.S. KURAK, M.V. BARANOVSKIY, N.L. ZAREMBA, I.V. MIHEDOVA

CHARACTERISTICS OF PHYSICAL AND CHEMICAL PARAMETERS OF MILK OBTAINED FROM GOATS PRODUCING HUMAN LACTOFERRIN

RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
on Animal Husbandry»

Comparative analysis of physical and chemical parameters of milk obtained from goats producing human lactoferrin and non-transgenic animals showed no differences in milk performance, fat mass fraction and number of somatic cells between the groups. At the same time there was a significant increase of protein mass fraction in milk of animals producing rhLF, as well as lactose and nonfat milk solids. It was determined that the indicator of the number of somatic cells (CSC) in milk of goats producing rhLF was not constant, and its average value for this group was lower than in the control group.

Key words: producing goats, lactoferrin, milk, somatic cells, physical and chemical parameters.

Введение. Получение рекомбинантных белков человека с молоком животных-продуцентов является приоритетным направлением использования достижений генной инженерии в современной биотехнологии. Одним из основных условий экономической целесообразности реализации проектов в данной области трансгенеза является формирование и поддержание высокопродуктивных по целевому белку стад транс-

генных животных. Для этого необходима реализация ряда мероприятий, которые базируются на селекционных принципах работы с поголовьем, оценке генетического потенциала животных – уровня экспрессии трансгена, кодирующего целевой «белок интереса», мониторинге его количественного показателя, а также основных биохимических, микробиологических и физико-химических характеристик молока с учётом постоянного контроля состояния здоровья животных и качества сырьевого продукта.

Вместе с тем интеграция в геном хозяина чужеродного генетического материала может привести к изменению физиологических процессов, происходящих в организме животных и, как следствие, к изменению определённых свойств молока продуцентов, что в последующем, возможно, потребует корректировки технологических этапов его переработки. Так, по данным некоторых исследователей [1], содержание в молоке трансгенных коз человеческого белка бутирилхолинэстеразы (гBChE) в концентрации 1-5 г/л не повлияло на общее состояние животных. При этом отмечалось изменение у животных-продуцентов, в сравнении с нетрансгенными, таких параметров молока, как содержание жира, лактозы, казеина, а также соматических клеток, в т. ч. лейкоцитов.

Показатель количества соматических клеток (КСК), используемый для мониторинга воспалительных заболеваний молочного скота, является важным индикатором качества молока в молочной промышленности [2]. Тем не менее, величина данного показателя для коз не всегда является достоверной в связи с высокой степенью апокринности (свойства желез отделять в момент секреции часть своей клеточной протоплазмы) молочных желез, в связи с чем козье молоко может содержать цитоплазматические гранулы, трудно отличимые по форме и размеру от соматических клеток при микроскопировании образцов сырья. По данным различных исследований [3, 4], в молоке клинически здоровых коз диапазон КСК составляет 78×10^3 - 4520×10^3 тыс./см³.

Современная оценка количества соматических клеток (КСК) в молоке проводится методом прямой микроскопии (DM) с окрашиванием пиронин Y-метил зелёным красителем, связывающимся с ДНК клеток. Так, по данным E. Веггу и J. Broughan [5], метод измерения КСК в козьем молоке с использованием автоматического счётчика соматических клеток DCC (DeLaval) показал высокие коэффициенты регрессии (1,03) и корреляции (0,95) в сравнении с референтным методом ($F_{1,199}=1080.0$; $P<0,001$), при этом исследованию подверглись 102 образца молока, полученные из функциональных половин вымени 52 коз.

Таким образом, если динамика компонентного состава коровьего

молока достаточно хорошо освещена и изучена [6], то об изменении характеристик козьего молока, в частности молока животных, продуцирующих нетипичный для себя белок в достаточных количествах, информации очень мало.

В связи с вышеизложенным, целью исследований явилось изучение в сравнительном аспекте физико-химических показателей и уровня соматических клеток (СК) козьего молока, полученного от коз-продуцентов лактоферрина человека и от обычных животных в различные периоды лактации.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в 2015 г. в период с июня по ноябрь в течение 183 дня в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» и на Биотехнологическом научно-экспериментальном производстве по трансгенезу животных (д. Будагово) Минской области на поголовье стада коз с выраженными породными признаками, полученными от использования в системе разведения животных козлов-производителей зааненской породы.

Объектом исследования являлось молоко, полученное от здоровых коз-продуцентов лактоферрина человека (rhLF) первого и второго года лактации (опытная группа, n=12), и молоко, полученное от здоровых нетрансгенных коз (контрольная группа, n=12). Все козы содержались в идентичных условиях в течение всего периода опыта.

Отбор проб молока проводился во время дневной дойки двукратно в каждом исследуемом месяце от каждого животного. Были изучены и проанализированы следующие показатели: молочная продуктивность, массовая доля жира, содержание белка, лактозы, массовая доля СОМО, кислотность, плотность, КСК.

Определение физико-химических показателей осуществлялось с использованием ультразвукового анализатора молока Ekomilk-Ultra (Болгария), детекция количества соматических клеток (КСК) – с использованием автоматического счётчика клеток DCC (DeLaval, Швеция).

Полученные данные были обработаны с помощью приложения Microsoft Office Excel.

Результаты эксперимента и их обсуждение. На рисунке 1 представлена динамика суточного удоя опытных и контрольных групп животных. Не установлено существенных различий по данному показателю между контрольной (0,6 л) и опытной (0,8 л) группами животных в течение опыта. Однако в октябре суточный удой коз-продуцентов превосходил контрольную группу на 50 %. В целом на протяжении исследования наблюдалась тенденция превосходства по молочной продук-

тивности животных опытной группы над контрольной (на 0,12 л или 18,7 %), хотя в различные периоды лактации отмечались существенные изменения лактационной кривой, как отдельных коз, так и у двух подопытных групп животных.

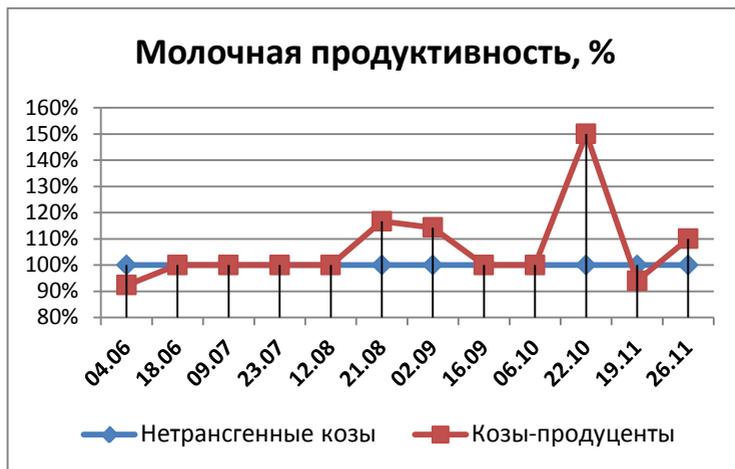


Рисунок 1 – Динамика суточного удоя

Анализ определения содержания жира в молоке коз показал отсутствие статистической достоверности между группами. Изменения данного показателя представлено на рисунке 2, который показывает, что в июне в начале лактации содержание жира в молоке коз-продуцентов rhLF было несколько выше, чем в контрольной группе коз. С июля по сентябрь показатель выравнивался, и различий не наблюдалось. Начиная с сентября при изменении типа кормления и до зимнего периода года включительно, в обоих видах молока прослеживалась тенденция увеличения массовой доли жира, причём у нетрансгенных коз она была выше на 0,2-0,4 % по сравнению с молоком коз-продуцентов.

Данный показатель находился в пределах 2,8-4,7 % в молоке коз контрольной группы. Установлена зависимость количества жира от стадии лактации, сезонности года и типа кормления. В целом за период опыта средние значения содержания жира в молоке опытной группы на 0,09 % или 2,5 п.п. уступали показателям контрольной, что является более приемлемым при переработке молока и выделения rhLF.

Оценка уровня содержания массовой доли белка в молоке (рисунок 3) показала, что значение данного показателя в период опыта у коз-продуцентов rhLF было выше по сравнению с молоком коз контрольной группы на 0,12 % или 3,8 п.п., что статистически подтверждается в

летние месяцы и, вероятно, связано с активизацией синтеза белков ($P < 0,05-0,01$). В течение всего исследуемого периода наблюдалось превосходство (в ряде случаев достоверное ($P < 0,05-0,01$)) его концентрации в опытной группе над контрольной. Данный факт, возможно, свидетельствует о синтезе дополнительного количества белка в молочной железе животных-продуцентов rhLF.

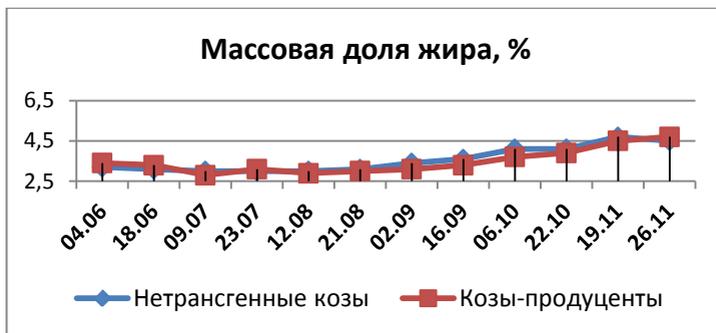


Рисунок 2 – Динамика массовой доли жира

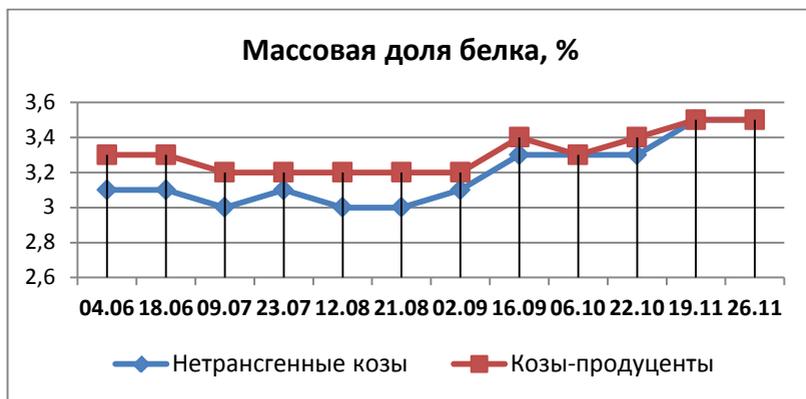


Рисунок 3 – Изменение массовой доли белка

Одним из важных физических показателей качества молока является его плотность (рисунок 4). Она характеризует его натуральность и находится в зависимости от содержания в молоке жира, белка и минеральных веществ. Исследования показали, что на протяжении всего периода данный показатель имел более высокое значение у коз-продуцентов rhLF. Так, в различные периоды он варьировал в опытной и контрольной группе от 1028,4 кг/см³ в августе до 1030,6 кг/см³ в декабре и 1027,2 кг/см³ в августе месяце и 1030,2 кг/см³ в ноябре соот-

ветственно, при этом в начале лактационной кривой превосходство подтверждается статистически ($P < 0,05-0,01$). Во все исследуемые периоды показатель плотности сырья находился в пределах требований существующих технических условий на молоко коз, трансгенных по гену лактоферрина человека (ТУ ВУ 100098867.309-2012).

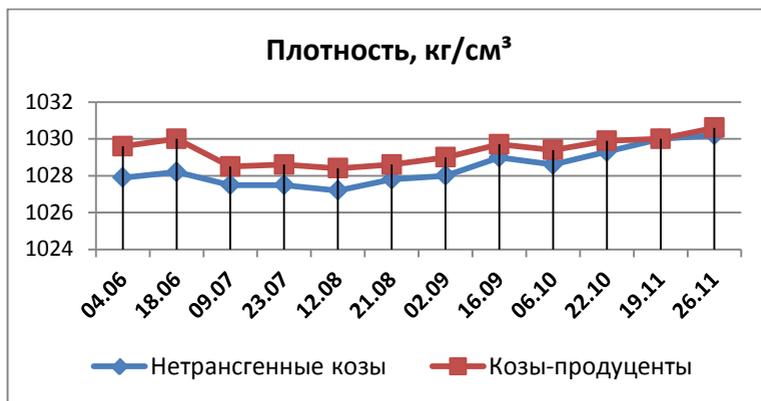


Рисунок 4 – Динамика показателя плотности

Данные рисунка 5 свидетельствуют о том, что показатель СОМО молока коз-продуцентов rhLF во все исследуемые периоды превосходил аналогичный показатель животных контрольной группы на 0,34 %, при этом в летний период разница была достоверна. Также было установлено статистически достоверное увеличение концентрации лактозы ($P < 0,05-0,01$) в молоке коз-продуцентов на 0,24 % по сравнению с нетрансгенными козами, что, вероятно, может свидетельствовать о влиянии сверхэкспрессии тканями молочной железы рекомбинантного человеческого лактоферрина на опосредованный лактозой механизм регуляции секреции молока в эпителиальных клетках вымени животных-продуцентов (рисунок 6).

Одним из важнейших химических свойств молока является кислотность, которая в основном определяется присутствием в нём кислых солей, белков, диоксида углерода, кислот и других соединений. Исследованиями установлено (рисунок 7), что данный показатель в молоке животных опытной группы за весь период (20,3 °Т) превосходил аналогичный показатель молока коз контрольной группы на 0,44 °Т или 2,2 % (разница недостоверна). При этом необходимо отметить значительное возрастание кислотности в молоке коз-продуцентов rhLF с июля по сентябрь ($P < 0,05-0,01$), что, возможно, связано с несколькими биохимическими процессами, происходящими в молочной же-

лезе трансгенов и требующих дополнительных исследований в данном направлении.

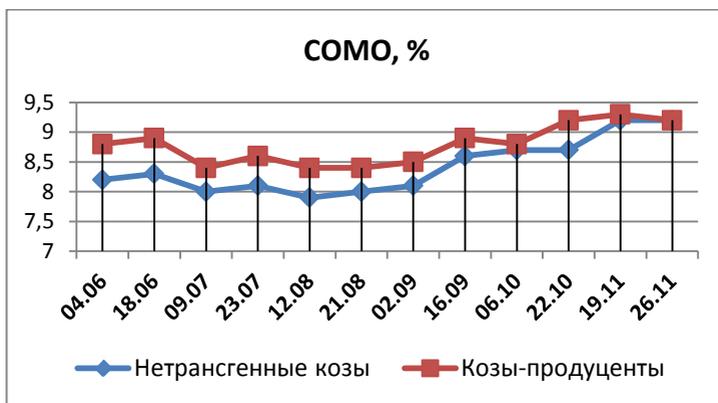


Рисунок 5 – Массовая доля СОМО в исследуемый период

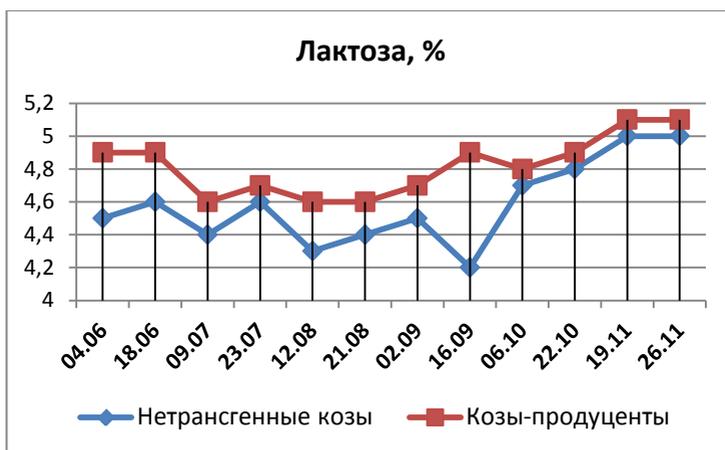


Рисунок 6 – Содержание лактозы

Однако, несмотря на некоторые отличия по показателю кислотности молока обеих групп, данные результаты согласуются с требованиями существующих технических условий на молоко коз, трансгенных по гену лактоферрина человека (ТУ ВУ 100098867.309-2012).

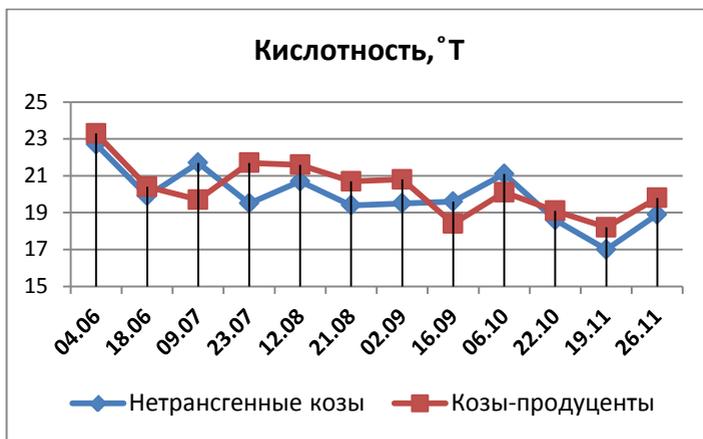


Рисунок 7 – Кислотность молока

В результате исследований обнаружена большая вариабельность числа соматических клеток внутри выборок, включающих как коз-продуцентов rhLF, так и нетрансгенных особей (рисунок 8). Установлено уменьшение показателя количества соматических клеток в молоке животных-продуцентов rhLF на 273,7 тыс./см³ или на 96,1 % по сравнению с нетрансгенными козами, что связано, возможно, с изменениями синтеза молока в молочной железе коз-продуцентов и противовоспалительным действием rhLF. Однако данный факт требует проведения дополнительных исследований в этом направлении.

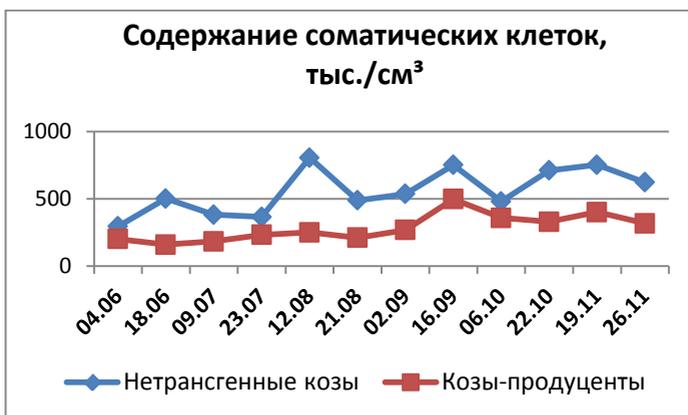


Рисунок 8 – Содержание соматических клеток

Заключение. 1. Впервые в Республике Беларусь изучены физико-химические показатели и количество соматических клеток в сырьевом продукте молока коз-продуцентов рекомбинантного лактоферрина человека.

2. Комплексный сравнительный анализ физико-химических показателей молока коз-продуцентов rhLF и нетрансгенных животных показал отсутствие статистически значимых различий в молочной продуктивности, массовой доле жира и количества соматических клеток. При этом установлено достоверное увеличение массовой доли белка, лактозы, СОМО.

3. Показатель количества соматических клеток в молоке животных-продуцентов белка лактоферрина не носил постоянный характер, при этом среднее значение по данной группе было на 96,1 % ниже, чем в контроле.

4. Результаты полученных исследований могут быть использованы при массовом скрининге животных для контроля качества молока при создании промышленных стад-продуцентов ценных рекомбинантных белков человека.

Литература

1. Milk composition studies in transgenic goats expressing recombinant human butyrylcholinesterase in the mammary gland / H. Baldassare [et al.] // *Transgenic Res.* – 2008. – Vol. 17. – P. 863-872.

2. Short Communication: Evaluation of the Overall Accuracy of the DeLaval Cell Counter for Somatic Cell Count in Ovine Milk: Effect of Soak Time in Diluted and Undiluted Milk Samples / C. Gonzalo [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2008. – Vol. 91. – P. 3114-3118.

3. Somatic cell count in goat milk / H. Pridalova [et al.] // *Folia Veterinaria.* – 2009. – Vol. 53(2). – P. 101-105. – Also: B. Janstova, S. Cupakova, M. Drackova, P. Navratilova, L. Vorlova.

4. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review / R. Jimenez-Granado [et al.] // *Spanish Journal of Agricultural Research.* – 2014. – Vol. 12(1). – P. 133-150. – Also: M. Sanchez-Rodriguez, C. Arce, V. Rodriguez-Estevez.

5. Berry, E. Use of the DeLaval cell counter (DCC) on goats' milk / E. Berry, J. Broughan // *Journal of Dairy Research.* – 2007. – Vol. 74. – P. 74 345-348.

6. Циновой, А. В. Физиологические изменения состава молока коров в зависимости от возраста, периода лактации и при первичных нарушениях функции молочной железы : автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.13. / Циновой А.В. – Харьков, 2003. – 46 с.

(поступила 16.03.2016 г.)