https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867
УДК 637.07

(cc) BY

Сезонные закономерности изменения антиоксидантных и микроэлементных параметров молока коров черно-пестрой породы

© 2023. А. А. Савина ✉, О. А. Воронина, С. Ю. Зайцев
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», г. о. Дубровицы, Российская Федерация

Изучение антиоксидантного статуса молока коров может дать информацию как о физиологическом состоянии продуктивного животного, так и о получаемом продукте с точки зрения его функциональной ценности, вкусовых качеств и характеристик, влияющих на хранение. Цель работы – исследование образцов молока у голштинизированных коров черно-пестрой породы с разными сроками лактации (до 30-60 дней, 60-90, 90-180, более 180 дней) на предмет активности факторов антиоксидантной защиты в течение ряда месяцев осеннего, зимнего и весеннего периодов. Суммарную концентрацию водорастворимых антиоксидантов (СКВА) молока определяли амперометрическим методом, активность церулоплазмина (ЦП) – модифицированным методом Равина, микроэлементный состав – методом атомно-адсорбционной спектрометрии, концентрацию витамина С – титриметрическим методом, каталазное число – методом перманганатометрии. Выявлены закономерности между сезонной динамикой цинка и каталазы в молоке: в январе у группы животных со сроком лактации 30-300 дней активность каталазы и содержание цинка выше соответственно на 21,6 и 17,4 %, чем у коров со сроком лактации 15-30 дней; в феврале, наоборот, эти показатели выше у группы животных со сроком лактации 15-30 дней (на 29,6 и 30,4 % соответственно); в марте в группе животных со сроком лактации 15-30 дней активность каталазы и уровень цинка ниже (на 26,3 и 10,6 %), чем у коров со сроком лактации более 30 дней. Наблюдается снижение СКВА с увеличением количества лактационных дней. Концентрация СКВА в молоке коров, лактирующих более 180 дней, снизилась в ноябре и марте соответственно на 25,9 и 13,5 % по сравнению с периодом лактации 30-60 дней, в феврале – на 18,8 % по сравнению с животными, лактирующими 60-90 дней. Полученные данные по СКВА прямо пропорционально отражают изменения витамина С и обратно пропорционально церулоплазмина. Полученные данные могут служить важными ориентирами при определении «референтных показателей» в молоке коров.

Ключевые слова: *периоды лактации, церулоплазмин, каталаза, витамин С, СКВА, медь, железо, цинк*

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках выполнения Государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (тема FGGN 0445-2021-0002).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

***Конфликт интересов*:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Савина А. А., Воронина О. А., Зайцев С. Ю. Сезонные закономерности изменения антиоксидантных и микроэлементных параметров молока коров черно-пестрой породы. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2023;24(5):858-867. DOI: https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867

Поступила: 25.05.2023 Принята к публикации: 13.10.2023 Опубликована онлайн: 30.10.2023

Seasonal patterns of changes in antioxidant and microelement parameters of milk from black-and-white cows

© 2023. Anastasia A. Savina✉, Oksana A. Voronina, Sergey Yu. Zaitsev
Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Dubrovitsy, Russian Federation

Studying the antioxidant status of cow's milk can provide information both on the physiological state of the productive animal and on the resulting product in terms of its functional value, taste and characteristics affecting storage. The purpose of the work is to study milk samples from Holstein cows of the black-and-white breed with different periods of lactation (up to 30-60 days, 60-90, 90-180, more than 180 days) for the activity of antioxidant protection factors during a number of months of autumn, winter and spring periods. The total amount of water-soluble antioxidants (TAWSA) of milk was determined by the amperometric method, the activity of ceruloplasmin by the modified Ravin method, the microelement composition by the method of atomic adsorption spectrometry, the concentration of vitamin C by the titrimetric method, and the catalase number by the permanganatometry method. Patterns have been identified between the seasonal dynamics of zinc and catalase in milk: in January, in a group of animals with a lactation period of 30-300 days, catalase activity and zinc content are higher by 21.6 and 17.4 % , respectively, than in cows with a lactation period of 15-30 days; in February, on the contrary, these indicators

are higher in the group of animals with a lactation period of 15-30 days (by 29.6 and 30.4 %, respectively); in March, in the group of animals with a lactation period of 15-30 days, catalase activity and zinc levels are lower (by 26.3 and 10.6 %) than in cows with a lactation period of more than 30 days. There is a decrease in TAWSA with an increase in the number of lactation days. The concentration of TCWA in the milk of cows lactating for more than 180 days decreased in November and March, by 25.9 and 13.5 %, respectively, compared with a lactation period of 30-60 days, in February – by 18.8 % compared with animals lactating 60-90 days. The obtained data on TAWSA are directly proportional to changes in vitamin C and inversely proportional to ceruloplasmin. The data obtained can serve as important guidelines in determining "reference indicators" for cows' milk.

Keywords: *lactation periods, ceruloplasmin, catalase, vitamin C, TAWSA, copper, iron, zinc*

Acknowledgments: the work was financially supported by fundamental scientific research of the Ministry of Science and Education of the Russian Federation within the state assignment of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst (topic FGGN 0445-2021-0002).

The authors thank the reviewers for the expert evaluation of this work.

Conflict of interest: the authors stated that there was no conflict of interest.

For citation: Savina A. A., Voronina O. A., Zaitsev S. Yu. Seasonal patterns of changes in antioxidant and microelement parameters of milk from black-and-white cows. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*=Agricultural Science Euro-North-East. 2023;24(5):858-867. (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.858-867

Received: 25.05.2023 Accepted for publication: 13.10.2023 Published online: 30.10.2023

С целью повышения биологической ценности продуктов питания производится обогащение их ингредиентами, обладающими выраженными антиоксидантными свойствами. В последние годы во всем мире неуклонно растет спрос на продукты питания, содержащие природные антиоксиданты. Антиоксиданты или, другими словами, вещества, обладающие антиокислительной активностью (АОА), являются не только физиологически значимыми компонентами пищи, но и играют важную технологическую роль, так как позволяют сохранить цвет и вкус продуктов, повысить сроки их хранения или способность к переработке [1].

Указанные выше позиции являются все более важными, поскольку интенсификация молочного животноводства все более тесно соприкасается с проблемой хронического стресса и повышенной метаболической нагрузкой, следствием которой становится повышенное производство свободных радикалов в организме. За один производственный цикл корове необходимо пройти несколько фаз быстрых физиологических и метаболических адаптаций [2]. Прежде всего, эти адаптации связаны с началом лактации, достижением максимальных значений по удою, переходом в период запуска, параллельным наступлением охоты и подготовкой к новому периоду стельности, чтобы в условиях жестких сроков вернуться к началу лактации. На уровне биохимических процессов в клетке это сопряжено с увеличением активности гликолиза и последующим наступлением энергетического дефицита, переходящего в стадию истощения [2]. Негативные последствия такого «истощающего метаболизма» связаны с повышенной продукцией свободных радикалов, «износом резерва стресс-резистентности и адаптивности». Как следствие, ухудшается физиологическое состояние животных, ослабевают естественные защитные силы организма [3, 4]. Поскольку молоко является неотъемлемым продуктом лактирующих животных, то все перечисленное отражается на составе и качестве этой биологической жидкости [5].

Значительный отклик на изменение состояния животного происходит в активности ферментов с антиоксидантными свойствами. В молоке это, чаще всего, оксидоредуктазы, выполняющие важные функции, связанные с защитой от свободных радикалов и бактерий, предотвращающих процессы перекисного окисления липидов, сохраняя тем самым качество молочных продуктов. Например, в работе [6] показана многофункциональность фермента ксантиноксидоредуктазы в реакциях детоксикации и синтеза большого количества низкомолекулярных соединений с антиоксидантной активностью (молочной кислоты, аллантоина). Его универсальность заключается в способности проявлять свою активность как внутри клетки, так и за её пределами, что делает этот белок важным компонентом врожденной иммунной системы, а его консервативность поддерживается у млекопитающих эволюционно.

Основные оксидоредуктазы молока – это лактопероксидаза, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза [7], оксидаза молочной кислоты, церулоплазмин. Функциональные свойства оксидоредуктаз связаны, в первую очередь, с наличием в их структуре таких микроэлементов, как медь, цинк и железо. Благодаря высокому окислительно-восстано-

вительному потенциалу этих металлов они и проявляются в качестве антиоксидантов [8]. Помимо того, что микроэлементы входят в функциональные группы ферментов с антиоксидантной активностью, некоторые, например, медь, является ещё и кофакторами церулоплазмина, задействованного в метаболическом пути железа [9]. В свою очередь, железо включено в ряд других антиоксидантных ферментов – каталазу, пероксидазу глютатион, супероксиддисмутазу, которые «высвобождают» молекулярный кислород или его производные. И если действие «высвобожденного» кислорода не направлено на уничтожение патогенов, далее «по цепи» его нейтрализуют другие антиоксиданты: витамины С и Е, глутатион, фенольные соединения, которые содержатся в молоке.

Отдельно стоит сказать о витамине С, он не только является мощным антиоксидантом, который нейтрализует свободные радикалы, уменьшая воспалительные процессы [10], но и способствует усвоению железа и цинка, придавая им «активную форму», повышающую биологическую доступность для ферментов желудочно-кишечного тракта [11]. Тесная взаимосвязь в процессах усвоения железа и цинка приводят их к одной узкой точке «прохождения» через церулоплазмин, что при избытке цинка не позволяет железу воспользоваться своим переносчиком. Недостаток меди в корме животных может привести к недостатку её в молоке, что, в свою очередь, может повлиять на уровень железа в молоке. На это стоит обращать пристальное внимание при составлении и балансе рациона лактирующих коров. С другой стороны, повышение уровня железа и меди в молоке приводит к повышенной окислительной активности, что сопряжено с порчей продукта и потерей вкусовых качеств и питательных свойств молока [12]. Причинами их повышенного содержания может стать целый ряд причин, начиная от самых простых, вызванных фактором кормления, содержания и гигиены животных; реже – менее очевидных, связанных с транспортом и переработкой молочной продукции. Тесно взаимодействуя друг с другом, различные антиоксиданты молока обеспечивают равновесие системы, предотвращая окислительную дестабилизацию. Это положительно сказывается на здоровье потребителей [10].

Повышенное содержание железа в молоке может свидетельствовать о наличии воспалительных процессов, таких как мастит у коров, а также о нарушении гигиены использования молочного оборудования и транспортировки молока. Как известно, ионы железа являются одними из ключевых элементов молока и играют важную роль в формировании аромата и вкуса продукта.

Недостаток меди в корме животных может привести к недостатку меди в молоке, что может в свою очередь, влиять на уровень железа в молоке. Это происходит потому, что медь необходима для активации ферментов, участвующих в метаболизме железа. Кроме того, медь участвует в образовании эпитопов на трансферрине, транспортировка железа которым зависит от экспрессии таких эпитопов. Поэтому недостаток меди может привести к изменению транспортировки железа и потенциально к снижению его биодоступности [10]. При этом как железо, так и медь обеспечивают сохранение высоких показателей качества молока в течение всего срока его хранения. С другой стороны, избыток меди в корме животных может также повлиять на содержание железа в молоке, и снизить его уровень. Это происходит потому, что избыток меди может негативно влиять на метаболизм железа и привести к накоплению железа в тканях вместо его доставки в систему кровообращения. Поэтому необходимо контролировать содержание меди в корме и поддерживать его оптимальный уровень, чтобы обеспечить правильный метаболизм микроэлементов в молоке.

Церулоплазмин (ЦП) – уникальный белок, который выступает основным доступным депо меди в организме. В период лактации его синтез увеличивается в клетках молочной железы, и он становится важным источником меди в питании новорожденного [13]. В качестве транспортной молекулы церулоплазмин работает не только с железом [14], но и цинком [13], а также медью [15] и потенциально с другими металлами, чья валентность проявляется как 2^{+}.

При недостатке церулоплазмина уровень железа в молоке может быть снижен, что вероятно приводит к негативным последствиям для здоровья новорожденного [9]. Церулоплазмин также играет важную роль в системе антиоксидантной защиты, медь и железо в его составе помогают остановить окислительные процессы в организме и предотвратить образование свободных радикалов [14]. Механизм транспортировки церулоплазмином железа состоит из связывания железа с трансферрином, затем связывание церулоплазмина с транс-

феррином и высвобождение железа в ткани и органы организма. Церулоплазмин также может связывать цинк в небольших количествах, который присоединяется к остатку гистидина [9]. Таким образом, церулоплазмин связывает медь, играя важную роль в транспортировке ее и железа в организме, но также может связывать в небольших количествах цинк [14]. Цинк является важным элементом питания и играет заметную роль в биохимических процессах, происходящих в организме. Он также является кофактором многих ферментов и может быть частью структуры некоторых белков. В молоке содержится несколько различных цинксодержащих белков, включая: α-лактальбуминь – главный белок сыворотки молока, который содержит большое количество цинка и играет важную роль в развитии и росте младенцев. β-лактоглобулин – другой белок сыворотки молока, содержащий цинк [16], важный минерал, кальций, который необходим для здоровья костей. Казеин: основные белки, образующие казеиновый комплекс молока, также содержат цинк в своей структуре. Церулоплазмин – это белок, который связывается с цинком и играет значительную роль в транспортировке металла через кровь. Супероксиддисмутаза – это фермент, который содержит цинк в своей структуре и играет существенную роль в защите организма от свободных радикалов.

Цинксодержащие белки, обнаруженные в молоке, играют важную роль в росте и развитии младенцев, а также в общем здоровье человека. Они участвуют в метаболизме железа, защите от свободных радикалов, обеспечивают нормальное функционирование многих ферментов и других биологических процессов.

Таким образом, указанные ММЭ (медь, железо, цинк), а также аскорбиновая кислота и церулоплазмин, представленные в молоке, могут взаимодействовать между собой. Исследования показывают, что аскорбиновая кислота может значительно увеличить всасывание цинка в организм, предотвращая его потерю через мочу и фекалии. Это связано с тем, что витамин С уменьшает окислительное воздействие на цинк, что приводит к его стабилизации и улучшению всасывания в кишечнике. Количество микроэлементов в молоке может быть связано с качеством корма и состоянием здоровья животных, а также с условиями их содержания. Однако уровень оксидоредуктаз в молоке может варьировать в зависимости от ряда факторов, таких как питание, физиологическое состояние, условия хранения молока и процесса его переработки. Например, церулоплазмин может связываться как с медью, так и с цинком и транспортировать их к тканям организма [9].

Цель работы – исследование образцов молока коров с разными сроками лактации на предмет активности факторов антиоксидантной защиты в течение ряда месяцев осеннего, зимнего и весеннего периодов.

Новизна исследований – попытка оценить вклад отдельных антиоксидантов в суммарную концентрацию водорастворимых антиоксидантов, рассмотрев количественные изменения в разные периоды лактации на примере ряда месяцев осеннего, зимнего и весеннего периодов.

Материал и методы. Для реализации данного исследования в условиях хозяйства «Ладожское» Краснодарского края был отобран 141 образец молока от «голштинизированных» коров черно-пестрой породы. В каждом из трех изученных месяцев (ноябрь, февраль, март) разных сезонов животные по срокам лактации были разделены на 4 группы: первая – 30-60 дней, вторая – 60-90 дней, третья – 90-180, четвертая – более 180, но менее 300 дней. Пробы молока содержали стабилизатор.

Измерение концентрации витамина С осуществляли титриметрическим методом. В качестве титранта использовали 0,001 н раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола. Пробоподготовку молока осуществляли путем получения сыворотки методом высаливания. К 12,5 мл молока добавляли 1 мл насыщенной щавелевой кислоты и 2,5 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Полученный осадок отделяли с помощью предварительно смоченной широкопористой фильтровальной бумаги. Полученный фильтрат титровали трехкратно, используя по 5 мл на образец до появления розовой окраски. Концентрацию аскорбиновой кислоты рассчитывали по формуле:

$$X = (0{,}088*A*V_{смеси}*1000) / V_{выт} * V_{пробы},$$

где X – искомая концентрация витамина, мг/л; 0,088 – масса витамина С, эквивалентная 1 мл 0,001 н раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола, мг; $V_{смеси}$ – объем фильтрата, кислоты и соли, мл; $V_{выт}$ – объем фильтрата; $V_{пробы}$ – объем фильтрата, пошедшего на одно титрование.

Пара-фенилендиамин-оксидазную активность церулоплазмина определяли по модифицированному методу Равина. Для этого к 3,2 мл 0,5 М натрий-ацетатного буферного раствора

с pH 5,5 добавляли 400 мкл 0,5%-го свежеприготовленного водного раствора солянокислого пара-фенилендиамина и 50 мкл гомогенного молока, перемешивали. Реакцию проводили в течение 60 минут в термостате при 37 °С, затем 60 минут пробы остывали в холодильнике при +4 °С. Реакцию останавливали 0,5%-ным раствором азида натрия (200 мкл). Контрольной пробой служила реакционная смесь, в которой вместо пара-фенилдиамина был добавлен аналогичный объем буферного раствора. После инкубации пробы центрифугировали при 12000 об/мин в течение 10 минут. Пробу для анализа отбирали с помощью медицинского шприца, чтобы не допустить смешивания с отделившимся жировым слоем. Прозрачную окрашенную пробу исследовали на спектрофотометре при 530 нм против контрольной. Полученный результат при умножении на 0,875 дает концентрацию ЦП, мг/мл.

Изучение активности каталазы. Каталазное число исследовали методом перманганатометрии. Для этого 400 мкл гомогенного молока разводили в 20-ти мл дистиллированной воды. Контрольную колбу с таким же содержимым доводили до кипения для инактивации фермента. После остывания (30 мин) в оба образца добавляли по 5 мл 0,3%-ной перекиси водорода. Перемешивали. Образцы помещали в термостат при 25 °С на 30 минут. После инкубации вносили по 1 мл 10%-ой серной кислоты для остановки реакции и закисления среды. Титровали раствором перманганата натрия (0,1 моль/л) до появления стабильного розового окрашивания.

Расчет проводили по формуле:

$$A_к = (V_k - V_o)*1,7 / m*t*0,034,$$

где V_k – объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование контрольной пробы, мл; V_o – объем раствора перманганата калия, пошедшего на титрование опытной пробы, мл; 1,7 – масса пероксида водорода, соответствующего 1 мл раствора перманганата калия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/л, мг; m – объем молока, мл; t – продолжительность инкубации молока с пероксидом водорода, мин; 0,034 – масса 1 мкМ пероксида водорода, мг.

Для исследования антиоксидантных свойств в молоке была определена суммарная концентрация водорастворимых антиоксидантов (СКВА) с использованием проточной инжекционной системы «Цвет-Яуза 01-АА» с амперометрическим детектированием окислительной способности растворов веществ. Определение СКВА выполнено по модифицированной методике[1]. Окисление биологических молекул разведенного в 20 раз молока происходит на поверхности рабочего стеклоуглеродного электрода при заданном потенциале (U = 1,3 В), фоновый ток не превышал 70 нА. Антиоксидантную активность вещества определяли по площади пика (нА*с). Для создания калибровочной кривой был взят диапазон измерений массовой концентрации галловой кислоты от 0,2 до 4 (мг/л). Показатель повторяемости (относительное среднеквадратичное отклонение повторяемости для площади пиков) был задан ≤ 5 % [17]. Определение микроэлементов проводили на атомно-адсорбционном спектрометре ZEEnit 650 P (Analytik Jena AG, Германия).

Для статистической обработки результатов использовали критерий Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Метод измерения суммарной концентрации водорастворимых антиоксидантов основан на определении силы электрического тока, возникающего в момент окисления молекул на поверхности рабочего электрода. Измеряется в относительных единицах массовой концентрации, эквивалентной общепринятому стандарту – галловой кислоте [18]. Этот показатель является интегральным и для полного понимания его значимости необходимо оценить вклад некоторых индивидуальных факторов антиоксидантной защиты молока. Поэтому в течение трех месяцев – ноября, февраля и марта мы проанализировали два металлсодержащих фермента и витамин С. Метаболические пути этих веществ в организме взаимосвязаны, что уже описано выше в литобзоре, однако открытым вопросом остается степень их взаимодействия в молоке. Кроме того, в дальнейшем нами было рассмотрено содержание в молоке микроэлементов, входящих в состав данных ферментов.

Рассмотрим содержание антиоксидантов в молоке коров на примере трех месяцев, относящихся к разным сезонам, начиная с ноября (табл. 1).

[1]Методика выполнения измерений содержания антиоксидантов в напитках и пищевых продуктах, биологически активных добавках, экстрактах лекарственных растений амперометрическим методом. ОАО НПО «Химавтоматика». М., 2007. С. 7-9.

Таблица 1 – **Показатели антиоксидантной системы молока коров в ноябре /**
Table 1 – **Indicators of the milk antioxidant system in November**

Группа / Group	*Период лактации / Lactation period*	*СКВА, мг-экв/л / TAWSA, mg-eq/l*	*ЦП, мг/мл / CP, mg/ml*	*Каталаза, ед / Catalase, unit*	*Витамин С, мг/л / Vitamin C, mg/l*
1	30-60 дней, n = 9 / 30-60 days, n = 9	17,08±0,91	0,465±0,152	2,24±0,76	6,97±1,23
2	60-90 дней, n = 7 / 60-90 days, n = 7	15,44±0,73*	0,480±0,167*	2,03±0,54*	5,65±0,97*
3	90-180 дней, n = 15 / 90-180 days, n = 15	14,56±0,68*	0,473±0,160	2,54±0,61	4,66±0,76
4	> 180 дней, n = 10 / > 180 days, n = 10	12,66±0,51*	0,823±0,198*	2,5±0,79	4,53±0,53*

*Различия достоверны по отношению к предыдущей группе при p<0,05 /
*The differences are significant in relation to the previous group at *p<0.05

В ноябре концентрация водорастворимых антиоксидантов в молоке достоверно (p < 0,05) уменьшилась с увеличением срока лактации. Разница между первой и четвертой группами составила 25,9 %. Синхронно со СКВА уменьшилась и концентрация витамина С в молоке на 35 %. Уровень церулоплазмина в молоке коров со сроком лактации 30-180 дней относительно стабилен и находился в диапазоне 0,465-0,480 мг/мл. Для группы коров с периодом лактации более 180 дней отмечалось повышение активности ЦП до 0,823 мг/мл, активность каталазы изменялась в диапазоне 20 %.

В феврале (табл. 2) мы наблюдали увеличение СКВА во второй (p < 0,05) и третьей группах относительно первой, однако коровы со сроком лактации более 180 дней в данном месяце равноценны по этому показателю первой группе. Стоит отметить, что увеличение СКВА сопровождалось также повышением количества ЦП и снижением каталазной активности молока (2-3 группа). Снижение показателя СКВА для первой группы сопровождалось относительно низким значением ЦП по отношению ко второй группе, но повышенной активностью каталазы.

Таблица 2 – **Показатели антиоксидантной системы молока коров в феврале /**
Table 2 – **Indicators of the milk antioxidant system in February**

Группа / Group	*Период лактации / Lactation period*	*СКВА, мг-экв/л / TAWSA, mg-eq/l*	*ЦП, мг/мл / CP, mg/ml*	*Каталаза, ед / Catalase, unit*	*Витамин С, мг/л / Vitamin C, mg/l*
1	30-60 дней, n = 9 / 30-60 days, n = 9	14,28±0,72	0,176±0,042	1,08±0,078	5,13±1,62
2	60-90 дней, n = 7 / 60-90 days, n = 7	17,41±0,87*	0,256±0,055*	0,68±0,034*	4,32±0,56*
3	90-180 дней, n = 15 / 90-180 days, n = 15	17,77±0,89	0,256±0,061	0,58±0,028	4,58±0,87
4	> 180 дней, n = 10 / > 180 days, n = 10	14,13±0,71*	0,242±0,048*	1,28±0,09*	4,53±0,20

*Различия достоверны по отношению к предыдущей группе при p<0,05 /
*The differences are significant in relation to the previous group at p<0.05

В марте (табл. 3), как и в ноябре, с увеличением лактационного периода отмечается достоверное (p<0,05) уменьшение значений СКВА. Наименьшее значение антиоксидантной активности у коров со сроком лактации более 180 дней – на 13,4 % ниже по отношению к первой группе. Аналогично происходит снижение витамина С. Каталаза и церулоплазмин незначительно изменяются, однако, как и в предыдущие месяцы, наибольшее значение ЦП отмечается у коров, лактирующих более 180 дней (23,3 % между первой и четвертой группами).

Таблица 3 – **Показатели антиоксидантной системы молока коров в марте /**
Table 3 – **Indicators of the milk antioxidant system in March**

Группа / Group	*Период лактации / Lactation period*	*СКВА, мг-экв/л / TAWSA, mg-eq/l*	*ЦП, мг/мл / CP, mg/ml*	*Каталаза, ед / Catalase, unit*	*Витамин С, мг/л / Vitamin C, mg/l*
1	30-60 дней, n = 9 / 30-60 days, n = 9	17,8±0,89	0,214±0,125	0,94±0,41	7,40±1,06
2	60-90 дней, n = 7 / 60-90 days, n = 7	16,3±0,82*	0,271±0,094*	0,90±0,52*	6,85±1,26*
3	90-180 дней, n = 15 / 90-180 days, n = 15	16,5±0,72*	0,279±0,038*	1,0±0,51	4,73±0,83*
4	> 180 дней, n = 10 / > 180 days, n = 10	15,4±0,69*	0,279±0,039*	0,92±0,47*	4,55±0,45

*Различия достоверны по отношению к предыдущей группе при p<0,05 /
*The differences are significant in relation to the previous group at p<0.05

Активность ферментативной защитной системы организма молочных животных варьируется от продуктивности, кормления, наличия сопутствующих заболеваний и других факторов, воздействующих на организм. Зачастую показатели СКВА и витамина С наиболее высоки для коров, лактирующих 1-2 месяца, поэтому проверен и сопоставлен микроэлементный состав молока (по показателям цинка, меди и железа) и изучаемые нами антиоксидантные показатели для ранних и поздних сроков лактации (менее 30 и более 30 дней). В январе численность групп составила 9 и 13 проб молока, взятых у коров, лактирующих менее 30 и более 30 дней соответственно, в феврале – 7 и 15, в марте 7 и 20.

В таблице 4 приведены микроэлементный состав молока и антиоксидантные показатели в разные месяцы лактации для 2 групп (менее 30 и более 30 дней, но не превышая 300-го дня).

Таблица 4 – **Содержание микроэлементов и антиоксидантов в молоке коров в разные периоды лактации /**
Table 4 – **The content of trace elements and antioxidants in the milk of cows in different periods of lactation**

Показатель / Indicator	*Январь / January*		*Февраль / February*		*Март / March*	
	< 30 дней / < 30 days	*> 30 дней / > 30 days*	*до 30 дней / < 30 days*	*> 30 дней / > 30 days*	*до 30 дней / < 30 days*	*> 30 дней / > 30 days*
Zn, мкг/л / Zn, mkg/l	5256±829	6357±1593*	6647±965	4623±697*	2610±580	2971±426
Cu, мкг/л / Cu, mkg/l	194±52	172±36	172±28	169±34	83±10	84±19
Fe, мкг/л / Fe, mkg/l	5087±543	5048±573	4667±265	5245±841	3750±382	4194±891*
СКВА мг-экв/л / TCWA mg-eq/l	16,61±3,51	15,12±1,67	10,12±2,86	13,89±5,89*	18,24±1,84	15,98±3,85*
КАТ, ед / KAT, unit	0,76±0,031	0,97±0,45*	1,08±0,78	0,76±0,41*	0,70±0,14	0,96±0,024*
ЦП, мг/мл / CP mg/ml	0,205±0,055	0,266±0,113*	0,176±0,042	0,235±0,059*	0,186±0,012	0,283±0,038*

*Различия достоверны по отношению к предыдущей группе (в рамках одного месяца) при p<0,05 / The differences are significant in relation to the previous group (within one month) at p<0.05

Железо в коровьем молоке присутствует в небольших количествах и является компонентом белка лактоферрина и каталазы, которые связаны с мембраной жировых шариков. В других исследованиях отмечались сезонные колебания микроэлементов, связанные с долгим хранением кормов в зимний период, в результате которого беднеет их микроэлементный состав [19]. В нашем случае отмечалось однозначное снижение показателей микроэлементов к марту. Интересно, что по литературным данным [19], содержание цинка в молоке в различные сроки лактационного периода также неодинаково – содержание цинка постепенно снижается и вновь несколько повышается к концу дойного периода. Эти данные подтверждают полученные нами результаты. Известно, что цинк способен замещать лабильные атомы меди в молекуле

ЦП [9], содержание которого, по нашим данным, повышается у коров после 180 дня лактации в диапазоне изученных месяцев.

Можно проследить синхронную динамику изменения количества цинка в молоке и каталазной активности в январе, феврале и марте. Активность каталазы в январе выше у группы животных более 30 дней лактации на 21,6 %, уровень цинка выше 17,4 %; в феврале, наоборот, уровень каталазы выше в первой группе на 29,6 %, а цинка – на 30,4 %, в марте активность каталазы в первой группе ниже на 26,3 %, а уровень цинка – на 10,6 %.

Заключение. В результате данного исследования были выявлены закономерности планомерного увеличения количества церулоплазмина в молоке коров с увеличением дней лактации в осенний, зимний и весенний периоды. Обнаружена обратная динамика для суммарной концентрации водорастворимых антиоксидантов, а также витамина С. Схожие динамики количественных колебаний найдены для каталазы и цинка. Обнаружены основные закономерности:

– количество церулоплазмина в молоке коров в ноябре в период раздоя выше, чем после 180-го дня лактации на 43,5 %, в феврале – на 27,3 %, а в марте – на 23,3 %.

– показатель «активность каталазы» в первой группе коров в ноябре выше, чем в четвертой – на 10,4 %, в феврале – на 15,6 %, в марте – на 2,1 %. Более высокая активность каталазы у коров в первой группе может быть связана с их более эффективным оксидативным обменом и обеспечением антиоксидантной защиты.

– содержание СКВА в молоке у коров первой группы в ноябре ниже, чем во второй на 25,88 %, в феврале – на 1,1 %, в марте – на 13,4 %. Это может указывать на различия в обмене ОАА между группами коров или в их протеиновом метаболизме.

– содержание витамина С в молоке коров первой группы в ноябре ниже, чем во второй на 35,0 %, в феврале – на 11,7 %, в марте – на 38,5 %. Это может указывать на недостаток витамина С в питании коров в первой группе или на усиленную потребность витамина С, вызванную определенными факторами окружающей среды или стрессом.

Полученные данные могут служить важными ориентирами при определении «референтных показателей» указанных выше антиоксидантов при анализе молока коров.

Список литературы

1. Добриян Е. И. Антиоксидантная система молока. Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2020;82(2):101-106. DOI: https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-2-101-106 EDN: APWYTU

2. Bradford B. J., Allen M. S. Negative energy balance increases periprandial ghrelin and growth hormone concentrations in lactating dairy cows. Domestic Animal Endocrinology. 2008;34(2):196-203. DOI: https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2007.02.002

3. Остренко К. С. Проблемы интенсификации животноводства и пути их решения. Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки: мат-лы V Междунар. научн.-практ. конф. Симферополь: ООО «Изд-во Типография «Ариал», 2020. С. 287-289. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=44115461 EDN: ORFIZX

4. Long J., Liu Y., Zhou X., He L. Dietary serine supplementation regulates selenoprotein transcription and selenoenzyme activity in pigs. Biological Trace Element Research. 2021;199:148-153. DOI: https://doi.org/10.1007/s12011-020-02117-8

5. Скрипниченко Г. Г., Добровольский Ю. Н., Добровольская Н. Е. Теоретические и практические аспекты генетического полиморфизма в молочном скотоводстве. Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2017;(1):64-70. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28356244 EDN: XWNNBR

6. Vorbach C., Harrison R., Capecchi M. R. Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. Trends in immunology. 2003;24(9):512-517. DOI: https://doi.org/10.1016/S1471-4906(03)00237-0

7. Погорелова Н. А., Высокогорский В. Е. Активность ферментов антиокислительной системы крови и молока коров при эндометрите. Вестник АПК Ставрополья. 2016;(4(24)):71-75. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/aktivnost-fermentov-antiokislitelnoy-sistemy-krovi-i-moloka-korov-pri-endometrite

8. Collins J. F., Prohaska J. R., Knutson M. D. Metabolic crossroads of iron and copper. Nutrition reviews. 2010;68(3):133-147. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00271.x

9. Puchkova L. V., Babich P. S., Zatulovskaia Y. A., Ilyechova E. Y., Di Sole F. Copper metabolism of newborns is adapted to milk ceruloplasmin as a nutritive source of copper: Overview of the current data. Nutrients. 2018;10(11):1591. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6266612/

10. Lindmark-Månsson H., Åkesson B. Antioxidative factors in milk. British Journal of Nutrition. 2000;84(S1):103-110. URL: https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/antioxidative-factors-in-milk/ED9FF93ADFC 95E48F36780EE602505B1

11. Вапиров В. В., Вапирова Н. В., Насонова С. П. Физико-химические свойства, биологическая роль и элементный статус по меди жителей северных регионов России. Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2018;(8(177)):101-104. Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/fiziko-himicheskie-svoystva-biologicheskaya-rol-i-elementnyy-status-po-medi-zhiteley-severnyh-regionov-rossii

12. Воронина О. А., Боголюбова Н. В., Зайцев С. Ю. Минеральные элементы в составе молока коров – мини-обзор. Сельскохозяйственная биология. 2022;57(4):681-693. DOI: https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.4.681rus EDN: BMBZXD

13. Пучкова Л. В., Алейникова Т. Д., Цымбаленко Н. В., Захарова Е. Т., Конопитцева Л. А., Чеботарь Н. А., Гайцхоки В. С. Биосинтез и секреция церулоплазмина клетками молочной железы в период лактации у крыс. Биохимия. 1994;59(2):296-303. Режим доступа: https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/1994/59-02-0296/

14. Белова С. В., Карякина Е. В. Церулоплазмин-структура, физико-химические и функциональные свойства. Успехи современной биологии. 2010;130(2):180-189. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=13917517 EDN: LSOMLD

15. Ващенко В. И., Ващенко Т. Н. Церулоплазмин от метаболита до лекарственного средства. Психофармакология и биологическая наркология. 2006;6(3):1254-1269.
Режим доступа: https://cyberleninka.ru/article/n/tseruloplazmin-ot-metabolita-do-lekarstvennogo-sredstva

16. Нотова С. В., Маршинская О. В., Казакова Т. В. Роль микроэлементов в антиоксидантной системе защиты организма. Животноводство и кормопроизводство. 2023;106(1):183-191.
DOI: https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-1-183 EDN: UGCKAO

17. Савина А. А., Воронина О. А., Боголюбова Н. В., Зайцев С. Ю. Амперометрическое детектирование антиоксидантной активности модельных и биологических жидкостей. Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2020;61(6):429-437. Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=43083726 EDN: GYQHRE

18. Тринеева О. В. Методы определения антиоксидантной активности объектов растительного и синтетического происхождения в фармации (обзор). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017;(4):180-197. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30611794 EDN: ZTWVEX

19. Кузнецова Т. В., Глебова И. В. Содержание и форма соединения микроэлементов в молоке и молочных продуктах. Научное обеспечение агропромышленного производства: мат-лы Междунар. научн.-практ. конф. Курск: Курская ГСХА имени И. И. Иванова, 2012. Т. Ч. 3. С. 76-79.
Режим доступа: https://elibrary.ru/item.asp?id=24372020 EDN: UNIQVV

References

1. Dobriyan E. I. Dairy antioxidant system. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologiy* = Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies. 2020;82(2):101-106. (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-2-101-106

2. Bradford B. J., Allen M. S. Negative energy balance increases periprandial ghrelin and growth hormone concentrations in lactating dairy cows. Domestic Animal Endocrinology. 2008;34(2):196-203.
DOI: https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2007.02.002

3. Ostrenko K. S. Problems of animal husbandry intensification and ways to solve them. Current state, problems and prospects for the development of agricultural science: materials of the V Intern. scientific-practical conf. Simferopol': *OOO «Izd-vo Tipografiya «Arial»*, 2020. pp. 287-289. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=44115461

4. Long J., Liu Y., Zhou X., He L. Dietary serine supplementation regulates selenoprotein transcription and selenoenzyme activity in pigs. Biological Trace Element Research. 2021;199:148-153.
DOI: https://doi.org/10.1007/s12011-020-02117-8

5. Skripnichenko G. G., Dobrovolskiy Yu. N., Dobrovolskaya N. E. Theoretical and practical aspects of genetic polymorphism in dairy cattle. *Veterinariya, zootekhniya i biotekhnologiya* = Veterinary Medicine, Zootechnics and Biotechnology. 2017;(1):64-70. (In Russ.). URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=28356244

6. Vorbach C., Harrison R., Capecchi M. R. Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. Trends in immunology. 2003;24(9):512-517. DOI: https://doi.org/10.1016/S1471-4906(03)00237-0

7. Pogorelova N. A., Vysokogorskiy V. E. The activity of enzymes of antioxidant system blood and milk of cows with endometritis. *Vestnik APK Stavropol'ya* = Agricultural Bulletin of Stavropol Region. 2016;(4(24)):71-75. (In Russ.). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/aktivnost-fermentov-antiokislitelnoy-sistemy-krovi-i-moloka-korov-pri-endometrite

8. Collins J. F., Prohaska J. R., Knutson M. D. Metabolic crossroads of iron and copper. Nutrition reviews. 2010;68(3):133-147. DOI: https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2010.00271.x

9. Puchkova L. V., Babich P. S., Zatulovskaia Y. A., Ilyechova E. Y., Di Sole F. Copper metabolism of newborns is adapted to milk ceruloplasmin as a nutritive source of copper: Overview of the current data. Nutrients. 2018;10(11):1591. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6266612/

10. Lindmark-Månsson H., Åkesson B. Antioxidative factors in milk. British Journal of Nutrition. 2000;84(S1):103-110. URL: https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/antioxidative-factors-in-milk/ED9FF93ADFC95E48F36780EE602505B1

11. Vapirov V. V., Vapirova N. V., Nasonova S. P. Review of physical and chemical properties, biological role and element status of copper in the inhabitants of Russia's northern regions. *Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta* = Proceedings of Petrozavodsk State University. 2018;(8(177)):101-104. (In Russ.).
URL: https://cyberleninka.ru/article/n/fiziko-himicheskie-svoystva-biologicheskaya-rol-i-elementnyy-status-po-medi-zhiteley-severnyh-regionov-rossii

12. Voronina O. A., Bogolyubova N. V., Zaitsev S. Y. Mineral composition of cow milk – a mini review. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya* = Agricultural Biology. 2022;57(4):681-693. (In Russ.).
DOI: https://doi.org/10.15389/agrobiology.2022.4.681rus

13. Puchkova L. V., Aleynikova T. D., Tsymbalenko N. V., Zakharova E. T., Konopittseva L. A., Chebotar' N. A., Gaytskhoki V. S. Biosynthesis and secretion of ceruloplasmin in mammary cells of lactating rats. *Biokhimiya*. 1994;59(2):296-303. (In Russ.). URL: https://biochemistrymoscow.com/ru/archive/1994/59-02-0296/

14. Belova S. V., Karyakina E. V. Ceruloplasmin, its structure and physicochemical and functional properties. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2010;130(2):180-189. (In Russ.). URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=13917517

15. Vashchenko V. I., Vashchenko T. N. Tseruloplazmin ot metabolita do lekarstvennogo sredstva. *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya* = Psychopharmacology & biological narcology. 2006;6(3):1254-1269. (In Russ.). URL: https://cyberleninka.ru/article/n/tseruloplazmin-ot-metabolita-do-lekarstvennogo-sredstva

16. Notova S. V., Marshinskaya O. V., Kazakova T. V. The role of trace elements in the antioxidant defense system of organism. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo* = Animal Husbandry and Fodder Production. 2023;106(1):183-191. (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.33284/2658-3135-106-1-183

17. Savina A. A., Voronina O. A., Bogolyubova N. V., Zaytsev S. Yu. Amperometric detection of antioxidant activity of model and biological fluids. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 2: Khimiya*. 2020;61(6):429-437. (In Russ.). URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=43083726

18. Trineeva O. V. Methods of determination of antioxidant activity of plant and synthetic origins in pharmacy (review). *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv* = Drug development & registration. 2017;(4):180-197. (In Russ.). URL: https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30611794

19. Kuznetsova T. V., Glebova I. V. Content and form of microelements in milk and dairy products. Scientific support of agro-industrial production: materials of the International. scientific-practical conf. Kursk: *Kurskaya GSKhA imeni I. I. Ivanova*, 2012. Vol. Part. 3. pp. 76-79. URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=24372020

Сведения об авторах

✉ **Савина Анастасия Анатольевна,** младший научный сотрудник отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», п. Дубровицы, д. 60, г. о. Подольск, Московская область, Российская Федерация, 142132,
e-mail: priemnaya-vij@mail.ru, **ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0257-1643**, e-mail: KiraBlackFire@mail.ru

Воронина Оксана Александровна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», п. Дубровицы, д. 60, г. о. Подольск, Московская область, Российская Федерация, 142132,
e-mail: priemnaya-vij@mail.ru, **ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6774-4288**

Зайцев Сергей Юрьевич, доктор хим. наук, доктор биол. наук, ведущий научный сотрудник отдела физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных, ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», п. Дубровицы, д. 60, г. о. Подольск, Московская область, Российская Федерация, 142132, e-mail: priemnaya-vij@mail.ru, **ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1533-8680**

Information about authors

✉ **Anastasia A. Savina**, junior researcher, the Department of Physiology and Biochemistry of Farm Animals, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, Russian Federation, 142132, e-mail: priemnaya-vij@mail.ru,
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0257-1643, e-mail: KiraBlackFire@mail.ru

Oksana A. Voronina, PhD in Biological Science, senior researcher, the Department of Physiology and Biochemistry of Farm Animals, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, Russian Federation, 142132, e-mail: priemnaya-vij@mail.ru,
ORCID: http://orcid.org/0000-0002-6774-4288

Sergey Yu. Zaitsev, DSc in Chemical Science, DSc in Biological Science, professor, leading researcher, the Department of Physiology and Biochemistry of Farm Animals, Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, Russian Federation, 142132,
e-mail: priemnaya-vij@mail.ru, **ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1533-8680**

✉ – Для контактов / Corresponding author