

УДК 636.39:577.1

БИОХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ МОЛОКА КОЗ РАЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, РАЗВОДИМЫХ В АРМЕНИИ

Г.Ю. МАРМАРЯН, Р.Г. КАМАЛЯН

(Национальный Аграрный Университет Армении)

Исследованы молочная продуктивность первой лактации и ряд показателей азотистого обмена 2-летних коз разных пород и их помесей в сыворотке молока. Результаты подтверждают высокую молочную продуктивность завезенных коз и помесей по сравнению с местными. Показана более высокая бактерицидная активность местных и помесных коз, а также более высокая интенсивность азотистого обмена в молочной железе помесных коз. Отсутствует корреляционная связь между молочной продуктивностью и показателями азотистого обмена молока коз.

Ключевые слова: помеси, мочевины, лизоцим, ксантинооксидаза, казеин.

Повышение молочной продуктивности сельскохозяйственных животных является насущной задачей животноводства, в связи с этим в Республике Армения в последнее десятилетие проведена большая селекционная работа по скрещиванию местных низкомолочных коз с высокомолочными породами, завезенными из США. Параллельно с селекционными работами проводили сравнительные исследования молочной продуктивности и биохимических показателей крови и молока разных пород и их помесей с целью выявления как их адаптивных свойств, так и корреляции изучаемых показателей с продуктивностью с учетом роли обмена веществ, в частности азотистого, в иммунитете и продуктивности сельскохозяйственных животных. Авторами был изучен ряд показателей азотистого обмена в молоке разных пород коз и их помесей, отражающих интенсивность метаболизма и роста животных. В качестве таковых были использованы активность наиболее распространенных трансаминаз (АСТ, АЛТ), содержание конечных продуктов (мочевина и креатинин) и одного из интегративных метаболитов азотистого обмена (глутамин). Последний является не только транспортером аммиака и глутамата из мышц, мозга и легких в печень, где они используются в синтезе мочевины и глюкозы, но и снабжает иммунные клетки равноценным с глюкозой энергетическим субстратом и служит донором аминных групп для синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов [10, 11]. Из показателей азотистого обмена, имеющих отношение к иммунитету, были изучены также содержание казеина, лактальбумина, лактглобулина, железа в лактоферрине, лизоцимная и ксантинооксидазная активности молока. Преследовалась цель обнаружения возможных межпородных различий отмеченных показателей и их корреляции с молочной продуктивностью коз. Подобная, нивелируемая с возрастом, корреляция отмечалась нами ранее в отношении содержания глутамина и активности аденозиндеаминазы в крови коз [1]. Оба показателя в какой-то мере характеризуют активность иммунной

системы организма [11]. Если глутамин используется в синтезе пуринов, то аденозиндезаминаза контролирует их уровень, убирая токсические концентрации аденозина и его производных (дезоксааденозин и др.) [9]. Аналогичную роль на конечных стадиях распада пуриновых оснований играет ксантиноксидаза, которая, генерируя мочевую кислоту, способствует антиоксидантной активности жидкостей и тканей организма, однако через активные формы кислорода может повреждать как чужие, так и свои молекулы. Лизоцимная активность крови является существенным показателем неспецифической антимикробной иммунной защиты организма [15]. Она значительно выше в женском, чем козьем, и тем более коровьем молоке [7]. О значении лизоцима как противоинфекционного фактора свидетельствуют также исследования по трансгенной модификации коровьего молока с целью повышения его лизоцимной активности, т.е. иммунного потенциала [5, 20].

Материал и методы исследований

Опыты проводили на козах фермы «АРИД» Ехегнадзорского района Республики Армения. В опытах использовали сыворотку молока разных пород 2-летних коз и их помесей 1-й лактации. Подопытные животные находились в одинаковых условиях кормления и содержания. Содержание коз — стационарно-выгульное. В течение лактационного периода кормовой рацион козوماتок состоял из клеверного сена — 2,5 кг и комбинированных кормов — 0,3 кг на 1 гол. в сут., что составляет 1,74 к. ед. Помеси F_2 , F_2 и F_3 были получены общепринятой методикой поглотительного скрещивания местных и завезенных чистопородных коз. Пробы молока брали у 4 животных каждой породы и их помесей, замораживали и перевозили в лабораторию, где выделяли сыворотки, в которых и определяли соответствующие показатели азотистого обмена.

Активность трансаминаз определяли спектрофотометрическими методами по измерению экстинкции NADH.

При определении активности АЛТ, образующийся при инкубации сыворотки с аланином и кетоглутаратом, пируват инкубировался с NADH и лактатдегидрогеназой в фосфатном буфере с регистрацией падения экстинкции NADH [16].

Аналогично регистрировалась активность АСТ после инкубации сыворотки с аспартатом и кетоглутаратом, однако для окисления образующегося оксалоацетата к инкубационной смеси, содержащей фосфатный буфер, добавляли два фермента, малат- и лактатдегидрогеназу [12].

Мочевину определяли по аммиаку, после расщепления уреазой [18]. Количество азота в пробе рассчитывали по стандартной кривой с кристаллическим аммонием сульфатом.

Креатинин определяли методом конечной точки по реакции Яффе [4], специфичность которой повышалась селективным разложением креатинина в кислой среде.

Содержание глутамина определяли микродиффузионным методом Зелигсона и Зелигсон [17] в модификации Силаковой и др. [3]. Метод заключается в раздельном и совместном определении содержания аммиачного и амидного азота и их разницы, представляющей собой амидный азот глутамина. Количество азота в пробе рассчитывали по стандартной кривой с кристаллическим аммонием сульфатом.

Для определения лизоцимной активности [15] использовали суспензии *Micrococcus lysodeikticus* в 0,05М фосфатносолевом буфере, pH 7,4. Измерение оптической плотности проводили при длине волны 450 нм.

Ксантиоксидазную активность определяли спектрофотометрическим методом по выходу мочевой кислоты согласно конечной точке. Использовали 0,05М фосфатный буфер pH 7,5, поглощение измеряли при 290 нм [19].

При определении количества железа в лактоферрине использовали о-фенантролин, оптическую плотность измеряли при длине волны 520 нм [13].

Выделение казеина и сывороточных белков [6] проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле с использованием ОДМ электродного буфера, pH 8,3. Окраску гелей проводили кумаси бриллиантовым синим G250.

Результаты подвергали статистической обработке с использованием компьютерной программы Graph. Pad [7].

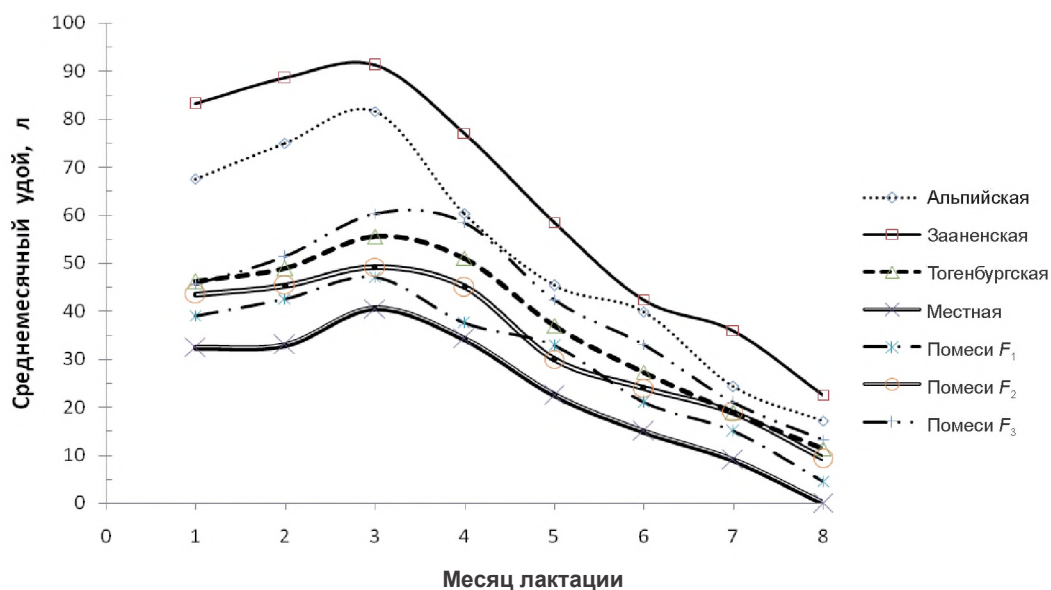
Результаты исследований и их обсуждение

В табл. 1 и на рисунке представлены данные о молочной продуктивности коз за 1-ю лактацию. Среднемесячные удои и удои за лактационный период значительно выше у завезенных коз в сравнении с местными. Пик удоев приходится на май, а минимум — на октябрь. У местной породы удои в октябре отсутствуют. Из завезенных коз наибольшей молочной продуктивностью отличается зааненская (499,2 л за лактацию), наименьшей — тогенбургская порода коз (296,1 л за лактацию). Помесные козы превосходят местных по продуктивности, причем помеси F_2 уступают тогенбургской породе всего на 30,9 л за лактацию, а F_3 примерно на столько же превосходят ее по этому показателю. Таким образом, в результате скрещивания завезенных коз с местной породой значительно улучшилась молочная продуктивность.

Т а б л и ц а 1

Среднесуточный удой коз за 1-ю лактацию (контрольная дойка, л)

Порода и породная группа	Март	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август	Сентябрь	Октябрь	За лактацию (245 дней)
Альпийская	2,25± 0,05	2,50± 0,05	2,70± 0,04	2,01 ± 0,03	1,51 ± 0,08	1,33± 0,05	0,81 ± 0,06	0,57± 0,05	411
Зааненская	2,77± 0,07	2,95± 0,06	3,00± 0,06	2,57± 0,07	1,95± 0,06	1,41 ± 0,05	1,25± 0,07	0,75± 0,06	499,2
Тогенбургская	1,54± 0,06	1,63± 0,07	1,85± 0,08	1,70± 0,10	1,23± 0,08	0,91 ± 0,07	0,63± 0,05	0,38± 0,03	296,1
Местная	1,08± 0,05	1,10± 0,05	1,35± 0,05	1,14± 0,07	0,75± 0,05	0,50± 0,04	0,30± 0,02	—	186,6
Помеси F_1	1,30± 0,17	1,42± 0,18	1,57± 0,19	1,25± 0,17	1,09± 0,17	0,70± 0,10	0,50± 0,07	0,15± 0,01	239,4
Помеси F_2	1,45± 0,09	1,51 ± 0,10	1,64± 0,09	1,50± 0,11	1,00± 0,10	0,80± 0,08	0,63± 0,05	0,31± 0,02	265,2
Помеси F_3	1,52± 0,04	1,71 ± 0,04	2,01 ± 0,04	1,95± 0,05	1,41 ± 0,03	1,10± 0,03	0,70± 0,02	0,44± 0,02	325,2



Среднемесячный удой чистопородных, местных и помесных коз за 1-ю лактацию

При определении биохимических показателей азотистого обмена, в определенной степени связанных с неспецифическим иммунитетом (табл. 2), были выявлены некоторые межпородные различия, не коррелирующие с молочной продуктивностью. Так, наибольшей лизоцимной активностью обладает молоко местной породы и помесей F_2 и F_3 . Кроме того, из завезенных коз наибольшей лизоцимной активностью отличается наиболее низкомолочная тоггенбургская порода, а наименьшей — высокомолочная зааненская. Аналогичное изменение отмечается и в со-

Таблица 2

Биохимические показатели молока коз за первую лактацию

Порода и породная группа	Лизоцимная активность, %	Казеин, г/л	Лактальбумин, г/л	Лактглобулин, г/л	Ксантинооксидаза, Е/мл	Fe ²⁺ лактоферрина, мг/мл
Альпийская	29,2±4,7	1,87±0,3	0,46±0,08	0,53±0,08	0,06±0,005	0,73±0,1
Зааненская	22,0±1,2	1,18±0,06	0,46±0,03	0,53±0,01	0,05±0,01	0,83±0,04
Тоггенбургская	32,3±0,8	1,82±0,01	0,44±0,03	0,55±0,03	0,04±0,004	0,68±0,01
Местная	37,0±1,6	2,74±0,2	0,44±0,01	0,55±0,01	0,05±0,008	0,77±0,1
Помеси F_1	29,8±2,2	1,31±0,1	0,12±0,01	0,21±0,01	0,06±0,004	0,47±0,035
Помеси F_2	37,8±4,6	2,6±0,3	0,43±0,02	0,58±0,004	0,07±0,007	0,60±0,065
Помеси F_3	34,5±2,9	2,77±0,2	0,40±0,02	0,59±0,02	0,05±0,01	0,51±0,12

держании казеина молока коз. В концентрации остальных изученных показателей (лактальбумин, лактглобулин, ксантиноксидаза и железо лактоферрина) существенных межпородистых различий, за исключением пониженного уровня лактальбумина, лактглобулина и железа лактоферрина, в молоке коз помесей F_1 не наблюдается. Следует отметить, что более высокое содержание лактоферрина в молоке местных и помесных коз свидетельствует о его более высокой противомикробной активности [5, 7, 20].

В сыворотке молока (табл. 3) отмечается достоверное повышение активности АСТ у коз местной породы и особенно помесей по сравнению с завезенными. Помеси, в свою очередь, превосходят по этому показателю местных коз в 2-3 раза. По активности АЛТ как завезенные, так и помесные козы превосходят местных. Наблюдается выраженная статистически значимая разница в уровне мочевины в сыворотке молока завезенных коз в сравнении с местными и помесными в пользу последних. Так, концентрация мочевины в сыворотке молока местных коз выше у альпийских, зааненских и тоггенбургских коз в 3,4; 1,9 и 2,2 раза соответственно. В содержании глутамина, снабжающего иммунные клетки веществом и энергией [10, 11], статистически значимой межпородистой разницы не отмечается, за исключением сыворотки молока у помесей F_3 , $0,42 \pm 0,02$ против $0,58 \pm 0,03$ ммоль/л у местных. Достоверное увеличение уровня креатинина происходит лишь в молоке помесных коз F_2 .

Т а б л и ц а 3

Показатели азотистого обмена в сыворотке молока разных пород коз и их помесей

Порода и породная группа	АСТ, Ед/мл	АЛТ, Ед/мл	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л	Глутамин, ммоль/л
Альпийская	$2,2 \pm 0,2^*$	$22,4 \pm 1,7^*$	$0,88 \pm 0,08^*$	$574,3 \pm 31,5$	$0,50 \pm 0,07$
Зааненская	$3,4 \pm 0,3^*$	$24,1 \pm 1,7^*$	$1,59 \pm 0,30^*$	$613,3 \pm 35,0$	$0,54 \pm 0,02$
Тоггенбургская	$3,8 \pm 0,4^*$	$19,8 \pm 2,1$	$1,35 \pm 0,5^*$	$515,0 \pm 60,1$	$0,49 \pm 0,01$
Местная	$6,0 \pm 0,7$	$15,5 \pm 1,7$	$3,00 \pm 0,30$	$635,0 \pm 27,4$	$0,58 \pm 0,03$
Помеси F_1	$14,8 \pm 1,6^*$	$29,1 \pm 3,2^*$	$3,35 \pm 0,45$	$539,5 \pm 38,6$	$0,53 \pm 0,02$
Помеси F_2	$20,0 \pm 2,3^*$	$19,4 \pm 1,6$	$2,80 \pm 0,20$	$801,0 \pm 30,6^*$	$0,55 \pm 0,02$
Помеси F_3	$18,1 \pm 2,1^*$	$25,9 \pm 1,1^*$	$2,57 \pm 0,15$	$684,7 \pm 40,4$	$0,42 \pm 0,02^*$

* $P < 0,095$.

Следует отметить, что в сыворотке крови наблюдается обратная картина в изменении содержания глутамина [2]. Наиболее низкое содержание этого важнейшего метаболита азотистого обмена отмечается в сыворотке крови местных коз ($0,38 \pm 0,04$ ммоль/л). Из завезенных коз достоверное различие в концентрации глутамина по сравнению с местными констатировалось у тоггенбургской породы ($0,55 \pm 0,05$ ммоль/л). Помесные козы разных поколений в 1,5-2,0 раза превосходили по этому показателю местных и завезенных. Если исходить из значения глутамина для пролиферации иммунных клеток, то это свидетельствует о более высоком иммунном потенциале помесных коз.

Заключение

Полученные результаты подтверждают более высокую молочную продуктивность завезенных коз и вместе с тем свидетельствуют об отсутствии корреляции между молочной продуктивностью и исследованными показателями азотистого обмена сыворотки молока местных, завезенных и помесных коз 2-летнего возраста 1-й лактации. Вместе с тем молоко местных и помесных коз отличается более высокой бактерицидной активностью, связанной с большим содержанием в них лизоцима и казеина. Повышенная активность АСТ и мочевины и тенденция к увеличению уровня креатинина в молоке местных и помесных коз говорит, скорее всего, о несколько большей интенсивности азотистого обмена в их молочной железе.

Библиографический список

1. *Мармарян Г.Ю., Камалян Р.Г.* Некоторые показатели азотистого обмена и иммунитета в сыворотке крови разводимых в Армении коз (сообщение первое) // Проблемы сельского хозяйства и экологии Закавказского региона: междунар. науч. конф. / Армянская с/х академия. 2001.4. 1. С. 224-227
2. *Мармарян Г.Ю., Камалян Р.Г., Арутюнян А.М., Мовсисян А.Л.* Генетическая изменчивость биохимических тестов в крови и молоке чистопородных и помесных коз разной генерации // Известия государственного аграрного университета Армении. 2011. N1. С. 92-95.
3. *Силакова А.П., Труш Г.П., Являкова А.* Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых трихлоруксусных экстрактах // Вопросы медицинской химии. 1962. № 5. С. 538-542.
4. *Biggs П., Cooper J.M.* Modified folin methods for the measurement of urinary creatine and creatinine // Clin. Chem. 1961. N 7. С. 655-664.
5. *Brundige D.R., Alaga E.A., Klasing K.C., Murray I.O.* Lysozyme transgenic goats milk influences gastro-intestinal morphology in young pigs // J. Nutrition. 2008. Vol. 138. P. 921-926.
6. *Deshmukh A.R., Donker J.D., Addis P.B., Jenness R.* Cellulose acetate and polyacrylamide gel electrophoresis for quantification of milk protein fractions // J.Dairy Sci. 1989. Vol. 72. P. 12-17.
7. *Dottier, Brundige R., Maga E.A., Klasing K.C., Murray J.D.* Lysozyme transgenic goats milk influences gastrointestinal morphology in young pigs // J. Nutrition. 2008. Vol. 138. N 5. P. 921-926.
8. Graph. Pad. Instat version 3.0 for Windows. Intuitive Software for Science. San Diego, USA. 1998-1999.
9. *Hirschhorn R.* Adenosine deaminase deficiency: molecular basis and recent developments // Clin. Immunol. Immunopathol. 1995. Vol. 76: P. 219-227.
10. *Hu W, Zhang C, Wu R, Sun Y, Levine A, Feng Z.* Stress in Sestrins take an aging fight // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. 20; 107 (16):7117-7118.
11. *Newsholme P., Lima M.M.R., Procopio J., Pithon-Curi T.C., Doi S.O., Bazotte R.B., Curi R.* Glutamine and glutamate as vital metabolites // Braz. J. Med. Biol. Res. 2003. Vol. 36(2). P. 153-163.
12. *Rosalki S.B., Wilkinson J.H.* Spectrophotometric method for AST activity determination // J.ClinPathol. 1960. № 12. P. 138-142.
13. *Scarlata R. W.* A micro method for determination of serum iron and binding capacity // J.Clin. Chem. 1962. Vol. 8. N 4. P. 360-369.
14. *Schack-Nielsen L, Michaelsen KF.* Advances in our understanding of the biology of human milk and its effects on the offspring // J. Nutr. 2007. Vol. 137. P. 503-510.
15. *Selested ME., Martinez R.J.* A simple and ultrasensitive enzymatic assay for the quantitative determination of lysozyme in the pictogram range // J. Animal Biochem. 1980. Vol. 109. P. 67-70.

16. Segal H.L., Beattie D.S., Hopper S. Determination of ALT activity // J. Biol. Chem. 1962. Vol. 237. P. 1914-1919.
17. Seligson I., Seligson H. Microdiffusion method for the determination of nitrogen liberated as ammonia // J. Lab. Clin. Med. 1951. Vol. 38. P. 324-330.
18. Tabacco A., Meattini F., Moda E., Tazli P. Simplified enzymic/colorimetric serum urea nitrogen determination // ClinChem. 1979. Vol. 25. P. 336-337.
19. Ila W.R. Rajagopalan K.V. Xanthine oxidase assay // J. Arch. Biochem. and Biophys. 1976. Vol. 172. P. 0365-379
20. Wolchover N. Cows make humanized milk. But is it safe? // Life's little Mysteries. 2011. Vol. 5. P. 21-26. URL: www.lifesttle mysteries.com.

MILK BIOCHEMICAL COMPOSITION OF GOATS DIFFERENT IN ORIGIN, BRED IN ARMENIA

G.JU. MARMARYAN, RG. KAMALYAN

(Armenian National Agrarian University)

The research has been carried out on milk productivity in the first lactation (period) as well as on a number of indices of nitrogen metabolism in the lacto serum of 2 year old goats of different breeds and of their crossbreeds. The results have proved a higher milk productivity of imported goats and their crossbreeds compared to the local ones. Also a higher bactericidal activity of both local and crossbreed goats has been revealed. Lastly, the intensity of nitrogen metabolism in the lactiferous gland of crossbreed goats has proved to be higher. No correlation has been observed between the milk productivity and the indices of nitrogen metabolism of the milk of goats.

Key words: crossbreed, urea, lysozyme, xanthine oxidase, casein.

Мармарян Гаяне Юрьевна — к. б. н., доцент кафедры биохимии Национального Аграрного Университета Армении (0009 Ереван, ул. Теряна, 74; e-mail: [info\(@\)anau.am](mailto:info(@)anau.am)).

Камалян Ромик Гургенович — д. б. н., проф. кафедры биохимии Национального Аграрного Университета Армении.