

*На правах рукописи*

**Подольникова Юлия Александровна**

**ОСОБЕННОСТИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО СТАТУСА МОЛОКА  
КОРОВ УРБАНИЗИРОВАННОЙ ТЕРРИТОРИИ  
(на примере Омской области)**

03.02.08 – экология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Омск - 2015

Работа выполнена на кафедре продуктов питания и пищевой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации

**Научный руководитель:** Заслуженный работник высшей школы РФ, доктор медицинских наук, профессор  
**Высокогорский Валерий Евгеньевич**

**Официальные оппоненты:** **Мамцев Александр Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (ПКУ)», филиал в г. Мелеузе, директор

**Макарова Янина Станиславовна**, кандидат биологических наук, ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, кафедра нормальной физиологии, ассистент

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный аграрный университет»

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 года в \_\_ час. \_\_ мин. на заседании диссертационного совета ДМ 212.177.05 при ФГБОУ ВПО «Омский государственный педагогический университет» Минобрнауки РФ по адресу: г. Омск, Набережная им. Тухачевского, д, 14.

Тел. (381-2)23-37-14, факс: (381-2)23-12-20, e-mail: kolpakova@omgru.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Омского государственного педагогического университета» Минобрнауки РФ по адресу: г. Омск, Набережная им. Тухачевского, д, 14 или на сайте <http://www.omgru.ru/zashchita-dissertaciy>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г  
и размещен на сайте ВАК Минобрнауки РФ [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru)

Ученый секретарь  
диссертационного совета

**Т.Ю. Колпакова**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность исследования** Ухудшение состояния окружающей среды является актуальной проблемой современности. Особенностью индустриально развитых городов является наличие крупных химических, промышленных и энергетических предприятий, а также интенсивное развитие транспортного хозяйства. Большие города являются мощными очагами деградации окружающей природной среды на расстоянии 40-50 км больше, чем их собственный радиус (Комарова Н. Г. Изменение городской среды в урбанизированном мире. Экологические проблемы промышленных городов : сб. науч. тр. по материалам 6-ой Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Саратов, 2013. Ч. 1. С. 64–67; Копылова Р. Т. Антропогенное загрязнение окружающей среды. Экологические проблемы промышленных городов : сб. науч. тр. по материалам 6-ой Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Саратов, 2013. Ч. 1. С. 67–69; Экология человека в системе современного научного знания и глобальные проблемы человечества. Н. А. Агаджанян [др.]. Вестн. Рос. ун-т дружбы народов. Сер. социология. 2002. №1. С. 74–94). Изменение окружающей среды больших городов отражается на состоянии здоровья населения, на состоянии флоры и фауны их пригородов.

Выбросы автотранспорта способны привести к понижению водорасстворимых антиоксидантов в растениях и деревьях (Реакция пигментной и антиоксидантной систем растений на загрязнение окружающей среды г. Калининграда выбросами автотранспорта. Г. Н. Чупахина [и др.] Вестн. Гос. ун-та. Сер. биология. 2012. №2(18). С. 171–185). Литературные данные об изменении антиоксидантного статуса растений под воздействием абиотических факторов урбанизированных территорий (Мурзаева С. В. Накопление тяжелых металлов и активность антиоксидантных ферментов в пшенице при воздействии сточных вод. Изв. Науч. центра Рос. акад. наук. – 2002. №2. Т.4. С.260 – 269) позволяют предположить нарушения про- и антиоксидантного баланса в организме крупного рогатого скота, в различных тканях животных. Соответственно, нельзя исключить, что воздействие антропогенных факторов сказывается на составных частях и физико-химических свойствах молока.

Молоко и молочные продукты являются неотъемлемым компонентом питания всех групп населения. Пищевая и биологическая ценность данного продукта обусловлена содержанием разнообразных незаменимых питательных компонентов, в том числе и антиоксидантов, а антиоксидантные свойства молока являются важным показателем полноценного питания. Следовательно, исследование интенсивности свободнорадикального повреждения компонентов молока, полученного в районах с разной степенью воздействия факторов урбанизации, является актуальным как для оценки экологического состояния региона, так и для характеристики молочных продуктов с определенными питательными свойствами.

**Степень разработанности темы исследования.** По данным хемилюминесцентного анализа выявлена различная степень подверженности свободнорадикальному окислению молочнокислых продуктов (Лазарева О.Н., Высокогорский В.Е., Воронова Т.Д. Интенсивность свободнорадикальных процессов молока и молочных продуктов по данным хемилюминесцентного анализа. Хранение и переработка сельхозсырья. 2010. №3. С.19–21)

Определены антиоксидантные свойства молочных продуктов в зависимости от технологического режима их производства (Высокогорский В.Е. Игнатъева Г.В. Антиоксидантные свойства творога. Молоч. пром-сть. 2012. №1. С. 74 –75; Высокогорский В. Е. Игнатъева Г.В. Хемилюминесцентный анализ пастеризованного молока. Пищевая пром-сть. 2012. №10. С. 34–35; Донская Г. А., Захарова Е. В. Антиоксидантные свойства молочной сыворотки. Молоч. пром-сть. 2010. №9. С. 72–73)

Содержание продуктов перекисидации липидов и антиокислительные свойства молока крупного рогатого скота отличаются в разных подзонах лесостепи и природно-климатических зонах Омской области (Высокогорский В. Е., Воронова Т. Д., Веселов П. В. Антиокислительные свойства молока в разных зонах Омской области. Молоч. пром-сть. 2009. №10. С.73–74; Игнатъева Г.В. Содержание липопероксидов натурального молока-сырья различных природно-климатических зон Омской области. Сборник тезисов «Молочная промышленность Сибири. VII Специализированный конгресс». Барнаул. 2012. С.77-79). Однако не установлена причина этих различий, отсутствуют сведения об особенностях показателей свободнорадикальных процессов молока южных (степных), северных (лесных) зон Омской области и пригородных территорий г. Омска, нет данных о состоянии окислительной модификации белков, антиокислительной активности молока урбанизированных территорий. В исследованиях Веселова П.В. (Высокогорский В. Е. Веселов П. В. Оценка антиокислительных свойств козьего и коровьего молока. Вопр. питания. 2010. Т 79, №1. С. 56–58) выявлено, что козье молоко в летний период обладает более низкими значениями хемилюминесценции по отношению к коровьему молоку. Однако важен вопрос об особенностях свободнорадикальных процессов в молоке коз разных пород, в частности швейцарской и зааненской пород, наиболее распространённых в Омской области.

#### **Цель исследования:**

Выявить особенности параметров свободнорадикального статуса молока крупного рогатого скота на урбанизированной территории.

#### **Задачи исследования:**

1. Изучить антиокислительную активность и интенсивность процессов перекисидации липидов молока коров из хозяйств, расположенных на различном расстоянии от промышленного центра.
2. Исследовать интенсивность окислительной модификации белков молока коров из хозяйств, расположенных на различном расстоянии от промышленного центра, в летний и зимний сезоны года.

3. Оценить действие урбанизации на активность ферментов антиоксидантной защиты и содержание сульфгидрильных групп молока коров из хозяйств, расположенных на различном расстоянии от промышленного центра, в летний и зимний сезоны года.

4. Сравнить интенсивность свободнорадикальных процессов молока разных подсемейств полорогих жвачных животных.

**Научная новизна работы.** Оригинальность настоящей работы состоит в том, что на основании исследований получены новые сведения о воздействии антропогенных факторов промышленного центра на интенсивность свободнорадикального окисления крупного рогатого скота.

Молоко, полученное из хозяйств пригородной зоны, обладает меньшей антиокислительной активностью и более высокой активностью процессов липопероксидации по отношению к северным и южным районам области, как в летний, так и зимний периоды года. Полученные результаты спонтанной и индуцированной окислительной модификации белков молока указывают на более интенсивное карбонилирование белков молока из пригорода Омска. Данный факт подтверждается снижением доступных сульфгидрильных групп различных фракциях молока, и нарушение активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы молока из хозяйств пригорода, что указывает на негативное воздействие урбанизированного региона на интенсивность свободнорадикальных процессов, вызывая снижение антиокислительных свойств молока.

Обнаружено, что в лесостепной зоне области молоко, полученное от коров черно-пестрой породы, обладает более высокой антиокислительной активностью, чем молоко коз зааненской и швейцарской пород. Липиды молока коров черно-пестрой породы наиболее подвержены процессам липопероксидации. Нейтральные липиды в молоке коз зааненской породы в летний период менее подвержены окислительной деструкции. Однако, в зимний период скорость процессов липопероксидации молока коз данной породы максимальна по отношению к остальным исследуемым образцам молока. Фосфолипиды молока коз швейцарской породы обладают меньшей способностью подвергаться процессам перекисного окисления липидов. Установлено, что белки козьего молока зааненской породы в зимний период менее подвержены окислительной модификации.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные в работе данные расширяют имеющиеся представления о воздействии факторов урбанизации на физико-химические свойства молока. Выявлены особенности и уточнены механизмы активации свободнорадикального окисления основных компонентов молока, полученного из разноудаленных от промышленного центра хозяйств. Определение продуктов спонтанной и индуцируемой окислительной модификации белков молока позволяет оценить как фактическую интенсивность свободнорадикального окисления, так и максимальную возможную способность белковых молекул подвергаться окислительной модификации под действием антропогенных факторов. Определяю-

щую роль в снижении антиокислительной активности молока играют нарушения активности антирадикальных ферментов и снижение содержания доступных тиоловых групп в различных фракциях молока.

Результаты исследования могут служить основой для разработки критериев воздействия антропогенных факторов на антиокислительную активность молока. Полученные данные могут быть использованы для оценки пищевой и биологической ценности молока и молочных продуктов.

**Методология и методы исследования.** Исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина.

Для достижения цели и решения поставленных задач использовались биофизические, биохимические и статистические методы исследования. Для определения значения воздействий факторов урбанизированной территории изучали натуральное молоко коров черно-пестрой породы из хозяйств пригорода Омска (10-20 км) и молоко из хозяйств, расположенных на расстоянии не менее 100-150 км от промышленного центра.

Выяснение фактора породы животных проводилось при сравнении показателей натурального молока коз швейцарской и зааненской пород.

Для оценки кислородзависимых процессов определялось содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов, уровень окислительной модификации белков, активность ферментов антиоксидантной защиты. Статистическая обработка полученных данных проводилась методами непараметрической статистики с использованием пакетов прикладных программ Statistica 6.0.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. Молоко из хозяйств пригородной зоны обладает сниженной антиокислительной активностью и повышенной интенсивностью процессов липопероксидации в сравнении с молоком более отдаленных от промышленного центра районов области.

2. Содержание продуктов металлкаatalизированной окислительной модификации белков молока из пригородной зоны выше относительно молока северных и южных территорий Омской области, как в летний, так и зимний период года.

3. Показатели свободнорадикального окисления молока отличаются у коз зааненской и швейцарской пород.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации доложены на VII Международной научно-практической конференции: «Технология и продукты здорового питания» (Саратов, 2013); на V Всероссийской научно-технической конференции с международным участием: «Россия молодая: передовые технологии в промышленность!» (Омск, 12-14 ноября 2013); на городской межвузовской научной конференции: «Свободнорадикальные повреждения тканей и продуктов питания»; на Международной научно-технической конференции молодых ученых, посвященной 95-летию ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина: «Современный взгляд на производство

продуктов здорового питания» (Омск 2014); на Десятой юбилейной международной конференции: «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» (Пицунда, Абхазия, 2014).

**Публикации.** По теме диссертации опубликованы 9 научных работ из них 3 статьи в изданиях, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации диссертационных материалов.

**Объем и структура диссертации.** Результаты изложены на 142 странице, содержит 29 таблиц и 9 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, результатов исследования, заключения и библиографического списка, включающего в себя 251 источников литературы, 102 из них на русском языке и 149 иностранных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальные исследования проводились в лаборатории кафедры продуктов питания и пищевой биотехнологии ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина. В качестве объектов исследования выбрано сырое натуральное молоко, нормализованное по массовой доле жира до 2,5%.

С целью выяснения роли климатических факторов исследовали натуральное молоко коров черно-пестрой породы, полученное от коров в лесной, степной и лесостепной зон Омской области в разные периоды года: летний (июль - август) и зимний (конец января - февраль).

Проведено сравнение показателей натурального молока коров из хозяйств пригорода Омска (10-20 км, Омский район, лесостепная зона) и молока из хозяйств, расположенных на расстоянии не менее 100-150 км к югу (Русско-Поляский и Павлоградский районы) и северу (Седельниковский и Большереченский районы) от промышленного центра. Исследованы показатели натурального молока коз швейцарской и зааненской пород.

В качестве характеристик свободнорадикальных процессов определены параметры кривой  $Fe^{2+}$  - индуцированной люминолзависимой хемилюминесценции (светосумма, спонтанная светимость, амплитуда быстрой и медленной вспышки) с помощью хемилюминомера ХЛ-003 (Веселов П.В. Характеристика антиоксидантных свойств молока из разных эколого-географических подзон лесостепи Омской области : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.08 / Веселов Павел Владимирович. – Омск, 2010. – 24 с.; Владимиров Ю. А. Активированная хемилюминесценция и биолюминесценция как инструмент в медико-биологических исследованиях. Сорос. образоват. журн. 2001. Т.7. №1 С. 16–20; Хемилюминесцентные методы оценки функционального состояния животных: Методические рекомендации. М.: Издательская группа «БДЦ - пресс», 2005). Интенсивность антиокислительной активности исследуемых проб молока оценивали по способности угнетать хемилюминесценцию *in vitro* модельной системы из липопротеинов куриного желтка по

Г.К. Клебанову (Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. Оценка антиокислительных свойств плазмы крови с применением желточных липопротеидов. Лаб. дело. 1988. №5)

Содержание первичных, вторичных и конечных продуктов перекисидации липидов определяли с помощью экстракционно-спектрометрического метода с раздельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах липидного экстракта молока и выражали в единицах индекса окисления  $E_{232}/E_{220}$  - первичные,  $E_{278}/E_{220}$  - вторичные,  $E_{400}/E_{220}$  - конечные (Волчегорский И. А., Налимов А. Г., Яровинский Б. Г. Сопоставление подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. *Вопр. мед. химии.* 1989. №1. С. 127–131; Львовская Е. И., Волчегорский И. А., Шемяков С. Е. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов. *Вопр. мед. химии.* 1991. №4. С. 92–93).

Относительное содержание шиффовых оснований определяли в соответствии с рекомендациями (Львовская Е. И., Волчегорский И. А., Шемяков С. Е. Спектрофотометрическое определение конечных продуктов перекисного окисления липидов. *Вопр. мед. химии.* 1991. №4. С. 92–93).

Уровень спонтанной окислительной модификации белков (ОМБ) определяли методом, основанным на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином. Оценку металлкатализированного окисления белков молока проводили по содержанию карбонилированных белков при индуцировании свободнорадикального окисления системой  $Fe^{2+}/H_2O_2$ . Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали спектрофотометрически при следующих длинах волн: 274, 356, 370, 430 и 530 нм (Дубинина Е. Е., Бурмистров С. О., Ходов Д. А. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения. *Вопр. медицин. химии.* 1995. № 1. С. 24–26).

Определение доступных сульфгидрильных групп молока, сыворотки и свободных доступных сульфгидрильных групп, основано на их взаимодействии с 5,5'-дителиобис-2-нитробензойной кислотой (ДТНБ) (Современные методы в биохимии. Под редакцией академика АМН СССР Ореховича В. Н.- М.: Медицина.- 1977.- 391с)

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) в молоке животных и активность глутатионпероксидазы (ГПО) проведены на биохимическом анализаторе «ScreenMaster» производства фирмы «Hospitex» с использованием тест-систем «RANDOX» (Великобритания).

Проверка на соответствие выборок нормальному закону распределения проводилась по критерию Шапиро—Уилки (Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных: применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: Медиа Сфера, 2006. 312с). Выборки не подчинялись нормальному закону распределения, поэтому значимость различий выборок оценивали с помощью непараметрического критерия Манна—Уитни (U) и полученные результаты представлены в таблицах в виде медианы  $Me$ , верхнего



и нижнего квартилей  $Q_1—Q_3$ . Проверка статистических гипотез проводилась при критическом уровне значимости  $p=0,05$ .

### Результаты собственных исследований

#### Антиокислительная активность молока крупного рогатого скота

Для определения влияния факторов урбанизации нами исследованы пробы молока, полученного зимой от коров в пригородной зоне - 10-20 километров от города Омска и на удалении не менее 100-150 километров к северу и югу от промышленного центра.

Интегративным показателем антиокислительной способности является изменение светосуммы хемиллюминесценции при добавлении исследуемого молока к модельной системе, полученной из липопротеинов куриного желтка.

В таблице 1 приведены показатели антиокислительной активности в % снижения значений светосуммы хемиллюминесценции при добавлении исследуемого молока, принимая за 100% данные модельной системы.

Таблица 1

#### Антиокислительная активность молока, Me ( $Q_1$ ; $Q_3$ )

Показатель	Северные районы (n=7)	Южные районы (n=9)	Пригород Омска (n=9)
Снижение светосуммы в %	70,44 (67,20; 75,31)	72,61 (64,17; 77,36)	63,92 <sup>*x</sup> (51,65;64,4)

Примечание. \* - статистически значимые отличия от северных районов,  $P<0,05$ , <sup>x</sup> - статистически значимые отличия от южных районов,  $P<0,05$

Полученные результаты свидетельствуют о том, что антиокислительная активность молока-сырья полученного на различном расстоянии от города имеет некоторые отличия. Если между показателями антиокислительной активности молока коров северных и южных районов области не выявлено существенных различий, то в молоке, полученном из хозяйств пригородной зоны, она ниже на 12% ( $P=0,04$ ) и 9% ( $P=0,02$ ), чем из южных и северных районов соответственно.

#### Процессы липопероксидации молока крупного рогатого скота хозяйств, расположенных на различном расстоянии от промышленного центра

Содержание первичных продуктов липопероксидации (диеновых конъюгатов), как в гептановой, так и в изопропанольной фазе липидного экстракта молока коров существенно не отличалось в различных районах Омской области. Не обнаружено существенных отличий в содержании вторичных продуктов пероксидации липидов (кетодиенов и сопряженных триенов) в гептановой фазе молока различных районов (табл. 2). Содержание конеч-

ных продуктов перекисидации липидов оснований Шиффа в гептановой фазе липидного экстракта в пригороде Омска выше по сравнению с южными районами области. Повышение уровня конечных продуктов перекисидации липидов гептановой фазе липидного экстракта свидетельствует о более интенсивно нарушении нативной структуры нейтральных липидов в молоке пригородной зоны Омска по отношению к южным районам области.

Таблица 2

Относительное содержание продуктов липоперекисидации в гептановой и изопропанольной фазе липидного экстракта в зимний период года,  
Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>)

Показатель Районы исследования	Диеновые конъюгаты	Кетодиены и сопряженные триены	Шиффовые основания
	Гептановая фаза е.о.и.		
Северные n=10	0,94 (0,88;0,95)	0,08 (0,07; 0,09)	0,006 (0,003;0,008)
Южные n=12	1,00 (0,94;1,00)	0,10 (0,08;0,10)	0,005 (0,003;0,006)
Пригород Омска n=10	1,00 (0,94; 1,13)	0,07 (0,06;0,09)	0,008 <sup>x</sup> (0,007;0,010)
	Изопропанольная фаза е.о.и.		
Северные n=10	0,77 (0,59;0,77)	0,37 (0,34;0,50)	0,008 (0,007;0,011)
Южные n=12	0,54 (0,47; 0,72)	0,45 (0,42;0,60)	0,007 (0,006;0,010)
Пригород Омска n=10	0,76 (0,67;0,81)	0,49* (0,47;0,57)	0,025* <sup>xx</sup> (0,015;0,033)

Примечание. \* - статистически значимые отличия от северных районов, P<0,05; <sup>x</sup> - статистически значимые отличия от южных районов, P<0,05; <sup>xx</sup> - статистически значимые отличия от южных районов, P<0,001;

В изопропанольной фазе липидного экстракта молока в зимний период года наблюдались значительные различия содержания вторичных и конечных продуктов липоперекисидации. Уровень кетодиенов и сопряженных триенов молока из пригородной зоны выше, северных районов Омской области. Существенное повышение зарегистрировано оснований Шиффа в молоке пригорода при сравнении, как с северными, так и южными районами.

Увеличение уровня конечных продуктов липоперекисидации молока, полученного в пригородной зоне города по отношению к другим районам области как в гептановой, так и изопропанольной фазах липидного экстракта свидетельствует о более интенсивном течении перекисного окисления липидов молока в этом районе в зимний период года.

В летний период, наблюдались существенное повышение кетодиенов и сопряженных триенов гептановой фазе липидного экстракта по отношению к северным и южным районам области соответственно. Выявлено повышение уровня диеновых конъюгатов в данной фазе липидного экстракта в пригороде по сравнению с северными районами области.

Увеличивалось содержание диеновых конъюгатов в изопропанольной фазе липидного экстракта в молоке северных районных по отношению к пригороду. Однако уровень вторичных продуктов липопероксидации молока, полученного от хозяйств пригорода Омска, на 20% ( $P=0,010$ ) и 34% ( $P=0,047$ ) выше по сравнению с молоком из южных и северных районов области. Данный факт также свидетельствует о более интенсивном окислении фосфолипидов молока полученного в пригороде Омска в летний период года.

Отсутствие значимых изменений содержания оснований Шиффа гептановой и изопропанольной фазе липидного экстракта в летний период года, возможно, объясняется более богатым антиоксидантами рационом кормления животных в данный период.

Существенных различий продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) между северными и южными районами, как в зимний, так и летний период года выявлено не было. Возможно, это обусловлено удаленностью от промышленного центра и как следствие меньшим поступлением из внешней среды прооксидантов антропогенного характера (Влияние окислительного стресса на распространенность гиперхолестеринемий в условиях промышленного города. Боев В. М. [и др.]. Гигиена и санитария. 2007. №1. С. 21–25).

Полученные данные о содержании продуктов перексидации липидов в молоке, полученном от разноудаленных от промышленного центра хозяйств, позволяют выделить хозяйства пригорода на расстоянии 10-20 км от города, как зону с наиболее интенсивным перекисным окислением липидов молока.

### **Интенсивность окислительной модификации белков и активность ферментов антиокислительной защиты молока крупного рогатого скота**

Свободнорадикальному окислению способны подвергаться не только липиды, но и белки. С целью определения степени воздействия антропогенных факторов на окислительные процессы молока нами определены показатели спонтанной и металлкатализируемой ОМБ спектрофотометрическим методом.

В отличие от показателей процессов перексидации липидов уровень маркеров окислительной деструкции белка имеет более выраженные отличия в различных районах Омской области.

Уровень спонтанной ОМБ в молоке, полученном от молочных хозяйств пригорода Омска, в летний период, выражается в повышении в сравнении с показателями северных и южных районов области на 15,6 % ( $P=0,01$ ) и 16 % ( $P=0,02$ ) содержания альдегид-динитрофенилгидразонов (274 нм), которые являются ранними маркерами окислительной деструкции белков по данным Иванова В.В. с соавторами (Влияние аллоксана на систему глутатиона и окислительную модификацию белков в адипоцитах при экспериментальном

диабете. В. В. Иванов [и др.] Бюл. сиб. медицины. 2011. №3). Выше и уровень кетон-динитрофенилгидразонов основного характера на 36,4 % ( $P=0,02$ ) и 42,4 % ( $P=0,003$ ) относительно молока из хозяйств северных и южных районов области, соответственно.

Таблица 3  
Содержание металлкаatalизированных карбонильных производных белков молока в летний период года, Me ( $Q_1$ ;  $Q_3$ )

Длина волны	Районы исследования		
	Северные n=10	Южные n=12	Пригород Омска n=10
	<b>Индукцируемая окислительная модификация белков (е.о.п. на 1 мл молока)</b>		
274 нм ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	6,98 (6,91; 7,45)	5,03 <sup>**</sup> (4,56; 5,60)	8,18 <sup>**x</sup> (7,80; 9,80)
356 нм ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	6,30 (4,65; 7,83)	4,84 (4,50; 5,37)	7,86 <sup>x</sup> (7,59; 8,47)
370 нм ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	6,55 (5,04; 7,83)	4,83 (4,38; 5,58)	8,08 <sup>x</sup> (7,14; 8,95)
430 нм ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	3,76 (3,00; 4,62)	3,76 (2,85; 4,52)	5,23 <sup>*x</sup> (4,55; 5,66)
530 нм ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	0,25 (0,21; 0,42)	0,48 <sup>*</sup> (0,40; 0,51)	0,59 <sup>*</sup> (0,39; 0,63)

Примечание: \* - статистически значимые различия от северных районов,  $P<0,05$ ; <sup>x</sup> - статистически значимые различия от южных районов,  $P<0,05$ ; <sup>xx</sup> - статистически значимые различия от южных районов,  $P<0,001$ ;

Аналогично увеличению продуктов спонтанной ОМБ в пригороде, наблюдается повышение ее металлкаatalизированных показателей (таблица 3), как ранних маркеров окислительной деструкции белков (274 нм) относительно северных и южных районов области, так и более поздних альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера относительно южных районов. В пригороде Омска выявлено значительное повышение и кетон-динитрофенилгидразонов нейтрального характера на 40% ( $P=0,002$ ) по отношению к южным районам, альдегид-динитрофенилгидразонов основного характера на 30 % ( $P=0,030$ ) и 47% ( $P=0,001$ ) относительно северных и южных районов области, а также кетон-динитрофенилгидразонов основного характера на 58% ( $P=0,007$ ) относительно северных районов области. Повышение содержания продуктов стимулированной окислительной деструкции белков молока коров из хозяйств, находящихся в непосредственной близости от промышленного центра, свидетельствует о большей интенсивности свободнорадикальных процессов в данном районе.

Так как в антиокислительной защите важную роль играет тиол-дисульфидная система, то для выяснения роли этой системы в окислительной

модификации белков молока, определяли содержание доступных сульфгидрильных групп в различных фракциях молока вышеуказанных зон.

В летний период выявлено снижение уровня доступных сульфгидрильных групп в молочной сыворотке хозяйств пригорода на 32% ( $P < 0,001$ ) и 33% ( $P < 0,001$ ) по сравнению с южными и северными районами соответственно (рис. 1).

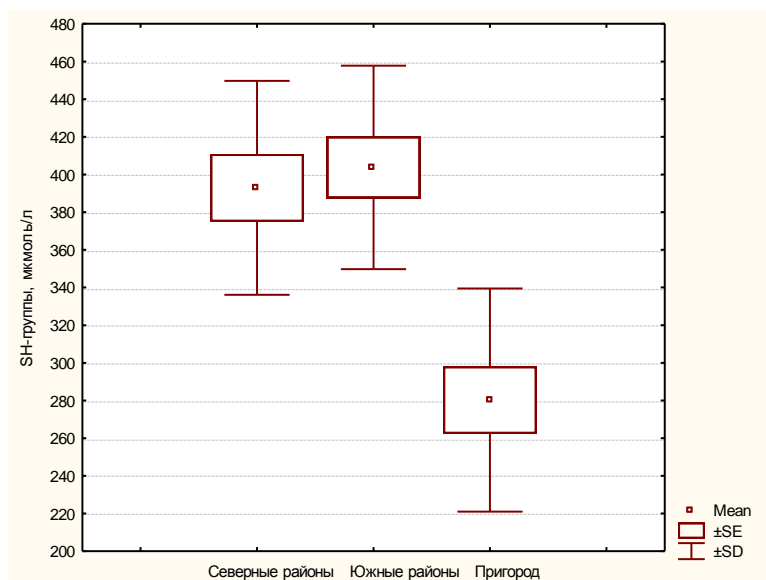


Рис. 1. Содержание доступных сульфгидрильных групп в сыворотке разных районов Омской области (мкмоль/л)

Снижено содержание свободных доступных тиоловых групп и в безбелковом надосадке молока хозяйств пригорода Омска на 12,1% ( $P = 0,005$ ) и 12,4% ( $P = 0,017$ ) по сравнению с вышеуказанными районами (рис. 2).

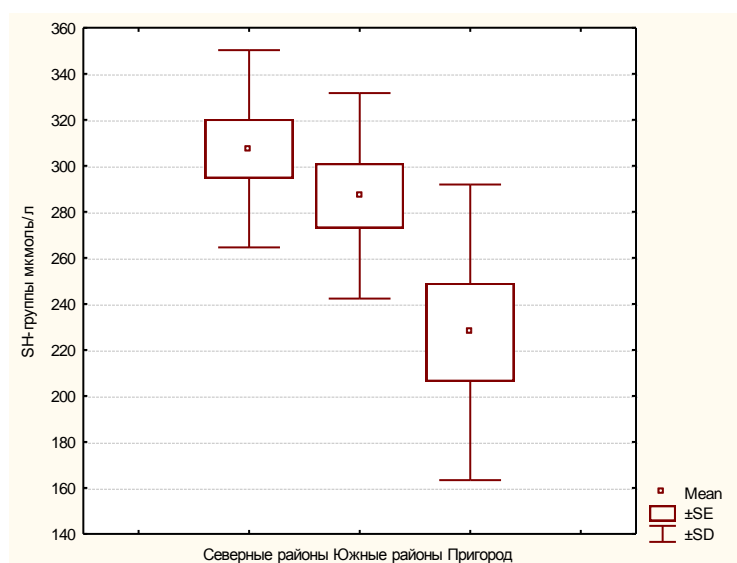


Рис. 2 Содержание доступных сульфгидрильных групп безбелковом надосадке молока разных районов Омской области (мкмоль/л)

Полученные данные указывают на значительное снижение тиоловых групп, важнейшего компонента антиокислительной защиты молока пригорода промышленного центра по отношению к северным и южным районам области.

Молоко, полученное в пригороде, характеризуется также снижением активности СОД в летний период на 17% ( $P=0,035$ ) и 32,5% ( $P<0,001$ ) относительно молока из хозяйств северных и южных районов области. В южных районах активность СОД на 19% ( $P=0,018$ ) выше по отношению к показателям молока северных районов. Статистически значимых различий между показателями активности ГПО не обнаружено.

В зимний период активность СОД в молоке пригорода и южных районов на 44% ( $P<0,001$ ) и 43% ( $P=0,025$ ) выше относительно северных районов, а активность глутатионпероксидазы молока хозяйств пригорода на 41% ( $P=0,004$ ) и 47% ( $P<0,001$ ) ниже относительно южных и северных районов области. Это может отражать более интенсивные проявления окислительного стресса у животных из пригородной зоны Омска в зимний период года, когда корм содержит меньше антиоксидантов.

### **Сравнение интенсивности свободнорадикальных процессов в молоке коз швейцарской и зааненской пород**

Учитывая различия в структуре и составе молочного жира коровьего и козьего молока и сезонные изменения его жирокислотного состава, вызывает интерес, насколько липиды данных видов молока способны подвергаться процессам липопероксидации. Для этого определены первичные (диеновые конъюгаты) вторичные (кетодиены и сопряженные триены) и конечные (основания Шиффа) продукты пероксидации липидов в молоке коров черно-пестрой породы и коз швейцарской и зааненской пород в летний и зимний периоды года.

Определение продуктов перекисного окисления липидов в зимний период показало, что содержание первичных и вторичных продуктов липопероксидации в гептановой липидного экстракта молока коз швейцарской и зааненской пород существенно не отличается от показателей коровьего молока.

Результаты определения конечных продуктов липопероксидации в гептановой фазе липидного экстракта свидетельствуют о некотором увеличении шиффовых оснований молока коз зааненской породы по сравнению молоком коров черно-пестрой и коз швейцарской породы, что свидетельствует о более интенсивном окислении нейтральных липидов в молоке коз зааненской породы. При этом содержание шиффовых оснований в изопропанольной фазе не имеет существенных отличий в молоке исследуемых животных.

Данные полученные в летний период свидетельствуют о снижении уровня вторичных продуктов пероксидации липидов молока коз зааненской породы в гептановой фазе на 36% ( $P=0,030$ ) и на 40% ( $P=0,043$ ) по отношению к молоку коз швейцарской и молоку коров черно-пестрой породы. Это свидетельствует о меньшей интенсивности окисления нейтральных липидов в молоке коз зааненской породы в летний период. Значительных изменений

первичных и конечных продуктов в гептановой, так и изопропанольной фазе липидного экстракта не выявлено.

Полученные результаты свидетельствуют, о различной интенсивности процессов перекисидации липидов молока исследуемых пород животных. Нейтральные липиды в молоке коз зааненской породы в летний период менее подвержены окислительной деструкции. Тем не менее, в зимний период скорость процессов липоперекисидации молока коз данной породы максимальна по отношению к остальным исследуемым образцам молока.

Определение продуктов окислительной модификации белков исследуемых образцов молока, в зимний период (таблица 4), выявило значительное снижение содержания карбонильных производных в молоке коз зааненской породы на 20% ( $P=0,03$ ) и на 31% ( $P=0,05$ ) относительно молока коров черно-пестрой породы и коз швейцарской породы.

Таблица 4

Содержание продуктов ОМБ и доступных сульфгидрильных групп белков молока, Me ( $Q_1$ ;  $Q_3$ )

Показатель	Молоко коров черно-пестрой породы n=10	Молоко коз швейцарской породы n=10	Молоко коз зааненской породы n=10
	<b>Зимний период</b>		
ОМБ е.о.п./мл (370 нм)	4,6 (1,1; 6,0)	2,6 (1,6; 4,0)	1,4 (0,95; 1,5)* <sup>x</sup>
SH группы бел- ков молока (ммоль/л)	0,508 (0,392;0,614)	0,504 (0,255;0,683)	0,748* <sup>x</sup> (0,608; 0,931)

Примечание: \* - статистически значимые различия от молока коров черно-пестрой породы,  $P<0,05$ ; <sup>x</sup> - статистически значимые различия от молока коз швейцарской породы,  $P<0,05$ ;

Полученные данные о содержании доступных сульфгидрильных групп, свидетельствуют о том, что в молоке коз зааненской породы содержится на 26% ( $P=0,035$ ) выше по отношению к молоку коров черно-пестрой породы. Наименьшее количество доступных SH-групп содержится в белках молока коров черно-пестрой породы.

Наибольшее количество сульфгидрильных групп содержится в белках молока коз зааненской породы; их количество на 30,7% больше ( $P=0,01$ ), чем в коровьем молоке и на 20,5% ( $P=0,04$ ) больше, чем в козьем швейцарской породы. Увеличение содержания тиоловых групп в козьем молоке, может быть обусловлено различным количественным содержанием белков молока и особенностями их фракционного состава. Возможно, что в козьем молоке Зааненской породы содержится больше  $\alpha_{s2}$  – казеина и  $\kappa$ -казеина, которые содержат SH-группы цистеина (Горбатова К. К. Химия и физика молока.

СПб.: ГИОРД, 2003. 288 с.; Твердохлеб Г. В. Раманаускас Р. И. Химия и физика молока и молочных продуктов. М. Дели принт, 2006. 360с). Повышенное содержание тиоловых групп в белках молока коз зааненской породы объясняет минимальную степень окислительной деструкции белков молока коз данной породы.

Уровень доступных сульфгидрильных групп в сыворотке козьего молока зааненской породы на 32,2% ниже ( $P=0,04$ ) по сравнению с сывороткой коровьего молока. Так как содержание доступных сульфгидрильных групп в сыворотке молока коз швейцарской и зааненской пород достоверно не отличаются ( $P=0,841$ ), можно предположить, что фракционный состав сывороточных белков молока коз данных пород относительно одинаков. Установлено снижение доступных тиоловых групп в безбелковой надсадке молока коров черно-пестрой породы на 26% и на 41% по сравнению с молоком коз зааненской и швейцарской пород.

В зимний период установлено повышение свободных тиоловых групп в козьем молоке в сравнении с коровьим, что может быть обусловлено увеличенным содержанием свободных серосодержащих аминокислот и пептидов - глутатиона. Содержание сульфгидрильных групп в молоке коз швейцарской породы больше в свободной форме, а в молоке коз зааненской породы содержание сульфгидрильных групп увеличено в большей степени за счёт SH-групп белков молока и в меньшей степени за счёт свободных SH-групп.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, антиокислительная активность молока коров из хозяйств пригородной зоны снижена, что сопровождается повышением уровня продуктов липопероксидации и значительной окислительной модификацией белков. Важную роль в снижении антиокислительной активности молока пригорода промышленного центра играет значительное снижение тиоловых групп, важнейшего компонента антиокислительной защиты молока и нарушение активности антиоксидантных ферментов – СОД и глутатионпероксидазы. Различия показателей свободнорадикального окисления исследуемых образцов молока крупного рогатого скота урбанизированной территории Омской области наблюдаются в разные сезоны года, как летом, так и зимой, и в молоке коз разных пород.

На основании реализованных в данной работе задач сформулированы следующие выводы:

1. Антиокислительная активность молока коров из хозяйств, расположенных в пригородной зоне Омской области, в зимний период ниже на 12% ( $P=0,04$ ) и 9% ( $P=0,02$ ), чем в южных и северных районах. Снижение антиокислительной активности сопровождается увеличением интенсивности процессов липопероксидации в молоке коров из хозяйств пригорода Омска относительно молока коров, из хозяйств области, отдалённых от промышленного центра.



2. Воздействие комплекса факторов урбанизированных территорий выражается повышением уровня продуктов металлкатализируемой окислительной деструкции белков молока коров из хозяйств пригородной зоны при всех исследуемых длинах волн в летний и зимний период года. В летний период в молоке коров из хозяйств пригородной зоны относительно северных и южных районов области увеличено содержание ранних продуктов спонтанной окислительной модификации белков молока на 15,6 % ( $P=0,01$ ) и 16 % ( $P=0,02$ ), а более поздних продуктов - кетон-динитрофенилгидразонов основного характера на 36,4 % ( $P=0,02$ ) и 42,4 % ( $P=0,003$ ), соответственно.

3. Содержание сульфгидрильных групп в молоке коров, полученном от хозяйств, расположенных на расстоянии не менее 150 км от промышленного центра подтверждают данные о большей интенсивности окислительной деструкции в молоке коров из хозяйств пригородной зоны. Данные летнего периода указывают на снижение в молоке коров из пригородной зоны содержания тиоловых групп, как в молочной сыворотке на 32% ( $P<0,001$ ) и 33% ( $P<0,001$ ), так и в безбелковой надосадочной жидкости молока на 12,1% ( $P=0,005$ ) и 12,4% ( $P=0,017$ ) по отношению к северным и южным районам. В зимний период выявлено снижение уровня доступных сульфгидрильных групп белков молока на 32% ( $P=0,025$ ) и 26% ( $P=0,007$ ) и содержание сульфгидрильных групп цельного молока на 13% ( $P=0,013$ ) и 15% ( $P=0,014$ ) относительно образцов полученных в южных и северных районах соответственно.

4. Антиокислительная активность молока коз зааненской породы и швейцарской породы ниже в сравнении с молоком коров черно-пестрой породы в зимний период. Козье молоко характеризуется меньшей интенсивностью процессов липопероксидации в летний период года, а в зимний период интенсивность окисления нейтральных липидов в молоке коз зааненской породы повышена относительно молока коз швейцарской породы и молока коров черно-пестрой породы. Фосфолипиды молока коз швейцарской породы менее подвержены процессам пероксидации липидов относительно молока коров черно-пестрой породы в летний и зимний периоды года.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Подольникова Ю.А.** Хемилюминесцентный анализ антиокислительной активности молока разных эколого-географических зон Омской области / Ю. А. Подольникова, Н. А. Погорелова, В. Е. Высокогорский // Технология и продукты здорового питания: материалы VII Междунар. науч.-практ. конф. – Саратов, 2013. – С. 87–89.

2. Погорелова Н. А. Соотношение компонентов антиокислительной системы молока и крови крупного рогатого скота / Н. А. Погорелова, **Ю. А. Архипенко** // Вестн. Ом. гос. аграр. ун-та. – 2013. – №1(9). – С.65–67.

3. Погорелова Н. А. Антиокислительная активность молока коров с послеродовым эндометритом / Н. А. Погорелова, **Ю. А. Архипенко**, В. Е.

Высокогорский // Технология и продукты здорового питания: материалы VII Междунар. науч.-практ. конф. – Саратов, 2013. – С.84–86.

4. **Архипенко Ю. А.** Интенсивность процессов свободнорадикального окисления коровьего и козьего молока // Россия молодая: передовые технологии в промышленность!: Материалы V Всероссийской научно-технической конференции с международным участием (Омск, 12-14 ноября). Книга 3. – 2013. – С. 13-15.

5. Высокогорский В. Е. Интенсивность липопероксидации и окислительной модификации белков козьего и коровьего молока / В. Е. Высокогорский, Н. Б. Гаврилова, **Ю. А. Архипенко** // **Вопросы питания.** – 2014. – №4. – С. 82–85.

6. Характеристика параметров липопероксидации и карбонилирования белков молока крупного рогатого скота урбанизированного региона / **Ю. А. Подольникова**, В. Е. Высокогорский, Т. Д. Воронова, О. Н. Лазарева // **Фундаментальные исследования.** – 2014. – №9, ч. 12. – С. 2687–2691.

7. Высокогорский В. Е. Сравнительная оценка показателей окислительной модификации белков молока крупного рогатого скота различных эколого-географических зон Омской области / В. Е. Высокогорский, **Ю. А. Подольникова**, О. Н. Лазарева // **Фундаментальные исследования.** – 2014. – №12, ч. 4. – С. 760–764.

8. **Подольникова Ю. А.** Содержание тиоловых групп коровьего и козьего молока / Ю. А. Подольникова, О. Н. Лазарева, В. Е. Высокогорский // Современный взгляд на производство продуктов здорового питания: материалы Междунар. науч.-техн. конф. молодых ученых, посвящ. 95-летию ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина. – Омск, 2014. – С. 11-14.

9. Высокогорский В. Е. Сравнительная оценка интенсивности пероксидации липидов и уровня карбонильных производных белков как маркеров окислительного стресса / В. Е. Высокогорский, **Ю. А. Подольникова**, О. Н. Лазарева // Десятая юбилейная международная конференция: «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии». – Пицунда, 2014. – С. 15.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

**СОД** - супероксиддисмутаза

**ГПО** – глутатионпероксидаза

**ДТНБ** – 5,5' - дитиобис-2-нитробензойная кислота

**ПОЛ** – перекисное окисление липидов

**ОМБ** – окислительная модификация белков