

УДК 637.12.054 (571.13)

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ МОЛОКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ХОЗЯЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОН ОМСКОЙ ОБЛАСТИ

Высокогорский В.Е., Подольникова Ю.А., Лазарева О.Н.

ФГБОУ ВПО «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина»,  
Омск, e-mail: arhipenkoya@mail.ru

Представлены результаты исследования продуктов спонтанной и металлкатализируемой окислительной модификации белков молока крупного рогатого скота, полученного от хозяйств, расположенных в трех эколого-географических зонах Омской области: в лесостепной (пригород Омска), лесной и степной. Установлены существенные изменения спонтанной окислительной модификации белков молока в лесостепной зоне (пригород Омска). Уровень альдегид-динитрофенилгидразонов (274 нм) в лесостепной зоне повышен на 20% ( $P = 0,001$ ) и 29% ( $P = 0,003$ ), кетон-динитрофенилгидразонов основного характера (530 нм) на 38% ( $P = 0,007$ ) и 51% ( $P < 0,001$ ) в сравнении с показателями молока хозяйств лесной и степной зон области. При металлкатализируемом окислении белков уровень алифатических альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера (356 нм) повышен на 30% ( $P = 0,042$ ) и 51% ( $P < 0,001$ ), кетон-динитрофенилгидразонов нейтрального характера (370 нм) – на 25% ( $P = 0,041$ ) и 50% ( $P < 0,001$ ) по сравнению с лесной и степной соответственно. Результаты исследования свидетельствуют о более интенсивной окислительной деструкции белков молока лесостепной зоны (пригород Омска) по отношению к показателям молока отдаленных от промышленного центра эколого-географических зон области.

**Ключевые слова:** окислительная модификация белков, сульфгидрильные группы, эколого-географические зоны, молоко

## COMPARATIVE ASSESSMENT OF INDICATORS OF OXIDATIVE MODIFICATION OF CATTLE MILK PROTEINS IN THE ENTERPRISES LOCATED IN DIFFERENT ECOLOGICAL-GEOGRAPHICAL ZONES OF OMSK REGION

Vysokogorskiy V.E., Podolnikova Y.A., Lazareva O.N.

FGBOU VPO «Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin»,  
Omsk, e-mail: arhipenkoya@mail.ru

The present article shows the research results of the products of spontaneous and metal-catalyzed oxidative modification of the cattle milk proteins obtained from the enterprises located in three different ecological-geographical zones of Omsk region: forest-steppe (Omsk countryside), forest zone and steppe zone. The significant changes of spontaneous oxidative modification of milk proteins were ascertained in the forest-steppe zone (Omsk countryside). The level of aldehyd- dinitrophenylhydrazines (274 nm) in the forest-steppe zone is increased up to 20% ( $P = 0,001$ ) and 29% ( $P = 0,003$ ), ketone-dinitrophenylhydrazines of basic character (530 nm) up to 38% ( $P = 0,007$ ) and 51% ( $P < 0,001$ ) in comparison with milk characteristics in the enterprises located in the forest and steppe zones of the region. When metal-catalyzed oxidation of proteins, the level of aliphatic aldehyd- dinitrophenylhydrazines of neutral character (356 nm) is increased up to 30% ( $P = 0,042$ ) and 51% ( $P < 0,001$ ), ketone-dinitrophenylhydrazines of neutral character (370 nm) up to 25% ( $P = 0,041$ ) and 50% ( $P < 0,001$ ) in comparison with forest and steppe zones correspondingly. The research results show that there is a more intense oxidative destruction of milk proteins in the forest-steppe zone (Omsk countryside) in relation to milk characteristics in the remote from the industrial centre ecological-geographical zones of Omsk region.

**Keywords:** oxidative modification of proteins, sulfhydryl groups, ecological-geographical zones, milk

Активные формы кислорода являются неотъемлемым звеном существования высших форм живых организмов. Отсутствие или сбой в образовании данных элементов сопровождается накоплением окислительных повреждений и возникновением окислительного стресса, который является составной частью целого ряда патологических процессов и заболеваний.

К нарушению функционирования систем организма могут приводить различные климатические, экологические и антропогенные факторы. Интенсивное загрязнение атмосферного воздуха в России приводит

к ежегодной дополнительной смертности до 40 тыс. человек [8, 3]. Неблагоприятное воздействие низкой температуры среды, перепадов атмосферного давления, высокой ионизации воздуха и других факторов окружающей среды Севера нашей страны приводит к развитию и формированию патологии у человека [1].

В предыдущих исследованиях было выявлено значительное изменение процессов перекисного окисления липидов в зависимости от природно-климатических зон Омской области в различные периоды года [5]. Установлено более интенсивное

течение свободнорадикального окисления в зимний период года по показателям молока хозяйств, расположенных в пригородных зонах промышленного центра, в отличие от северных и южных районов области [7]. Однако перемена времени года, изменение суточной ритмики и рациона кормления животных в летний период могут повлиять на интенсивность окислительной деструкции белков молока животных.

**Цель работы** – оценить интенсивность спонтанной и металлкатализируемой окислительной модификации белков молока крупного рогатого скота хозяйств лесной, степной и лесостепной зон Омской области в летний период года.

**Материалы и методы исследования**

Для исследования использовали сырое натуральное молоко коров, полученное от хозяйств, расположенных в лесостепной зоне (пригород Омска), лесной зоне (северные районы области) и степной зоне (южные районы области), нормализованное по массовой доле жира до 2,5%.

Уровень спонтанной окислительной модификации белков (ОМБ) определяли методом, основанным на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином и образованием производных 2,4-динитрофенилгидразона. Оценка металлкатализируемого окисления белков молока проводили по содержанию карбонилированных белков при индуцировании свободнорадикального окисления системой Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Оптическую плотность образовавшихся динитрофенилгидразонов регистрировали спектрофотометрически при следующих длинах волн: 274, 356, 370, 430 и 530 нм [2].

Определение доступных сульфгидрильных групп молока, сыворотки (супернатант после внесения уксусной кислоты – рН 4,6 и центрифугиро-

вания в течение 15 мин) и свободных доступных сульфгидрильных групп, полученных путем осаждения белков молока, основано на их взаимодействии с 5,5'-дитиобис-2-нитробензойной кислотой (ДТНБ) с образованием окрашенного дисульфида. Оптическую плотность проб определяли на спектрофотометре при длине волны 412 нм [9].

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Статистическая значимость межгрупповых различий оценивалась по критерию Манна – Уитни (U). Проверка статистических гипотез проводилась при критическом уровне значимости p = 0,05. Результаты представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартиля – Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>).

**Результаты исследования и их обсуждение**

Содержание продуктов спонтанной ОМБ молока различается в разных эколого-географических зонах Омской области (табл. 1). Уровень альдегид-динитрофенилгидразонов (274 нм) – ранние маркеры окислительной деструкции белков – по данным Иванова В.В. с соавт. [4] в лесостепной зоне выше на 20% (P = 0,001) и 29% (P = 0,003) относительно лесной и степной зон области. Обнаружено повышение кетон-динитрофенилгидразонов основного характера (530 нм), являющихся маркерами поздней деструкции белков в лесостепной зоне (пригород) на 38% (P = 0,007) и 51% (P < 0,001) относительно лесной и степной зон соответственно. Выявлены различия в ОМБ молока лесной и степной зон области. В лесной зоне уровень кетон-динитрофенилгидразонов основного характера на 20% (P = 0,015) выше относительно степной зоны.

**Таблица 1**

Содержание карбонильных производных белков в летний период года, Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>)

Длина волны, нм	Лесная зона n = 11	Степная зона n = 11	Лесостепная зона (пригород) n = 10
	Спонтанная окислительная модификация белков (е.о.п. на 1 г белка)		
274	134,91 (116,77; 160,57)	119,16 (99,45; 145,83)	168,71** (164,43; 187,07)
356	87,62 (71,69; 117,07)	74,64 (72,79; 100,75)	84,34 (80,61; 89,80)
370	84,43 (70,59; 109,76)	68,13 (52,14; 90,43)	79,16 (74,79; 86,73)
430	66,48 (59,17; 72,12)	59,56 (54,40; 80,05)	69,81 (66,91; 76,53)
530	6,29 (5,93; 8,28)	5,05* (4,27; 6,02)	10,23*** (7,91; 12,04)

**Примечания:** \* – статистически значимые отличия от лесной зоны; P < 0,05, <sup>x</sup> – статистически значимые отличия от лесной зоны; P < 0,05, <sup>xx</sup> – статистически значимые отличия от степной зоны, P < 0,001.

Полученные результаты металлкатализируемой ОМБ свидетельствуют о повышении альдегид-динитрофенилгидразонов (274 нм) в молоке лесостепной зоны на 12% (P = 0,042) и 51% (P < 0,001) в сравнении с пробами молока от хозяйств лесной и степ-

ной природно-климатических зон (табл. 2). Обнаружено увеличение в лесостепной зоне уровня алифатических альдегид-динитрофенилгидразонов нейтрального характера (356 нм) на 30% (P = 0,042) и на 51% (P < 0,001), кетон-динитрофенилгидразонов

нейтрального характера (370 нм) на 25% ( $P = 0,041$ ) и на 50% ( $P < 0,001$ ), а также альдегид-динитрофенилгидразонов основного характера (430 нм) на 23% ( $P = 0,022$ ) и на 37% ( $P < 0,001$ ) по сравнению с лесной и степной зонами соответственно. Содержание кетон-динитрофенилгидразонов основного характера (530 нм) в лесостепной зоне повышено на 57% ( $P = 0,003$ ) относительно лесной зоны области. Полученные результаты свидетельствуют о более интенсивном карбонилировании белков молока в пригороде Омска. Возможно, данный факт объясняется наличием различных крупных промышленных предприятий, выбросов автотранспорта и других потенци-

ально опасных объектов, находящихся в непосредственной близости от исследуемых хозяйств лесостепной зоны. Воздействие данных загрязнений негативно влияет как на здоровье населения мегаполисов [6] так и на окружающие его организмы [3]. Проникая в организм человека и животных, химические вещества подвергаются ряду биохимических превращений, результатом которых является их обезвреживание и выведение из организма. В процессе обезвреживания данных веществ наблюдается увеличение образования свободных радикалов и активных форм кислорода, что приводит к свободнорадикальному окислению белков, липидов и ДНК в организме [10].

Таблица 2

Содержание металлкаatalизируемых карбонильных производных белков в летний период года, Me ( $Q_1; Q_3$ )

Длина волны, нм	Лесная зона $n = 11$	Степная зона $n = 11$	Лесостепная зона (пригород) $n = 10$
	Индукцируемая окислительная модификация белков (е.о.п. на 1 г белка)		
274 ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	232,10 (204,44; 238,75)	130,29** (125,00; 149,33)	265,07*** (234,69; 298,66)
356 ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	183,09 (177,57; 218,88)	127,84** (116,91; 149,22)	260,96*** (230,45; 288,10)
370 ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	192,74 (186,65; 214,45)	126,14* (118,38; 146,46)	256,17*** (213,49; 304,42)
430 ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	116,32 (110,26; 143,12)	94,73* (77,81; 120,74)	151,11*** (134,9; 186,62)
530 ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )	8,42 (7,05; 10,74)	12,95* (10,24; 13,83)	19,6* (10,80; 21,43)

Примечания: \* – статистически значимые отличия от лесной зоны,  $P < 0,05$ , \*\* – статистически значимые отличия от лесной зоны,  $P < 0,001$ ,  $P < 0,05$ , \*\* – статистически значимые отличия от степной зоны,  $P < 0,001$ .

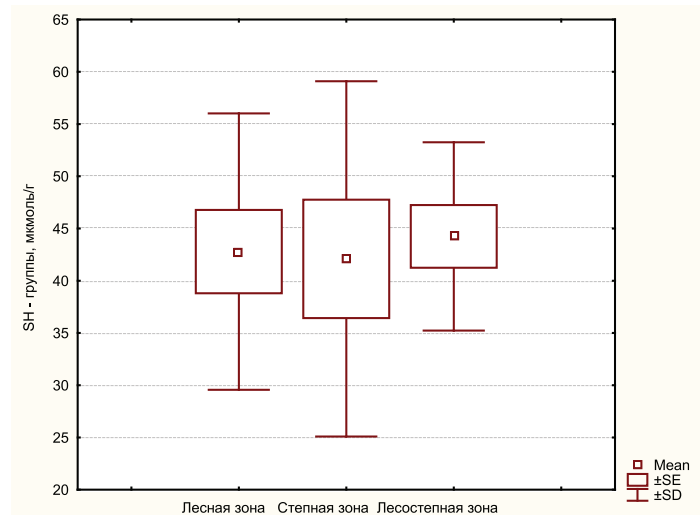


Рис. 1. Содержание доступных сульфгидрильных групп в молоке разных природно-климатических зон Омской области (мкмоль/г)

В лесной зоне увеличено содержание альдегид-динитрофенилгидразонов (274 нм) на 44% ( $P < 0,001$ ), альдегид-ди-

нитрофенилгидразонов нейтрального характера (356 нм) на 30% ( $P = 0,015$ ), кетон-динитрофенилгидразонов нейтрального

характера (370 нм) на 35% ( $P = 0,011$ ), альдегид-динитрофенилгидразонов основного характера (430 нм) на 19% ( $P = 0,019$ ) относительно степной зоны. Содержание же кетон-динитрофенилгидразонов основного характера молока в коров степной зоны на 35% ( $P = 0,035$ ) выше по сравнению с лесной зоной. Соответственно можно выделить степную зону, в которой белки молока менее подвержены окислительной модификации. Возможно, это связано с более насыщенным антиоксидантами рационом кормления животных в данной эколого-географической зоне.

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. Значимых различий в содержании доступных тиоловых групп молока-сырья в различных эколого-географических зонах Омской области не выявлено (рис. 1).

Однако уровень доступных сульфгидрильных групп сыворотки молока хозяйств лесостепной зоны (пригород) ниже на 13% ( $P = 0,023$ ) и 26% ( $P = 0,002$ ) относительно степной и лесной зоны соответственно (рис. 2).

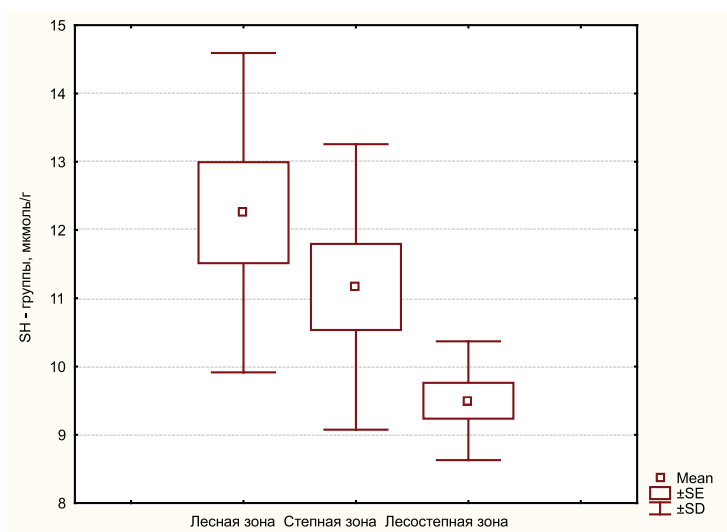


Рис. 2. Содержание доступных сульфгидрильных групп в сыворотке в разных природно-климатических зонах Омской области (мкмоль/г)

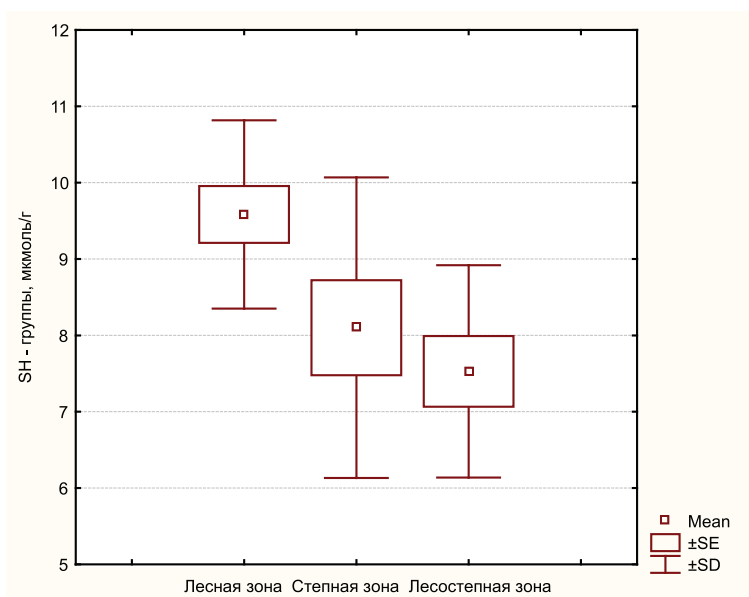


Рис. 3. Содержание доступных свободных сульфгидрильных групп в сыворотке в разных природно-климатических зонах Омской области (мкмоль/г)

Выявлено достоверное снижение свободных доступных тиоловых групп и в безбелковом надосадке молока хозяйств пригорода Омска на 21 % ( $P = 0,006$ ) относительно лесной зоны (рис. 3).

### Заключение

Результаты исследования свидетельствуют о более интенсивном процессе свободнорадикального окисления белков молока пригорода промышленного центра по отношению к лесной и степной зонам области. Данное заключение основывается на повышении уровня продуктов спонтанной и металлкатализируемой окислительной модификации белков молока данной зоны. Повышенный уровень карбонильных производных белков может быть обусловлен снижением доступных сульфгидрильных групп в сыворотке молока пригорода по отношению к молоку отдалённых от промышленного центра зон области.

### Список литературы

1. Доршакова Н.В. Особенности патологии жителей Севера // Н.В. Доршакова, Т.А. Карапетян // Экология человека. – 2004. – № 6. – С. 48–52.
2. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения / Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов // Вопросы медицинской химии. – 1995. – № 1. – С. 24–26.
3. Ефремова С.Ю. Экологический мониторинг загрязнения почв / С.Ю. Ефремова, Т.А. Шариков, О.В. Лукьянец // Известия пензенского государственного педагогического университета имени В.Г. Белинского. – 2011. – № 25. – С. 568–571.
4. Иванов В.В. Влияние аллоксана на систему глутатиона и окислительную модификацию белков в адипоцитах при экспериментальном диабете / В.В. Иванов, Е.В. Шахристова, Е.А. Степовая, В.В. Новицкий // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 3. – С. 44–47.
5. Игнатьева Г.В. Содержание липопероксидов натурального молока сырья различных природно-климатических зон Омской области // Молочная промышленность Сибири. VII Специализированный конгресс. – Барнаул, 2012. – С. 77–79.
6. Копылова Р.Т. Антропогенное загрязнение окружающей среды // Экологические проблемы промышленных городов: сборник научных трудов по материалам 6-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Саратов, 2013. – Ч. 1. – С. 67–69.
7. Подольникова Ю.А. 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. – С. 2687–2691.

8. Ревич Б.А. Изменение климата и здоровья населения России: Анализ ситуации / Б.А. Ревич, В.В. Малеев. – М.: ЛЕНАД, 2011. – 208 с.

9. Современные методы в биохимии / под ред. академика АМН СССР В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977.

10. Хавинсон В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон, В.А. Баринов, А.В. Арутюнян, В.В. Малинин. – СПб.: Наука, 2003. – 327 с.

### References

1. Dorshakova N.V., Karapetyan T.A., *Jekologiya cheloveka*, 2004, no 6, pp. 48–52.
2. Dubinina E.E., Burmistrov S.O., Khodov D.A., *Voprosy med.khimii*, 1995, no. 1, pp. 24–26.
3. Efremova S.Ju., Sharikov T.A., Luk'janec O.V., *Izvestija penzenskogo gosudarstvennogo pedagogicheskogo universiteta imeni V.G. Belinskogo*, 2011, no 25, pp. 568–571.
4. Ivanov V.V., Shahristova E.V., Stepovaya E.A., Novickiy V.V., *Byulleten' sibirskoj mediciny*, 2011, no 3, pp. 44–47.
5. Ignatieva G.V., «Molochnaya promyshlennost' Sibiri. VII Specializirovannyj kongress» («Dairy products industry of Siberia. VII Specialized Congress»). Barnaul, 2012, pp. 77–79.
6. Kopylova R.T., *Sbornik nauchnyh trudov po materialam 6-j Vserossijskoy nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem (Collection of research papers under the materials of VI All-Russian Scientific and Practical Conference of international concern)*. Saratov, 2013, part. 1, pp. 67–69.
7. Podol'nikova Ju.A., Vysokogorskiy V.E., Voronova T.D., Lazareva O.N., *Fundamental'nye issledovaniya*, 2014, no 9, pp. 2687–2691.
8. Revich B.A., Maleev V.V., *Izmenenie klimata i zdorov'ya naseleniya Rossii: Analiz situacii (Climate change and health of the population of Russia: Analysis of a situation)*. M, LENAD, 2011.
9. *Sovremennye metody v biohimii*. [pod red. akademika AMN SSSR Orekhovicha V.N.] (Modern methods of biochemistry. [edited by V.N. Orekhovich, academician, member of the Academy of Medical Sciences of the USSR]) Moscow, Medicine. 1977.
10. Havinson V.H., Barinov V.A., Arutunjan A.V., Malinin V.V. *Svobodnoradikal'noe okislenie i starenie (Free radical oxidation and aging)*. SPb, Nauka, 2003.

### Рецензенты:

Мкртчян О.З., д.б.н., профессор кафедры биологии, ФГБОУ ВПО «Омский государственный педагогический университет» Минобрнауки РФ, г. Омск;

Степанова И.П., д.б.н., профессор, заведующая кафедрой химии, ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, г. Омск.

Работа поступила в редакцию 16.12.2014.