

## Baktericīdo vielu un antivielu satura izvērtējums dažādās lauksaimniecības sistēmās turēto govju pienā

### Evaluation of Antibodies Concentration in Cow's Milk from Different Agricultural Systems

Jeļena Zagorska, Inga Ciproviča, Velga Miķelsone

LLU Pārtikas Tehnoloģijas Fakultāte, e-pasts: inga.ciprovica@llu.lv

Faculty of Food Technology, LLU, e-mail: inga.ciprovica@llu.lv

**Abstract.** The aim of the present study was to determine and compare IgA, IgG, IgM, lactoferrin, and lysozyme concentrations in organic, transitional period (from conventional to organic agriculture), and conventional milk samples. In total, 20 conventional, 20 transitional period and 20 organic milk samples, obtained from healthy cows, were analyzed. The individual cow's milk samples were taken from farms located in different regions of Latvia: Cesis, Ogre, and Bauska. Concentrations of IgA, IgG, IgM, and lysozyme were determined by turbidimetric method. The concentration of lactoferrin was determined by immunofluorescent method. Differences in the concentrations of immunoglobulins, lactoferrin, and lysozyme were determined by descriptive statistics using Microsoft Windows for SPSS software packages. The concentration of IgA in organic milk samples proved to be significantly lower than in conventional milk samples. Significant differences were not established in the concentrations of IgG and lysozyme in the milk obtained from different agricultural systems. The concentrations of IgM and lactoferrin in organic milk were significantly higher than in conventional milk. In all kinds of milk the concentrations of IgA and IgM were higher compared to the data in the literature. Organic agriculture has significant influence on cow's immunity fortification, which was demonstrated by different concentrations of lactoferrin and immunoglobulins in organic and conventional milk.

**Key words:** organic and conventional milk, immunoglobulins, lactoferrin, lysozyme.

#### Ievads

Pēdējos gados Latvijā un pasaulē ir ievērojami pieaudzis pieprasījums pēc pārtikas, kuras izejvielas tiek ražotas atbilstoši bioloģiskās lauksaimniecības nostādņiem, un palielinās to patērētāju skaits, kas arvien lielāku nozīmi piešķir pārtikas kvalitātei un vēlas zināt, kā tā tiek ražota. Bioloģisko ražošanu raksturo skaidri pamatprincipi un caurredzamība attiecībā uz produktu izcelsmi, ražošanu un pārstrādi. Latvijā ir visi nepieciešamie priekšnosacījumi – lauksaimniecībai piemērota zeme, izveidoti šķirnes dzīvnieku ganāmpulki, kā arī ekoloģiskā situācija, lai ražotu kvalitatīvu lopkopības produkciju iekšējam tirgum, kā arī eksportam.

Bioloģiski ražotus produktus iegūst, saimniekojot ar bioloģiskām metodēm, samazinot antibiotiku un medikamentu pielietojumu dzīvnieku ārstēšanā, ķīmiskos pesticīdus un minerālmēslus augsnes mēslošanai un nezāļu apkarošanai, dzīvnieku ēdināšanai lietojot pēc bioloģiskās lauksaimniecības principiem sagatavotu barību. Saimniekojot bioloģiskajā lauksaimniecības sistēmā, galvenais priekšnoteikums ir nepiesārņota augsne, kas ir dabiska un dzīva vienība ar daudzveidīgu floru un faunu. Vides piesārņojuma samazināšanu panāk, ierobežojot mājlopu skaitu un kūtsmēslu daudzumu uz zemes platības vienību. Dabas daudzveidības saglabāšanai bioloģiskajā lauksaimniecībā iesaka

audzēt vietējo šķirņu kultūraugus un mājdzīvniekus, jo tie ir piemēroti vietējam mikroklimatam (Kreišmane u.c., 2004). Šāds pasākumu kopums ir vērsts uz govju organisma stiprināšanu, tai skaitā var sekmēt baktericīdo vielu un antivielu satura palielinājumu pienā. Pie piena baktericīdām vielām pieder lizocīms, laktoferīns, laktoferīna peroksīdāzīna komplekss un laktoferīns, pie antivielām – imunoglobulīni (IgA, IgG, IgM) u.c.

Imunoglobulīnu saturs pienā variē atkarībā no govju šķirnes, vecuma, veselības stāvokļa un laktācijas perioda (Butler, 1986, 1994; Larson, 1992; Korhonen et al., 2000). Jaunpienā tie veido līdz 90% no sūkalu olbaltumvielām. No piena ir izdalītas visas trīs galvenās imunoglobulīnu klases: IgG, IgA un IgM (Korhonen et al., 2000; Marnila, Korhonen, 2002). Visizteiktākās imunofunkcijas piemīt IgA, ar kuru ir bagāts mātes piens (Горбатова, 1997).

Laktoferīns ir dzelzi saturoša olbaltumviela, kas pēc savām īpašībām ir līdzīga asins transferīnam (Dionysius, Milne, 1997; Farrell et al., 2004). Tam piemīt transporta funkcija – laktoferīns saista un pārnes dzelzs jonus jaundzimušo organismā. Govju pienā laktoferīna saturs ir neliels – Gorbatova (Горбатова, 1997) savos darbos min šādus skaitļus: 0.1–0.35 mg ml<sup>-1</sup>. Savukārt Dionysius un Milne (1997): 0.09 mg ml<sup>-1</sup>. Dionysius uzskata, ka laktoferīna saturs ar mastītu slimu govju pienā palielinās līdz 1.2 mg ml<sup>-1</sup>,

un tikpat lielu laktoferīna koncentrāciju var novērot arī laktācijas beigu posmā. Jaunpienā tā saturs ir 1–6 mg ml<sup>-1</sup> (Горбарова, 1997).

Laktoferīnam ir antimikrobiālas un antioksidanta īpašības, turklāt tas palielina dzelzs līmeni asinīs, stimulē imūnsistēmu, modulē resnās zarnas mikrofloru, un tam piemīt arī pretiekaisuma un antikancerogēnas īpašības (Dairy processing, 2003). Aplūkojot iepriekšminētās funkcijas, var secināt, ka laktoferīnam ir svarīga loma organisma aizsargsistēmas veidošanā.

Lizocīms ir enzīms, kas grauj baktēriju šūnas sienas pamatelementu – peptidoglikāna jeb mureīna slāni, šķeļot saiti starp N-acetilglikozamīnu un N-acetilmurāmskābi (Walstra et al., 1999). Tā kā grampozitīvām baktērijām ir raksturīgs biezs mureīna slānis, lizocīms ir aktīvs pret šo grupu. Efekts uz gramnegatīvām baktērijām ir mazāks. Piena lizocīms piedalās nelabvēlīgas mikrofloras iznīcināšanā jaundzimušo mutes dobumā un kuņģī. Lizocīma saturs ir robežās no 3 mg l<sup>-1</sup> govju pienā līdz 790 mg l<sup>-1</sup> ķēves pienā (Farkey, 2002).

Tā kā baktericīdo vielu un antivielu saturs pienā raksturo govju organisma imunitāti un varētu pozitīvi ietekmēt piena patērētāju, darba mērķis bija noteikt un salīdzināt IgA, IgG, IgM, laktoferīna un lizocīma saturu bioloģiskajā un konvencionālajā lauksaimniecībā iegūtā pienā.

## Materiāli un metodes

Pētījuma objekts – piens, kas iegūts bioloģiskajās, konvencionālajās un pārejas perioda saimniecībās (no konvencionālās uz bioloģisko lauksaimniecību). Kopumā tika analizēti 60 pienu paraugi: 20 bioloģiskajā, 20 konvencionālajā un 20 pārejas periodā iegūtie pienu paraugi. Pētījumā analizētie pienu paraugi iegūti no veselām govīm (somatisko šūnu skaits nepārsniedz 400 000 ml<sup>-1</sup>). Piena paraugu ņemšanas un analizēšanas shēma izvēlēta tā, lai izslēgtu iespēju analizēt laktācijas sākuma un beigu posmā iegūto pienu. Piena paraugi ņemti no līdzīga vecuma Latvijas brūnās un Holšteinas šķirnes govīm, kā arī no Latvijas brūnās un Holšteinas govju šķirņu krustojumiem. Bioloģiskajās un pārejas perioda saimniecībās, kur ņemti pienu paraugi, praktizēta dzīvnieku nepiesieta turēšana, konvencionālajās saimniecībās – piesieta turēšana. Individuālie pienu paraugi ņemti saimniecībās, kuras atrodas dažādos Latvijas reģionos: Cēsu, Ogres un Bauskas.

Imunoglobulīnu saturs pienā noteikts ar turbidimetriskās metodes palīdzību izmantojot firmas „НПО Синтэко” reaģentu komplektu. Tas ir paredzēts imunoglobulīnu saturs noteikšanai asinīs serumā un pielāgots imunoglobulīnu saturs noteikšanai pienā.

Laktoferīna saturs noteikts ar imunofermatīvo metodi, izmantojot „Лактоферрин – ИФА – БЕСТ”

reaģentu komplektu. Tas ir paredzēts laktoferīna saturs noteikšanai asinīs serumā un pielāgots laktoferīna saturs noteikšanai pienā.

Lizocīma saturs noteikts ar turbidimetriskās metodes palīdzību pēc Granta (Грант и др., 1973) metodes. Metodes pamatā ir lizocīma spēja lizēt mikroorganismu šūnupvalkus.

Piena elektrovadītspēja noteikta ar “Milk checker N 4L” iekārtas palīdzību, lai izslēgtu ar mastītu slimu govju piena paraugu analīzi.

Datu apstrādei lietota aprakstošā statistika, izmantojot SPSS programmu paketi SPSS 11.0.

## Rezultāti

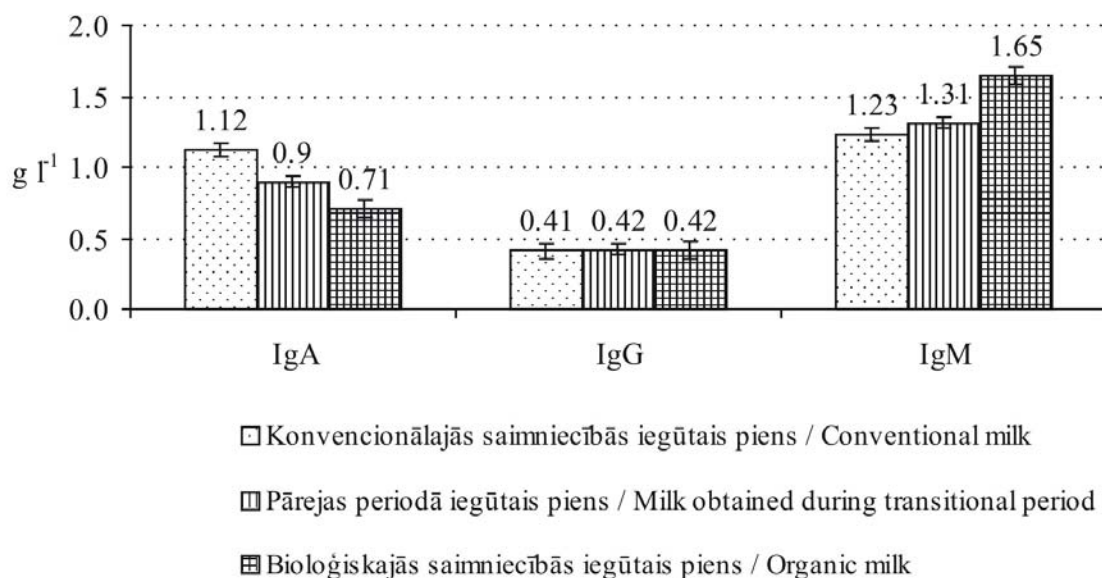
Imunoglobulīnu saturu pienā ietekmē dažādi faktori. Vidējais IgA, IgG un IgM saturs pienu paraugos, kas iegūti atšķirīgās lauksaimniecības sistēmās, ir parādīts 1. attēlā.

IgA saturs pienu paraugos svārstījās plašās robežās un būtiski ( $p < 0.05$ ) atšķīrās dažādu lauksaimniecības sistēmu turēto govju pienā. Lielākais IgA saturs tika konstatēts konvencionālajās saimniecībās esošo govju pienā, proti,  $1.12 \pm 0.01$  g l<sup>-1</sup>. Vislielākām svārstībām tika pakļauts IgA saturs to govju pienā, kas bija turētas pārejas perioda saimniecībās.

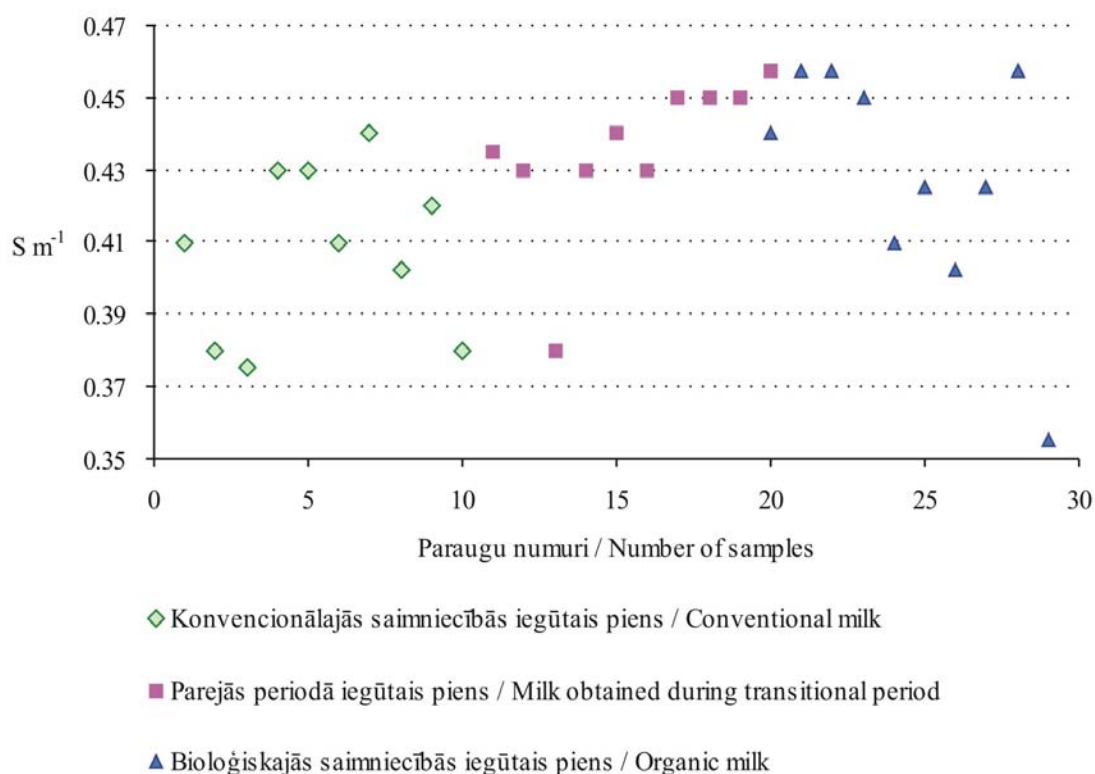
Pielietojot dispersijas analīzi, tika konstatētas būtiskas atšķirības ( $p < 0.05$ ) starp IgA saturu govju pienā, kas turētas bioloģiskajās un konvencionālajās saimniecībās. Savukārt starp bioloģiskajā un pārejas periodā, kā arī starp konvencionālajā un pārejas periodā iegūtajiem pienu paraugiem atšķirības netika konstatētas.

Jāatzīmē, ka bioloģiskajās saimniecībās iegūtā pienu vidējais IgA saturs bija  $0.71$  g l<sup>-1</sup>, kas ir 5.5 reizes lielāks, salīdzinot ar literatūras datiem ( $0.13$  g l<sup>-1</sup>) (McFadden et al., 1997). Pārejas periodā un konvencionālajās saimniecībās iegūtajos pienu paraugos vidējais IgA saturs bija lielāks, attiecīgi 6.9 un 8.6 reizes. Palielināts imunoglobulīnu saturs var liecināt par mastīta problēmām. Ar mastītu slimu govju pienā IgA saturs var sasniegt pat 600% no IgA saturs veselu govju pienā (Korhonen, Kaartinen, 1995). Jāuzsver, ka pētījumos analizēto govju piens tika iegūts no veselīgiem dzīvniekiem, ko papildus apstiprina pienu elektrovadītspējas rādītāji (skat. 2. att.). Pienā elektrovadītspēja svārstās robežās no  $30 \times 10^{-2}$  līdz  $60 \times 10^{-2}$  S m<sup>-1</sup>. Veselu govju pienā tā ir līdz  $46 \times 10^{-2}$  S m<sup>-1</sup>, bet ar mastītu slimu govju pienā novēro palielinātu pienu elektrovadītspēju (Горбарова, 1997). Darbā analizēto pienu paraugu elektrovadītspēja svārstījās robežās no 35 līdz  $46 \times 10^{-2}$  S m<sup>-1</sup>, kas liecina, ka govīs bija veselas.

Salīdzinot vidējo IgG saturu dažādās lauksaimniecības sistēmās turēto govju pienā, būtiskas atšķirības netika konstatētas ( $p > 0.05$ ). IgG saturs analizētajos pienu paraugos atbilst literatūrā



1. att. Imunoglobulīnu saturs dažādās lauksaimniecības sistēmās turēto govju pienā.  
Fig. 1. The concentration of immunoglobulins in cow milk obtained in different agricultural systems.

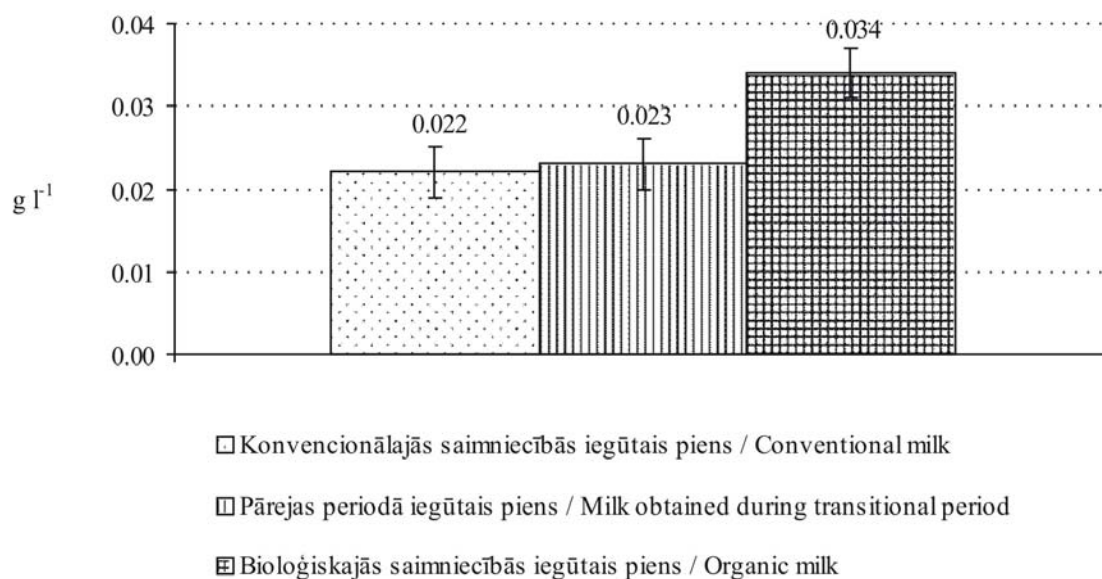


2. att. Analizēto piena paraugu elektrovadītspēja.  
Fig. 2. Electrical conductivity of analyzed milk samples.

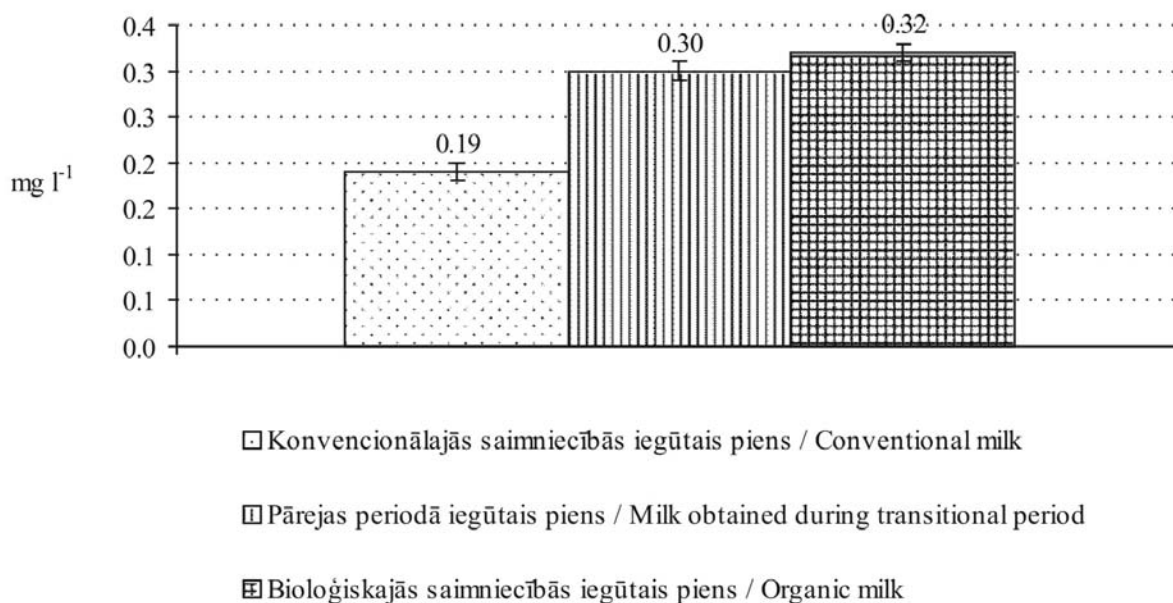
norādītajiem datiem: 0.15–0.80 g l<sup>-1</sup> (Marnila, Korhonen, 2002). Savukārt IgG saturs atsevišķos piena paraugos, kas iegūti pārejas periodā un bioloģiskajās saimniecībās, pārsniedza iepriekšminēto robežu. Vislielākās svārstības IgG saturā novēroja piena paraugiem, kas iegūti no govīm pārejas periodā no

konvencionālās uz bioloģisko lauksaimniecību, – tā saturs svārstījās no 0.06 līdz 1.73 g l<sup>-1</sup>.

IgM saturs piena paraugos būtiski atšķīrās (p>0.10) un bija lielāks par literatūrā minēto: 0.04–1.00 g l<sup>-1</sup> (Marnila, Korhonen, 2002). Svarīgi atzīmēt, ka bioloģiskajās saimniecībās turēto govju



3. att. Laktoferīna saturs dažādās lauksaimniecības sistēmās turēto govju pienā.  
 Fig. 3. The concentration of lactoferrin in cow's milk obtained in different agricultural systems.



4. att. Lizocīma saturs dažādās lauksaimniecības sistēmās turēto govju pienā.  
 Fig. 4. The concentration of lysozyme in cow's milk obtained in different agricultural systems.

pienā IgM saturs ( $1.65 \pm 0.07$ ) ir būtiski lielāks nekā konvencionālajā saimniecībā iegūtā pienā ( $1.23 \pm 0.14$ ).

Laktoferīns pienā atrodas vienmēr, tā koncentrācija būtiski palielinās dzīvniekiem ar mazāku piena izslaukumu vai ar tesmeņa iekaisumu (Schanbacher et al., 1993; Kociņa u.c., 2005). Vidējais laktoferīna saturs analizētajos piena paraugos ir parādīts 3. attēlā.

Laktoferīna saturs būtiski atšķiras ( $p < 0.05$ ) dažādās lauksaimniecības sistēmās turēto govju piena

paraugos. Bioloģiskajā saimniecībā turēto govju pienā laktoferīna saturs ( $0.034 \pm 0.001$  g l<sup>-1</sup>) bija 1.5 reizes lielāks nekā konvencionālajā saimniecībā turēto govju pienā ( $0.022 \pm 0.001$  g l<sup>-1</sup>). Neatkarīgi no praktizētās lauksaimniecības sistēmas laktoferīna saturs iekļāvās literatūrā dotajās robežās – 0.02–0.35 g l<sup>-1</sup> (Dairy processing, 2003). Laktoferīns inhibē baktērijas, kuru vairošanai un eksistencei ir nepieciešamas augstas dzelzs jonu koncentrācijas – koliformas un citas. Ievērojamā laktoferīna

koncentrācija bioloģiskajās saimniecībās iegūtā pienā norāda uz potenciālā antimikrobiālā aģenta lomu izejvielā.

Iegūtie dati par vidējo lizocīma saturu piena paraugos ir doti 4. attēlā. Lizocīma saturs bioloģiskajās saimniecībās iegūtā pienā, salīdzinot ar konvencionālajās saimniecībās iegūto, ir lielāks, tomēr statistiski būtiskas atšķirības netika konstatētas ( $p > 0.05$ ). Vidējais lizocīma saturs piena paraugos, kas iegūti atšķirīgās lauksaimniecības sistēmās, iekļāvās literatūrā dotajās robežās. Lizocīma saturs ir nozīmīgs piena kvalitātes rādītājs, kas ietekmē piena uzglabāšanas ilgumu un piena pārstrādes procesus. Lizocīms ir samērā termostabils, 75% no lizocīma aktivitātes saglabājas, karsējot pienu 75 °C 15 min. vai 80 °C 15 s (Farkey, 2002). Tas nozīmē, ka arī termiski apstrādātā pienā šī enzīma koncentrācija ir pietiekama, lai ierobežotu mikroorganismu attīstību un veicinātu produkta kvalitātes saglabāšanos. Iegūtie pētījumu rezultāti parādīja, ka bioloģiskajās saimniecībās iegūtā pienā ir ievērojams lizocīma saturs, kas kā antimikrobiāla viela zināmu laiku spēj nodrošināt piena kvalitātes saglabāšanos.

Mainoties lauksaimniecības sistēmai no konvencionālās uz bioloģisko, mainās dzīvnieka turēšanas apstākļi: govys jebkurā laikā var tikt klāt barībai un ūdenim, tiek praktizēta brīvā turēšana. Gan bioloģiskajā, gan konvencionālajā lauksaimniecībā praktizē dzīvnieku imunitātes celšanu, atšķirīgas ir tikai pielietotās metodes, ar kuru palīdzību lauksaimnieki to mēģina panākt. Konvencionālajā lauksaimniecībā praktizē dzīvnieku vakcinēšanu pret dažāda veida slimībām, savukārt bioloģiskajā lauksaimniecībā cenšas palielināt dzīvnieku nespecifisko imunitāti ar dabiskiem paņēmieniem. Tā rezultātā atšķiras arī baktericīdo vielu un antivielu saturs analizēto govys piena paraugos, kas turētas dažādās lauksaimniecības sistēmās.

Antivielu un baktericīdo vielu saturu pienā nevar novērtēt par zemu. Tās aizsargā ne tikai jaundzimušā organismu, bet kļūst saistošas arī piena produktu lietotājiem, ceļot organisma rezistenci pret infekcijām. No šī viedokļa raugoties, bioloģiskajā lauksaimniecībā turēto govju piena rezultāti jāvērtē tikai pozitīvi, jo tie pierāda, ka dzīvnieki paši cenšas pielāgoties ārējai videi.

## Secinājumi

1. IgA saturs ( $0.710 \pm 0.005$  g l<sup>-1</sup>) bioloģiskajās saimniecībās iegūtā pienā bija būtiski mazāks, savukārt IgM saturs ( $1.65 \pm 0.07$ ) bija būtiski lielāks nekā konvencionālajās saimniecībās iegūtā pienā.
2. Laktoferīna saturs ( $0.032 \pm 0.001$  g l<sup>-1</sup>) bioloģiskajās saimniecībās iegūtā pienā

bija būtiski lielāks nekā konvencionālajās saimniecībās iegūtā pienā.

3. Datu statistiskās apstrādes rezultāti neuzrāda būtiskas atšķirības lizocīma saturā konvencionālajās un bioloģiskajās saimniecībās iegūtā govju pienā, tomēr šeit iezīmējas tendence, ka lizocīma saturs pienā palielinās šādā secībā: konvencionālā → pārejas perioda → bioloģiskā saimniecībā.
4. Bioloģiskā lauksaimniecības sistēma veicina govys organisma pašregulācijas procesus, kas pierādās atšķirīgā laktoferīna un imunoglobulīnu saturā bioloģiskajās un konvencionālajās saimniecībās iegūtā pienā.

## Literatūra

1. Butler, J.E. (1986) Biochemistry and biology of ruminant immunoglobulins. *Progress in Veterinary Microbiology and Immunology*, 2, pp. 1-53.
2. Butler, J.E. (1994) Passive immunity and immunoglobulin diversity. In: *Indigenous Antimicrobial Agents of Milk – Recent Developments. IDF Special Issue 9404*, 4, pp. 14-50.
3. *Dairy processing*. (2003) Smit Gerrit (ed.). CRC Press, England, 532 pp.
4. Dionysius, D.A., Milne, J.M. (1997) Antibacterial Peptides of Bovine Lactoferrin: Purification and Characterization. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, 4, pp. 667-674.
5. Farkey, N.Y. (2002) Other Enzymes. In: *Encyclopedia of Dairy Science*, Vol. 3. Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (eds) Academic Press, Amsterdam, pp. 946-947.
6. Farrell, H.M., Jimenez-Flores, Jr.R., Bleck, G.T., Brown, E.M., Butler, J.E., Creamer, L.K., Hicks, C.L., Hollar, C.M., Ng-Kwai-Hang, K.F., Swaisgood, H.E. (2004) Nomenclature of the Proteins of Cows' Milk – Sixth Revision. *Journal of Dairy Science*, Vol. 84, 6, pp. 1641-1674.
7. Kociņa, I., Antāne, V., Lūsis, I. (2005) Immunoglobulins and Lactoferrin Concentration in Milk and Bacteria Causing Subclinical Mastitis in Dairy Cows. *Proceedings of the International Scientific Conference „Research for Rural Development 2005”*. LLU, Latvia, pp. 217-220.
8. Korhonen, H., Kaartinen, L. (1995) Changes in the composition of milk induced by mastitis. *The bovine udder and mastitis*. University of Helsinki, Helsinki, pp. 76-82.
9. Korhonen, H., Marnila, P., Gill, H.S. (2000) Milk immunoglobulins and complement factors. *British Journal of Nutrition*, Vol. 84, 1, pp. 75-80.

10. Korhonen, H., Marnila, P. (2002) Lactoferrin. In: *Encyclopedia of Dairy Science*. Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (eds), Academic Press, Amsterdam, Vol. 3, pp. 1946-1950.
11. Kreišmane, Dz., Žola, I., Šeļegovska, E., Vaivare, M. (2004) *Rokasgrāmata bioloģiskajā lauksaimniecībā*. Jumi, Rīga, 87 lpp.
12. Larson, B.L. (1992) Immunoglobulins of the mammary secretions. In: *Advanced Dairy Chemistry 1 – Proteins*. Elsevier Science Publishers, London, pp. 231-254.
13. Marnila, P., Korhonen, H. (2002) Immunoglobulins. In: *Encyclopedia of Dairy Science*, Vol. 3. Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (eds), Academic Press, Amsterdam, pp. 1950-1956.
14. McFadden, T.B., Besser, T.E., Barrington, G.M. (1997) Regulation of Immunoglobulin Transfer into Mammary Secretion of Ruminants. In: *Milk Composition, Production and Biotechnology*. Welch et al. (ed.), CAB International, New Zealand, pp. 133-151.
15. Schanbacher, F.O., Goodman, R.E., Talhouk, R.S. (1993) Bovine mammary lactoferrin: Implications from messenger ribonucleic acid (mRNA) sequence and regulation contrary to other milk proteins. *Journal of Dairy Science*, Vol. 76, 12, pp. 3812-3831.
16. Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., van Boekel, M.A.J.S. (1999) *Dairy Technology. Principles of Milk Properties and Processing*. New York: Basel: Marcel Dekker, pp. 709-727.
17. Горбатова, К. (1997) *Биохимия молока и молочных продуктов*. Колос, Москва, 287 стр.
18. Грант, Х., Яворковский, Л. И., Блумберга, И. А. (1973) Турбодиметрический способ количественного определения лизоцима с применением спектрофотометра СФУА. *Лабораторное дело*, 5, стр. 300-304.