

ABSTRACT

The aim of the study was to monitor changes in lactoferrin concentration in goat colostrum. Colostrum samples were obtained from 12 goats in two samplings: 2nd and 5th day after parturition by manual milking. Lactoferrin was determined using ion-pairing reverse-phase high-performance liquid chromatography (HPLC). HPLC determination was performed using an Alliance 2695 liquid chromatograph with a PDA 2996 detector (Waters, USA) and a Poroshell 300SB-C8, 2.1 x 75 mm, 5 µm column (Agilent, USA). On the 2nd day the average concentration of lactoferrin in colostrum was 643.59±320.21 mg/l, on the 5th day 492.28±221.41 mg/l. Differences between lactoferrin content in colostrum samples obtained 2nd and 5th day after parturition were not statistically significant.



Obr. č. 1 Kozí farma (Zdroj: https://www.kozizahrada.cz/images/cesta_color_ed.png)

ÚVOD

Kolostrum se tvoří v mléčné žláze krátce před porodem a bezprostředně po porodu. Dle literárních údajů je pravé kolostrum u koz produkováno prvních 24 hodin po porodu. K přeměně kolostra na zralé mléko dochází postupně od 2. dne do 5. dne po porodu, v tomto období je sekret mléčné žlázy považován za tzv. tranzitní mléko. Přejít kolostra ve zralé mléko je ukončen 5. den (Sánchez-Macías et al., 2014), maximálně 5-7 den po porodu (Raimondo et al., 2024). Vzhledem k typu placenty u koz (syndesmochoriální) průchod mateřských protilátek transplacentární cestou není během březosti možný. Kůzlata (podobně jako mláďata dalších přežvýkavců) se rodí agamaglobulinemická, po porodu je u kůzlat nezbytný dostatečný příjem kvalitního kolostra pro zajištění pasivní imunity (Övet, 2023).

Imunologická kvalita kolostra je velmi variabilní a je ovlivněna řadou faktorů (individualita zvířete, plemenná příslušnost, pořadí laktace, objem nadojeného mleziva, interval mezi porodem a dojením, délka období stání na sucho, zdravotní stav zvířete aj.) (Staněk et al., 2018). Složení kolostra je unikátní. Z hlediska obsahu nutričních složek kolostrum obsahuje méně laktózy, více tuku, bílkovin, peptidů, nebílkovinných dusíkatých látek, sušiny, vitaminů a minerálních látek. Kolostrum představuje bohatý zdroj bioaktivních složek – imunoglobulinů, buněčných elementů, enzymů, laktoferinu, lysozymu, cytokinů, růstových faktorů a hormonů. Hladina nutričních a bioaktivních složek je ve zvýšené koncentraci během 72 hod. po porodu, s postupujícím časem se jejich hladina snižuje. Složení kolostra závisí na řadě faktorů – stadiu laktace, pořadí laktace, plemeno, environmentální stres, období stání na sucho, genetické faktory, období porodu aj. (Mehra et al., 2021, Kumar et al., 2016). Důležitou úlohu v ochraně kůzlat proti infekcím v období před rozvojem pasivní imunity plní nespecifické ochranné faktory, jedním z těchto faktorů je laktoferin.

Laktoferin je kationtový glykoprotein vázající železo, disponuje antibakteriální, antivirovou a antiparazitární aktivitou. LF podporuje proliferaci, diferenciaci a aktivaci buněk imunitního systému a posiluje imunitní odpověď. Působí také jako protizánětlivý faktor (Adlerová et al., 2008). Z literárních údajů vyplývá, že v kolostru je koncentrace LF vyšší a následně dochází denně k jejímu postupnému snižování, dokud nedosáhne fyziologické hodnoty zralého mléka.

Cílem studie bylo sledování změn koncentrace laktoferinu ve vzorcích kolostra koz získaných 2. a 5. den po porodu.

MATERIÁL A METODIKA

Materiál

Odběr vzorků byl uskutečněn na malé rodinné farmě zaměřené na chov koz s produkcí syrového mléka v okrese Brno-město. Vzorky mleziva byly získány ručním dojením u vybraného souboru 12 koz v různém pořadí laktace (2. – 10. laktace). Vzorky mleziva byly odebrány 2. a 5. den po porodu. Po nadojení byly vzorky zchlazeny a přepraveny při teplotě 4-6 °C do laboratoře. Do vyšetření byly uchovávány v chladničce při teplotě 4-6 °C.

Metodika

Laktoferin byl stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi s iontově párovacím činidlem (HPLC). Příprava vzorků před vlastním stanovením zahrnovala odstředění mléka (odstředivka Hermle Z 326 K, Hermle Labortechnik, Německo) s následným mechanickým odstraněním tukové frakce. Odstředěné mléko bylo vysráženo pomocí 10% kyseliny octové do pH 4,6 s kontinuální kontrolou pH (pH metr Hanna pH 211, Hanna Instruments, Rumunsko). Vysrážený vzorek byl odstředěn (odstředivka Hettich EBA 20, Hettich, Německo) a oddělená syrovátka byla přefiltrována přes nylonový membránový filtr (0,22 µm) do chromatografických vialek. HPLC stanovení proběhlo pomocí kapalinové chromatografie Alliance 2695 s PDA 2996 detektorem (Waters, USA) a kolonou Poroshell 300SB-C8, 2,1 x 75 mm, 5 µm (Agilent, USA). Mobilní fáze byla složena z vody, acetonitrilu a kyseliny trifluoroctové. Bylo použito gradientové eluce a průtok mobilní fáze byl 1,0 ml.min⁻¹ při teplotě kolony 50 °C. Analyty byly detekovány při 205 nm. Mez detekce pro laktoferin byla 1,5 mg/l. Pro sběr a vyhodnocování dat a chod kapalinového chromatografu byl použit software Empower 2 (Waters, USA). Kvantifikace laktoferinu byla provedena metodou vnějšího standardu s využitím standardu laktoferinu z kravského mléka (Sigma Aldrich, USA). Statistické hodnocení výsledků bylo provedeno za použití F-testu a párového t-testu v programu Unistat 6.5 (Unistat, Velká Británie).

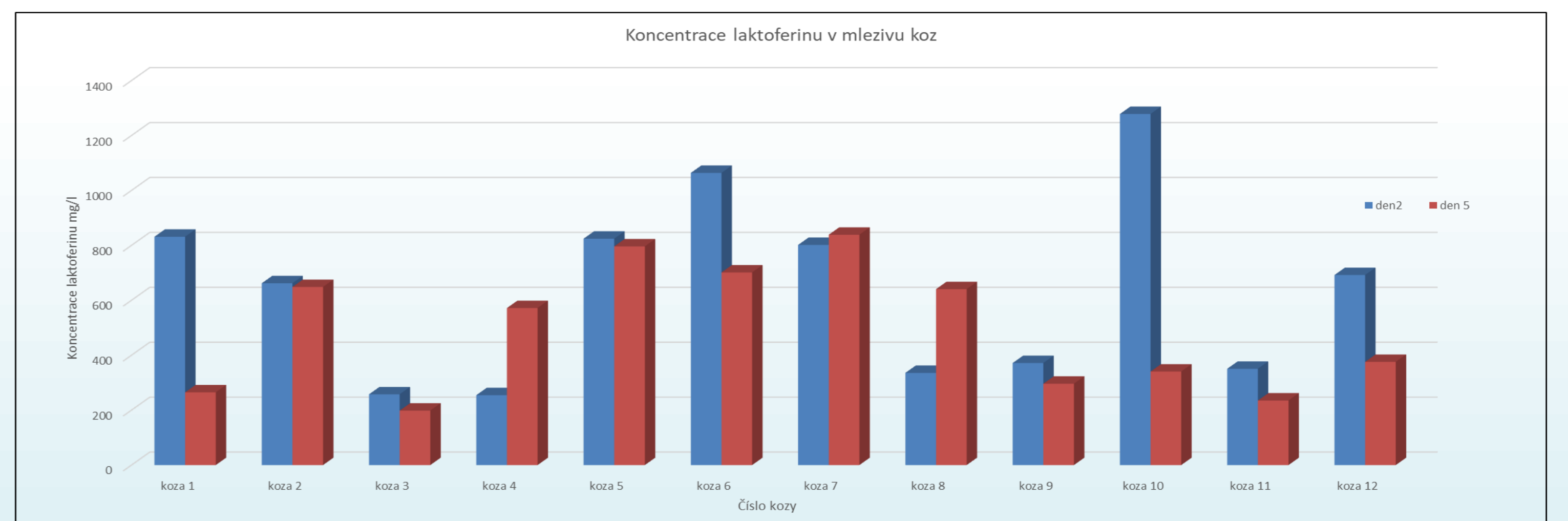
VÝSLEDKY A DISKUSE

Průměrné koncentrace laktoferinu v analyzovaných vzorcích kolostra 2. a 5. den po porodu ukazuje tabulka č.1. Stanovené koncentrace laktoferinu v odebraných vzorcích v kolostrálním období nejsou v souladu s dostupnými literárními údaji. Rachman et al. (2015) srovnávali koncentraci laktoferinu v mlezivu a mléce tří plemen koz v období od 1. do 8. dne po porodu. Autoři zjistili nejvyšší průměrné hodnoty laktoferinu 1. a 2. den po porodu, 3. den došlo k statisticky významnému poklesu hodnot (o 68-69 %). Druhý den byla naměřena koncentrace laktoferinu u koz plemene Peranakan Etawah 154,82±53,92 mg/l, u koz plemene Jawarandu 205,83±32,30 mg/l a u kříženců 204,83±32,30 mg/l. Pátý den byla nejvyšší hladina laktoferinu u koz plemene Jawarandu 48,45±12,60 mg/l. Autoři potvrdili, že plemeno i stadium laktace statisticky významně ovlivňují hladinu laktoferinu v mlezivu a ve zralém mléce koz. Hodnoty laktoferinu v citované studii Rachman et al. (2015) jsou v porovnání s výsledky prezentované studie nižší. Další studie naopak uvádí mnohem vyšší koncentrace laktoferinu v kolostru. Studie publikovaná autory Raimondo et al. (2024) popisuje změny ve složení proteinové frakce mleziva a zralého mléka u plemene Sánská koza v období do 30. dne po porodu. Kromě analýzy dalších proteinů se autoři zaměřili i na koncentraci laktoferinu, průměrná koncentrace laktoferinu byla 2. den po porodu 1330,0±800,0 mg/l, 5. den 1120,0±340,0 mg/l.

Tabulka 1: Koncentrace laktoferinu v kolostru koz 2. a 5. den po porodu

	Koncentrace laktoferinu mg/l	
	2. den	5. den
Počet vzorků (n)	12	12
Aritmetický průměr	643,59	492,28
Směrodatná odchylka (SD)	320,21	221,41
Minimální hodnota	254,38	198,28
Maximální hodnota	1278,41	838,69

Graf 1 Koncentrace laktoferinu v individuálních vzorcích koz 2. a 5. den po porodu



Z minimálních a maximálních hodnot v tabulce č. 1 dále vyplývá, že stanovené koncentrace laktoferinu u individuálních vzorců se pohybovaly v širokém rozmezí hodnot jak ve 2. dni, tak i v 5. dni po porodu. U většiny koz byla koncentrace laktoferinu 5. den po porodu nižší, v porovnání s 2. dnem odběru (Graf č.1). Statistickou analýzou však nebyly prokázány statisticky významné rozdíly (p>0,05) mezi obsahem laktoferinu ve vzorcích mleziva získaných 2. a 5. den po porodu. U tří koz (kozy č. 4, 7 a 8) byly koncentrace laktoferinu v individuálních vzorcích odebraných 5. den po porodu naopak vyšší. Rachman et al. (2015) sice konstatovali, že koncentrace laktoferinu vykazovaly od 2. do 8. dne viditelný pokles, ale u plemene Jawarandu byla 6. den po porodu zaznamenána vyšší průměrná hodnota laktoferinu než 5. den, poté hodnota opět klesala. Rachman et al. (2008) prokázali vliv stadia laktace a plemene na koncentraci laktoferinu.

ZÁVĚR

Rozdílné koncentrace laktoferinu v kolostrálním období koz v porovnání s literárními údaji a jejich variabilita v individuálních vzorcích potvrdily, že složení kolostra je ovlivněno řadou faktorů – stadiem laktace, pořadím laktace, plemenem, environmentálním stresem, obdobím stání na sucho, genetickými faktory, obdobím porodu, zdravotním stavem aj.

LITERATURA

- Adlerova, L., Bartoskova, A., Faldyna, M. 2008. Lactoferrin: a review. Veterinarni Medicina, vol. 53, pp. 457-468.
- Kumar, H., Yadav, D., Kumar, N. 2016. Nutritional and nutraceutical properties of goat milk: a review. Indian Journal of Dairy Science, vol. 69, pp. 513-518.
- Mehra, R., Sangwan K., Garhwal, R. 2021. Composition and therapeutic applications of goat milk and colostrum. Research & reviews. Journal of Dairy Science & Technology. vol. 10, pp. 1-7.
- Övet, C. 2023. Cytokines and growth factors in goat colostrum: a short review. Journal of Bahri Dagdas Animal Research, vol. 12, pp. 87-95.
- Raimondo, R.F.S., Miyashiro S.I., Birgel Junior, E.H. 2024. Whey protein dynamics in goat mammary secretions during colostrum and early lactation periods. Journal of Dairy Research, vol. 91, issue 1, pp. 84-88.
- Sánchez-Macías, D., Moreno-Indias, I., Castro, A., Morales-delaNuez, N., Argüello, A. 2014. From goat colostrum to milk: Physical, chemical, and immune evolution from partum to 90 days postpartum. Journal of Dairy Science, vol 97, pp. 10-16.
- Staněk, S., Šlosárková, S., Fleischer, P., Nejedlá, E., Krejčí, J., Zouharová, M. 2018. Ziskávání kvalitního mleziva na farmě a jeho kontrola. Brno: Výzkumný ústav veterinárního lékařství. ISBN 978-80-88233-49-7.

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za finanční podpory projektu NAZV QK21010326.