

ОСОБЛИВОСТІ МОЛОКА КІЗ ЗА ЕЛЕКТРОННОЇ СКАНУЮЧОЇ МІКРОСКОПІЇ

Зажарська Н. М.*Дніпровський державний аграрно-економічний університет,
Дніпро, Україна, e-mail: zazharskayan@gmail.com***Фотіна Т. І.***Сумський національний аграрний університет, Суми, Україна*

Якісну і безпечну молочну продукцію можна отримати тільки від здорових кіз. Основним показником безпечності молока є кількість соматичних клітин. Порівняно з пороговим значенням для корів, кількість соматичних клітин в молоці кіз вища і більше залежить від фізіологічних факторів — таких, як кількість лактацій, стадія лактації та сезон. За апокринного типу секреції молока, що характерно для кіз, від клітин не просто відокремлюються окремі компоненти, а відривається значна частина цитоплазми з периферичною мембраною. Завданням дослідження було виявлення особливості компонентів молока кіз за електронної скануючої мікроскопії. Аналіз молока кіз методом електронної скануючої мікроскопії проводили з використанням растрового електронного мікроскопа, оснащеного камерою низького вакууму і системою рентгенівського мікроаналізу REM-106I («Selmi», Україна) у лабораторії електронної мікроскопії Сумського національного аграрного університету. У зразках молока кіз під час спостереження за допомогою растрового електронного мікроскопа було виявлено жирові кульки, білкові міцели, соматичні клітини, еритроцити. Під час детального аналізу виявлено, що клітини мають щільну консистенцію та чітко виражені межі

Ключові слова: *якість, безпечність, растровий електронний мікроскоп, соматичні клітини, жир*

За останні 20 років виробництво продукції з козячого молока — це галузь сільського господарства США, що найшвидше розвивається. Поряд з тим, відмічено дуже мало інформації про управління якістю молока кіз. Незважаючи на глобальну важливість козівництва, існує критична нестача ліків, спеціально схвалених для лікування захворювань у кіз. Обмежена доступність видоспецифічних ветеринарних фармацевтичних препаратів призвела до широкого використання препаратів для великої рогатої худоби поза затвердженими показаннями, що викликає занепокоєння щодо їхньої ефективності, безпеки та відповідних періодів виведення для кіз, а також існують видоспецифічні фізіологічні відмінності, такі як вища кількість соматичних клітин та схильність до глибоких інфекцій у кіз [1–3]. Як сировина для молочних продуктів, козяче молоко має бути безпечним для споживання людиною. Кількість мезофільних мікроорганізмів, соматичних клітин та окремих збудників маститу повинна бути обмежена. Передумовою для виробництва молока високої гігієнічної якості є здоров'я молочної залози [4–6].

Мастит — це дороговартісне захворювання, яке уражує молочних жуйних тварин у всьому світі. Підрахунок соматичних клітин є найпоширенішим інструментом для моніторингу здоров'я вимені, але у кіз на нього значно впливають неінфекційні фактори [7–9]. Підрахунок соматичних клітин та каліфорнійський тест на мастит є поширеними діагностичними тестами для виявлення субклінічного маститу, але їхня надійність сумнівна через ширший спектр соматичних клітин у козячому молоці [10–12]. Зміни кількості соматичних клітин у козячому молоці досліджують на рівні експресії генів під час ранньої реакції молочної залози кіз на експериментальне зараження *S. aureus* [13]. Зусилля деяких вчених спрямовані на використання мінеральних, вітамінних, морських жирів та рослинних ефірних олійних добавок, а також деяких побічних продуктів сільськогосподарської промисловості на зниження кількості соматичних клітин у молоці кіз [14].

Метою роботи було виявити особливості компонентів молока кіз за електронної скануючої мікроскопії.

Матеріали та методи. Аналіз молока кіз методом електронної скануючої мікроскопії [15–17] проводили з використанням растрового електронного мікроскопа, оснащеного камерою низького вакууму і системою рентгенівського мікроаналізу PEM-106I («Selmi», Україна) у лабораторії електронної мікроскопії Сумського НАУ.

Молоко кіз центрифугували за 3 000 об./хв протягом 5–7 хв з метою одержання концентрованого осаду соматичних клітин. Надосадову рідину видаляли, після чого до осаду додавали фіксатор — глутаральдегід у фосфатному буфері. Потім проводили ресуспендування проб та повторне центрифугування. Зазначену процедуру виконували тричі з метою підвищення чистоти клітинного матеріалу. Отриманий осад соматичних клітин відмивали фосфатним буфером для видалення залишків фіксатора, після чого проводили етап дегідратації в градієнтній серії розчинів етилового спирту (30 %, 50 %, 75 %, 95 %, 100 % — по 15 хв кожен, потім 100 % спирт — 1 год). Після зневоднення проб в абсолютному спирті та подальшого центрифугування, дослідні зразки наносили на поверхню вуглецевої стрічки та висушували на повітрі. Для забезпечення електропровідності на поверхню зразків наносили тонкий шар срібла методом напилення в установці ВВП-5 при вакуумі близько 10^{-5} мм рт. ст. Підготовлені зразки (рис. 1) поміщали в камеру електронного растрового мікроскопа і проводили морфологічний аналіз клітин [18, 19].



Рис. 1. Підготовлені зразки з тонким шаром срібла.

Результати. На рис. 2 представлений знімок скануючої електронної мікроскопії молока кіз.

Внизу знімку скануючої електронної мікроскопії знаходяться наступні позначки (рис. 2):

WD = 13.6 mm — *Working Distance* — робоча відстань між об'єктом і нижнім краєм об'єктивної лінзи електронного мікроскопа. Відстань впливає на глибину різкості та роздільну здатність.

20.00 kV — прискорююча напруга електронного пучка — 20 кіловольт. Чим вища напруга, тим більша проникна здатність електронів і кращий сигнал від внутрішніх структур

x4.00k — кратність збільшення — 4000 разів.

Праворуч показана масштабна мітка і її довжина (10 мкм).

На рис. 2 спостерігаються округлі структури різного розміру, які відповідають жировим кулькам молока. Їх поверхня гладка, іноді злегка деформована, що є типовим при висушуванні та підготовці зразка до скануючої електронної мікроскопії. Між жировими кульками визначаються менші частинки — міцели казеїну.

На рис. 3 присутня соматична клітина молока: видно одну велику сферичну структуру високої електронної щільності зі складчастою поверхнею.

Структурні характеристики: щільне, компактне ядро майже сферичної форми, чітко виражена ядерна оболонка, невеликі випинання на поверхні оболонки, округла форма з добре визначеними межами.

Растрова мікроскопія передбачає застосування внутрішнього «електронного штангенциркуля» мікроскопа, за допомогою якого визначаються лінійні розміри об'єктів, відносна похибка 4 %.

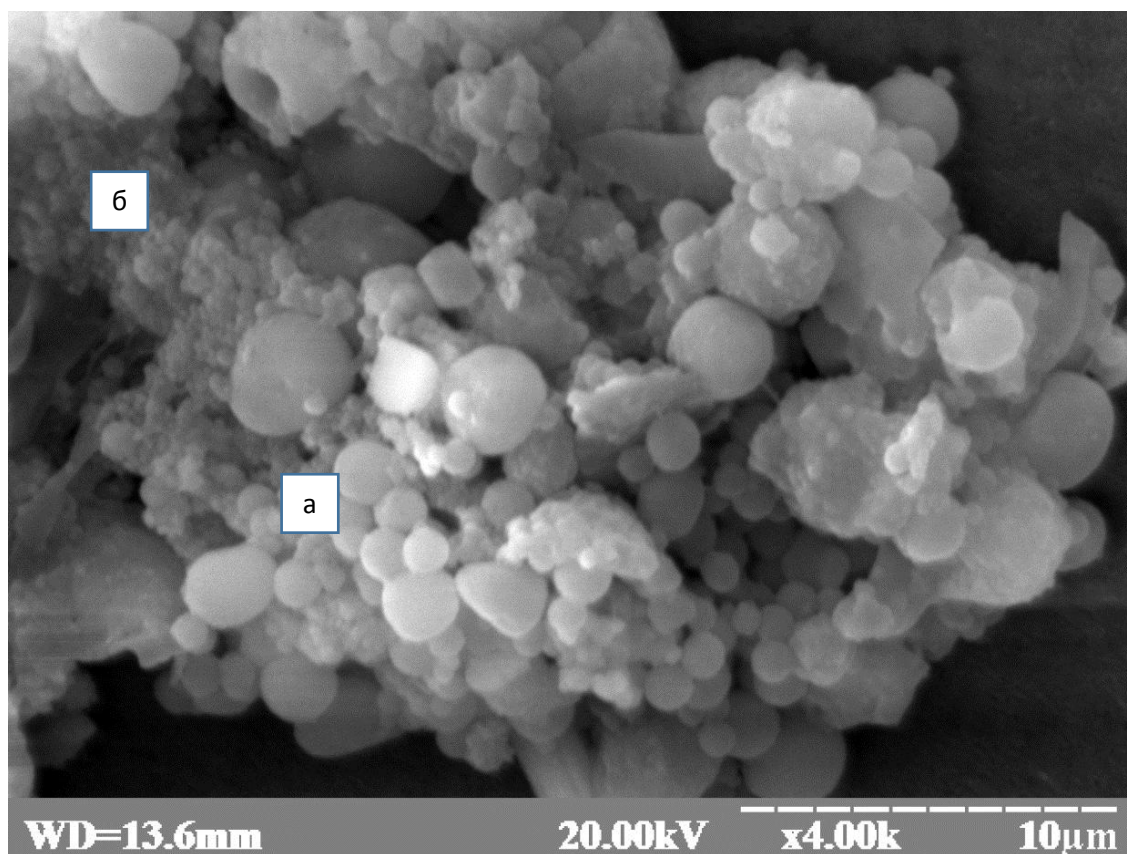


Рис. 2. Козяче молоко (растровий електронний мікроскоп, $\times 4000$): а — жирові кульки, б — міцели казеїну.

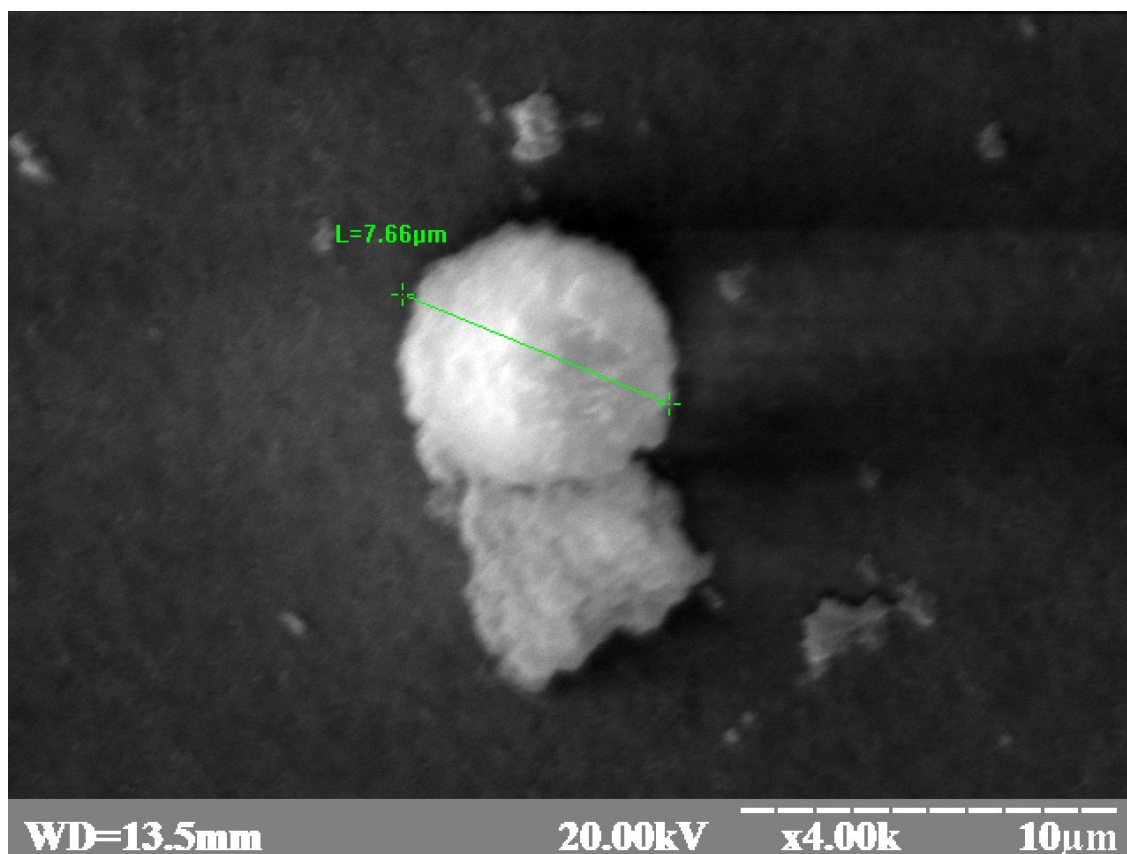


Рис. 3. Великий лімфоцит у козячому молоці (растровий електронний мікроскоп, $\times 4000$).

Соматична клітина ідентифікована як лімфоцит великого розміру із щільним, округлим ядром (діаметр 7,66 мкм). Ядро оточене чітко вираженою оболонкою, на поверхні якої видно невеликі випинання.

На фото скануючої електронної мікроскопії козячого молока ідентифікований еритроцит (рис. 4): трикутна форма і наявність центральної ямки, гладка поверхня з однорідною текстурою, характерна біконкавна форма — увігнута з обох боків, розмір — приблизно 6–7 мкм в діаметрі.

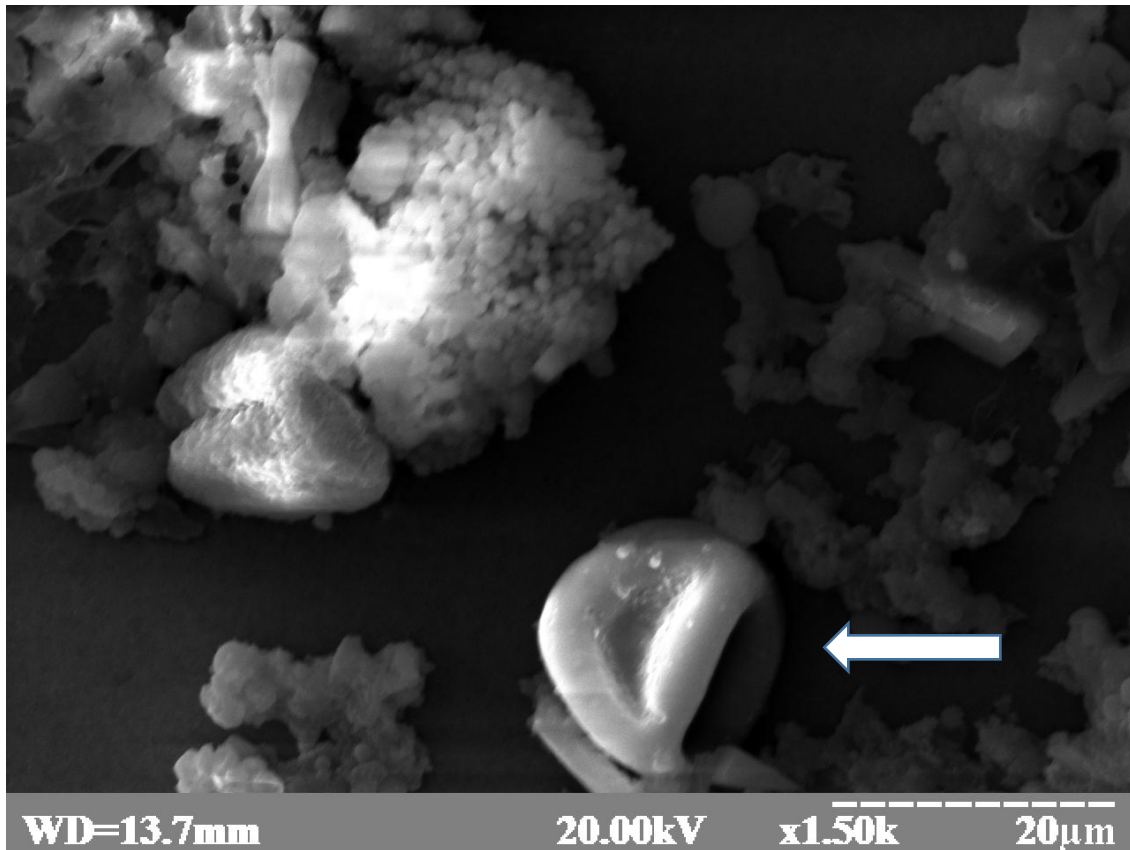


Рис. 4. Еритроцит у козячому молоці (растровий електронний мікроскоп, $\times 1500$).

Морфологія повністю відповідає еритроциту ссавців — характерна двовгнута форма є діагностичною ознакою.

Еритроцит з'явився у молоці з причини мікротравми судин молочної залози або запального процесу.

Обговорення. Секреція молока у кіз апокринного типу означає, що молочні залози виділяють молоко шляхом відриву апікальної (верхньої) частини епітеліальних клітин, які знаходяться всередині альвеол, а не шляхом цілої клітини чи тільки її компонентів. Цей процес призводить до вивільнення у просвіт альвеол округлих частинок молока розміром від 5 до 30 мкм, які потім виходять у молочні протоки. Частинки, що вивільняються, мають округлу форму і значний розмір (до 30 мкм).

Кози мають апокринну секреторну систему, через що в молоці багато цитоплазматичних клітинних частинок та велика кількість клітинних фрагментів, що призводить до перевищення фізіологічного ліміту кількості соматичних клітин [20, 21].

Європейські нормативи встановлюють конкретні ліміти кількості соматичних клітин для коров'ячого молока, оскільки вони є чітко встановленим показником здоров'я вимені, але не мають таких критеріїв для козячого або овечого молока. Виявлений позитивний зв'язок між кількістю соматичних клітин та загальною кількістю бактерій з кількістю лактацій, що вказує на порушення епітеліальної тканини вимені, а також на більшу схильність до бактеріальних інфекцій у старших кіз [22, 23].

Наразі немає встановлених порогових значень для кількості соматичних клітин у молоці кіз на законодавчому рівні. У США встановлено максимальне обмеження 1000×10^3 клітин/мл для козячого молока. Kaskous et al. вважає цей поріг занадто високим і за результатами власних досліджень пропонує 750×10^3 клітин/мл для молока кіз. Варто зазначити, що цей запропонований високий поріг кількості соматичних клітин у козячому молоці зумовлений високою концентрацією цитоплазматичних частинок [24].

Smistad et al. виявили значну варіабельність показника соматичних клітин, пов'язану з фізіологічними факторами, що вказує на те, що пороговим значенням для виявлення інфікованих кіз має бути динамічний поріг, скоригований залежно від кількості лактацій, стадії лактації та сезону [25].

За власними результатами скануюча електронна мікроскопія дозволяє чітко ідентифікувати складові козиного молока, в тому числі і соматичні клітини. Скануючу електрохімічну мікроскопію Kasai et al. [20] використали для створення чіпу для виявлення соматичних клітин у коров'ячому молоці. Зв'язок між підвищеною кількістю соматичних клітин у сирому коров'ячому молоці та розміром міцел казеїну досліджували за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії. Результати показали, що збільшення кількості соматичних клітин призводить до зменшення розміру міцел казеїну зі збільшенням їх агрегації [26].

Висновок. У зразках молока кіз під час спостереження за допомогою растрового електронного мікроскопа було виявлено жирові кульки, білкові міцели, соматичні клітини, еритроцит. При детальному аналізі виявлено, що клітини мають щільну консистенцію та чітко виражені межі.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується порівняти соматичні клітини молока здорових кіз і тварин з субклінічним маститом.

Список літератури

1. Gorden P. J. Mastitis in ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 2025. Vol. 41, No. 2. P. i. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0749-0720\(25\)00028-3](https://doi.org/10.1016/s0749-0720(25)00028-3).
2. Lima M. C., Polveiro R. C., Schwarz D. G. G., Moreira A. J. S., Espescheit Braga I. de F., de Barros M., Ribeiro Filho J. D., Scatamburlo Moreira M. A. Conventional and alternative treatment of mastitis in dairy goats. *Small Ruminant Research*. 2025. Vol. 247. P. 107500. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2025.107500>.
3. Фотіна Т. І., Зажарська Н. М., Костюченко В. Ю. Вплив засобів для доїння на санітарну якість козиного молока. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2015. Вип. 7, № 37. С. 59–65.
4. Rychtarova J., Krupova Z., Brzakova M., Borkov M., Elich O., Dragounova H., Seydlova R., Sztankova Z. Milk quality, somatic cell count, and economics of dairy goats farm in the Czech Republic. *Goat science — environment, health and economy [working title]*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.97509>.
5. Gancárová B., Tvarožková K., Oravcová M., Uhrinčat M., Mačuhová L., Vašíček D., Černek L., Tančin V. Somatic cell count and presence of microbial pathogens in milk of goats in Slovakia. *Journal of Dairy Research*. 2025. Vol. 92, No. 1. P. 78–80. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0022029925000354>.
6. Borovuk I., Zazharska N. Evaluation of broiler meat in experimental listeriosis. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*. 2022. Vol. 9, No. 1. P. 155. DOI: <https://doi.org/10.5455/javar.2022.i580>.
7. Smistad M., Inglingstad R. A., Vatne M. K., Franklin F. V., Hansen B. G., Skeie S., Porcellato D. Somatic cell count in dairy goats II: udder health monitoring at goat and herd level. *BMC Veterinary Research*. 2025. Vol. 21, No. 1. P. 157. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-025-04556-8>.
8. Sklyarov P., Fedorenko S., Naumenko S., Antonenko P., Zazharskyi V., Mylostyvyi R., Zazharska N. Oxidant/Antioxidant balance in cows and sheep in antenatal pathology. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2020. Vol. 10, No. 5. P. 26–28. DOI: https://doi.org/10.15421/2020_201.
9. Melnychuk V., Yevstafieva V., Bilan M., Zazharskyi V., Zazharska N., Davydenko P., Shapran I., Slynko V. Impact of military actions on the epizootic situation with the spread of rabies in animals in Kherson Oblast. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2024. Vol. 15, No. 4. P. 939–944. DOI: <https://doi.org/10.15421/0224137>.
10. Tibebu A., Teshome Y., Tamrat H., Bahiru A. Isolated scaphoid dislocation and repair of the scapholunate ligament in acute trauma: a case report. *Trauma Case Reports*. 2025. Vol. 55. P. 101131. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tcr.2025.101131>.
11. Зажарська Н. М. Порівняльна характеристика коров'ячого і козиного молока за даними лабораторії LILCO. *Науковий вісник Національного університету і природокористування України*. 2016. Вип. 237. С. 297–308. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvnau_vet_2016_237_38.
12. Зажарська Н. М., Прядка О. В. Вплив періоду лактації, часу надою, сезону на кількість соматичних клітин молока корів. *Науково-технічний бюлетень НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК*. 2015. Вип. 3, No 1. С. 107–112. URL: <http://biosafety-center.com/2015-t-3-№1>.
13. Cremonesi P., Capoferri R., Pisoni G., Del Corvo M., Strozzi F., Rupp R., Caillat H., Modesto P., Moroni P., Williams J. L., Castiglioni B., Stella A. Response of the goat mammary gland to infection with *Staphylococcus*

- aureus* revealed by gene expression profiling in milk somatic and white blood cells. *BMC Genomics*. 2012. Vol. 13, No. 1. P. 540. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-540>.
14. Nudda A., Carta S., Battaccone G., Pulina G. Feeding and nutritional factors that affect somatic cell counts in milk of sheep and goats. *Veterinary Sciences*. 2023. Vol. 10, No. 7. P. 454. DOI: <https://doi.org/10.3390/vetsci10070454>.
 15. Nowak B., Pajak J., Karcz J. Biodegradation of pre-aged modified polyethylene films. *Scanning Electron Microscopy*. 2012. DOI: <https://doi.org/10.5772/35128>.
 16. Karcz J., Bernas T., Nowak A., Talik E., Woznica A. Application of lyophilization to prepare the nitrifying bacterial biofilm for imaging with scanning electron microscopy. *Scanning*. 2011. Vol. 34, No. 1. P. 26–36. DOI: <https://doi.org/10.1002/sca.20275>.
 17. Woodward J. D., Wepf R. A. Three-dimensional field-emission scanning electron microscopy as a tool for structural biology. *Biological Field Emission Scanning Electron Microscopy*. Chichester, UK, 2019. P. 567–587. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118663233.ch27>.
 18. Walther P., Schmid C., Sailer M., Höhn K. Is the scanning mode the future of electron microscopy in cell biology? *Scanning Electron Microscopy for the Life Sciences* / ed. by H. Schatten. Cambridge. P. 71–82. DOI: <https://doi.org/10.1017/cbo9781139018173.006>.
 19. White K. *Electron Microscopy: Methods and Protocols* (3rd Ed.). John Kuo (Ed.). Humana Press, Totowa, NJ, 2014, 799 pages. ISBN: 978-1627037754. *Microscopy and Microanalysis*. 2014. Vol. 20, No. 5. P. 1624. DOI: <https://doi.org/10.1017/s143192761401321x>.
 20. Kasai S., Prasad A., Kumagai R., Takanohashi K. Scanning electrochemical microscopy-somatic cell count as a method for diagnosis of bovine mastitis. *Biology*. 2022. Vol. 11, No. 4. P. 549. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology11040549>.
 21. Fotina T., Fotina H., Ladyka V., Ladyka L., Zazharska N. Monitoring research of somatic cells count in goat milk in the eastern region of Ukraine. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. 2018. Vol. 69, No. 3. P. 1101. DOI: <https://doi.org/10.12681/jhvms.18882>.
 22. Salomone-Caballero M., Fresno M., Álvarez S., Torres A. Effects of parity and somatic cell count threshold on udder morphology, milkability traits, and milk quality in Canarian goats. *Animals*. 2024. Vol. 14, No. 9. P. 1262. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani14091262>.
 23. Зажарська Н. М., Самойленко Ю. В. Хімічні та імунологічні показники козиного молозива та молока залежно від періоду лактації. *Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету*. 2016. Вип. 2, № 40. С. 70–75.
 24. Kaskous S., Farschtschi S., Pfaffl M. W. Physiological aspects of milk somatic cell count in small ruminants — A review. *Dairy*. 2022. Vol. 4, No. 1. P. 26–42. DOI: <https://doi.org/10.3390/dairy4010002>.
 25. Smistad M., Sølværd L., Inglingstad R. A., Østerås O. Distribution of somatic cell count and udder pathogens in Norwegian dairy goats. *Journal of Dairy Science*. 2021. Vol. 104, Issue 11. P. 11878–11888. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20549>.
 26. Moslehishad M., Ezzatpanah H. Transmission electron microscopy study of casein micelle in raw milk with different somatic cell count levels. *International Journal of Food Properties*. 2010. Vol. 13, No. 3. P. 546–552. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942910802713156>.

FEATURES OF GOAT MILK BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

Zazharska N. M.

Dnipro State Agrarian and Economic University, Dnipro, Ukraine

Fotina T. I.

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

High-quality and safe dairy products can only be obtained from healthy goats. The main indicator of milk safety is the somatic cell count. Compared to the threshold value for cows, the number of somatic cells in goat milk is higher and depends more on physiological factors, such as parity, lactation stage, and season. With the apocrine type of milk secretion, which is typical for goats, individual components are not simply separated from the cells, but a significant part of the cytoplasm with a peripheral membrane is detached. The task of the study was to identify the features of goat milk components by scanning electron microscopy. Goat milk analysis by scanning electron microscopy was carried out using a scanning electron microscope equipped with a low vacuum chamber and a REM-106I X-ray microanalysis system ("Selmi", Ukraine) in the electron microscopy laboratory of Sumy National Agrarian University. During observation using a scanning electron microscope, fat globules, protein micelles, somatic cells, and erythrocytes were detected in goat milk samples. Detailed analysis revealed that the cells have a dense consistency and clearly defined boundaries

Keywords: *quality, safety, scanning electron microscope, somatic cells, fat*