УДК 637.074

Кочетова Г. С.
молодший науковий співробітник,
Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики
та ветеринарно-санітарної експертизи
Київ, Україна
E-mail: *kochetovag@ukr.net*
ORCID: *0000-0003-3234-1355*

Салата В. З.
доктор ветеринарних наук, професор,
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького
Львів, Україна
E-mail: *salatavolod@ukr.net*
ORCID: *0000-0002-9713-0746*

Кухтин М. Д.
доктор ветеринарних наук, професор,
Тернопільський національний технічний університет імені І. Пулюя
Тернопіль, Україна
E-mail: *kuchtynnic@gmail.com*
ORCID: *0000-0002-0195-0767*

Горюк Ю. В.
кандидат ветеринарних наук, доцент,
Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»
Кам'янець-Подільський, Україна
E-mail: *goruky@ukr.net*
ORCID: *0000-0002-7162-8992*

Рогальський І. О.
кандидат медичних наук, доцент,
Державна служба України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів
E-mail: *goruky@ukr.net*
ORCID: *0000-0001-7577-4498*

ОЦІНКА МОЛОКА-СИРОВИНИ ЗА ВМІСТОМ 17*β*-ЕСТРАДІОЛУ

Анотація

З огляду на роль молока та молочних продуктів у харчуванні людини, оцінка якості та безпечності даних продуктів має виняткове значення. У молоці виявляють естрогенні гормони природного походження: 17β-естрадіол, 17α-естрадіол, естріол і естрон, серед них 17β-естрадіол потенційно найсильніший. Саме з надмірною кількістю 17β-естрадіолу у продуктах тваринного походження пов'язують розвиток деяких онкологічних захворювань і репродуктивні розлади у споживачів. На основі результатів власних досліджень і літературних даних науково обґрунтовано безпечну кількість 17β-естрадіолу в молоці сирому, яке беруть на переробку, та запропоновано методологію його визначення. Вміст 17β-естрадіолу визначали методом імуноферментного аналізу. Найбільша концентрація 17β-естрадіолу в молоці-сировині виявляється у третій триместр тільності – до 1 209,8 ± 82,4 пг/мл, що більше як у 10–30 разів вища концентрація, ніж у перший триместр тільності. Установлено, що добове надходження 17β-естрадіолу в організм дітей із молоком навіть за максимального його вмісту в молоці-сировині може становити 12 000 пг/кг живої маси, а для дорослих 3 428,5 пг/кг. Дана кількість гормону в 4,1 та 14,5 разів менша ($p < 0,05$), ніж максимально дозволена Комісією Codex Alimentarius. Аналогічно індекс коефіцієнта небезпеки щодо вмісту такої кількості 17β-естрадіолу в молоці-сировині становив 0,24 для дітей і 0,06 для дорослих, що вказує на відсутність помітного токсичного впливу на здоров'я людини в короткостроковій перспективі. Розроблено методологію визначення гранично допустимої концентрації 17β-естрадіолу в молоці-сировині, яке приймають на переробку, та запропоновано інтерпретацію отриманих кількісних значень: $n = 3$, $c = 2$, $m = 500$, $M = 1\,000$. Це дозволяє постійно контролювати безпечну для споживачів концентрацію естрогенного гормону, у разі виявлення перевищення встановлених показників, застосувати превентивні заходи як щодо вже отриманого молока, так і до виробників.

Ключові слова: *молоко-сировина, 17β-естрадіол, безпечність, естрогенні гормони, гранично допустима концентрація.*

Вступ. Гарантування безпечності харчових продуктів – важливе завдання в усіх розвинутих країнах [1]. Зважаючи на роль молока та молочних продуктів у харчуванні людини, оцінка якості та безпечності даних продуктів

© Кочетова Г. С., Салата В. З., Кухтин М. Д.,
Горюк Ю. В., Рогальський І. О., 2023
DOI: https://doi.org/10.37406/2706-9052-2023-1.32

має виняткове значення [2]. У молоці виявляють естрогенні гормони природного походження: 17*β*-естрадіол, 17*α*-естрадіол, естріол і естрон [3; 4], серед них 17*β*-естрадіол потенційно найсильніший [5; 6]. Окрім того, можуть бути естрогенні гормони синтетичного походження: діетилстильбестерол, 17*β*-естрадіол, зеранол, які використовують для швидкого збільшення маси й отримання більшої кількості молока [7–9]. Естрогени в організмі виконують низку надзвичайно важливих функцій: синтезу білка, передачі сигналів між рецепторами, росту, регуляція репродукції, тому наявність їх у молоці закономірна, адже вони виводяться з організму через молоко, сечу, жовч [10; 11]. Проте науковців насторожує факт високих концентрацій естрогенних гормонів у молоці, оскільки вони, як уважають науковці [12–15], є однією із причин виникнення раку, порушень відтворної функції у чоловіків, спричиняють розлади центральної нервової системи та репродуктивних органів у дітей препубертального віку.

У зв'язку з тим, що в українському законодавстві не нормують вміст 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині під час приймання його на переробку, а факт недобросовісного застосування штучних гормонів для збільшення отримання продукції зазначено в літературі [5; 7; 8], то оцінка молока сирого за цим гормоном є надзвичайно актуальною. Також не встановлено максимальні межі концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці та молочних продуктах, хоча для м'яса такі значення наведенні в European Community. 2007. CRL guidance paper (7 December 2007). CRLs view on state of the art analytical methods for national residue control plans. Зазначається (Codex Alimentarius Commission (2015) Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for residues of veterinary drugs in foods: CAC/MRL 2-2015), що кількість 17*β*-естрадіолу, що поступає з харчовими продуктами, не повинна перевищувати 50 нг/кг/добу. Водночас дослідники [4; 16] вказують на те, що основним джерелом естрогенів тваринного походження (60–70 %) у раціоні людини є молоко та молочні продукти.

Мета роботи – обґрунтувати на основі результатів власних досліджень і літературних даних безпечну кількість 17*β*-естрадіолу в молоці сирому, запропонувати методологію його визначення.

Виклад основного матеріалу дослідження. Дослідження проведено в Державному науково-дослідному інституту з лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (м. Київ). Кількість 17*β*-естрадіолу у зразках визначали методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи RIDASCREEN®17*β*-őstradiol (R-Biopharm, Darmstadt, Німеччина). Перед використанням тест-систему витримали 20–30 хвилин за температури 20–25 °С, реагенти готували відповідно до протоколу виробника. Для побудови калібрувальної кривої використали стандартні розчини 17*β*-естрадіолу з концентраціями 0; 50; 200; 800; 3200; 12 800 пг/мл. Перед дослідженням проби молока підігрівали в термостаті до температури 20–25 °С та гомогенізували за допомогою гомогенізатора IKA (T 18 Basic) з насадками (S 18 N-10 G), для забезпечення однорідності. У лунки мікротитрувального планшета, сенсибілізованого антитілами до 17*β*-естрадіолу, внесли по 20 мкл стандартних розчинів і досліджуваних зразків, по 50 мкл розведеного препарату антитіл і кон'югату 17*β*-естрадіолу. Інкубували планшет протягом 2 годин за температури 20–25 °С. Після чого на приладі для промивання планшетів (BIORAD PW 40) промивали лунки планшета дистильованою водою. У кожну лунку вносили по 50 мкл розчину субстрату та хромогену та знову інкубували 30 хвилин за 20–25 °С. Після інкубації в лунки додавали по 100 мкл стоп-реагенту. Оптичну густина виміряли на імуноферментному рідері Sunrise (Австрія) за довжини хвилі 450 нм. Для комп'ютерної обробки результатів вимірювань використали спеціалізоване програмне забезпечення RIDA®Soft.

Отримані дані піддавалися статистичним обрахункам із використанням комп'ютерної програми Statistica 9.0 (StatSoft Inc., USA). Різницю отриманих даних уважали вірогідною за $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Під час визначення безпечної концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині ми виходили з таких концептуальних положень, які базуються на аналізі літературних джерел [4; 9; 10; 16] і отриманих нами даних експериментальних досліджень [17; 18]. Зокрема:

1. 17*β*-естрадіол – це естрогенний стероїдний гормон, який може мати природне та синтетичне походження. Природний гормон утворюється в організмі корів і циркулює у плазмі крові та переходить у молоко під час його синтезу, тому наявність у молоці-сировині деякої концентрації гормону природного походження – процес невідворотний і беззаперечний.

2. Наявність у молоці-сировині 17*β*-естрадіолу синтетичного походження можлива під час його використання для підвищення молочної продуктивності тварин і зниження собівартості та підвищення рентабельності отриманого молока. Окрім того, наявність синтетичного гормону в молоці можлива за використання його для профілактики та лікування різних захворювань репродуктивної системи корів.

3. Використання синтетичного 17*β*-естрадіолу у тваринництві для підвищення продуктивності тварин нормативно-правовими актами Європейського Союзу та Комісії Codex Alimentarius суворо заборонено. Тому під час визначення гранично допустимої безпечної концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині необхідно орієнтуватися тільки на ту кількість природного гормону, яку синтезують корови, за умови виключення надходження зовнішнього 17*β*-естрадіолу.

4. Комісія Codex Alimentarius рекомендує, щоб максимально допустима добова концентрація зовнішнього 17*β*-естрадіолу, що надходить в організм споживачів з усіма харчовими продуктами, не перевищувала 50 нг/кг (50 000 пг/кг).

4. Високі концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині викликають занепокоєння через їхній хронічний вплив і підвищений ризик спричинення онкологічних захворювань репродуктивної системи в жінок (рак

молочної залози, яєчників, матки) і чоловіків (сім'яників, простати). Окрім того, гормон впливає на порушення розвитку статевої та центральної нервової системи в дітей препубертатного віку. Водночас із молоком питним і молочними продуктами надходить в організм споживачів 60–80 % 17*β*-естрадіолу, від усіх спожитих харчових продуктів.

5. Концентрація природного 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині здорових корів залежить від багатьох чинників, які пов'язані з фізіологічним станом організму (період тільності, тічки), від складу кормів раціону, породи, віку тварин тощо. Тому під час розроблення гранично допустимої концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині необхідно враховувати всі чинники, які можуть вплинути на збільшення природного естрогенного гормону.

На основі результатів наших попередніх досліджень [17] було встановлено, що середній кількісний вміст 17*β*-естрадіолу в молоці сирому збірному, отриманому протягом доби на одній фермі, не залежав від часу отримання молока та коливався від 439,8 ± 41,8 до 641,3 ± 62,8 пг/мл. Водночас уміст 17*β*-естрадіолу в молоці незбираному від одного стада зазнає суттєвих змін протягом року його отримання. Зокрема, найбільшу кількість 17*β*-естрадіолу виявляли у пробах молока, відібраних на фермах у січні та лютому, – 836,9 ± 79,2 пг/мл, а найменшу у квітні – травні – 404,4 ± 40,6 пг/мл. Під час дослідження збірного молока на переробному підприємстві від різних ферм не встановлено суттєвої відмінності щодо вмісту 17ß-естрадіолу, порівняно з молоком, отриманим на конкретній фермі в даному регіоні. Зокрема, у змішаному молоці на молокопереробному заводі кількість 17*β*-естрадіолу в жовтні в середньому становила 459,6 ± 42,3 пг/мл, а в листопаді – 552,3 ± 47,4 пг/мл.

Отже, з отриманих даних випливає, що середнє значення 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині збірному під час дослідження на переробному підприємстві перебуває в межах 400–600 пг/мл. Це та кількість 17*β*-естрадіолу, яка наявна в молоці сирому за умови виключення застосування коровам зовнішнього синтетичного гормону. Тобто середнє нормативне значення 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині можна вважати на рівні 500 пг/мл.

Результати наших досліджень також установили, що на концентрацію 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині значний вплив має стадія лактації, тобто період тільності корів і доба естрального циклу [18]. Зокрема, найменшу кількість 17*β*-естрадіолу виявляли на початку тільності (протягом перших трьох місяців) – від 42,7 ± 7,7 до 68,3 ±7,8 пг/мл, а найбільшу – на завершенні лактації перед запуском, на сьомому – восьмому місяці – від 1105,3 ± 78,5 до 1209,8 ± 82,4 пг/мл. Отже, на молочних фермах за наявності основного дійного стада корів на останніх місяцях тільності у збірному молоці-сировині будемо мати значно вищий вміст 17*β*-естрадіолу, порівняно з молоком корів молочних ферм на різних стадіях тільності. Зважаючи на таку закономірність, даний факт необхідно враховувати у визначенні максимально граничної концентрації естрогенного гормону − 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині. Тому максимально можливу гранично допустиму концентрацію 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині загального надою можна вважати на рівні 1 000 пг/мл. Така концентрація можлива лише за наявності водночас на молочній фермі всього молочного стада корів на останніх місяцях лактації.

Також установлено, що на збільшення 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині впливає стадія естрального циклу [18]. Найбільшу кількість естрогенного гормону виявляли в молоці сирому починаючи з 15 доби естрального циклу від 365,5 до 407,3 пг/мл, що практично в 7,1 разів ($p < 0,05$) більше, ніж у молоці на третю – четверту добу циклу. Виходячи з отриманих результатів, даний чинник також необхідно враховувати в обґрунтуванні загальної нормативної кількості 17*β*-естрадіолу в молоці сирому збірному.

Інші чинники, як-от концентрація молочного жиру в молоці-сировині загального надою, мали незначний вплив на вміст 17*β*-естрадіолу через те, що в середньому у стаді вміст жиру не суттєво різниться, на відміну від молока питного, у якому простежується чітка закономірність щодо збільшення гормону в молоці з більшою масовою часткою жиру, порівняно з обезжиреним молоком [19; 20].

Отже, у процесі визначення безпечної нормативної концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині під час його приймання на молокопереробному підприємстві необхідно враховувати всі вищенаведені чинники.

Відповідно до рекомендацій Європейського Союзу (European Community. 2007) та Комісії Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Commission, 2015) щодо максимального добового надходження в організм споживачів з усіма харчовими продуктами 17*β*-естрадіолу (50 000 пг/кг живої маси на добу) нами проведено розрахунок кількості 17*β*-естрадіолу, яка буде надходити за щоденного споживання молока в кількості 250 мл для дітей і 200 мл для дорослої людини. Припустили, що молоко містить максимально допустиму концентрацію 17*β*-естрадіолу, яку продукують корови у третьому триместрі тільності (найбільше виявлено 1200 пг/мл). Розрахунок проводили за такими формулами, які пропонують ФАО та ВООЗ [4].

$$ПДС = КС_{м} \times КГ_{м} / МТ_{с}, \quad (1)$$

де *ПДС* – приблизне добове споживання 17*β*-естрадіолу, пг/кг живої маси на добу; $КС_{м}$ – кількість спожитого молока протягом доби, мл; $КГ_{м}$ – концентрація 17*β*-естрадіолу в молоці, пг/мл; $МТ_{с}$ – маса тіла споживачів, кг (для розрахунків взято масу тіла дітей у 25 кг, а дорослого – 70 кг).

У результаті розрахунку згідно з формулами 1 нами отримано:

$$ПДС_{для\ дітей} = 250\ см^3 \times 1\ 200\ пг/мл / 25\ кг = 12\ 000\ пг/кг\ живої\ маси\ на\ добу.$$
$$ПДС_{для\ дорослих} = 200\ см^3 \times 1\ 200\ пг/мл / 70\ кг = 3\ 428{,}5\ пг/кг\ живої\ маси\ на\ добу.$$

Індекс коефіцієнта небезпеки (далі – *ІКН*) був розрахований за такою формулою (2):

$$ІКН = ПДС / МДД_{се}, \quad (2)$$

де *ПДС* – приблизне добове споживання 17*β*-естрадіолу, пг/кг живої маси на добу; $МДД_{се\ –}$ максимальне допустиме добове споживання 17*β*-естрадіолу, (50 000 пг/кг маси тіла).

Якщо значення індексу коефіцієнта небезпеки (*ІКН*) менше 1, то ризику від даної речовини через споживання немає.

$$ІКН_{для\ дітей} = 12\ 000\ пк/кг / 50\ 000\ пг/кг = 0{,}24;$$
$$ІКН_{для\ дорослих} = 3\ 428{,}5\ пк/кг / 50\ 000\ пг/кг = 0{,}06.$$

З отриманих розрахунків згідно з формулами 1 і 2 видно, що добове надходження 17*β*-естрадіолу в організм дітей із молоком навіть за максимального його вмісту в молоці-сировині може становити 12 000 пг/кг живої маси, а для дорослих – 3 428,5 пг/кг. Дана кількість гормону в 4,1 та 14,5 разів менша ($p < 0{,}05$), ніж максимально дозволена Комісією Codex Alimentarius. Аналогічно індекс коефіцієнта небезпеки щодо вмісту такої кількості 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині становив 0,24 для дітей і 0,06 для дорослих, що вказує на відсутність помітного токсичного впливу на здоров'я людини в короткостроковій перспективі. Проте оцінити довгостроковий ефект впливу даної кількості 17*β*-естрадіолу досить важко, оскільки онкологічні захворювання розвиваються впродовж тривалого періоду часу та мають багатофакторну етіологію, а естрогени, що надходять в організм, мають кумулятивний ефект. Усе це дає підставу для регулярної перевірки проб молока-сировини на вміст 17*β*-естрадіолу. Окрім того, необхідно відзначити, що інші продукти харчування можуть містити 17*β*-естрадіол і доповнювати добове навантаження.

Тому на підставі літературних даних [4; 9; 10; 16], результатів наших експериментальних досліджень [17; 18] і проведених розрахунків нами було розроблено методологію визначення гранично допустимої концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині на переробному підприємстві та запропоновано інтерпретацію отриманих кількісних значень даного гормону. Результати досліджень наведено в табл. 1.

Таблиця 1. Критерії визначення гранично допустимої концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині під час його надходження на молокопереробне підприємство

Категорія харчових продуктів (сировини)	Хімічна речовина	План відбору зразків		Допустимі межі		Стадія, де застосовується показник	Дії в разі незадовільних результатів
		n[1]	c[2]	m[3]	M[4]		
Молоко-сировина	17*β*-естрадіол	3	2	500 пг/см^3	1000 пг/см^3	На молокопереробному підприємстві	Рекомендації щодо використання молока-сировини

Примітки:

[1]n – кількість проб, що відбиралося від одного виробника;

[2]c – кількість проб, параметричні значення яких перебувають між m і M;

[3]m – нормативне значення вмісту 17*β*-естрадіолу в 1 см^3 молока-сировини;

[4]M – гранично допустима концентрація 17*β*-естрадіолу в 1 см^3 молока-сировини.

Інтерпретація отриманих моніторингових результатів досліджень молока-сировини за вмістом 17*β*-естрадіолу на молокопереробному підприємстві.

Визначення безпечного рівня 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині на молокопереробному підприємстві пропонується проводити раз на місяць, а інтерпретацію отриманих даних на основі результатів досліджень протягом трьох місяців.

Якщо за результатами тримісячного дослідження трьох проб молока-сировини встановлено, що в усіх пробах кількість 17*β*-естрадіолу менше *m,* то концентрація гормону вважається прийнятною, молоко пропонується використовувати на будь-які види молочної продукції. У такому молоці не має зовнішнього синтетичного 17*β*-естрадіолу. У господарстві не застосовують синтетичні естрогенні препарати для підвищення продуктивності чи для лікування органів репродуктивної системи.

Якщо за результатами тримісячного дослідження трьох проб молока-сировини встановлено, що одна або дві проби молока-сировини мають вміст 17*β*-естрадіолу в межах між m і M, то концентрація гормону також уважається прийнятною, молоко пропонується використовувати на будь-які види молочної продукції.

Якщо за результатами тримісячного дослідження трьох проб молока-сировини встановлено, що всі проби молока-сировини мають вміст 17*β*-естрадіолу більше *m* або *M*, то концентрація гормону викликає занепокоєння, молоко пропонується до переробки на молочні продукти, тільки за умови змішування з молоком від інших молочних ферм із нижчою концентрацією естрогенного гормону. Щоби вміст вкладався у гранично допустимі рівні. Надалі вживаються заходи для з'ясування причин наявності високої концентрації 17*β*-естрадіолу в даному господарстві з метою запобігання можливому використанню синтетичних препаратів, які стимулюють збільшення естрогенів у молоці.

Отже, розроблена нами методична модель оцінки молока-сировини за вмістом 17*β*-естрадіолу дозволяє постійно контролювати безпечну для споживачів концентрацію естрогенного гормону, у разі виявлення перевищення встановлених показників застосувати превентивні заходи як щодо вже отриманого молока, так і до виробників. Визначені та запропоновані нами максимально допустимі концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині не будуть негативно впливати в короткостроковій перспективі на ендокринну й інші системи споживачів.

Висновки. Обґрунтовано та розроблено методологію визначення гранично допустимої концентрації 17*β*-естрадіолу в молоці-сировині під час приймання на переробку, запропоновано інтерпретацію отриманих кількісних значень: n = 3, c = 2, m = 500, M = 1000. Це дозволяє постійно контролювати безпечну для споживачів концентрацію естрогенного гормону, а в разі виявлення перевищення встановлених показників ужити превентивних заходів як щодо вже отриманого молока, так і до виробників.

Список використаних джерел

1. Biochemical and microbiological changes during fermentation and storage of a fermented milk product prepared with Tibetan Kefir Starter / M. Kukhtyn et al. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 2018. Vol. 68 (4). P. 1–10.

2. Main Microbiological and Biological Properties of Microbial Associations of "Lactomyces tibeticus" / M. Kukhtyn et al. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 2016. Vol. 7 (6). P. 1266–1272.

3. Fluorescence polarization assay to detect steroid hormone traces in milk / A. Varriale et al. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2015. Vol. 63 (41). P. 9159–9164. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b03689.

4. Steroid Hormone Exposure as a Potential Hazard in Milk Consumers: A Significant Health Challenge in Iran / A. Nili-Ahmadabadi et al. *Journal of Food Quality*. 2021. Vol. 2021. P. 1–6. DOI: 10.1155/2021/5595555.

5. Heat treatment and souring do not affect milk estrone and 17β-estradiol concentrations / T. Snoj et al. *Journal of dairy science*. 2018. Vol. 101 (1). P. 61–65. DOI: 10.3168/jds.2017-13205.

6. Preparation, characterization and application of double yolk-shell structure magnetic molecularly imprinted polymers for extraction of 17β-estradiol / H. Lyu et al. *New Journal of Chemistry*. 2022. Vol. 46 (24). P. 11927–11933. DOI: 10.1039/D2NJ00237J.

7. Molecularly imprinted polymer grafted paper-based method for the detection of 17β-estradiol / L. Xiao et al. *Food chemistry*. 2017. Vol. 221. P. 82–86. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.062.

8. Investigation of zeranol in beef of Ukrainian production and its reduction with various technological processing / M. Kukhtyn et al. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2020. Vol. 14. P. 95–100. DOI: 10.5219/1224.

9. Malekinejad H., Rezabakhsh A. Hormones in dairy foods and their impact on public health-a narrative review article. *Iranian journal of public health*. 2015. Vol. 44 (6). P. 742–758.

10. Hormones and hormonal anabolics: residues in animal source food, potential public health impacts, and methods of analysis / B.B. Hirpessa et al. *Journal of Food Quality*. 2020. P. 1–12. DOI: 10.1155/2020/5065386.

11. Membrane-protected covalent organic framework fiber for direct immersion solid-phase microextraction of 17beta-estradiol in milk / Z. Mo et al. *Food Chemistry*. 2021. Vol. 359. P. 129816. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129816.

12. Milk, dairy intake and risk of endometrial cancer: a 26-year follow-up / D. Ganmaa et al. *International journal of cancer*. 2012. Vol. 130 (11). P. 2664–2671. DOI: 10.1002/ijc.26265.

13. Preparation of 17β-estradiol surface molecularly imprinted polymers and their application to the analysis of biological samples / J. Zhang et al. *Journal of separation science*. 2013. Vol. 36 (21–22). P. 3486–3492. DOI: 10.1002/jssc.201300850.

14. Determination of estrogens in milk samples by magnetic-solid-phase extraction technique coupled with high-performance liquid chromatography / J. Wang et al. *Journal of Food Science*. 2015. Vol. 80 (12). P. 2655–2661. DOI: 10.1111/1750-3841.13113.

15. Milk and other dairy foods in relation to prostate cancer progression / D. Tat et al. *Data from the Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor (CAPSURE).* 2017. Vol. 78. P. 32–39. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.5_suppl.168.

16. Determination of 17β-estradiol in commercial pasteurized and sterilized milk samples in Mashhad, Iran / B. Riahi-Zanjani et al. *Journal of food science and technology*. 2019. Vol. 56 (11). P. 4795–4798. DOI: 10.1007/s13197-019-03927-y.

17. Content of 17β-Estradiol in Raw Milk in Ukraine / M. Kukhtyn et al. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* 2022. Vol. 28 (6). P. 673–679. DOI: 10.9775/kvfd.2022.27513.

18. Salata V., Kochetova H. The Study of the 17β-estradiol content in raw milk during the lactation period. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series "Veterinary sciences".* 2020. Vol. 24 (105). P. 44–49. DOI: 10.32718/nvlvet10507.

19. Quantitative measurement of endogenous estrogen metabolites, risk-factors for development of breast cancer, in commercial milk products by LC–MS/MS / D.W. Farlow et al. *Journal of Chromatography B*. 2009. Vol. 877 (13). P. 1327–1334. DOI: 10.1016/j.jchromb.2009.01.032.

20. Effect of 17β-estradiol on milk production, hormone secretion, and mammary gland gene expression in dairy cows / J.J. Tong et al. *Journal of dairy science*. 2018. Vol. 101 (3). P. 2588–2601. DOI: 10.3168/jds.2017-13353.

Kochetova H. S.
Scientific Associate,
State Scientific and Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise
Kyiv, Ukraine
E-mail: *kochetovag@ukr.net*
ORCID: *0000-0003-3234-1355*

Salata V. Z.
Doctor of Veterinary Sciences, Professor,
Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytskyj
Lviv, Ukraine
E-mail: *salatavolod@ukr.net*
ORCID: *0000-0002-9713-0746*

Kukhtyn M. D.
Doctor of Veterinary Sciences, Professor,
Ternopil Ivan Pului National Technical University
Ternopil, Ukraine
E-mail: *kuchtynnic@gmail.com*
ORCID: *0000-0002-0195-0767*

Horiuk Yu. V.
Ph. D. in Veterinary Sciences, Docent,
Higher Educational Institution "Podillia State University"
Kamianets-Podilskyi, Ukraine
E-mail: *goruky@ukr.net*
ORCID: *0000-0002-7162-8992*

Rogalskyy I. O.
Ph. D. of Medical Sciences, Docent,
Main Department of the State Food and Consumer Service in Ternopil region
E-mail: *goruky@ukr.net*
ORCID: *0000-0001-7577-4498*

EVALUATION OF RAW MILK ACCORDING TO THE CONTENT OF 17SS-ESTRADIOL

Abstract

Given the role of milk and dairy products in human nutrition, the assessment of the quality and safety of these products is of exceptional importance. Estrogenic hormones of natural origin are detected in milk: 17β-estradiol, 17α-estradiol, estriol and estrone, among them 17β-estradiol is potentially the strongest. It is with the excessive amount of 17β-estradiol in products of animal origin that the development of some oncological diseases and reproductive disorders in consumers are associated. Based on the results of own research and literature data, the safe amount of 17β-estradiol in raw milk when accepted for processing has been scientifically substantiated, and a methodology for its determination has been proposed. The content of 17β-estradiol was determined by enzyme immunoassay using the RIDASCREEN®17β-őstradiol test system (Art-Biopharm/R-Biopharm, Darmstadt, Germany).

The highest concentration of 17β-estradiol in raw milk is found in the third trimester of pregnancy up to 1 209,8 ± 82,4 pg/ml, which is 10–30 times higher concentration than in the first trimester of pregnancy. It was established that the daily intake of 17β-estradiol in the body of children with milk, even with its maximum content in raw milk, can be 12 000 pg/kg of live weight, and for adults it is 3 428,5 pg/kg. This amount of hormone is 4,1 and 14,5 times less ($p < 0,05$) than the maximum allowed by the Codex Alimentarius Commission. Similarly, the hazard ratio index for this amount of 17β-estradiol in raw milk was 0,24 for children and 0,06 for adults, indicating no appreciable short-term toxic effects on human health. The methodology for determining the maximum permissible concentration of 17β-estradiol in raw milk when accepted for processing was developed and the interpretation of the obtained quantitative values was proposed: n = 3, c = 2, m = 500, M = 1 000. This allows for constant control of the estrogen hormone concentration that is safe for consumers and in case of detection of exceeding the established indicators, apply preventive measures, both with regard to already received milk, and with producers.

Key words: *raw milk, 17β-estradiol, safety, estrogen hormones, maximum permissible concentration.*

References

1. Kukhtyn, M., Vichko, O., Kravets, O., Karpyk, H., Shved, O., & Novikov, V. (2018). Biochemical and microbiological changes during fermentation and storage of a fermented milk product prepared with Tibetan Kefir Starter. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 68 (4), 1–10.

2. Kukhtyn, M., Vichko, O., Berhilevych, O., Horyuk, Y., & Horyuk, V. (2016). Main Microbiological and Biological Properties of Microbial Associations of "Lactomyces tibeticus". *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences,*7(6), 1266–1272.

3. Varriale, A., Pennacchio, A., Pinto, G., Oliviero, G., D'Errico, S., Majoli, A., & D'Auria, S. (2015). A fluorescence polarization assay to detect steroid hormone traces in milk. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63 (41), 9159–9164. DOI: 10.1021/acs.jafc.5b03689.

4. Nili-Ahmadabadi, A., Rezaei, F., Heshmati, A., Ranjbar, A., & Larki-Harchegani, A. (2021). Steroid Hormone Exposure as a Potential Hazard in Milk Consumers: A Significant Health Challenge in Iran. *Journal of Food Quality*, 2021, 1–6. DOI: 10.1155/2021/5595555.

5. Snoj, T., Zuzek, M. C., Cebulj-Kadunc, N., & Majdic, G. (2018). Heat treatment and souring do not affect milk estrone and 17β-estradiol concentrations. *Journal of dairy science*, 101(1), 61–65. DOI: 10.3168/jds.2017-13205.

6. Lyu, H., Wu, X., Yang, Y., Chen, H., Dang, X., & Liu, X. (2022). Preparation, characterization and application of double yolk–shell structure magnetic molecularly imprinted polymers for extraction of 17β-estradiol. *New Journal of Chemistry*, 46 (24), 11927–11933. DOI: 10.1039/D2NJ00237J.

7. Xiao, L., Zhang, Z., Wu, C., Han, L., & Zhang, H. (2017). Molecularly imprinted polymer grafted paper-based method for the detection of 17β-estradiol. *Food chemistry*, 221, 82–86. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.10.062.

8. Kukhtyn, M., Salata, V., Pelenyo, R., Selskyi, V., Horiuk, Y., Boltyk, N., Ulko, L., & Dobrovolsky, V. (2020). Investigation of zeranol in beef of Ukrainian production and its reduction with various technological processing. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 14, 95–100. DOI: 10.5219/1224.

9. Malekinejad, H., & Rezabakhsh, A. (2015). Hormones in dairy foods and their impact on public health-a narrative review article. *Iranian journal of public health*, 44 (6), 742–758.

10. Hirpessa, B.B., Ulusoy, B.H., & Hecer, C. (2020). Hormones and hormonal anabolics: residues in animal source food, potential public health impacts, and methods of analysis. *Journal of Food Quality*, 2020, 1–12. DOI: 10.1155/2020/5065386.

11. Mo, Z., Pang, Y., Yu, L., & Shen, X. (2021). Membrane-protected covalent organic framework fiber for direct immersion solid-phase microextraction of 17beta-estradiol in milk. *Food Chemistry*, 359, 129816. DOI: 10.1016/j.foodchem.2021.129816.

12. Ganmaa, D., Cui, X., Feskanich, D., Hankinson, S.E., & Willett, W.C. (2012). Milk, dairy intake and risk of endometrial cancer: a 26-year follow-up. *International journal of cancer*, 130 (11), 2664–2671. DOI: 10.1002/ijc.26265.

13. Zhang, J., Wang, L., & Han, Y. (2013). Preparation of 17β-estradiol surface molecularly imprinted polymers and their application to the analysis of biological samples. *Journal of separation science*, 36 (21–22), 3486–3492. DOI: 10.1002/jssc.201300850.

14. Wang, J., Cheng, C., & Yang, Y. (2015). Determination of estrogens in milk samples by magnetic-solid-phase extraction technique coupled with high-performance liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 80 (12), 2655–2661. DOI: 10.1111/1750-3841.13113.

15. Tat, D., Van Blarigan, E., Kenfield, S. A., Broering, J., Cowan, J. E., Carroll, P., & Chan, J. M. (2017). Milk and other dairy foods in relation to prostate cancer progression: Data from the Cancer of the Prostate Strategic Urologic Research Endeavor (CAPSURE), 78, 32–39. DOI: 10.1200/JCO.2017.35.5_suppl.168.

16. Riahi-Zanjani, B., Heidarzadegan, M., Badibostan, H., & Karimi, G. (2019). Determination of 17β-estradiol in commercial pasteurized and sterilized milk samples in Mashhad, Iran. *Journal of food science and technology*, 56 (11), 4795–4798. DOI: 10.1007/s13197-019-03927-y.

17. Kukhtyn, M., Salata, V., Kochetova, H., Malimon, Z., Miahka, K., Horiuk, Y., Pokotylo, O. (2022). Content of 17β-Estradiol in Raw Milk in Ukraine. *Kafkas Univ Vet Fak Derg,* 28 (6), 673–679. DOI: 10.9775/kvfd.2022.27513.

18. Salata, V., & Kochetova, H. (2022). The Study of the 17β-estradiol content in raw milk during the lactation period. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series "Veterinary sciences",* 24 (105), 44–49. DOI: 10.32718/nvlvet10507.

19. Farlow, D.W., Xu, X., & Veenstra, T.D. (2009). Quantitative measurement of endogenous estrogen metabolites, risk-factors for development of breast cancer, in commercial milk products by LC–MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 877 (13), 1327–1334. DOI: 10.1016/j.jchromb.2009.01.032.

20. Tong, J.J., Thompson, I.M., Zhao, X., & Lacasse, P. (2018). Effect of 17β-estradiol on milk production, hormone secretion, and mammary gland gene expression in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101 (3), 2588–2601. DOI: 10.3168/jds.2017-13353.