

文章编号:1673-1689(2007)04-0037-05

牛乳体细胞数与内源酶的关系

郭奇慧¹, 云振宇¹, 李妍¹, 邵丽君², 于飞², 云战友², 张和平¹

(1. 内蒙古农业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室, 内蒙古呼和浩特 010018; 2. 内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 内蒙古呼和浩特 010018)

摘要: 对某牧场 30 头荷斯坦奶牛的 434 个奶样进行体细胞数、NAG 酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、脂酶、游离脂肪酸含量的测定。结果表明, 夏季牛乳中体细胞数高于秋季, 九月份达到最高水平; 随着牛乳体细胞数升高, NAG 酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、脂酶、游离脂肪酸含量变化极显著 ($P < 0.01$); 除过氧化物酶与脂酶呈显著正相关 ($P < 0.05$) 外, 体细胞数、其他内源酶及游离脂肪酸间均呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。

关键词: 体细胞数; 内源酶; 游离脂肪酸

中图分类号: TS 252.53

文献标识码: A

Study on Correlation of Bovine Milk Somatic Cell Counts and Indigenous Enzymes

GUO Qi-hui¹, YUN Zhen-yu¹, LI Yan¹, SHAO Li-jun²,
YU Fei², YUN Zhan-you², ZHANG He-ping¹

(1. Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China; 2. Inner Mongolia Yili Industry Group Co., LTD, Huhhot 010080, China)

Abstract: In this study, the milk components SCC, NAGase, peroxidase, catalase, lipase, and FFA were analysed and compared 434 milk samples from 30 Holstein cows. The results showed that the SCC in summer were higher than that in winter and the SCC was highest in September; the levels of NAGase, peroxidase, catalase, lipase, and FFA increased with SCC ($P < 0.01$); while peroxidase and lipase were significantly positive correlated ($P < 0.05$), higher correlation coefficient ($P < 0.01$) was found during SCC, other indigenous enzymes and FFA.

Key words: somatic cell count; indigenous enzymes; free fatty acids

体细胞数(Somatic Cell Count, SCC)是衡量牛乳质量和奶牛健康状况的指标。牛乳体细胞主要包括白细胞(巨噬细胞、嗜中性白细胞、淋巴细胞)和上皮细胞,其中白细胞占 75%,上皮细胞占 25%。

乳中体细胞升高,主要是白细胞增加的结果^[1]。

正常乳中的体细胞数水平较低,正常情况下低于 20 万个/mL,第一次泌乳牛或管理优良的牧场体细胞数可以低于 10 万个/mL。如果乳中体细胞数

收稿日期:2006-09-02.

作者简介:郭奇慧(1980-),女,内蒙古呼和浩特人,乳品化学硕士研究生. Email:guogihuioo@163.com

通讯作者:张和平(1965-),男,内蒙古四王子旗人,教授,博导,主要从事乳制品工程领域的研究. Email:Hepingdd@vip.sina.com

明显增高,可判断为异常乳或低质原料乳。导致体细胞数增高有以下几点原因:(1)乳房炎;(2)年龄;(3)胎次;(4)泌乳期;(5)产奶量;(6)季节变化;(7)环境应激因素;(8)挤奶时间的间隔及挤奶次数;(9)遗传因素^[2-4]。

乳中含有各种各样的酶,到目前为止已经鉴定的酶就有数十种。乳中的酶主要源于血液、分泌上皮细胞、乳腺本身合成和外来细菌产生。虽然酶的含量在乳中的比例很小,但在对牛奶的品质影响却很大,不容忽视^[5]。

在20世纪80年代左右,国外学者对牛乳体细胞和酶的关系进行了大量研究,发现牛乳体细胞的增高会引起内源酶的变化,从而导致牛乳质量和产量的下降。

NAG酶是一种内源酶,常用其活性来衡量奶牛所患炎症的严重程度及体细胞数量^[6]。

牛乳过氧化物酶属乳中原有酶,能促使过氧化氢分解产生活泼的新生态氧,从而使乳中的多元酚、芳香胺及某些化合物氧化,使乳中的某些芳香成分被破坏,影响牛奶特有的风味。它还能催化不饱和脂肪酸过氧化物裂解,产生不良气味的羰基化合物,使乳制品感官质量变差^[7,8]。

牛乳中的过氧化氢酶在初乳和乳房炎乳中含量较高。对过氧化氢酶的测定可判定牛乳是否为乳房炎乳或其他异常乳。由于过氧化氢酶的强氧化性,它会导致产品的品质不稳定,而且会降低食品的食用安全^[9]。

当原料乳中脂肪酶活性较高时,虽经杀菌处理后大部分酶活性能被钝化,但产品中残留部分活性脂酶,而且部分钝化的脂酶在一定条件下又被激活,所以随着产品的长期贮存,脂酶不断水解脂肪生成游离脂肪酸,随着脂肪酸的积累,一方面使产品酸度增大,降低乳的稳定性;另一方面生成的游离脂肪酸会产生一些不良风味,影响产品质量^[9-11]。

体细胞数的检测对原料奶的质量控制有重要意义。目前,我国生鲜奶主要是按菌落总数来分级的,但世界上养牛业先进的国家,几乎都同时使用菌落总数和体细胞数来评价生鲜奶的卫生质量,从而大大提高牧场的饲养水平和生鲜奶的质量产量。

本试验的目的是通过开展牛乳体细胞数与内源酶的对应关系调查,建立原料奶体细胞数与这些质量指标的对应关系档案,寻求其中的规律,并据此及时反应出原料奶的质量情况,可为乳制品的生产加工提供及时准确的指导信息,及时采取控制措

施,避免经济损失。同时可以预测一些产品的质量状况和保质期。

1 材料与方法

1.1 采样

选取呼市周边某牧场,根据牛群的情况,选取30头产犊时间在1~4个月以内的奶牛跟踪采集样品,分析体细胞数变化的同时考察每头牛个体在采样期内体细胞数的变化及其对牛乳质量指标的影响。

每隔10 d采一次,样品采集后立即冰盒存放,带回实验室后于4℃冰箱保存,进行各项指标的分析检测,部分样品于-40℃冻藏备用。

自2005年5~10月,累计采集内蒙古伊利集团下属某牧场30头荷斯坦奶牛的鲜奶样品共计434个进行检测分析。

1.2 牛乳体细胞数的测定

所有样品利用牛乳体细胞分析仪(Bentley Somaticount CC-150)进行体细胞计数。

1.3 NAG酶活力测定

NAG酶活力的测定使用Hurle(1987)的方法^[12]。NAGase与特定底物反应生成有色物质,在酶标仪(Multiskan MK3 Thermo)上测定410 nm吸收值确定酶活力。NAG酶活力单位定义:1 mL牛乳每分钟使吸光值变化0.001为一个酶活力单位,表示为u/mL。

1.4 过氧化物酶活力测定

过氧化物酶活力的测定使用Hurle(1987)的方法^[12]。过氧化物酶与特定底物反应生成有色物质,在酶标仪(Multiskan MK3 Thermo)上测定460 nm吸收值确定酶活力。过氧化物酶活力单位定义:1 mL牛乳每分钟使吸光值变化0.001为一个酶活力单位,表示为u/mL;过氧化氢酶活力单位定义:1 mL牛乳在37℃,1 min分解1 μmol/L过氧化氢,定义为一个酶活力单位,表示为u/mL。

1.5 过氧化氢酶活力测定

用硫代硫酸钠滴定法^[13]。

1.6 脂酶活力测定

脂酶活力的测定使用Choi(1992)的方法^[14]。使用打孔法,用三丁酸甘油酯作底物,根据扩散圈直径计算酶活力。

1.7 FFA含量测定

FFA的测定使用Copper Soap法(Shipe et al., 1980)^[15]。用铜试剂和FAA反应,在440 nm下用分光光度计(UV-1700 Shimadzu)测定吸光值,

确定酶活。

1.8 统计分析

利用 SAS 软件(V6.12)对数据进行分析^[18]。

2 结果与讨论

2.1 季节对体细胞数影响的研究

从表 1 分析可知,除 9 月份外,从 5~10 月乳房炎乳(IDF 规定^[17],体细胞数>50 万/mL 为乳房炎乳)的比例一直在减小。5 月份乳房炎乳比例为

45.2%,10 月份乳房炎乳比例为 10.7%。

2.2 体细胞数与内源酶、FFA 关系的研究

根据体细胞数量,把样品分成 4 组(分组情况见表 2),每组各指标计算平均数,对内源酶及 FFA 的差异性和相关性进行分析,结果见表 2、表 3。

从表 2 分析可知,在不同的体细胞等级间,内源酶的活性和 FFA 的含量随体细胞等级的升高而增加,经统计学分析后发现,内源酶活性和 FFA 含量有显著差异($P<0.01$);体细胞数与内源酶、FFA 呈极显著正相关($P<0.01$)。

表 1 季节对牛乳体细胞数的影响

Tab.1 Influence of season on SCC

月份/月	SCC (万/mL)	总样本数	样本数				乳房炎乳 比例/%
			(<10 万 SCC/mL)	(10~50 万 SCC/mL)	(50~100 万 SCC/mL)	(>100 万 SCC/mL)	
5	69±969	73	19	21	10	23	45.2
6	61±719	74	21	28	12	13	33.8
7	45±684	90	34	34	9	13	24.4
8	37±385	57	13	30	7	7	24.6
9	106±1965	56	12	20	10	14	42.9
10	28±548	84	43	32	3	6	10.7

表 2 不同体细胞等级的牛乳中内源酶活力及 FFA 含量

Tab.2 Indigenous enzymes activity and FFA content for different bovine milk SCC groups

SCC(万/mL)	<10	10~50	50~100	>100	显著水平 (ANOVA)	与 SCC 相关性	
样本数	142	165	51	76		相关系数	显著性
NAG 酶(u/mL)	50.77±23.74 ^c	62.29±37.47 ^{bc}	72.82±34.82 ^b	89.25±75.96 ^a	**	0.958 81	**
过氧化物酶(u/mL)	425.11±140.976 ^b	450.79±58.28 ^b	601.09±19.09 ^a	630.16±92.55 ^a	**	0.696 95	**
过氧化氢酶(u/mL)	0.25±0.27 ^b	0.30±0.22 ^{ab}	0.35±0.21 ^a	0.39±0.23 ^a	**	0.31184	**
脂酶(u/mL)	55.13±6.47 ^b	60.65±7.36 ^{ab}	62.37±2.24 ^{ab}	70.94±12.67 ^a	**	0.287 91	**
FFA (meq/L milk)	0.39±0.08 ^b	0.45±0.08 ^b	0.54±0.06 ^{ab}	0.68±0.24 ^a	**	0.290 23	**

注: * 表示差异显著性, ** 表示在 0.01 水平下显著;带有不同字母标记的数据之间差异显著。

表 3 牛乳中内源酶、FFA 之间多元回归系数检验表

Tab.3 Correlation coefficient(r) among indigenous enzymes and FFA in bovine milk

酶	NAG 酶	过氧化物酶	过氧化氢酶	脂酶	FFA
NAG 酶	1.000 00	0.233 28**	0.947 21**	0.875 41**	0.678 08**
过氧化物酶		1.000 00	0.222 19**	0.190 11*	0.229 03**
过氧化氢酶			1.000 00	0.961 46**	0.826 22**
脂酶				1.000 00	0.826 60**
FFA					1.000 00

注: 用 * 表示统计相关性, ** 表示 0.01 水平下显著, * 表示 0.05 水平下显著。

从表3分析可知, NAG酶与过氧化物酶、过氧化氢酶、脂酶、FFA呈极显著正相关($P < 0.01$); 过氧化物酶与过氧化氢酶、FFA呈极显著正相关($P < 0.01$), 与脂酶呈显著正相关($P < 0.05$); 过氧化氢酶与脂酶、FFA呈极显著正相关($P < 0.01$); 脂酶与FFA呈极显著正相关($P < 0.01$)。

2.3 讨论

本试验研究了季节对体细胞的影响, 结果表明除9月份外, 从5~10月乳房炎乳比例一直在减小。五月份乳房炎乳比例为45.2%, 十月份乳房炎乳比例为10.7%。这可能是由于夏季温暖潮湿, 随着病原体的增多, 奶牛患乳房炎的可能性增大, 因此体细胞数也就相应较高。在九月份, 由于几头奶牛的乳房发生损伤, 奶样中有部分血液, 所以导致体细胞升高(体细胞最高达到999.9万/mL)。

本实验中, NAG酶与SCC呈极显著正相关($P < 0.01$)。Wilson等(1991年)^[18]和Berning等(1992年)^[19]研究表明, NAG酶是一种溶菌酶, 在牛患乳房炎期间, 乳中NAG酶活力会增加, 这主要是由于上皮细胞破损所造成的; 同时发现, 乳中白细胞的增加也会导致NAG酶活力升高。Guliye等(2002)^[6]研究表明, 致病性微生物是导致奶牛乳房细胞破损的主要原因, 而牛乳中NAG酶活力升高程度和奶牛乳房细胞破损程度密切相关, 因此通过检测牛乳中NAG酶活力可以判断牛是否患乳房炎。

PYÖRÄLÄ等(1997年)^[20]研究了患乳房炎的牛的乳中体细胞数及NAG酶活力变化, 体细胞数变化范围为50~720万个/mL, NAG酶活力变化范围为67~100 u/mL。在本次研究中, 荷斯坦乳牛的体细胞数变化范围为2千个~1 000万个/mL, NAG酶活力变化范围为5.33~613.33 u/mL。当体细胞数变化范围为50~700万个/mL时, NAG酶活力变化范围为20.22~243.56 u/mL, 与PYÖRÄLÄ研究结果有一定差异, 这可能是由于牛的品种、饲料、泌乳期、乳房所感染的菌种不同等因素造成的。

本实验中, 过氧化物酶和过氧化氢酶与SCC呈极显著正相关($P < 0.01$)。王振阁(2004年)^[5]报道, 过氧化物酶主要来自白细胞的细胞成分, 因此当乳房产生炎症时, 机体将大量白细胞分泌进入乳

房以清除感染, 从而导致这种酶活性升高。张和平等(2005年)^[21]报道, 过氧化物酶活力也可作为检验乳房炎发病的指标。

张和平等(2005年)^[21]报道, 过氧化氢酶存在于多种活体组织和细胞中, 通过体细胞进入牛乳。它与细胞膜结合在一起, 因此, 原料乳中过氧化氢酶的活性与体细胞数量成正比。由于患乳房炎后, 乳腺细胞壁对血液成份如体细胞的通透性升高, 因此过氧化氢酶也是诊断乳房炎的一个指标。

张爱霞等(2004年)^[22]报道, 由乳腺分泌到乳中的脂解酶数量并不大, 其主要来源为微生物, 特别是嗜冷菌(例如假单胞菌), 当细胞数量达到 10^6 ~ 10^7 cfu/mL, 脂解酶的活性就会较高, 从而使FFA含量提高。而且, 当牛患乳房炎时, 所分泌乳中金黄色葡萄球菌、无乳链球菌和乳房链球菌属增多, 这些微生物在繁殖过程中能够分泌一些脂酶, 因此乳房炎乳中的脂酶活性较高。乳脂肪被脂酶水解后会生成FFA, 当牛乳中脂酶活性较高时, FFA含量会随之升高。

张和平等(2005年)^[21]报道, 在新鲜牛乳中, FFA含量是相当低的, 不超过1.0 meq/L, 当乳中FFA的含量超过2.3 meq/L时, 就会产生异味。在本次试验中, 新鲜牛乳中FFA含量为0.39~0.68 meq/L, 与相关报道的数据是一致的。

通过体细胞数、内源酶及FFA相关性分析发现, 这些指标间均存在显著的相关性, 由此认为, 这些内源酶及FFA可以作为诊断奶牛乳房炎及乳腺损害程度的重要指标。

3 结 语

1) 体细胞数受季节的影响较大, 夏季体细胞数较高, 冬季体细胞数较低。

2) 在不同的体细胞等级间, 内源酶的活性和FFA的含量都随体细胞等级的升高而增加, 经统计学方差分析后发现, NAG酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、脂酶、FFA含量变化极显著($P < 0.01$)。

3) 通过体细胞数、内源酶及FFA相关性分析发现, 除过氧化物酶与脂酶呈显著正相关($P < 0.05$)外, 其他指标间均呈极显著正相关($P < 0.01$)。

参考文献(References):

- [1] William J M, David M, Alan K. Influence of somatic cell count and storage interval on composition and processing characteristics of milk from cows in late lactation[J]. *J Dairy Technol*, 2001, 56: 213-218.
- [2] Green M J, Green L E, Schukken Y H, et al. Somatic cell count distributions during lactation predict clinical mastitis [J]. *J Dairy Sci*, 2004, 87: 1256-1264.
- [3] 郝建国. 日本学者对体细胞数与乳房炎关系的论述[J]. 中国奶牛, 2002, (1): 52-54.
HAO Jian-guo. Relation between mastitis and somatic cell count from japanese discussion[J]. *Hao Jianguo translation China Dairy Cattle*, 2002, (1): 52-54. (in Chinese)
- [4] 杨爱君, 阮征, 曾庆孝. 控制体细胞数在优质生鲜奶生产中的应用[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(1): 53-56.
YANG Ai-jun, RUAN Zheng, ZENG Qing-xiao. Application of controlling somatic cells counts in high quality raw milk production [J]. *China Dairy Industry*, 2005, 33(1): 53-56. (in Chinese)
- [5] 王振阁. 乳中酶类、激素研究进展[J]. 河南畜牧兽医, 2004, 25(7): 11-12.
WANG Zheng ge. Development of enzyme and hormone in milk [J]. *Surgeon of Prologue Henan*, 2004, 25(7): 11-12. (in Chinese)
- [6] Guliye A Y, Creveld C V, Yagil R. Detection of subclinical mastitis in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) using somatic cell count and the N-Acetyl- β -D-glucosaminidase test[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2002, 34: 95-104.
- [7] 郭本恒. 乳品化学[M]. 北京: 中国轻工出版社, 2001. 25-32.
- [8] 刘邻渭. 食品化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. 39-45.
- [9] 敖晓琳, 李诚. 高体细胞牛乳的性质及对加工的影响[J]. 中国乳品工业, 2003, 31(5): 39-41.
AO Xiao-lin, LI Cheng. Influence of high somatic cell count on milk properties and milk manufacturing [J]. *China Dairy Industry*, 2003, 31(5): 39-41. (in Chinese)
- [10] Santos M V, Ma Y, Barbano D M. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage[J]. *J Dairy Sci*, 2003, 86: 2491-2503.
- [11] Ma Y, Ryan C, Barbano D M, et al. Effect of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk[J]. *J Dairy Sci*, 2000, 83: 264-274.
- [12] Hurlle W L. Mammary function during the nonlactating period: enzyme, lactose, protein concentrations, and PH of mammary secretions[J]. *J Dairy Sci*, 1987, 70: 20-28.
- [13] 黄文涛, 胡学智. 酶应用手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989. 59-74.
- [14] Choi I W, Jeon I J. Patterns of fatty acids released from milk fat by residual lipase during storage of UHT processed milk [J]. *J Dairy Sci*, 1992, 76: 78-85.
- [15] Ma Y, Barbano D M, Satos M. Effect of CO₂ addition to raw milk on proteolysis and lipolysis at 4 °C[J]. *J Dairy Sci*, 2005, 86: 1616-1631.
- [16] 裴喜春, 薛河儒. SAS 及应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998. 32-57.
- [17] Griffin T K, Morant S V, Dodd F H. Diagnosing infectious subclinical mastitis in surveys or large scale experiments[J]. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 1987, 211: 9-24.
- [18] Wilson D J, Herer P S, Sears P M. N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, etiologic agent, and duration of clinical signs for sequential episodes of chronic clinical mastitis in dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 1991, 74: 1539-1543.
- [19] Berning L M, Shook G E. Prediction of mastitis using milk somatic cell count, N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase, and lactose [J]. *J Dairy Sci*, 1992, 75: 1840-1848.
- [20] Pyörälä S, Pyörälä E. Accuracy of methods using somatic cell count and NAGase activity in milk to assess the bacteriological cure of bovine clinical mastitis[J]. *J Dairy Sci*, 1997, 80: 2820-2825.
- [21] 张和平, 张列宾. 现代乳品工业手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005. 321-335.
- [22] 张爱霞, 生庆海, 张佳程. UHT 乳中脂解酶活性的测定[J]. 食品与机械, 2004, 20(4): 35-37.
ZHANG Ai-xia, SHENG Qing-hai, ZHANG Jia-cheng. Lipase activity determination in UHT milk[J]. *Food and Machinery*, 2004, 20(4): 35-37. (in Chinese)

(责任编辑: 杨 萌)