

摘 要

测定 7 个牧场 982 个奶样的体细胞数、纤维蛋白溶酶活性、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、脂酶活性、游离脂肪酸含量、游离氨基氮含量、酒精稳定性、凝乳时间, 根据体细胞数的大小, 将样品分为四组 (<20 万个/mL, 20-50 万个/mL, 50-100 万个/mL, >100 万个/mL), 研究原料乳体细胞数与原料乳内源酶和原料乳稳定性的关系。结果显示:

1. 所采 982 个样本的平均体细胞数为 87 万个/mL, 标准差为 147 万个/mL, 不服从正态分布。
2. 不同的体细胞组间, 牛乳纤维蛋白溶酶活性、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、脂酶活性、游离脂肪酸含量和游离氨基氮含量随体细胞数的升高而增加, 组间有极显著差异 ($P < 0.001$); 凝乳时间随体细胞数的升高而降低, 组间有极显著差异 ($P < 0.001$)。
3. 牛乳体细胞数与纤维蛋白酶活性、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、脂酶活性、游离氨基氮含量、游离脂肪酸含量呈极显著正相关 ($P < 0.001$); 牛乳体细胞数与凝乳时间呈极显著负相关 ($P < 0.001$)。
4. 纤维蛋白酶与游离氨基氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关, 相关系数 0.3628; 游离脂肪酸与脂酶在 $P < 0.001$ 的水平下正相关, 相关系数 0.5396; 凝乳时间与游离钙含量在 $P < 0.05$ 的水平下正相关, 相关系数 0.1280; 凝乳时间与尿素氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关, 相关系数 0.3897; 凝乳时间与乳清蛋白含量在 $P < 0.01$ 的水平下负相关, 相关系数 -0.4180; 在本实验条件下 ($\text{pH} = 6.58 - 6.62$), 凝乳时间与 pH 不相关。
5. 在饲养水平和管理水平一样的条件下, 随着牛乳体细胞数升高, 酒精稳定性随之降低; 当牧场管理水平各异时, 随着牛乳体细胞数升高, 酒精稳定性呈无规律变化。
6. 管理水平较好的牧场, 其原料乳平均体细胞数为 91 万个/mL, 管理水平较差的牧场, 其原料乳平均体细胞数为 148 万个/mL, 不同管理水平之间牛乳体细胞数差异显著 ($P < 0.05$)。
7. 在呼和浩特地区, 由于 9 月份高温高湿的天气情况, 平均体细胞数达到了全年最大值。因此, 就呼和浩特地区而言, 在 9 月份要加大对乳房炎的防治工作。

关键词: 牛乳; 体细胞数; 内源酶; 稳定

Research on the relationships between bovine milk somatic cell counts and indigenous enzymes or milk stability in Huhhot

Abstract

In order to provide theoretical foundation for controlling SCC in raw milk, the correlation among SCC, indigenous enzymes and bovine milk stability were studied.

The milk SCC, plasmin, NAGase, peroxidase, catalase, lipase, FFA, FAN, alcohol stability and heat coagulation time of 982 milk samples from 7 meadows were analyzed and compared for different SCC (<200,000cells/mL, 200,000-500,000cells/mL, 500,000-1,000,000cells/mL, >1,000,000cells/mL).

The results showed:

1. The mean SCC of 982 milk samples was 870,200 cells/mL and the stdev was 1,468,900 cells/mL. The milk SCC did not fit the normal distribution.
2. The levels of plasmin, NAGase, peroxidase, catalase, lipase, FFA and FAN increased with SCC ($P<0.001$); when SCC was increased, heat coagulation time decreased ($P<0.001$).
3. Positive correlation coefficient ($P<0.001$) was found during SCC, other indigenous enzymes, FFA and FAN. Heat coagulation time was much significantly negatively related with SCC ($P<0.001$).
4. Plasmin correlated to FAN ($p<0.001$), R is 0.3628; FFA correlated to lipase ($p<0.001$), R is 0.5396; heat coagulation time correlated to free calcium ($p<0.05$), R is 0.1280; heat coagulation time correlated to urea content ($p<0.001$), R is 0.3897; heat coagulation time correlated to whey protein ($p<0.01$), R is -0.4180; heat coagulation time had no relationship with pH.
5. Under the same quality of management, the milk alcohol stability decreased along with SCC increased; when pasture management levels were different, the milk alcohol stability assumes the disorder changes along with SCC increased.
6. The meadows that had a low bulk milk SCC (910,000 cells/mL) had better management than those meadows that had a high bulk milk SCC (1,480,000 cells/mL). There is significant difference between the two management practices ($p<0.05$).
7. The SCC in September were higher than these in others in Huhhot, so we must adopt more measures to prevent mastitis.

Keywords: *milk; Somatic cell count; Indigenous enzymes; Stability*

Directed by: Prof. ZHANG He Ping (Ph.D)

Applicant for Master degree: Guo Qihui (Food science)

(Food Science and Engineering College, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

内蒙古农业大学

研究生学位论文独创声明

本人申明所呈交的学位论文是我本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得我校或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料，与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

论文作者签名： 郭奇慧 日期： 2007.6.10

内蒙古农业大学研究生学位论文授权使用授权书

本人完全了解内蒙古农业大学有关保护知识产权的规定，即：研究生在攻读学位期间论文工作的知识产权单位属内蒙古农业大学。本人保证毕业离校后，发表论文或使用论文工作成果时署名单位为内蒙古农业大学，且导师为通讯作者，通讯作者单位亦署名为内蒙古农业大学。学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子文档，允许论文被查阅和借阅。学校可以公布学位论文的全部或部分内 容（保密内容除外），采用影印、缩印或其他手段保存论文。

论文作者签名： 郭奇慧
指导教师签名： 作和
日 期： 2007.6.10

1 前言

1.1 牛乳体细胞概述

1.1.1 牛乳体细胞数概念

体细胞数 (Somatic Cell Count, SCC) 是指每毫升乳汁中含有的体细胞数量。它包括多种类型的细胞如嗜中性白细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、及各种乳腺上皮细胞等。在健康奶牛乳腺中, 大部分活性体细胞是巨噬细胞和淋巴细胞, 这些细胞来自血液, 当动物体某一部位受到感染后, 这些细胞将浸透到此部位, 从而抵御外界微生物的感染^[1]。

乳中 SCC 升高, 主要是白细胞增加的结果。SCC 不但是评价动物体健康与否的一个标准, 也是乳品质好坏的一个标志^[2,3]。

1.1.2 牛乳体细胞数升高原因

正常乳中的 SCC 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 SCC 可以低于 10 万个/mL。如果乳中 SCC 明显增高, 可判断为异常乳或低质原料乳。

导致 SCC 增高有以下几点原因^[4,5,6,7]:

1.1.2.1 乳房炎的影响

乳房炎是导致体细胞数增高的主要原因。乳房炎是乳牛常见的疾病, 是由于乳房组织感染了病原微生物引起的。根据 IDF (国际奶业联盟) 的调查证明, 葡萄球菌的感染比例最多, 其次是链球菌, 而其他微生物对乳房炎的作用很小。

乳房炎有临床和隐性两种类型, 临床的乳房炎有乳房肿大, 牛奶异常等症状明显, 肉眼可以辨别, 而隐性乳房炎的情况要复杂得多, 一般发病率是临床乳房炎的 15-40 倍, 具有体细胞数增加、产量减少和乳质量下降等特点。

乳房炎是乳腺组织对于细菌、真菌、霉菌、化学药物、温热刺激以及机械性损伤等外界不良条件的一种炎性反应过程。该炎症反应的关键特征之一是体细胞会随着血液抵达受伤部位。一方面巨噬细胞和嗜中性白细胞吞噬细菌, 而淋巴细胞则控制免疫反应和产生抗体以抗拒细菌破坏, 起到保护肌体作用; 另一方面体现在挤出的奶中体细胞的数量明显增加。乳房炎所引起的乳房炎症反应会引起乳产生一系列物理、化学和微生物方面的变化, 包括乳化学组成的改变。由于乳的不同组分具有特定的功能, 乳组分的变化将导致其功能的改变。亚临床型乳房炎 (无临床症状的乳房炎) 和临床型乳房炎都会引起这些改变。乳房的健康对牛奶的质量和加工性质有很显著的影响。广泛使用的乳房健康指标是体细胞数。世界上许多牛奶加工厂, 如在欧美国家和日本, 都将体细胞数作为衡量生奶质量的关键指标。较高的 SCC 值

1 前言

1.1 牛乳体细胞概述

1.1.1 牛乳体细胞数概念

体细胞数 (Somatic Cell Count, SCC) 是指每毫升乳汁中含有的体细胞数量。它包括多种类型的细胞如嗜中性白细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、及各种乳腺上皮细胞等。在健康奶牛乳腺中, 大部分活性体细胞是巨噬细胞和淋巴细胞, 这些细胞来自血液, 当动物体某一部位受到感染后, 这些细胞将浸透到此部位, 从而抵御外界微生物的感染^[1]。

乳中 SCC 升高, 主要是白细胞增加的结果。SCC 不但是评价动物体健康与否的一个标准, 也是乳品质好坏的一个标志^[2,3]。

1.1.2 牛乳体细胞数升高原因

正常乳中的 SCC 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 SCC 可以低于 10 万个/mL。如果乳中 SCC 明显增高, 可判断为异常乳或低质原料乳。

导致 SCC 增高有以下几点原因^[4,5,6,7]:

1.1.2.1 乳房炎的影响

乳房炎是导致体细胞数增高的主要原因。乳房炎是乳牛常见的疾病, 是由于乳房组织感染了病原微生物引起的。根据 IDF (国际奶业联盟) 的调查证明, 葡萄球菌的感染比例最多, 其次是链球菌, 而其他微生物对乳房炎的作用很小。

乳房炎有临床和隐性两种类型, 临床的乳房炎有乳房肿大, 牛奶异常等症状明显, 肉眼可以辨别, 而隐性乳房炎的情况要复杂得多, 一般发病率是临床乳房炎的 15-40 倍, 具有体细胞数增加、产量减少和乳质量下降等特点。

乳房炎是乳腺组织对于细菌、真菌、霉菌、化学药物、温热刺激以及机械性损伤等外界不良条件的一种炎性反应过程。该炎症反应的关键特征之一是体细胞会随着血液抵达受伤部位。一方面巨噬细胞和嗜中性白细胞吞噬细菌, 而淋巴细胞则控制免疫反应和产生抗体以抗拒细菌破坏, 起到保护肌体作用; 另一方面体现在挤出的奶中体细胞的数量明显增加。乳房炎所引起的乳房炎症反应会引起乳产生一系列物理、化学和微生物方面的变化, 包括乳化学组成的改变。由于乳的不同组分具有特定的功能, 乳组分的变化将导致其功能的改变。亚临床型乳房炎 (无临床症状的乳房炎) 和临床型乳房炎都会引起这些改变。乳房的健康对牛奶的质量和加工性质有很显著的影响。广泛使用的乳房健康指标是体细胞数。世界上许多牛奶加工厂, 如在欧美国家和日本, 都将体细胞数作为衡量生奶质量的关键指标。较高的 SCC 值

往往预示着乳房炎的存在。

1.1.2.2 年龄的影响

老年牛的体细胞数有增高的趋势，主要是由于生理性体细胞增多及免疫能力低引起的。

1.1.2.3 胎次的影响

随着奶牛胎次的升高，体细胞数也有增加的趋势。这是因为胎次高的牛患乳房炎或发生乳头、乳腺损伤的概率增加。

1.1.2.4 泌乳期的影响

同一头牛，不同的泌乳阶段，其体细胞含量也不同，泌入末期体细胞数会增加。

1.1.2.5 产奶量的影响

在乳腺未被感染的情况下，产奶量减少，体细胞数升高。由于健康奶牛每天分泌到牛奶中的白细胞以及乳腺脱落的上皮细胞相对恒定，因此产奶量高体细胞数减少，产奶量低体细胞数增加。

1.1.2.6 季节变化的影响

夏天由于炎热和潮湿，奶牛的乳房炎发生比率增加，从而使体细胞数有增加的趋势。

1.1.2.7 环境应激因素的影响

应激因素如发情、生病、检疫、饲料、挤奶机性能、错误的挤奶操作等多种因素都会使牛奶体细胞数增高。

1.1.2.8 挤奶时间的间隔及挤奶次数的影响

挤奶时间的间隔对体细胞影响较大，以每天挤两次为例，若白天两次挤奶的时间间隔小于当天早上和前天晚上的时间间隔，则下午奶的体细胞比上午奶的体细胞含量高。研究表明，在泌乳末期即使未患隐性乳房炎，若减少挤奶次数，也会使体细胞急剧增加。

1.1.2.9 遗传因素的影响

不同的乳牛品种对乳腺炎易感性不同。仅仅重视奶产选择品种是乳腺炎高发的一个重要因素，高产奶牛易感染。

1.1.3 牛乳体细胞数测定方法

SCC 检测的目的为了监测乳房炎发病状况,以采取相应措施将乳房炎的风险降低到最低;便于乳品生产企业评价牛乳质量,确定原料乳等级、适合加工的产品及预测产品的质量等。

SCC 检测的方法很多,其中加利福尼亚乳房炎测定法(California mastitis test, CMT 法)、威斯康辛乳房炎试验(Wisconsin mastitis test, WMT 法)和电子计数 DHI 法(Electronic Somatic Cell Count)为现在常见的 3 种商业化的检测方法^[9]。实验室的标准方法为显微镜法。(1) CMT 法的测定原理是基于细胞在遇到表面活性剂时,会收缩凝固的现象。体细胞越多,凝集状态越强,出现的凝集片越多。一般是通过化学试剂 NaOH、烷基芳磺酸、溴甲酚紫,使牛奶中的体细胞释放 DNA 而产生凝集,再根据凝集的现象来判读体细胞的相对数量。(2) WMT 法的试验原理和所用的试剂与 CMT 法相似。(3) DHI 法是通过自动测定仪测定体细胞数的快速方法。(4) 直接镜检法:是生鲜牛乳中体细胞检验的标准方法,原理与美蓝还原试验相似,是一种色素还原试验。体细胞的细胞核可被亚甲基兰清晰染色,再油浸高倍显微镜下对染成蓝色的体细胞计数。

丹麦福斯公司的 Fossomatic 5000 系列牛奶体细胞测定仪,采用电子技术,利用电脑对信号进行处理,可以快速的对牛奶体细胞进行计数。

1.1.4 牛乳中体细胞数的国内外研究进展

乳中体细胞一直是众多研究者研究的焦点。它不仅是衡量奶牛乳房健康的一个重要指标,同时也是评判原料奶质量的重要指标,其对乳制品品质具有广泛而复杂的影响。

在 20 世纪 80 年代,国外学者对牛奶中 SCC 与牛乳房炎及乳成分的关系做了大量研究,结果表明,SCC 升高会对乳制品加工和贮藏造成不良影响。现在已有不少乳品企业在收购原料奶时,将牛奶的体细胞数列入按质论价的指标之一,这将直接影响到牧场和奶农的经济效益。

美国农业部 1995 年规定,每毫升生鲜牛奶中 SCC 必须小于 75 万/mL,否则不准用于加工巴氏杀菌乳等市售乳品。欧盟自 1992 年 6 月起就规定,原料奶中 SCC 必须小于 40 万/mL 才准许出售给加工厂用于生产乳制品。新西兰和澳大利亚规定的标准也是 SCC 小于 40 万/mL。一些国家的乳品厂对 SCC 在 50 万/mL 以上的牛奶进行减价收购或拒收。近年来,由于国外牛乳 SCC 得到控制,所以对此的研究较少,仅有以下几方面关于体细胞的报道:山羊乳、绵羊乳、骆驼乳、水牛乳中 SCC 与乳成分及乳制品质量的关系;牛的基因与 SCC 的关系。

1.1.3 牛乳体细胞数测定方法

SCC 检测的目的为了监测乳房炎发病状况,以采取相应措施将乳房炎的风险降低到最低;便于乳品生产企业评价牛乳质量,确定原料乳等级、适合加工的产品及预测产品的质量等。

SCC 检测的方法很多,其中加利福尼亚乳房炎测定法(California mastitis test, CMT 法)、威斯康辛乳房炎试验(Wisconsin mastitis test, WMT 法)和电子计数 DHI 法(Electronic Somatic Cell Count)为现在常见的 3 种商业化的检测方法^[9]。实验室的标准方法为显微镜法。(1) CMT 法的测定原理是基于细胞在遇到表面活性剂时,会收缩凝固的现象。体细胞越多,凝集状态越强,出现的凝集片越多。一般是通过化学试剂 NaOH、烷基芳磺酸、溴甲酚紫,使牛奶中的体细胞释放 DNA 而产生凝集,再根据凝集的现象来判读体细胞的相对数量。(2) WMT 法的试验原理和所用的试剂与 CMT 法相似。(3) DHI 法是通过自动测定仪测定体细胞数的快速方法。(4) 直接镜检法:是生鲜牛乳中体细胞检验的标准方法,原理与美蓝还原试验相似,是一种色素还原试验。体细胞的细胞核可被亚甲基兰清晰染色,再油浸高倍显微镜下对染成蓝色的体细胞计数。

丹麦福斯公司的 Fossomatic 5000 系列牛奶体细胞测定仪,采用电子技术,利用电脑对信号进行处理,可以快速的对牛奶体细胞进行计数。

1.1.4 牛乳中体细胞数的国内外研究进展

乳中体细胞一直是众多研究者研究的焦点。它不仅是衡量奶牛乳房健康的一个重要指标,同时也是评判原料奶质量的重要指标,其对乳制品品质具有广泛而复杂的影响。

在 20 世纪 80 年代,国外学者对牛奶中 SCC 与牛乳房炎及乳成分的关系做了大量研究,结果表明,SCC 升高会对乳制品加工和贮藏造成不良影响。现在已有不少乳品企业在收购原料奶时,将牛奶的体细胞数列入按质论价的指标之一,这将直接影响到牧场和奶农的经济效益。

美国农业部 1995 年规定,每毫升生鲜牛奶中 SCC 必须小于 75 万/mL,否则不准用于加工巴氏杀菌乳等市售乳品。欧盟自 1992 年 6 月起就规定,原料奶中 SCC 必须小于 40 万/mL 才准许出售给加工厂用于生产乳制品。新西兰和澳大利亚规定的标准也是 SCC 小于 40 万/mL。一些国家的乳品厂对 SCC 在 50 万/mL 以上的牛奶进行减价收购或拒收。近年来,由于国外牛乳 SCC 得到控制,所以对此的研究较少,仅有以下几方面关于体细胞的报道:山羊乳、绵羊乳、骆驼乳、水牛乳中 SCC 与乳成分及乳制品质量的关系;牛的基因与 SCC 的关系。

近几年国内很多学者意识到了 SCC 的升高会对牛奶的品质、乳制品加工和贮藏造成不良影响,因此有很多综述性的报道,但还没有人针对 SCC 和牛乳成分进行系统的试验。现在国内的很多企业也意识到原料奶 SCC 的升高会影响产品质量,但由于无法确定 SCC 和牛乳成分的相关性,因此无法把 SCC 列入原料奶的检测指标。

1.2 原料乳中体细胞数和内源酶关系的研究现状

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。

早在 1895 年,丹麦农民协会首次进行了 DHI 记录。在 20 世纪 80 年代左右,国外学者对 SCC 和酶的关系进行了大量研究,发现牛乳 SCC 的增高会引起部分酶的变化,从而导致牛乳质量和产量的下降。

1.2.1 原料乳中体细胞数和纤维蛋白溶酶关系的研究

1.2.1.1 纤维蛋白溶酶的性质

纤维蛋白溶酶 (EC. 3. 4. 21. 7) (Plasmin, PL) 也叫胞浆素,是一种丝氨酸蛋白酶,与胰蛋白酶性能相似,是乳中主要的天然蛋白酶。PL 和其无活性的前体纤维蛋白溶酶原 (Plasminogen, PG) 在乳中共同存在。PG 在纤维蛋白溶酶原激活剂 (Plasminogen activator, PA) 作用下转化成 PL。PL 及其酶原主要存在于血液中,但也可以经过一定的体液循环进入到乳中,因此乳中的 PL、PG 有两个来源:一是乳本身存在;二是由血液进入。

1.2.1.2 PL 和 SCC 的关系

据张爱霞 (2002) 报道,血液中的 PL 质量浓度要远远高于乳中,所以当牛患乳房炎时,由于血液向乳中渗透 (SCC 增加引起乳腺细胞通透性增大所致),增大了乳中的酶含量,使乳蛋白被水解的程度增大,生成时许多小肽段^[9];而且据 Teffi (1992) 研究证实,高 SCC 牛乳中纤维蛋白溶酶原活性、纤维蛋白溶酶原激活剂活性都比常乳高,因此会有更多的 PG 向 PL 转化,使得 PL 性升高^[9]。

Robret (1991) 和 Albenzio (2004) 报道,高 SCC 乳中的蛋白质水解与牛奶中的 PG 有直接的关系。这是由于乳房炎乳中 SCC 增加,而体细胞中含有该酶的激活剂可使其酶原转化为酶,在乳房炎乳中,PL 及其酶原水平迅速上升,而且 PL 占其溶酶原的比例上升,造成蛋白质水解^[10, 11]。

1.2.1.3 PL 对乳制品的影响

近几年国内很多学者意识到了 SCC 的升高会对牛奶的品质、乳制品加工和贮藏造成不良影响,因此有很多综述性的报道,但还没有人针对 SCC 和牛乳成分进行系统的试验。现在国内的很多企业也意识到原料奶 SCC 的升高会影响产品质量,但由于无法确定 SCC 和牛乳成分的相关性,因此无法把 SCC 列入原料奶的检测指标。

1.2 原料乳中体细胞数和内源酶关系的研究现状

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。

早在 1895 年,丹麦农民协会首次进行了 DHI 记录。在 20 世纪 80 年代左右,国外学者对 SCC 和酶的关系进行了大量研究,发现牛乳 SCC 的增高会引起部分酶的变化,从而导致牛乳质量和产量的下降。

1.2.1 原料乳中体细胞数和纤维蛋白溶酶关系的研究

1.2.1.1 纤维蛋白溶酶的性质

纤维蛋白溶酶 (EC. 3. 4. 21. 7) (Plasmin, PL) 也叫胞浆素,是一种丝氨酸蛋白酶,与胰蛋白酶性能相似,是乳中主要的天然蛋白酶。PL 和其无活性的前体纤维蛋白溶酶原 (Plasminogen, PG) 在乳中共同存在。PG 在纤维蛋白溶酶原激活剂 (Plasminogen activator, PA) 作用下转化成 PL。PL 及其酶原主要存在于血液中,但也可以经过一定的体液循环进入到乳中,因此乳中的 PL、PG 有两个来源:一是乳本身存在;二是由血液进入。

1.2.1.2 PL 和 SCC 的关系

据张爱霞 (2002) 报道,血液中的 PL 质量浓度要远远高于乳中,所以当牛患乳房炎时,由于血液向乳中渗透 (SCC 增加引起乳腺细胞通透性增大所致),增大了乳中的酶含量,使乳蛋白被水解的程度增大,生成时许多小肽段^[9];而且据 Teffi (1992) 研究证实,高 SCC 牛乳中纤维蛋白溶酶原活性、纤维蛋白溶酶原激活剂活性都比常乳高,因此会有更多的 PG 向 PL 转化,使得 PL 性升高^[9]。

Robret (1991) 和 Albenzio (2004) 报道,高 SCC 乳中的蛋白质水解与牛奶中的 PG 有直接的关系。这是由于乳房炎乳中 SCC 增加,而体细胞中含有该酶的激活剂可使其酶原转化为酶,在乳房炎乳中,PL 及其酶原水平迅速上升,而且 PL 占其溶酶原的比例上升,造成蛋白质水解^[10,11]。

1.2.1.3 PL 对乳制品的影响

近几年国内很多学者意识到了 SCC 的升高会对牛奶的品质、乳制品加工和贮藏造成不良影响,因此有很多综述性的报道,但还没有人针对 SCC 和牛乳成分进行系统的试验。现在国内的很多企业也意识到原料奶 SCC 的升高会影响产品质量,但由于无法确定 SCC 和牛乳成分的相关性,因此无法把 SCC 列入原料奶的检测指标。

1.2 原料乳中体细胞数和内源酶关系的研究现状

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。

早在 1895 年,丹麦农民协会首次进行了 DHI 记录。在 20 世纪 80 年代左右,国外学者对 SCC 和酶的关系进行了大量研究,发现牛乳 SCC 的增高会引起部分酶的变化,从而导致牛乳质量和产量的下降。

1.2.1 原料乳中体细胞数和纤维蛋白溶酶关系的研究

1.2.1.1 纤维蛋白溶酶的性质

纤维蛋白溶酶 (EC. 3. 4. 21. 7) (Plasmin, PL) 也叫胞浆素,是一种丝氨酸蛋白酶,与胰蛋白酶性能相似,是乳中主要的天然蛋白酶。PL 和其无活性的前体纤维蛋白溶酶原 (Plasminogen, PG) 在乳中共同存在。PG 在纤维蛋白溶酶原激活剂 (Plasminogen activator, PA) 作用下转化成 PL。PL 及其酶原主要存在于血液中,但也可以经过一定的体液循环进入到乳中,因此乳中的 PL、PG 有两个来源:一是乳本身存在;二是由血液进入。

1.2.1.2 PL 和 SCC 的关系

据张爱霞 (2002) 报道,血液中的 PL 质量浓度要远远高于乳中,所以当牛患乳房炎时,由于血液向乳中渗透 (SCC 增加引起乳腺细胞通透性增大所致),增大了乳中的酶含量,使乳蛋白被水解的程度增大,生成时许多小肽段^[9];而且据 Teffi (1992) 研究证实,高 SCC 牛乳中纤维蛋白溶酶原活性、纤维蛋白溶酶原激活剂活性都比常乳高,因此会有更多的 PG 向 PL 转化,使得 PL 性升高^[9]。

Robret (1991) 和 Albenzio (2004) 报道,高 SCC 乳中的蛋白质水解与牛奶中的 PG 有直接的关系。这是由于乳房炎乳中 SCC 增加,而体细胞中含有该酶的激活剂可使其酶原转化为酶,在乳房炎乳中,PL 及其酶原水平迅速上升,而且 PL 占其溶酶原的比例上升,造成蛋白质水解^[10, 11]。

1.2.1.3 PL 对乳制品的影响

在乳中 PL 具有很强的蛋白水解活性, 能水解 α_{s1} -CN, α_{s2} -CN 的某些键^[12,13], 并且能迅速将 β -CN 转化为 γ -CN 或游离氨基氮 (Free Amino Nitrogen, FAN)^[14], 从而引起一系列的变化, 使酪蛋白变性, 改变与凝乳相关的功能性。一方面, 变性后的酪蛋白无法形成凝块, 以细小颗粒的形式随着乳清和冲洗水排出^[15]; 另一方面, β -CN 被降解造成蛋白持水能力增加, 导致切割时干酪的压力降低, 增加了脂肪、蛋白质的流失。

另外, PL 通过降解 α_s -CN, β -CN (干酪硬化时必需的蛋白), 改变凝乳过程中的酪蛋白复合体^[16], 使酪蛋白脱水收缩能力下降^[17], 成品干酪的水分增加, 而有些学者认为认为高 SCC 乳干酪成熟中脂肪、蛋白质的不良水解也跟此种干酪的高水分有关。

因为 PL 耐热性高, 能存活于巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中。所以, UHT 乳中残存的酶会对制品的品质产生影响, 其中主要是产生凝胶现象。

1.2.2 原料乳中体细胞数和 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶关系的研究

Wilson (1991) 和 Berning (1992) 研究表明, N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (Nitrophenyl A-acetyl- β -D-glucosaminide, NAG 酶) 是一种溶菌酶, 在牛患乳房炎期间, 乳中 NAG 酶活性会增加, 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 酶活性升高^[18,19]。Guliyev (2002) 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 酶活性升高程度和奶牛乳房细胞破损程度密切相关^[20], 因此通过检测牛乳中 NAG 酶活性可以判断牛是否患乳房炎。

Pyörälä (1997) 研究了患乳房炎的牛的乳中 SCC 及 NAG 酶活性变化, 当 SCC 从 50 万个/mL 增加到 720 万个/mL 时, NAG 酶活性也从 67u/mol 增加到 100u/mol, 表明 SCC 升高, 会造成 NAG 酶活性升高^[21]。

1.2.3 原料乳中体细胞数和过氧化物酶关系的研究

牛乳过氧化物酶 (Peroxidase) 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。

王振阁 (2004) 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^[22]。张和平 (2005) 报道, 过氧化物酶活性也可作为检验乳房炎发病的指标^[23]。

在乳中 PL 具有很强的蛋白水解活性,能水解 α_{s1} -CN, α_{s2} -CN 的某些键^[12,13],并且能迅速将 β -CN 转化为 γ -CN 或游离氨基氮 (Free Amino Nitrogen, FAN)^[14],从而引起一系列的变化,使酪蛋白变性,改变与凝乳相关的功能性。一方面,变性后的酪蛋白无法形成凝块,以细小颗粒的形式随着乳清和冲洗水排出^[15];另一方面, β -CN 被降解造成蛋白持水能力增加,导致切割时干酪的压力降低,增加了脂肪、蛋白质的流失。

另外,PL 通过降解 α_s -CN, β -CN (干酪硬化时必需的蛋白),改变凝乳过程中的酪蛋白复合体^[16],使酪蛋白脱水收缩能力下降^[17],成品干酪的水分增加,而有些学者认为认为高 SCC 乳干酪成熟中脂肪、蛋白质的不良水解也跟此种干酪的高水分有关。

因为 PL 耐热性高,能存活于巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳中。所以,UHT 乳中残存的酶会对制品的品质产生影响,其中主要是产生凝胶现象。

1.2.2 原料乳中体细胞数和 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶关系的研究

Wilson (1991) 和 Berning (1992) 研究表明, N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (Nitrophenyl A-acetyl- β -D-glucosaminide, NAG 酶) 是一种溶菌酶,在牛患乳房炎期间,乳中 NAG 酶活性会增加,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 酶活性升高^[18,19]。Guliyev (2002) 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 酶活性升高程度和奶牛乳房细胞破损程度密切相关^[20],因此通过检测牛乳中 NAG 酶活性可以判断牛是否患乳房炎。

Pyörälä (1997) 研究了患乳房炎的牛的乳中 SCC 及 NAG 酶活性变化,当 SCC 从 50 万个/mL 增加到 720 万个/mL 时, NAG 酶活性也从 67u/mol 增加到 100u/mol,表明 SCC 升高,会造成 NAG 酶活性升高^[21]。

1.2.3 原料乳中体细胞数和过氧化物酶关系的研究

牛乳过氧化物酶 (Peroxidase) 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。

王振阁 (2004) 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,肌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^[22]。张和平 (2005) 报道,过氧化物酶活性也可作为检验乳房炎发病的指标^[23]。

1.2.4 原料乳中体细胞数和过氧化氢酶关系的研究

牛乳中的过氧化氢酶 (Catalase) 主要来自白细胞的细胞成分, 其活性与 SCC 成正比, 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。

1.2.5 原料乳中体细胞数和脂酶关系的研究

1.2.5.1 脂酶的性质

据 Chen(2003) 报道, 脂肪分解酶类根据其分解脂肪酸碳链的大小分为两大类: 一类是分解脂肪酸碳链小于 10 的甘油酯, 称为酯酶 (esterase); 一类是分解脂肪酸碳链大于等于 10 的甘油酯, 称为脂酶 (lipase)^[24]。绝大部分脂酶也可以分解酯酶底物。也有文献介绍乳中含有酯酶, 其包括脂酶和磷酸酶。乳脂肪分解酶类主要来源于以下两种方式: 一种是乳中固有的, 在牛乳合成和分泌的过程中产生, 由乳腺进入牛乳中; 一种是在存放、加工过程中污染微生物后产生的。由于乳中自身的酯酶含量很低, 且相关文献很少, 而微生物产生的乳脂肪酶类主要为脂酶。

据谢继志(2003) 报道, 脂酶按底物专一性可分为非专一性脂酶、1,3-专一性脂酶、脂肪酸专一性脂酶三类。根据其在牛乳中的位置分为膜脂酶、乳浆脂酶及其它类。膜脂酶吸附于脂肪球膜之间, 乳浆脂酶存在于脱脂乳中, 大部分与酪蛋白结合^[25]。脂酶作用于油/水界面上, 这与酯酶作用于水相中不同。由于脂酶对脂肪中脂肪酸残基及酯键的位置具有很高的专一选择性, 因此一种脂酶的反应产物是相对恒定的。用一种脂酶生产出的产品在风味上具有一定的独特性。大多数脂酶的最适 pH 在 6-9 范围内, 酶解反应的最适温度是 20℃-40℃, 生产中一般用 30℃-36℃。

1.2.5.2 脂酶与 SCC 的关系

周家春^[26] 报道, 原料乳中的天然脂肪酶有两种: 一种存在于乳浆与酪蛋白结合, 称为乳浆脂酶, 它会由于牛乳的均质而吸附于脂肪球上; 另一种吸附于脂肪球膜界面间, 称为膜脂酶, 在乳房炎乳中含量很高。因此, 高 SCC 牛乳中脂酶的活性较高。

张爱霞(2004) 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 10⁶-10⁷cfu/mL, 脂解酶的活性就会较高, 从而使游离脂肪酸 (Free Fat Acid, FFA) 含量提高^[27]。

Mab 报道(2000) 将标准化后具有相同脂肪含量的高 SCC 牛奶与低 SCC 牛奶进行测定, 比较它们的脂肪变化情况。当经过相同条件的巴氏杀菌、均质、无菌包装和冷藏 (5℃), 发现在冷藏期间高 SCC 牛奶中游离脂肪酸的增加是低 SCC 牛奶中的 2-3 倍。在冷藏后期高 SCC 牛乳出现明显的脂肪酸败味, 酸度较低 SCC 牛奶明显增高, 口感具有明显的不洁味, 后味苦涩。说明高 SCC 牛奶对巴氏灭菌奶的口感和货

1.2.4 原料乳中体细胞数和过氧化氢酶关系的研究

牛乳中的过氧化氢酶 (Catalase) 主要来自白细胞的细胞成分, 其活性与 SCC 成正比, 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。

1.2.5 原料乳中体细胞数和脂酶关系的研究

1.2.5.1 脂酶的性质

据 Chen(2003) 报道, 脂肪分解酶类根据其分解脂肪酸碳链的大小分为两大类: 一类是分解脂肪酸碳链小于 10 的甘油酯, 称为酯酶 (esterase); 一类是分解脂肪酸碳链大于等于 10 的甘油酯, 称为脂酶 (lipase)^[24]。绝大部分脂酶也可以分解酯酶底物。也有文献介绍乳中含有酯酶, 其包括脂酶和磷酸酶。乳脂肪分解酶类主要来源于以下两种方式: 一种是乳中固有的, 在牛乳合成和分泌的过程中产生, 由乳腺进入牛乳中; 一种是在存放、加工过程中污染微生物后产生的。由于乳中自身的酯酶含量很低, 且相关文献很少, 而微生物产生的乳脂肪酶类主要为脂酶。

据谢继志(2003) 报道, 脂酶按底物专一性可分为非专一性脂酶、1,3-专一性脂酶、脂肪酸专一性脂酶三类。根据其在牛乳中的位置分为膜脂酶、乳浆脂酶及其它类。膜脂酶吸附于脂肪球膜之间, 乳浆脂酶存在于脱脂乳中, 大部分与酪蛋白结合^[25]。脂酶作用于油/水界面上, 这与酯酶作用于水相中不同。由于脂酶对脂肪中脂肪酸残基及酯键的位置具有很高的专一选择性, 因此一种脂酶的反应产物是相对恒定的。用一种脂酶生产出的产品在风味上具有一定的独特性。大多数脂酶的最适 pH 在 6-9 范围内, 酶解反应的最适温度是 20℃-40℃, 生产中一般用 30℃-36℃。

1.2.5.2 脂酶与 SCC 的关系

周家春^[26] 报道, 原料乳中的天然脂肪酶有两种: 一种存在于乳浆与酪蛋白结合, 称为乳浆脂酶, 它会由于牛乳的均质而吸附于脂肪球上; 另一种吸附于脂肪球膜界面间, 称为膜脂酶, 在乳房炎乳中含量很高。因此, 高 SCC 牛乳中脂酶的活性较高。

张爱霞(2004) 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 10⁶-10⁷cfu/mL, 脂解酶的活性就会较高, 从而使游离脂肪酸 (Free Fat Acid, FFA) 含量提高^[27]。

Mab 报道(2000) 将标准化后具有相同脂肪含量的高 SCC 牛奶与低 SCC 牛奶进行测定, 比较它们的脂肪变化情况。当经过相同条件的巴氏杀菌、均质、无菌包装和冷藏 (5℃), 发现在冷藏期间高 SCC 牛奶中游离脂肪酸的增加是低 SCC 牛奶中的 2-3 倍。在冷藏后期高 SCC 牛乳出现明显的脂肪酸败味, 酸度较低 SCC 牛奶明显增高, 口感具有明显的不洁味, 后味苦涩。说明高 SCC 牛奶对巴氏灭菌奶的口感和货

架期影响较大^[28]。

脂酶对乳制品的影微生物产生的脂酶是乳制品酸败的主要原因。由于乳脂肪中含低级脂肪酸比较多,即使稍微水解也会产生刺激性的酸败味,特别是奶油被霉菌污染后,水解更为迅速^[29]。霉菌产生的脂酶会使奶油带有酸败的味道并使脂肪变苦。在保鲜奶生产过程中,苦味物质生成的原因之一也是脂酶分解乳脂肪所致。原料奶在挤奶后很容易污染嗜冷菌,嗜冷菌在4℃贮存的奶中生长,产生脂酶。时间越长,合成的酶类越多,危害越大。目前所采用的超高温瞬时灭菌的热处理条件可以杀灭嗜冷菌,但无法保证所有的脂酶失活,未失活的脂酶在产品贮藏过程中会缓慢的分解脂肪,产生苦味。

由于奶粉中水分含量较低,公认微生物无法在其中生长。当奶粉水分含量小于3%时,脂酶催化的水解反应仍然能够发生。全脂奶粉在37℃储存2周,短链自由脂肪酸的含量会超过感官限值。脂酶的活性在低水分活度的粉末状条件下比在水溶液中的稳定性高。在20℃储存两个月的脱脂奶粉中,脂酶的活性没有损失。因而脂肪酶解是造成奶粉品质变劣的主要原因之一。

此外,在干酪中,过度的脂肪酶解也会使干酪制品产生不愉快的风味。在酸乳制品中,酶解产生的游离脂肪酸也会抑制一些发酵剂的生长^[30]。

1.3 原料乳中体细胞数和牛乳稳定性的研究现状

1.3.1 原料乳体细胞数和热稳定性关系的研究

乳中无机成分在乳制品加工过程中对乳的稳定性起着重要的作用。牛乳中的钙、镁与磷酸盐、柠檬酸盐之间保持适当的平衡,是保持牛乳热稳定性的必须条件。SCC过高时牛乳中盐类的变化将导致鲜牛乳热稳定性降低。王芳(2006)报道,奶中的SCC与热稳定性紧密相关,SCC升高会导致热稳定性降低,特别是在加工时容易出问题^[31]。

1.3.2 原料乳体细胞数和酒精稳定性关系的研究

1.3.2.1 酒精阳性乳概述

酒精阳性乳是指用68%~70%的酒精(也有用72%~75%的酒精)与等量牛奶混合而产生微细颗粒或絮状凝块的牛奶。

酒精阳性乳最早于1936年在荷兰的乌特勒克省发现,此后世界各国都相继发现。据桥本报道,1961年日本酒精阳性乳的发生比例为5%-12%;1977年Kaswda报道酒精阳性乳的发生范围达到了26.7%。

随着我国奶牛业的迅速发展,酒精阳性乳在各省市普遍发生。据吉林农大刘景华报道,国内酒精阳性乳的发生率约30%。因此,人们对酒精阳性乳的发生和防止等进行了广泛的研究。

架期影响较大^[28]。

脂酶对乳制品的影微生物产生的脂酶是乳制品酸败的主要原因。由于乳脂肪中含低级脂肪酸比较多,即使稍微水解也会产生刺激性的酸败味,特别是奶油被霉菌污染后,水解更为迅速^[29]。霉菌产生的脂酶会使奶油带有酸败的味道并使脂肪变苦。在保鲜奶生产过程中,苦味物质生成的原因之一也是脂酶分解乳脂肪所致。原料奶在挤奶后很容易污染嗜冷菌,嗜冷菌在4℃贮存的奶中生长,产生脂酶。时间越长,合成的酶类越多,危害越大。目前所采用的超高温瞬时灭菌的热处理条件可以杀灭嗜冷菌,但无法保证所有的脂酶失活,未失活的脂酶在产品贮藏过程中会缓慢的分解脂肪,产生苦味。

由于奶粉中水分含量较低,公认微生物无法在其中生长。当奶粉水分含量小于3%时,脂酶催化的水解反应仍然能够发生。全脂奶粉在37℃储存2周,短链自由脂肪酸的含量会超过感官限值。脂酶的活性在低水分活度的粉末状条件下比在水溶液中的稳定性高。在20℃储存两个月的脱脂奶粉中,脂酶的活性没有损失。因而脂肪酶解是造成奶粉品质变劣的主要原因之一。

此外,在干酪中,过度的脂肪酶解也会使干酪制品产生不愉快的风味。在酸乳制品中,酶解产生的游离脂肪酸也会抑制一些发酵剂的生长^[30]。

1.3 原料乳中体细胞数和牛乳稳定性的研究现状

1.3.1 原料乳体细胞数和热稳定性关系的研究

乳中无机成分在乳制品加工过程中对乳的稳定性起着重要的作用。牛乳中的钙、镁与磷酸盐、柠檬酸盐之间保持适当的平衡,是保持牛乳热稳定性的必须条件。SCC过高时牛乳中盐类的变化将导致鲜牛乳热稳定性降低。王芳(2006)报道,奶中的SCC与热稳定性紧密相关,SCC升高会导致热稳定性降低,特别是在加工时容易出问题^[31]。

1.3.2 原料乳体细胞数和酒精稳定性关系的研究

1.3.2.1 酒精阳性乳概述

酒精阳性乳是指用68%~70%的酒精(也有用72%~75%的酒精)与等量牛奶混合而产生微细颗粒或絮状凝块的牛奶。

酒精阳性乳最早于1936年在荷兰的乌特勒克省发现,此后世界各国都相继发现。据桥本报道,1961年日本酒精阳性乳的发生比例为5%-12%;1977年Kaswda报道酒精阳性乳的发生范围达到了26.7%。

随着我国奶牛业的迅速发展,酒精阳性乳在各省市普遍发生。据吉林农大刘景华报道,国内酒精阳性乳的发生率约30%。因此,人们对酒精阳性乳的发生和防止等进行了广泛的研究。

架期影响较大^[28]。

脂酶对乳制品的影微生物产生的脂酶是乳制品酸败的主要原因。由于乳脂肪中含低级脂肪酸比较多,即使稍微水解也会产生刺激性的酸败味,特别是奶油被霉菌污染后,水解更为迅速^[29]。霉菌产生的脂酶会使奶油带有酸败的味道并使脂肪变苦。在保鲜奶生产过程中,苦味物质生成的原因之一也是脂酶分解乳脂肪所致。原料奶在挤奶后很容易污染嗜冷菌,嗜冷菌在4℃贮存的奶中生长,产生脂酶。时间越长,合成的酶类越多,危害越大。目前所采用的超高温瞬时灭菌的热处理条件可以杀灭嗜冷菌,但无法保证所有的脂酶失活,未失活的脂酶在产品贮藏过程中会缓慢的分解脂肪,产生苦味。

由于奶粉中水分含量较低,公认微生物无法在其中生长。当奶粉水分含量小于3%时,脂酶催化的水解反应仍然能够发生。全脂奶粉在37℃储存2周,短链自由脂肪酸的含量会超过感官限值。脂酶的活性在低水分活度的粉末状条件下比在水溶液中的稳定性高。在20℃储存两个月的脱脂奶粉中,脂酶的活性没有损失。因而脂肪酶解是造成奶粉品质变劣的主要原因之一。

此外,在干酪中,过度的脂肪酶解也会使干酪制品产生不愉快的风味。在酸乳制品中,酶解产生的游离脂肪酸也会抑制一些发酵剂的生长^[30]。

1.3 原料乳中体细胞数和牛乳稳定性的研究现状

1.3.1 原料乳体细胞数和热稳定性关系的研究

乳中无机成分在乳制品加工过程中对乳的稳定性起着重要的作用。牛乳中的钙、镁与磷酸盐、柠檬酸盐之间保持适当的平衡,是保持牛乳热稳定性的必须条件。SCC过高时牛乳中盐类的变化将导致鲜牛乳热稳定性降低。王芳(2006)报道,奶中的SCC与热稳定性紧密相关,SCC升高会导致热稳定性降低,特别是在加工时容易出问题^[31]。

1.3.2 原料乳体细胞数和酒精稳定性关系的研究

1.3.2.1 酒精阳性乳概述

酒精阳性乳是指用68%~70%的酒精(也有用72%~75%的酒精)与等量牛奶混合而产生微细颗粒或絮状凝块的牛奶。

酒精阳性乳最早于1936年在荷兰的乌特勒克省发现,此后世界各国都相继发现。据桥本报道,1961年日本酒精阳性乳的发生比例为5%-12%;1977年Kaswda报道酒精阳性乳的发生范围达到了26.7%。

随着我国奶牛业的迅速发展,酒精阳性乳在各省市普遍发生。据吉林农大刘景华报道,国内酒精阳性乳的发生率约30%。因此,人们对酒精阳性乳的发生和防止等进行了广泛的研究。

1.3.2.2 酒精阳性乳的形成机理

酒精对蛋白质有脱水作用。酒精分子进入蛋白质多肽链的空隙内破坏了酪蛋白的空间构型,其疏水作用力场平衡遭到破坏;同时由于阳性乳中钙镁离子被吸附到胶粒表面,并与之结合,从而中和了酪蛋白的电荷,改变了酪蛋白复合物间的静电交互作用平衡,造成酪蛋白复合物组成的胶体分散系统平衡遭到破坏,失去电荷的酪蛋白在酒精的脱水作用下失去水化膜,形成了胶体凝结,出现颗粒状、丝状、絮状等大小不等的沉淀,这就形成了酒精阳性乳。

1.3.2.3 酒精阳性乳产生原因

奶牛发生酒精阳性乳的原因,国内外的科研人员做过大量的研究与报道,但尚无确切的定论。现在普遍认为由以下原因造成:奶牛患隐性乳房炎、日粮不平衡、应激因素、泌乳月份、内分泌失调、加工贮运因素^[42]。

1.3.2.4 酒精阳性对生产的影响

酒精阳性乳热稳定性较差,当温度超过120℃时,容易发生凝固,如在用片式杀菌器杀菌时,在金属片上容易产生乳石,使设备难于清洗;乳粉喷雾干燥时,可能影响溶解度,给乳品加工工业造成很多困难,而且这种乳难于贮存,风味也较差。因此,乳品加工工厂在收购鲜奶时,都要进行酒精阳性乳检验,一旦呈阳性就拒绝收购,这样就给奶牛养殖户带来巨大损失,并造成严重的资源浪费。

1.4 原料乳中体细胞数和其他理化指标关系的研究现状

1.4.1 原料乳中体细胞数和蛋白质关系的研究

高体细胞牛乳中酪蛋白含量下降,乳清蛋白含量增加,产生的总蛋白质浓度变化可能是可以忽略不计的。变化的方向受各种因素的影响,如炎症的种类和严重程度^[33,34]。

在SCC含量较高的牛奶中酪蛋白含量降低的部分原因是乳腺上皮细胞的物理损坏导致酪蛋白和合成和分泌较少,此外还与不同种类的酪蛋白后期分泌降解有关,特别是 β -酪蛋白,被来源于微生物、白细胞、血细胞等的一系列微生物所降解。

乳房炎期间乳清蛋白浓度增加部分是由于乳房炎破坏了乳腺上皮细胞间的紧密连接而使来源于血液的血清蛋白流入。这些蛋白质包括免疫球蛋白(IgG)、牛血清白蛋白、乳铁蛋白和 α 2-巨球蛋白。在乳导管中合成的乳铁蛋白含量在乳房炎期间也增加了,这可能与细菌抑制作用相关^[35]。

1.4.2 原料乳中体细胞数和乳糖关系的研究

乳房炎导致乳中乳糖含量降低。乳糖浓度的变化不可能是由于细胞的合成和分

1.3.2.2 酒精阳性乳的形成机理

酒精对蛋白质有脱水作用。酒精分子进入蛋白质多肽链的空隙内破坏了酪蛋白的空间构型,其疏水作用力场平衡遭到破坏;同时由于阳性乳中钙镁离子被吸附到胶粒表面,并与之结合,从而中和了酪蛋白的电荷,改变了酪蛋白复合物间的静电交互作用平衡,造成酪蛋白复合物组成的胶体分散系统平衡遭到破坏,失去电荷的酪蛋白在酒精的脱水作用下失去水化膜,形成了胶体凝结,出现颗粒状、丝状、絮状等大小不等的沉淀,这就形成了酒精阳性乳。

1.3.2.3 酒精阳性乳产生原因

奶牛发生酒精阳性乳的原因,国内外的科研人员做过大量的研究与报道,但尚无确切的定论。现在普遍认为由以下原因造成:奶牛患隐性乳房炎、日粮不平衡、应激因素、泌乳月份、内分泌失调、加工贮运因素^[42]。

1.3.2.4 酒精阳性对生产的影响

酒精阳性乳热稳定性较差,当温度超过120℃时,容易发生凝固,如在用片式杀菌器杀菌时,在金属片上容易产生乳石,使设备难于清洗;乳粉喷雾干燥时,可能影响溶解度,给乳品加工工业造成很多困难,而且这种乳难于贮存,风味也较差。因此,乳品加工工厂在收购鲜奶时,都要进行酒精阳性乳检验,一旦呈阳性就拒绝收购,这样就给奶牛养殖户带来巨大损失,并造成严重的资源浪费。

1.4 原料乳中体细胞数和其他理化指标关系的研究现状

1.4.1 原料乳中体细胞数和蛋白质关系的研究

高体细胞牛乳中酪蛋白含量下降,乳清蛋白含量增加,产生的总蛋白质浓度变化可能是可以忽略不计的。变化的方向受各种因素的影响,如炎症的种类和严重程度^[33,34]。

在SCC含量较高的牛奶中酪蛋白含量降低的部分原因是乳腺上皮细胞的物理损坏导致酪蛋白和合成和分泌较少,此外还与不同种类的酪蛋白后期分泌降解有关,特别是 β -酪蛋白,被来源于微生物、白细胞、血细胞等的一系列微生物所降解。

乳房炎期间乳清蛋白浓度增加部分是由于乳房炎破坏了乳腺上皮细胞间的紧密连接而使来源于血液的血清蛋白流入。这些蛋白质包括免疫球蛋白(IgG)、牛血清白蛋白、乳铁蛋白和 α 2-巨球蛋白。在乳导管中合成的乳铁蛋白含量在乳房炎期间也增加了,这可能与细菌抑制作用相关^[35]。

1.4.2 原料乳中体细胞数和乳糖关系的研究

乳房炎导致乳中乳糖含量降低。乳糖浓度的变化不可能是由于细胞的合成和分

1.3.2.2 酒精阳性乳的形成机理

酒精对蛋白质有脱水作用。酒精分子进入蛋白质多肽链的空隙内破坏了酪蛋白的空间构型,其疏水作用力场平衡遭到破坏;同时由于阳性乳中钙镁离子被吸附到胶粒表面,并与之结合,从而中和了酪蛋白的电荷,改变了酪蛋白复合物间的静电交互作用平衡,造成酪蛋白复合物组成的胶体分散系统平衡遭到破坏,失去电荷的酪蛋白在酒精的脱水作用下失去水化膜,形成了胶体凝结,出现颗粒状、丝状、絮状等大小不等的沉淀,这就形成了酒精阳性乳。

1.3.2.3 酒精阳性乳产生原因

奶牛发生酒精阳性乳的原因,国内外的科研人员做过大量的研究与报道,但尚无确切的定论。现在普遍认为由以下原因造成:奶牛患隐性乳房炎、日粮不平衡、应激因素、泌乳月份、内分泌失调、加工贮运因素^[42]。

1.3.2.4 酒精阳性对生产的影响

酒精阳性乳热稳定性较差,当温度超过120℃时,容易发生凝固,如在用片式杀菌器杀菌时,在金属片上容易产生乳石,使设备难于清洗;乳粉喷雾干燥时,可能影响溶解度,给乳品加工工业造成很多困难,而且这种乳难于贮存,风味也较差。因此,乳品加工工厂在收购鲜奶时,都要进行酒精阳性乳检验,一旦呈阳性就拒绝收购,这样就给奶牛养殖户带来巨大损失,并造成严重的资源浪费。

1.4 原料乳中体细胞数和其他理化指标关系的研究现状

1.4.1 原料乳中体细胞数和蛋白质关系的研究

高体细胞牛乳中酪蛋白含量下降,乳清蛋白含量增加,产生的总蛋白质浓度变化可能是可以忽略不计的。变化的方向受各种因素的影响,如炎症的种类和严重程度^[33,34]。

在SCC含量较高的牛奶中酪蛋白含量降低的部分原因是乳腺上皮细胞的物理损坏导致酪蛋白和合成和分泌较少,此外还与不同种类的酪蛋白后期分泌降解有关,特别是 β -酪蛋白,被来源于微生物、白细胞、血细胞等的一系列微生物所降解。

乳房炎期间乳清蛋白浓度增加部分是由于乳房炎破坏了乳腺上皮细胞间的紧密连接而使来源于血液的血清蛋白流入。这些蛋白质包括免疫球蛋白(IgG)、牛血清白蛋白、乳铁蛋白和 α 2-巨球蛋白。在乳导管中合成的乳铁蛋白含量在乳房炎期间也增加了,这可能与细菌抑制作用相关^[35]。

1.4.2 原料乳中体细胞数和乳糖关系的研究

乳房炎导致乳中乳糖含量降低。乳糖浓度的变化不可能是由于细胞的合成和分

泌造成的，因为乳糖是泌乳的渗透调节剂。正常情况下适量的水渗透到细胞中以保持合适的渗透平衡，在乳房炎期间，分泌的乳糖较少，渗透到细胞中的水也较少，因此泌乳量也较少。这很可能是由于上皮细胞载体的破坏而使乳糖渗出牛奶，于是在患乳房炎牛的血液和尿中乳糖浓度增高。

1.4.3 原料乳中体细胞数和矿物质平衡、pH 关系的研究

乳房炎期间很多矿物质的浓度都发生改变。这些离子的变化导致了牛奶电导率的变化。血液中含量较高的钠和氯渗透到牛奶中，结果它们的浓度增加^[26,27]。

相反，钾是健康奶牛分泌的牛奶中含量最丰富的矿物质，在乳房炎期间通过被破坏的乳腺上皮渗透到乳腺空隙间的体液中，钾的浓度就降低了^[28]。

乳中的大部分钙是与酪蛋白胶粒相结合，因此随着酪蛋白合成减少，乳房炎期间总牛奶钙浓度下降。但乳房炎对可溶性和不溶性钙的影响还没有定论。

乳房炎期间牛奶的 pH 通常上升。牛奶的矿物质平衡和 pH 的变化对乳的特性有很大影响，特别对于干酪生产更为关键^[29]。

1.4.4 原料乳中体细胞数和牛乳产量关系的研究

乳房炎可以使单头牛的产量降低 10-25%。这主要是由于乳腺的上皮细胞受到了物理损坏而限制了合成和分泌能力而造成的^[40]。

对于单个奶牛来说，体细胞数与产奶量损失的对应关系不是固定的，而总乳样体细胞数可以反映牛群整体的受感染程度。虽然这种估测并不十分准确，还要考虑到乳牛的年龄、泌乳期和季节变化的影响。但可以作为整体乳牛健康状况的参考指标。如果总乳样体细胞数超过 50 万个/mL，就应该关注牛群受乳腺炎感染的水平，并采取一些措施，如改善卫生条件，加强挤乳设备和挤奶人员的管理等。

1.5 课题研究的内容、目的及意义

1.5.1 课题研究的内容

根据原料乳体细胞数的不同，将原料乳分组，考察各组之间的以下项目：

- ①原料乳体细胞数的平均数与标准差，
- ②原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性组间差异性研究，
- ③原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性的相关性研究，
- ④原料乳体细胞数与酒精阳性乳关系的研究，
- ⑤牧场管理水平对原料乳体细胞数、内源酶活性影响的研究，
- ⑥季节对原料乳体细胞数影响的研究。

泌造成的，因为乳糖是泌乳的渗透调节剂。正常情况下适量的水渗透到细胞中以保持合适的渗透平衡，在乳房炎期间，分泌的乳糖较少，渗透到细胞中的水也较少，因此泌乳量也较少。这很可能是由于上皮细胞载体的破坏而使乳糖渗出牛奶，于是在患乳房炎牛的血液和尿中乳糖浓度增高。

1.4.3 原料乳中体细胞数和矿物质平衡、pH 关系的研究

乳房炎期间很多矿物质的浓度都发生改变。这些离子的变化导致了牛奶电导率的变化。血液中含量较高的钠和氯渗透到牛奶中，结果它们的浓度增加^[26,27]。

相反，钾是健康奶牛分泌的牛奶中含量最丰富的矿物质，在乳房炎期间通过被破坏的乳腺上皮渗透到乳腺空隙间的体液中，钾的浓度就降低了^[28]。

乳中的大部分钙是与酪蛋白胶粒相结合，因此随着酪蛋白合成减少，乳房炎期间总牛奶钙浓度下降。但乳房炎对可溶性和不溶性钙的影响还没有定论。

乳房炎期间牛奶的 pH 通常上升。牛奶的矿物质平衡和 pH 的变化对乳的特性有很大影响，特别对于干酪生产更为关键^[29]。

1.4.4 原料乳中体细胞数和牛乳产量关系的研究

乳房炎可以使单头牛的产量降低 10-25%。这主要是由于乳腺的上皮细胞受到了物理损坏而限制了合成和分泌能力而造成的^[40]。

对于单个奶牛来说，体细胞数与产奶量损失的对应关系不是固定的，而总乳样体细胞数可以反映牛群整体的受感染程度。虽然这种估测并不十分准确，还要考虑到乳牛的年龄、泌乳期和季节变化的影响。但可以作为整体乳牛健康状况的参考指标。如果总乳样体细胞数超过 50 万个/mL，就应该关注牛群受乳腺炎感染的水平，并采取一些措施，如改善卫生条件，加强挤乳设备和挤奶人员的管理等。

1.5 课题研究的内容、目的及意义

1.5.1 课题研究的内容

根据原料乳体细胞数的不同，将原料乳分组，考察各组之间的以下项目：

- ①原料乳体细胞数的平均数与标准差，
- ②原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性组间差异性研究，
- ③原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性的相关性研究，
- ④原料乳体细胞数与酒精阳性乳关系的研究，
- ⑤牧场管理水平对原料乳体细胞数、内源酶活性影响的研究，
- ⑥季节对原料乳体细胞数影响的研究。

1.5.2 课题研究目的和意义

SCC 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 SCC 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。

目前,国内还没有关于牛乳 SCC 与原料乳中酶和原料乳稳定性关系试验方面的报道,本实验是国内首次对它们的相关性进行研究的试验。

本试验的目的是通过开展原料乳 SCC 与原料乳中酶及原料乳稳定性的对应关系调查,建立原料奶 SCC 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。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 2005 年供试乳样

从 2005 年 5 月至 10 月,选取呼市周边某牧场 30 头荷斯坦奶牛,根据牛群的情况跟踪采集样品,累计采集鲜奶样品共计 452 个进行检测分析。

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。

2.1.2 2006 年供试乳样

从 2006 年 3 月到 2006 年 12 月,按季度随机在几个不同牧场根据体细胞数的变化情况选择性采取不同 SCC 的奶样进行分析,累计采集内蒙古伊利集团下属 6 个牧场荷斯坦奶牛的鲜奶样品共计 530 个进行检测分析。

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。

2.2 实验方法

2.2.1 原料乳体细胞数测定

Foss® Bentley Somacount CC-150 型体细胞分析仪

Foss® Bentley Somacount CC-150 体细胞分析仪的工作原理是让被染色的体细胞通过一个非常狭窄的流路系统,这样被染色的细胞就会一个一个的通过。细胞染色主要是给 DNA 分子染色,染色后体细胞就变得十分清晰了。牛奶样品在观察室里暴露出蓝色的光,蓝色光激发荧光染色,使得体细胞发出红色的光,红色光放大就可以被光电倍增器作为光脉冲计数出来。

2.2.2 原料乳纤维蛋白溶酶活性测定

参照 Albenzio^[41]的方法, 略有改动。Plasmin 与特定底物反应生成有色物质, 在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上在 405nm 测定吸收值确定酶活性。

酶活性单位的定义: 1mL 酶液 1min 使反应液在 405nm 处的吸光值变化 0.001, 即为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

底物溶液的配制: 将 D-Val-Leu-Lys 4-nitroanilide dihydrochloride (购自 sigma) 用 Tris-HCl 缓冲溶液(0.1mol/L, pH7.4)稀释成 0.6mmol/L 的底物溶液。

Plasmin 活性测定方法:

- ①样品在 4500g/min 的条件下离心 20min (LXJ-II B 型低速大容量多管离心机), 脱脂备用,
- ②取脱脂奶 1mL 放于 1.5mL 离心管中, 加入 0.0066g 6-Aminohexanoic acid (购自 sigma), 在 25℃放置 2h, 然后在 18000g/min, 4℃下离心 30min (Centrifuge 5810R Eppendorf),
- ③取上清液 15 μ L 放于酶标板中, 加入 125 μ L 底物溶液, 充分的混匀, 放于 37℃培养箱 (SGSP-02 型电热恒温隔水式培养箱) 培养, 在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上于 405nm 处, 分别于 1.5h 和 2.5h 时测定吸光值, 同样的方法测定空白, 只是在空白中不加入样品。记录数据。
- ④计算方法: $X = (A_1 - A_2) \times 10^6 / (60 \times 15)$
A1——样品反应 2.5h 后的吸光值
A2——样品反应 1.5h 后的吸光值
X——样品的酶活性 (u/mL)

2.2.3 原料乳游离氨基氮含量测定

样品处理: 采用 Church^[42] 的邻苯二甲醛衍生比色法。

邻苯二甲醛衍生试剂的配制: 精确称取 40mg 邻苯二甲醛 (分析纯, 购自上海试验试剂有限公司) 溶于 1mL 甲醇中, 加入 25mL 100mmol/L 四硼酸钠, 2.5mL 10% SDS, 100 μ L B-巯基乙醇, 加水定容至 50mL。现用现配。

标准溶液的制备: L-苯丙氨酸的水溶液, 浓度分别是: 0 mmol/L、0.5 mmol/L、1 mmol/L、1.5 mmol/L、2 mmol/L、2.5 mmol/L、3 mmol/L、3.5 mmol/L、4 mmol/L。

所测样品的处理: 准确取 5.00mL 样品, 加入 12% (0.75N) 的三氯乙酸溶液 10.00mL, 加入 1mL 蒸馏水, 振荡摇匀, 离心 (2000g/min)

2.2.2 原料乳纤维蛋白溶酶活性测定

参照 Albenzio^[41]的方法, 略有改动。Plasmin 与特定底物反应生成有色物质, 在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上在 405nm 测定吸收值确定酶活性。

酶活性单位的定义: 1mL 酶液 1min 使反应液在 405nm 处的吸光值变化 0.001, 即为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

底物溶液的配制: 将 D-Val-Leu-Lys 4-nitroanilide dihydrochloride (购自 sigma) 用 Tris-HCl 缓冲溶液(0.1mol/L, pH7.4)稀释成 0.6mmol/L 的底物溶液。

Plasmin 活性测定方法:

- ①样品在 4500g/min 的条件下离心 20min (LXJ-II B 型低速大容量多管离心机), 脱脂备用,
- ②取脱脂奶 1mL 放于 1.5mL 离心管中, 加入 0.0066g 6-Aminohexanoic acid (购自 sigma), 在 25℃放置 2h, 然后在 18000g/min, 4℃下离心 30min (Centrifuge 5810R Eppendorf),
- ③取上清液 15 μ L 放于酶标板中, 加入 125 μ L 底物溶液, 充分的混匀, 放于 37℃培养箱 (SGSP-02 型电热恒温隔水式培养箱) 培养, 在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上于 405nm 处, 分别于 1.5h 和 2.5h 时测定吸光值, 同样的方法测定空白, 只是在空白中不加入样品。记录数据。
- ④计算方法: $X = (A_1 - A_2) \times 10^6 / (60 \times 15)$
A1——样品反应 2.5h 后的吸光值
A2——样品反应 1.5h 后的吸光值
X——样品的酶活性 (u/mL)

2.2.3 原料乳游离氨基氮含量测定

样品处理: 采用 Church^[42] 的邻苯二甲醛衍生比色法。

邻苯二甲醛衍生试剂的配制: 精确称取 40mg 邻苯二甲醛 (分析纯, 购自上海试验试剂有限公司) 溶于 1mL 甲醇中, 加入 25mL 100mmol/L 四硼酸钠, 2.5mL 10% SDS, 100 μ L B-巯基乙醇, 加水定容至 50mL。现用现配。

标准溶液的制备: L-苯丙氨酸的水溶液, 浓度分别是: 0 mmol/L、0.5 mmol/L、1 mmol/L、1.5 mmol/L、2 mmol/L、2.5 mmol/L、3 mmol/L、3.5 mmol/L、4 mmol/L。

所测样品的处理: 准确取 5.00mL 样品, 加入 12% (0.75N) 的三氯乙酸溶液 10.00mL, 加入 1mL 蒸馏水, 振荡摇匀, 离心 (2000g/min)

15min (LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机)。所得到的清液，小心放在 4℃ 冰箱中备用。

FAN 的测定方法：取标准物质及待测样品 150 μ L 直接加入石英比色皿中，加入 3mL OPA 试剂，反复震荡混匀，在室温下反应 2min，340nm 测定其吸光值 (SHIMADZU UV-1700 型分光光度计)。并记录。

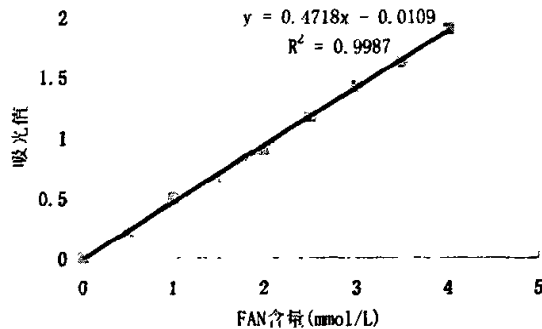


图 1 测定 FAN 的标准曲线

Figure 1 Standard curve of FAN determination

2.2.4 原料乳 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性测定

采用 Hurle^[49] 的方法。NAGase 与特定底物反应生成有色物质，在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上在 410nm 测定吸收值确定酶活性。

酶活性单位的定义：1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位，表示为 u/mL。

底物溶液的配制：将 100mg 4-Nitrophenyl A-acetyl- β -D-glucosaminide (购自 sigma) 溶于 88.5mL 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中 (0.2M, pH4.5)。

NAGase 活性测定方法：

- ① 样品在 4500g/min 的条件下离心 20min (LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机)，脱脂备用，
- ② 在试管中取脱脂乳 25 μ L，柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 (1M, pH4.5) 25 μ L，蒸馏水 75 μ L，加入底物溶液 250 μ L (空白在加入底物前加 NaOH-甘氨酸缓冲液)，于 37℃ 反应 45min (HHS 1-Ni 型电热恒温水浴锅)，加入 NaOH-甘氨酸缓冲液 (1M, pH10.5) 750 μ L 停止反应，加入 1mL 氯仿，震荡，

15min (LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机)。所得到的清液，小心放在 4℃ 冰箱中备用。

FAN 的测定方法：取标准物质及待测样品 150 μ L 直接加入石英比色皿中，加入 3mL OPA 试剂，反复震荡混匀，在室温下反应 2min，340nm 测定其吸光值 (SHIMADZU UV-1700 型分光光度计)。并记录。

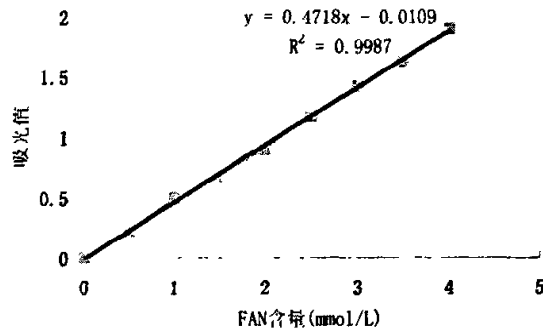


图 1 测定 FAN 的标准曲线

Figure 1 Standard curve of FAN determination

2.2.4 原料乳 N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性测定

采用 Hurle^[49] 的方法。NAGase 与特定底物反应生成有色物质，在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上在 410nm 测定吸收值确定酶活性。

酶活性单位的定义：1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位，表示为 u/mL。

底物溶液的配制：将 100mg 4-Nitrophenyl A-acetyl- β -D-glucosaminide (购自 sigma) 溶于 88.5mL 柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液中 (0.2M, pH4.5)。

NAGase 活性测定方法：

- ① 样品在 4500g/min 的条件下离心 20min (LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机)，脱脂备用，
- ② 在试管中取脱脂乳 25 μ L，柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液 (1M, pH4.5) 25 μ L，蒸馏水 75 μ L，加入底物溶液 250 μ L (空白在加入底物前加 NaOH-甘氨酸缓冲液)，于 37℃ 反应 45min (HHS 1-Ni 型电热恒温水浴锅)，加入 NaOH-甘氨酸缓冲液 (1M, pH10.5) 750 μ L 停止反应，加入 1mL 氯仿，震荡，

③将试管于 2000g/min 条件下离心 20min(LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机), 取上清液 200 μ L 在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上测定 410nm 吸收值确定酶活性。

$$\textcircled{4}\text{计算方法: } X = \frac{\Delta A}{45 \times 25} \times 10^3 \times 10^3$$

X ——样品的酶活性 (u/mL)

ΔA ——样品的吸光值减去空白的吸光值

2.2.5 原料乳过氧化氢酶活性测定

采用黄文涛^[44]的硫代硫酸钠滴定法。

酶活性单位定义: 1mL 牛乳在 37 $^{\circ}$ C, 1min 分解 1 μ M 过氧化氢, 定义为一个酶活性单位 u/mL。

底物溶液的配制: 在 100mL 磷酸缓冲液 (0.05M, pH7.0) 中加入 125 μ L 30% H₂O₂ (V/V)。

Catalase 活性测定方法:

①取底物溶液 5mL, 牛乳 2mL, 在三角瓶中混匀, 在 37 $^{\circ}$ C 预热 5min 后(HHS 1-Ni 型电热恒温水浴锅), 立即加入 2mLH₂SO₄,

②在三角瓶中加入 1mL10% (W/V) 的 KI, 1 滴 1% (W/V) 钼酸铵, 2~3 滴 1% (W/V) 淀粉溶液, 用硫代硫酸钠 (0.005M) 进行滴定,

③空白需在加入样品前加硫酸。

$$\textcircled{4}\text{计算方法: } X = \left\{ \frac{c \cdot (v_2 - v_1)}{2 \cdot 5} \right\} / 2$$

C——硫代硫酸钠浓度 (M)

V₂——空白所用硫代硫酸钠体积 (mL)

V₁——样品所用硫代硫酸钠体积 (mL)

X——酶活 (u/mL)

2.2.6 原料乳过氧化物酶活性测定

采用 Hurle^[45]的方法。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) 上在 460nm 测定吸收值确定酶活性。

酶活性单位的定义: 1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

底物溶液的配制: 取磷酸钠—柠檬酸缓冲液 (50mM 磷酸氢二钠, 25mM 柠檬酸,

③将试管于 2000g/min 条件下离心 20min(LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机), 取上清液 200 μ L 在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上测定 410nm 吸收值确定酶活性。

$$\textcircled{4}\text{计算方法: } X = \frac{\Delta A}{45 \times 25} \times 10^3 \times 10^3$$

X ——样品的酶活性 (u/mL)

ΔA ——样品的吸光值减去空白的吸光值

2.2.5 原料乳过氧化氢酶活性测定

采用黄文涛^[44]的硫代硫酸钠滴定法。

酶活性单位定义: 1mL 牛乳在 37 $^{\circ}$ C, 1min 分解 1 μ M 过氧化氢, 定义为一个酶活性单位 u/mL。

底物溶液的配制: 在 100mL 磷酸缓冲液 (0.05M, pH7.0) 中加入 125 μ L 30% H₂O₂ (V/V)。

Catalase 活性测定方法:

①取底物溶液 5mL, 牛乳 2mL, 在三角瓶中混匀, 在 37 $^{\circ}$ C 预热 5min 后(HHS 1-Ni 型电热恒温水浴锅), 立即加入 2mLH₂SO₄,

②在三角瓶中加入 1mL10% (W/V) 的 KI, 1 滴 1% (W/V) 钼酸铵, 2~3 滴 1% (W/V) 淀粉溶液, 用硫代硫酸钠 (0.005M) 进行滴定,

③空白需在加入样品前加硫酸。

$$\textcircled{4}\text{计算方法: } X = \left\{ \frac{c \cdot (v_2 - v_1)}{2 \cdot 5} \right\} / 2$$

C——硫代硫酸钠浓度 (M)

V₂——空白所用硫代硫酸钠体积 (mL)

V₁——样品所用硫代硫酸钠体积 (mL)

X——酶活 (u/mL)

2.2.6 原料乳过氧化物酶活性测定

采用 Hurle^[45]的方法。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) 上在 460nm 测定吸收值确定酶活性。

酶活性单位的定义: 1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

底物溶液的配制: 取磷酸钠—柠檬酸缓冲液 (50mM 磷酸氢二钠, 25mM 柠檬酸,

③将试管于 2000g/min 条件下离心 20min(LXJ-IIIB 型低速大容量多管离心机), 取上清液 200 μ L 在酶标仪 (Multiskan MK3 Thermo) 上测定 410nm 吸收值确定酶活性。

$$\textcircled{4}\text{计算方法: } X = \frac{\Delta A}{45 \times 25} \times 10^3 \times 10^3$$

X ——样品的酶活性 (u/mL)

ΔA ——样品的吸光值减去空白的吸光值

2.2.5 原料乳过氧化氢酶活性测定

采用黄文涛^[44]的硫代硫酸钠滴定法。

酶活性单位定义: 1mL 牛乳在 37 $^{\circ}$ C, 1min 分解 1 μ M 过氧化氢, 定义为一个酶活性单位 u/mL。

底物溶液的配制: 在 100mL 磷酸缓冲液 (0.05M, pH7.0) 中加入 125 μ L 30% H₂O₂ (V/V)。

Catalase 活性测定方法:

①取底物溶液 5mL, 牛乳 2mL, 在三角瓶中混匀, 在 37 $^{\circ}$ C 预热 5min 后(HHS 1-Ni 型电热恒温水浴锅), 立即加入 2mLH₂SO₄,

②在三角瓶中加入 1mL10% (W/V) 的 KI, 1 滴 1% (W/V) 钼酸铵, 2~3 滴 1% (W/V) 淀粉溶液, 用硫代硫酸钠 (0.005M) 进行滴定,

③空白需在加入样品前加硫酸。

$$\textcircled{4}\text{计算方法: } X = \left\{ \frac{c \cdot (v_2 - v_1)}{2 \cdot 5} \right\} / 2$$

C——硫代硫酸钠浓度 (M)

V₂——空白所用硫代硫酸钠体积 (mL)

V₁——样品所用硫代硫酸钠体积 (mL)

X——酶活 (u/mL)

2.2.6 原料乳过氧化物酶活性测定

采用 Hurle^[45]的方法。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) 上在 460nm 测定吸收值确定酶活性。

酶活性单位的定义: 1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

底物溶液的配制: 取磷酸钠—柠檬酸缓冲液 (50mM 磷酸氢二钠, 25mM 柠檬酸,

pH5.0) 70mL, 加入 560 μ L TritonX-100 (分析纯, 购自南京博尔迪生物科技有限公司), o-Phenylenediamine dihydrochloride (购自 sigma) 0.028g, 3.5 μ L 66% (W/V) KI, 28 μ L 3% (V/V) H₂O₂。

Peroxidase 活性测定方法:

- ①样品在 4500g/min 的条件下离心 20min (LXJ-IIB 型低速大容量多管离心机), 脱脂备用,
- ②在 1.5mL 离心管中加入 50 μ L 脱脂乳, 1mL 底物溶液, 振匀。将其置于 26 $^{\circ}$ C 水浴中 (HHS 1-Ni 型电热恒温水浴锅) 准确反应 6min, 迅速加入 100 μ L 1M HCl。(空白需在加入底物缓冲液前加入 100 μ L 1M HCl。),
- ③将反应液在 10000g/min, 4 $^{\circ}$ C 下离心 2min (Centrifuge 5810R Eppendorf), 取上清液在 460nm 处测定吸光值。

④计算方法:
$$X = \frac{\Delta A}{6 \times 50} \times 10^3$$

X ——样品的酶活性 (u/mL)

ΔA ——样品的吸光值减去空白的吸光值

2.2.7 原料乳脂肪酶活性测定

平板法, 采用 Choi^[69]的方法。

培养基的配制: 1.2% (W/W) 琼脂溶于 0.1M 磷酸钠缓冲溶液 (pH=8.0), 溶解后于 121 $^{\circ}$ C, 灭菌 5min (ALP ML-30L 型高压蒸汽灭菌器), 灭菌后立即加入 0.15% (V/V) 的三丁酸甘油酯和 0.05% (W/V) 的叠氮钠, 然后再在乳化仪上混合乳化 1min, 将热的琼脂液 15mL 注入平板内。

标准的配制: 用脂酶 (来源: *Candida rugosa*, 分析纯, 购自 sigma) 和 0.1M 磷酸钠缓冲溶液 (pH=8.0) 制成以下酶活的溶液: 20u/mL、40u/mL、60u/mL、80u/mL、100u/mL、120u/mL。

Lipase 活性测定方法:

- ①每 1mL 样品加入 5 μ L 10% 叠氮钠 (W/V), 震荡,
- ②用灭菌的打孔器在平板内打孔, 孔径 4mm, 每孔注入 20 μ L 处理过的样品,
- ③加标准液 20 μ L 于孔内, 制成标准曲线,
- ④把平板置于温箱中, 37 $^{\circ}$ C, 温育 24 小时后, 根据扩散圈直径计算酶活。

pH5.0) 70mL, 加入 560 μ L TritonX-100 (分析纯, 购自南京博尔迪生物科技有限公司), o-Phenylenediamine dihydrochloride (购自 sigma) 0.028g, 3.5 μ L 66% (W/V) KI, 28 μ L 3% (V/V) H₂O₂。

Peroxidase 活性测定方法:

- ①样品在 4500g/min 的条件下离心 20min (LXJ-IIB 型低速大容量多管离心机), 脱脂备用,
- ②在 1.5mL 离心管中加入 50 μ L 脱脂乳, 1mL 底物溶液, 振匀。将其置于 26 $^{\circ}$ C 水浴中 (HHS 1-Ni 型电热恒温水浴锅) 准确反应 6min, 迅速加入 100 μ L 1M HCl。(空白需在加入底物缓冲液前加入 100 μ L 1M HCl。),
- ③将反应液在 10000g/min, 4 $^{\circ}$ C 下离心 2min (Centrifuge 5810R Eppendorf), 取上清液在 460nm 处测定吸光值。

④计算方法:
$$X = \frac{\Delta A}{6 \times 50} \times 10^3$$

X ——样品的酶活性 (u/mL)

ΔA ——样品的吸光值减去空白的吸光值

2.2.7 原料乳脂肪酶活性测定

平板法, 采用 Choi^[69]的方法。

培养基的配制: 1.2% (W/W) 琼脂溶于 0.1M 磷酸钠缓冲溶液 (pH=8.0), 溶解后于 121 $^{\circ}$ C, 灭菌 5min (ALP ML-30L 型高压蒸汽灭菌器), 灭菌后立即加入 0.15% (V/V) 的三丁酸甘油酯和 0.05% (W/V) 的叠氮钠, 然后再在乳化仪上混合乳化 1min, 将热的琼脂液 15mL 注入平板内。

标准的配制: 用脂酶 (来源: *Candida rugosa*, 分析纯, 购自 sigma) 和 0.1M 磷酸钠缓冲溶液 (pH=8.0) 制成以下酶活的溶液: 20u/mL、40u/mL、60u/mL、80u/mL、100u/mL、120u/mL。

Lipase 活性测定方法:

- ①每 1mL 样品加入 5 μ L 10% 叠氮钠 (W/V), 震荡,
- ②用灭菌的打孔器在平板内打孔, 孔径 4mm, 每孔注入 20 μ L 处理过的样品,
- ③加标准液 20 μ L 于孔内, 制成标准曲线,
- ④把平板置于温箱中, 37 $^{\circ}$ C, 温育 24 小时后, 根据扩散圈直径计算酶活。

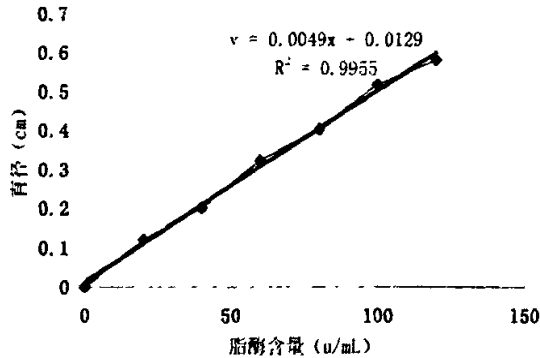


图 2 测定脂酶的标准曲线

Figure2 Standard curve of lipase determination

2.2.8 原料乳游离脂肪酸含量的测定

铜皂法，参照 Shipe^[46]，Ma^[47] 的方法，略有改动。

铜皂试剂配制：取 5mL 三乙醇胺和 10mL 1mol/L $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ （分析纯，购自天津化学试剂三厂）用饱和 NaCl 溶液稀释到 100mL，用 1mol/L NaOH 调 pH8.3，在室温下黑暗保存 5 个月。

CHM 组成：三氯甲烷：庚烷：甲醇=49：49：2（v/v/v）。

显色剂(5%)：0.5g 二乙基二硫代氨基甲酸钠（分析纯，购自天津市福晨化学试剂厂），溶解在 10mL 正丁醇中。

标准 FFA 的制备：三棕榈酸甘油（色谱纯，购自 sigma）溶解在正己烷中，使其浓度分别为：0、0.06、0.12、0.18、0.24、0.3、0.36mmol/L。

FFA 总量的测定方法：

- ①取 1mL 标准溶液加到试管中，让己烷完全自然挥发，
- ②取带盖试管，移入 0.5mL 奶样，
- ③在标准物和奶样中分别加入 0.7mol/L 的 HCl0.1mL，立刻盖盖，震荡，
- ④加 0.1mL 0.1% Triton-X100（分析纯，购自南京博而迪生物科技有限公司），震荡，
- ⑤加 2mL 铜皂试剂，震荡，
- ⑥加 6mL CHM，不震荡，

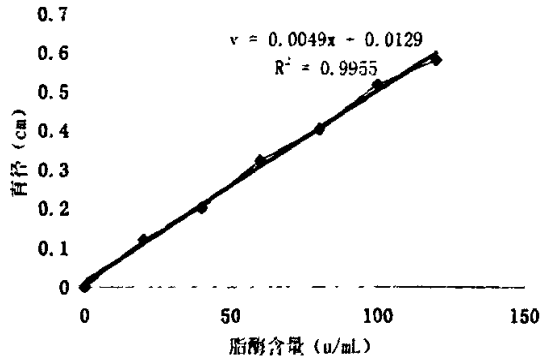


图 2 测定脂酶的标准曲线

Figure2 Standard curve of lipase determination

2.2.8 原料乳游离脂肪酸含量的测定

铜皂法，参照 Shipe^[46]，Ma^[47] 的方法，略有改动。

铜皂试剂配制：取 5mL 三乙醇胺和 10mL 1mol/L $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ （分析纯，购自天津化学试剂三厂）用饱和 NaCl 溶液稀释到 100mL，用 1mol/L NaOH 调 pH8.3，在室温下黑暗保存 5 个月。

CHM 组成：三氯甲烷：庚烷：甲醇=49：49：2（v/v/v）。

显色剂(5%)：0.5g 二乙基二硫代氨基甲酸钠（分析纯，购自天津市福晨化学试剂厂），溶解在 10mL 正丁醇中。

标准 FFA 的制备：三棕榈酸甘油（色谱纯，购自 sigma）溶解在正己烷中，使其浓度分别为：0、0.06、0.12、0.18、0.24、0.3、0.36mmol/L。

FFA 总量的测定方法：

- ①取 1mL 标准溶液加到试管中，让己烷完全自然挥发，
- ②取带盖试管，移入 0.5mL 奶样，
- ③在标准物和奶样中分别加入 0.7mol/L 的 HCl0.1mL，立刻盖盖，震荡，
- ④加 0.1mL 0.1% Triton-X100（分析纯，购自南京博而迪生物科技有限公司），震荡，
- ⑤加 2mL 铜皂试剂，震荡，
- ⑥加 6mL CHM，不震荡，

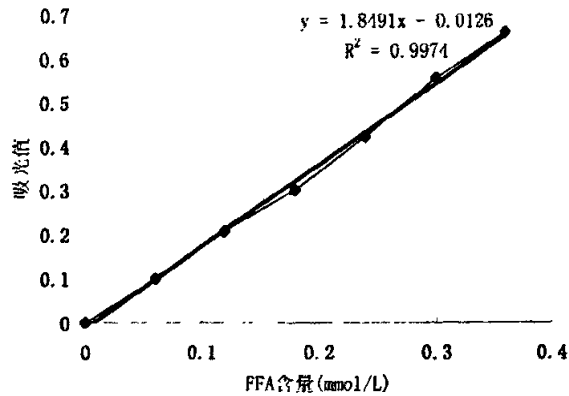


图3 测定 FFA 标准曲线

Figure3 Standard curve of FFA determination

- ⑦试管在水平震荡器上（HZS-H 型水浴震荡器 哈尔滨东联电子技术开发有限公司）晃动 60min，转速 185r/min（注意：如果乳状液形成，需重新做），
- ⑧静止 1h，上清液 3.5mL 小心移到酸洗试管中，再加入 0.1mL 显色剂，
- ⑨混合后立即在 440nm 下测定吸光值（SHIMADZU UV-1700 型分光光度计）。记录结果。

2.2.9 原料乳热稳定性测定

油浴法，参照 Harjinder^[48] 的方法，略有改动。

热稳定性测定方法：

- ①样品在 4500g/min 的条件下离心 20min（LXJ-IIB 型低速大容量多管离心机），脱脂备用，
- ②把 1 mL 脱脂乳倒入油浴试管中，在 95℃ 预热排气 15min（HH.S 1-Ni 型电热恒温水浴锅），
- ③将试管密封，然后迅速移入 140℃ 的油浴锅（601B 型超级恒温油浴锅）中进行快速升温，其间不断晃动试管检查牛奶的组织状态，观察有无絮片，颗粒状或结块的现象，记下凝乳时间。

2.2.10 原料乳酒精稳定性测定

吸取 2mL 牛乳于平皿中，再加入 2mL 浓度为 75% 的酒精，边加边摇，使酒精与牛奶均匀混合，观察是否有絮片生成（絮片无论大小）；若无絮片生成，再吸取 2mL 牛乳于平皿中，加入 2mL 浓度为 72% 的酒精，边加边摇，使酒精与牛奶均匀混合，观察是否有絮片生成（絮片无论大小），进行记录。

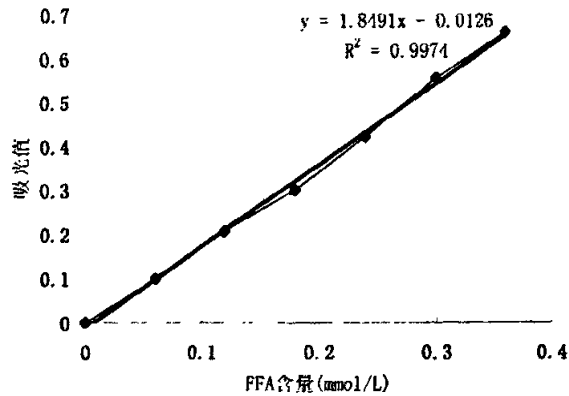


图3 测定 FFA 标准曲线

Figure3 Standard curve of FFA determination

- ⑦试管在水平震荡器上（HZS-H 型水浴震荡器 哈尔滨东联电子技术开发有限公司）晃动 60min，转速 185r/min（注意：如果乳状液形成，需重新做），
- ⑧静止 1h，上清液 3.5mL 小心移到酸洗试管中，再加入 0.1mL 显色剂，
- ⑨混合后立即在 440nm 下测定吸光值（SHIMADZU UV-1700 型分光光度计）。记录结果。

2.2.9 原料乳热稳定性测定

油浴法，参照 Harjinder^[48] 的方法，略有改动。

热稳定性测定方法：

- ①样品在 4500g/min 的条件下离心 20min（LXJ-IIB 型低速大容量多管离心机），脱脂备用，
- ②把 1 mL 脱脂乳倒入油浴试管中，在 95℃ 预热排气 15min（HH.S 1-Ni 型电热恒温水浴锅），
- ③将试管密封，然后迅速移入 140℃ 的油浴锅（601B 型超级恒温油浴锅）中进行快速升温，其间不断晃动试管检查牛奶的组织状态，观察有无絮片，颗粒状或结块的现象，记下凝乳时间。

2.2.10 原料乳酒精稳定性测定

吸取 2mL 牛乳于平皿中，再加入 2mL 浓度为 75% 的酒精，边加边摇，使酒精与牛奶均匀混合，观察是否有絮片生成（絮片无论大小）；若无絮片生成，再吸取 2mL 牛乳于平皿中，加入 2mL 浓度为 72% 的酒精，边加边摇，使酒精与牛奶均匀混合，观察是否有絮片生成（絮片无论大小），进行记录。

3 结果与分析

3.1 原料乳体细胞数的平均数与标准差

2005年和2006年所采982个样本在不同水平下SCC分布频率见图4:

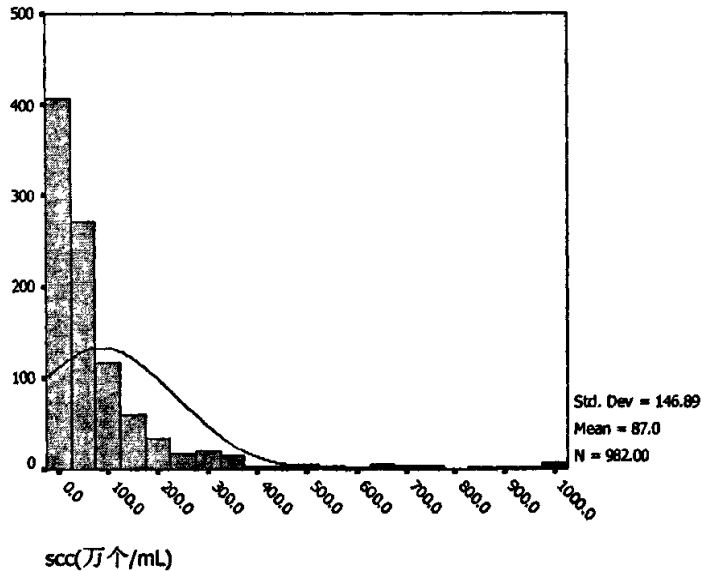


图4 不同水平下SCC分布频率

Fig4 Distribution frequency of SCC under various levels

经检测SCC的平均数为87万个/mL,标准差为147万个/mL。标准差达到147万个/mL,可见SCC的变化范围是相当大的。由图4可以看出,由于SCC的变化范围极大,其不服从正态分布,这与许杰的研究结果相近^[49]。

Eberhart报道,奶牛的平均SCC为23万个/mL,在本研究中,平均SCC为87万个/mL,与国外其它报道相比,明显偏高。这可能是由于国外的饲养管理水平较好,患乳房炎的牛比例少,并且对患病牛进行隔离,对大龄、多胎的奶牛进行淘汰;而本实验所选牧场饲养管理水平一般,没有切实有效的方法控制乳房炎,因此造成平均SCC偏高。

3.2 原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性关系的研究

根据体细胞数量,把样品分成四组,每组各指标计算平均数,对内源酶活性、FFA含量、FAN含量和热稳定性的差异性和相关性进行分析。

3.2.1 原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性组间差异性研究

原料乳内源酶活性、FFA含量、FAN含量和热稳定性测定结果见表1、表2、表3。

3 结果与分析

3.1 原料乳体细胞数的平均数与标准差

2005年和2006年所采982个样本在不同水平下SCC分布频率见图4:

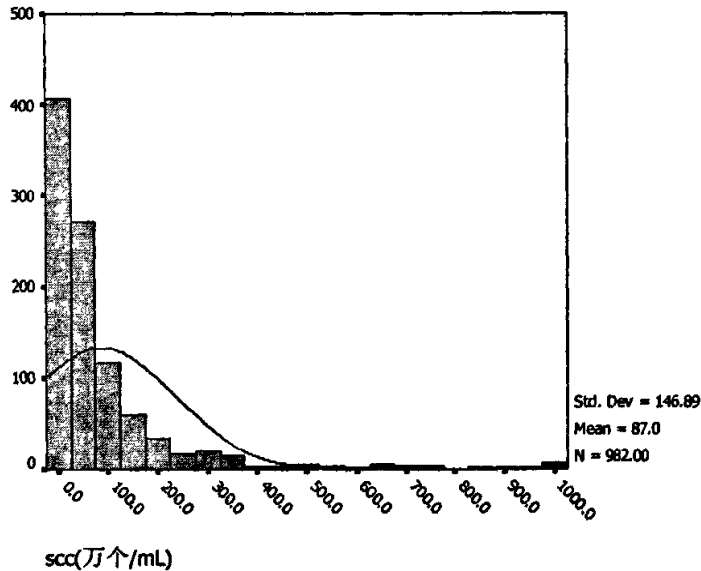


图4 不同水平下SCC分布频率

Fig4 Distribution frequency of SCC under various levels

经检测SCC的平均数为87万个/mL,标准差为147万个/mL。标准差达到147万个/mL,可见SCC的变化范围是相当大的。由图4可以看出,由于SCC的变化范围极大,其不服从正态分布,这与许杰的研究结果相近^[49]。

Eberhart报道,奶牛的平均SCC为23万个/mL,在本研究中,平均SCC为87万个/mL,与国外其它报道相比,明显偏高。这可能是由于国外的饲养管理水平较好,患乳房炎的牛比例少,并且对患病牛进行隔离,对大龄、多胎的奶牛进行淘汰;而本实验所选牧场饲养管理水平一般,没有切实有效的方法控制乳房炎,因此造成平均SCC偏高。

3.2 原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性关系的研究

根据体细胞数量,把样品分成四组,每组各指标计算平均数,对内源酶活性、FFA含量、FAN含量和热稳定性的差异性和相关性进行分析。

3.2.1 原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性组间差异性研究

原料乳内源酶活性、FFA含量、FAN含量和热稳定性测定结果见表1、表2、表3。

表1 不同体细胞组间的牛乳中内源酶活性、FFA含量及FAN含量 ($\bar{x} \pm SD$) (2005年)Table1 Indigenous enzymes activity, FFA content and FAN content for different bovine milk SCC groups ($\bar{x} \pm SD$) (2005年)

SCC (万/mL)	<20	20-50	50-100	>100	显著水平 (GLM)
样本数	211	108	52	81	
NAG酶 (u/mL)	52.90±24.74c	65.19±42.70bc	72.82±34.82b	89.25± 75.96a	***
过氧化物酶 (u/mL)	476.21±144.32b	564.58±120.47a	592.55±84.18 a	599.44 ±214.49a	***
过氧化氢酶 (u/mL)	0.27±0.25b	0.31±0.18b	0.39±0.18a	0.42±0 .22a	***
脂酶 (u/mL)	57.05±7.37c	61.87±6.51b	62.37±7.64b	70.94± 9.86a	***
游离氨基酸 (mmol/L)	1.54±0.40b	1.67±0.42b	1.78±0.41a	1.88±0 .63a	***
游离脂肪酸 (meq/L)	0.41±0.05d	0.49±0.06c	0.54±0.09b	0.67±0 .07a	***

注: *表示差异显著性, ***表示在 0.001 水平下显著;

带有不同字母标记的数据之间差异显著;

NAG酶活性单位定义: 1mL牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/mL;

过氧化物酶活性单位定义: 1mL牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/mL;

过氧化氢酶活性单位定义: 1mL牛乳在 37℃, 1min 分解 1 μ M 过氧化氢为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

表 2 不同体细胞组间的牛乳中内源酶活性、FFA 含量、FAN 含量及凝乳时间 ($\bar{x} \pm SD$) (2006 年)

Table2 Indigenous enzymes activity, FFA content, FAN content and heat coagulation time for different bovine milk SCC groups

SCC (万/mL)	<20	20-50	50-100	>100	显著水平 (GLM)
样本数	152	130	87	161	
纤维蛋白酶 (u/mL)	7.59±3.83c	9.87±4.84c	13.11±5.45b	20.86±15.54a	***
NAG 酶 (u/mL)	46.79±32.49d	60.98±32.07c	80.27±40.47b	121.28±70.55a	***
过氧化物酶 (u/mL)	513.11±89.76d	534.28±69.30c	564.67±94.32b	605.37±69.13a	***
过氧化氢酶 (u/mL)	0.21±0.15c	0.27±0.16c	0.39±0.17b	0.51±0.25a	***
游离氨基氮 (mmol/L)	1.60±0.53b	1.51±0.45b	1.57±0.34b	1.81±0.47a	***
游离脂肪酸 (meq/L)	0.38±0.16d	0.46±0.12c	0.53±0.11b	0.67±0.25a	***
凝乳时间 (min)	4.7±1.0a	4.5±0.9a	4.1±0.7b	3.5±1.1c	***

注: *表示差异显著性, ***表示在0.001水平下显著;

带有不同字母标记的数据之间差异显著;

纤维蛋白酶活性单位定义: 1mL 酶液 1h 使反应液在 405nm 处的吸光值变化 0.001, 即为一个酶活性单位,

表示为 u/mL;

NAG 酶活性单位定义: 1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/mL;

过氧化物酶活性单位定义: 1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/moL;

过氧化氢酶活性单位定义: 1mL 牛乳在 37℃, 1min 分解 1uM 过氧化氢为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

表3 不同体细胞组间的牛乳中内源酶活性、FFA含量、FAN含量及凝乳时间 ($\bar{x} \pm SD$)
(2005、2006年)

Table3 Indigenous enzymes activity, FFA content, FAN content and heat coagulation
time for different bovine milk SCC groups ($\bar{x} \pm SD$) (2005、2006年)

SCC (万/mL)	<20	20-50	50-100	>100	显著水平(GLM)
样本数	363	238	139	242	
纤维蛋白酶 (u/mL)	7.59±3.83c	9.87±4.84c	13.11±5.45b	20.86±15.54a	***
NAG酶 (u/mL)	50.34±28.39d	62.89±37.24c	77.39±38.42b	110.78±73.76a	***
过氧化物酶 (u/mL)	491.66±125.60d	548.02±96.90 c	575.47±91.24b	603.43±134.78a	***
过氧化氢酶 (u/mL)	0.24±0.22d	0.29±0.17c	0.39±0.17b	0.48±0.25a	***
游离氨基氮 (mmol/L)	1.56±0.46c	1.58±0.44bc	1.66±0.38b	1.83±0.52a	***
游离脂肪酸 (meq/L)	0.40±0.11d	0.47±0.09c	0.54±0.10b	0.67±0.21a	***
脂酶 (u/mL)	57.05±7.37c	61.87±6.51b	62.37±7.64b	70.94±9.86a	***
凝乳时间 (min)	4.7±1.0a	4.5±0.9a	4.1±0.7b	3.5±1.1c	***

注: *表示差异显著性, ***表示在 0.001 水平下显著; 带有不同字母标记的数据之间差异显著;

纤维蛋白酶活性单位定义: 1mL 酶液 1h 使反应液在 405nm 处的吸光值变化 0.001, 即为一个酶活性单位, 表示为 u/mL;

NAG 酶活性单位定义: 1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/mL;

过氧化物酶活性单位定义: 1mL 牛乳每分钟使吸光值变化 0.001 为一个酶活性单位, 表示为 u/moL;

过氧化氢酶活性单位定义: 1mL 牛乳在 37℃, 1min 分解 1uM 过氧化氢为一个酶活性单位, 表示为 u/mL。

从表 1、表 2、表 3 可以看出, 不同的体细胞组间, NAG 酶的活性随 SCC 的升高而增加, 组间有极显著差异 ($P < 0.001$)。这是因为 NAG 酶是一种溶菌酶, 主要是由乳腺上皮细胞破损而释放出来的, 还有一部分来源于其他的体细胞。乳房细胞被破坏程度越大, 所产生的炎症越严重, SCC 相应也会很高, 这时 NAG 酶活性越高。因此常用 NAGase 的活性来衡量奶牛所患炎症的严重程度及体细胞数量。

从表 1、表 2、表 3 可以看出,不同的体细胞组间,过氧化物酶的活性随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这是因为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,肌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。据胡松华(1997)报道,乳过氧化物酶,是一种能抑制无乳链球菌和乳房链球菌等病原体生长的杀菌物质,乳中过氧化物酶的浓度与 SCC 呈正相关^[50]。

从表 1、表 2、表 3 可以看出,不同的体细胞组间,过氧化氢酶的活性随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。张和平(2005)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 SCC 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^[29]。

从表 1 分析可知,不同的体细胞组间,脂酶的活性和 FFA 含量随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这主要是由一部分脂酶吸附于脂肪球膜界面间,称为膜脂酶,SCC 升高会造成脂酶活性升高;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,因此高 SCC 乳中的脂酶活性较高。乳脂肪被脂酶水解后会生成游离脂肪酸,当牛乳中脂酶活性较高时,游离脂肪酸含量会随之升高。

从表 2 分析可知,在 2006 年,不同的体细胞组间,plasmin 活性和 FAN 含量随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这是因为当牛患乳房炎时,血液中的 plasmin 向乳中大量渗透,导致乳中 plasmin 活性增加,从而使蛋白被水解成许多小肽段,FAN 含量升高。

从表 2 分析可知,在 2006 年,不同的体细胞组间,牛乳热稳定性随着 SCC 的升高而降低,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这可能是由于牛乳中的钙、镁与磷酸盐、柠檬酸盐之间保持适当的平衡,是保持牛乳热稳定性的必须条件。SCC 过高时牛乳中盐类的变化将导致鲜牛乳热稳定性降低。

3.2.2 原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性的相关性研究

从表 1、表 2、表 3 可以看出,不同的体细胞组间,过氧化物酶的活性随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这是因为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,肌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。据胡松华(1997)报道,乳过氧化物酶,是一种能抑制无乳链球菌和乳房链球菌等病原体生长的杀菌物质,乳中过氧化物酶的浓度与 SCC 呈正相关^[50]。

从表 1、表 2、表 3 可以看出,不同的体细胞组间,过氧化氢酶的活性随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。张和平(2005)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 SCC 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^[29]。

从表 1 分析可知,不同的体细胞组间,脂酶的活性和 FFA 含量随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这主要是由一部分脂酶吸附于脂肪球膜界面间,称为膜脂酶,SCC 升高会造成脂酶活性升高;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,因此高 SCC 乳中的脂酶活性较高。乳脂肪被脂酶水解后会生成游离脂肪酸,当牛乳中脂酶活性较高时,游离脂肪酸含量会随之升高。

从表 2 分析可知,在 2006 年,不同的体细胞组间,plasmin 活性和 FAN 含量随 SCC 的升高而增加,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这是因为当牛患乳房炎时,血液中的 plasmin 向乳中大量渗透,导致乳中 plasmin 活性增加,从而使蛋白被水解成许多小肽段,FAN 含量升高。

从表 2 分析可知,在 2006 年,不同的体细胞组间,牛乳热稳定性随着 SCC 的升高而降低,组间有极显著差异 ($P<0.001$)。这可能是由于牛乳中的钙、镁与磷酸盐、柠檬酸盐之间保持适当的平衡,是保持牛乳热稳定性的必须条件。SCC 过高时牛乳中盐类的变化将导致鲜牛乳热稳定性降低。

3.2.2 原料乳体细胞数与内源酶活性、牛乳热稳定性的相关性研究

表4 牛乳中内源酶、FFA之间多元回归系数检验表(2005年)
Table 4 Correlation coefficient(r) among indigenous enzymes and FFA in bovine milk (2005)

体细胞数	NAG酶	过氧化氢酶	过氧化氢酶	脂酶	游离氨基氮	游离脂肪酸	游离钙	乳清蛋白	pH
1.0000	0.4692***	0.3553***	0.2719***	0.6043***	0.1091*	0.7160***	-0.1202 *	0.1223*	0.0331
NAG酶	1.0000	0.2055***	0.0787	0.2354***	0.1835***	0.2801***	-0.2389***	0.3005*	0.2193*
过氧化氢酶	1.0000	1.0000	0.2082***	0.3689***	0.1031*	0.3282***	-0.1128	0.0238	0.0958
过氧化氢酶	1.0000	1.0000	1.0000	0.1982***	0.0945	0.2378***	-0.0698	0.1988	0.0213
脂酶	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0580	0.5396***	-0.1112	0.1023*	0.1971
游离氨基氮	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.0032	-0.0872	0.1350**	0.1979*
游离脂肪酸	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	-0.2567*	0.3352**	0.0980
游离钙	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	-0.0759	-0.2039 *
乳清蛋白	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.2110**
pH	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

注:用*表示统计相关性,***表示0.001水平下显著,**表示0.01水平下显著,*表示0.05水平下显著。

表 5 牛乳中内源酶、FFA 和热稳定性之间多元回归系数检验表 (2006 年)
Table 5 Correlation coefficient(r) among indigenous enzymes, FFA and heat stability in bovine milk (2006)

体细胞数	纤维蛋白酶	NAG 酶	过氧化物酶	过氧化氢酶	游离氨基氮	游离脂肪酸	热稳定性	游离钙	尿素氮	乳清蛋白	pH
1.0000	0.6968***	0.6263***	0.4451***	0.5938***	0.3325***	0.5727***	-0.3847***	-0.0393 *	-0.2199***	0.3802**	0.0831
纤维蛋白酶	1.0000	0.5765***	0.3425***	0.5670***	0.3187***	0.3877***	-0.3494***	-0.4102 **	-0.3241***	0.4458**	0.3321*
NAG 酶	1.0000	1.0000	0.2425***	0.4481***	0.2782***	0.4579***	-0.2813***	-0.2256 *	-0.0214	0.5123**	0.1023
过氧化物酶	1.0000	1.0000	1.0000	0.3521***	0.2269***	0.2431***	-0.3473***	-0.1420 *	-0.1350**	0.3206*	0.0951
过氧化氢酶	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1842***	0.3528***	-0.2537***	-0.0103	-0.1109***	0.1025*	0.2203*
游离氨基氮	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1286*	-0.2508***	-0.1129	-0.3215***	0.1120**	0.3259***
游离脂肪酸	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	-0.3791***	-0.2963 **	-0.2054**	0.2417	0.2136**
热稳定性	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1280*	0.3897***	-0.4180*	-0.1343
游离钙	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.1937**	-0.2137*	-0.2954 ***
尿素氮	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	-0.1312*	-0.4241*
乳清蛋白	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	0.3250***
pH	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

注: 用*表示统计相关性, ***表示 0.001 水平下显著, **表示 0.01 水平下显著, *表示 0.05 水平下显著。

表6 牛乳中内源酶、FFA和热稳定性之间多元回归系数检验表(2005、2006年)
Table 6 Correlation coefficient(r) among indigenous enzymes, FFA and heat stability in bovine milk (2005、2006)

体细胞	纤维蛋白酶	NAG酶	过氧化物酶	过氧化氢酶	脂酶	游离氨基氮	游离脂肪酸	热稳定性	游离钙	尿素氮	乳清蛋白	pH
体细胞	1.0000	0.6849***	0.5874***	0.3553***	0.4465***	0.6043***	0.6107***	-0.3445***	-0.1034*	-0.2199***	0.3521**	0.0527
纤维蛋白酶		1.0000	0.5977***	0.3572***	0.5486***	0.3628***	0.3702***	-0.4068***	-0.4102**	-0.3241***	0.4458**	0.3321*
NAG酶			1.0000	0.2205***	0.2932***	0.2354***	0.4054***	-0.3947***	-0.2307***	-0.0214	0.4781**	0.1972*
过氧化物酶				1.0000	0.2557***	0.3689***	0.2012***	-0.1977***	-0.1219*	-0.1350**	0.2610*	0.0956
过氧化氢酶					1.0000	0.1982***	0.2934***	-0.3328***	-0.0429	-0.1109***	0.1524*	0.1980*
脂酶						1.0000	0.5396***		-0.1112		0.1023*	0.1971
游离氨基氮							1.0000	0.2029***	-0.1047	-0.3215***	0.1260**	0.2470**
游离脂肪酸								1.0000	-0.2437**	-0.2054**	0.3047**	0.1347**
热稳定性									0.1280*	0.3897***	-0.4180*	0.1343
游离钙									1.0000	0.1937**	-0.1943*	-0.2871*
尿素氮										1.0000	-0.1312*	-0.4241*
乳清蛋白											1.0000	0.3170**
pH												1.0000

注:用*表示统计相关性,***表示0.001水平下显著,**表示0.01水平下显著,*表示0.05水平下显著。

从表 6 可以看出,经 PEARSON 程序分析,982 个原料乳样品中 SCC 与纤维蛋白酶、NAG 酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、脂酶、游离氨基氮、游离脂肪酸、乳清蛋白呈极显著正相关 ($P < 0.001$); SCC 与尿素氮、凝乳时间呈极显著负相关 ($P < 0.001$); SCC 与游离钙呈显著负相关 ($P < 0.05$); SCC 与 pH 不相关 ($P > 0.05$)。

由表 5、表 6 可以看出,纤维蛋白酶与游离氨基氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关,相关系数 0.3628,也即随着纤维蛋白酶活力的增加,游离氨基氮含量呈增加趋势,这是因为纤维蛋白酶可以水解 α -酪蛋白和将 β -酪蛋白转变为 γ -酪蛋白和更小的多肽,因此高 SCC 牛乳中,游离氨基氮含量会上升。

由表 4、表 6 可以看出,游离脂肪酸与脂酶在 $P < 0.001$ 的水平下正相关,相关系数 0.5396,也即随着脂酶活力的增加,游离脂肪酸含量呈增加趋势,这是因为当牛患乳房炎时,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游离脂肪酸,当牛乳中脂酶活性较高时,游离脂肪酸含量会随之升高。

由表 5、表 6 可以看出,凝乳时间与游离钙含量在 $P < 0.05$ 的水平下正相关,相关系数 0.1280。据 Walstra 等人报道,牛乳的凝乳时间随着游离钙含量的增高而降低,这与本次试验的结果不一致。这可能是由于在牛乳的凝乳过程中,主要有两个反应可以引起牛乳凝结。第一个反应是化学交联反应,当牛乳 pH 为 6.4-6.7 时,牛乳凝结速度主要由化学交联反应控制。在此 pH 区域,变性的乳清蛋白和 κ -酪蛋白形成络合物,并黏结在胶体粒子表面;进一步加热会引起 pH 的下降,酪蛋白发生脱磷酸化反应。乳清蛋白凝集物附着在酪蛋白胶体表面,通过共价交联形成凝乳。第二个反应是胶凝反应,在牛乳 pH 大于 6.7 时,牛乳凝结速度主要由凝胶反应控制。在此 pH 区域,乳清蛋白和 κ -酪蛋白的络合物游离在乳清中,胶体粒子会膨胀许多,导致胶体中含有较少的 κ -酪蛋白,对钙离子的敏感性增加;在钙离子的作用下,去除 κ -酪蛋白的胶体发生聚合,形成凝乳。在此反应中,钙离子含量越高,胶凝反应越快,凝乳时间越短。

本次试验所采牛乳 pH 变化范围为 6.58-6.62,因此影响凝乳时间的主要反应是化学交联反应,钙离子含量对凝乳速率的影响作用是次要因素,因此凝乳时间与钙离子含量不呈负相关。

由表 5、表 6 可以看出,凝乳时间与尿素氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关,相关系数 0.3897。据 Muir(1976)报道,40%的牛乳的热稳定性与乳中尿素氮含量有关,添加尿素于牛乳中,使尿素氮含量介于 19-45mg/dL 之间,其热稳定性比未添加尿素的样品好,乳中尿素氮含量越高,乳的热稳定性越好[51]。Banks(1984)报道,添加 0-10mg/dL 尿素于乳中,发现含较低尿素氮的牛乳热凝固时间较短[52]。本研究结果和这些学者的报道一致:牛乳中尿素氮含量越低,其热凝固时间越短,即牛乳中尿素氮含量越低,牛乳热稳定性越差。

由表 5、表 6 可以看出,凝乳时间与乳清蛋白含量在 $P<0.01$ 的水平下负相关,相关系数-0.4180。张和平(2005)报道乳清蛋白的热稳定性低于酪蛋白,主要是缺乏磷的缘故,以及低脯氨酸含量和高胱氨酸、蛋氨酸含量所致[23]。据 Walstra 等人报道,当原料乳被加热到 120°C 时,乳清蛋白会变性凝结,此时酪蛋白分子会和乳清蛋白结合,因此乳清蛋白含量越高,凝胶越易形成。

由表 5、表 6 可以看出,凝乳时间与 pH 不相关。Darling(1980)报道,牛乳的 pH 值与热稳定性密切相关, pH 值越高,热稳定性越好[53]。但本试验结果与其他学者的报道不一致,这可能是由于所采样品的 pH 值变化较小,不会对牛乳热稳定性造成影响,牛乳热稳定性下降,主要是由 SCC 的升高造成的。

3.3 原料乳体细胞数与酒精阳性乳关系的研究

2005 年、2006 年酒精阳性乳比例随 SCC 变化趋势见图 5、图 6。

图5 酒精试验结果(2005年)

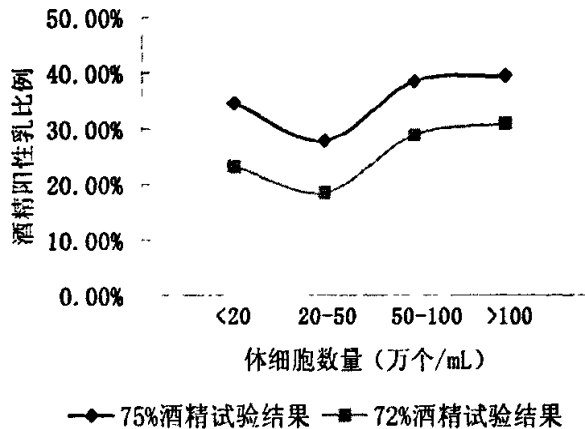


Figure5 Alcohol tests of raw milk (2005)

从图5分析可知,在2005年,随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例也随之升高。

由表 5、表 6 可以看出,凝乳时间与乳清蛋白含量在 $P<0.01$ 的水平下负相关,相关系数-0.4180。张和平(2005)报道乳清蛋白的热稳定性低于酪蛋白,主要是缺乏磷的缘故,以及低脯氨酸含量和高胱氨酸、蛋氨酸含量所致[23]。据 Walstra 等人报道,当原料乳被加热到 120°C 时,乳清蛋白会变性凝结,此时酪蛋白分子会和乳清蛋白结合,因此乳清蛋白含量越高,凝胶越易形成。

由表 5、表 6 可以看出,凝乳时间与 pH 不相关。Darling(1980)报道,牛乳的 pH 值与热稳定性密切相关, pH 值越高,热稳定性越好[53]。但本试验结果与其他学者的报道不一致,这可能是由于所采样品的 pH 值变化较小,不会对牛乳热稳定性造成影响,牛乳热稳定性下降,主要是由 SCC 的升高造成的。

3.3 原料乳体细胞数与酒精阳性乳关系的研究

2005 年、2006 年酒精阳性乳比例随 SCC 变化趋势见图 5、图 6。

图5 酒精试验结果(2005年)

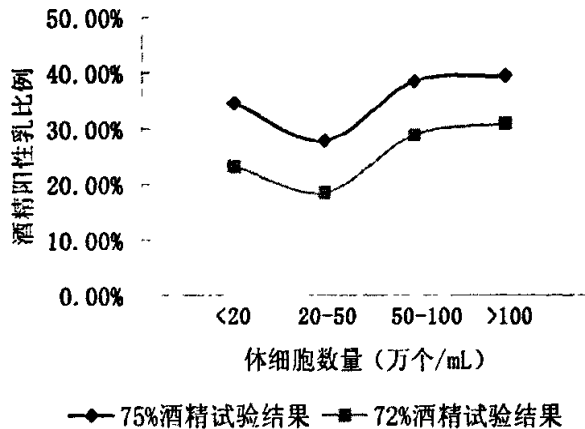


Figure5 Alcohol tests of raw milk (2005)

从图5分析可知,在2005年,随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例也随之升高。

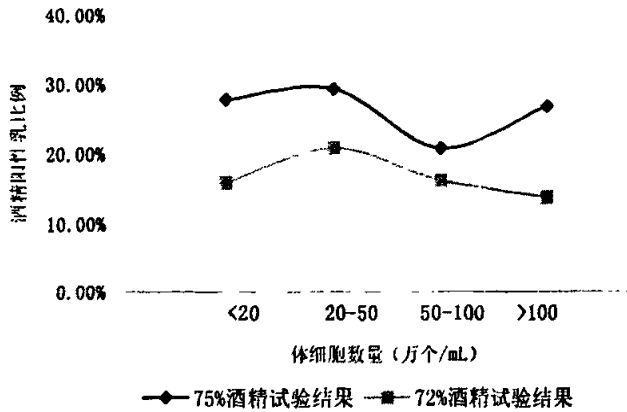


图6 酒精试验结果 (2006)

Figure6 Alcohol tests of raw milk (2006)

从图6可以看出,在2006年,随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例呈无规律变化。

马树东(2000)报道临床上的酒精阳性乳约60%是由隐性乳腺炎所致^[54]。肖定汉(1992)研究发现酒精阳性乳的发生与隐性乳腺炎的存在无关,彼此间并非为同类型,而是两种不同类型的临床表现^[55]。王孝允(1997)研究认为酒精阳性乳的发生与隐性乳腺炎是两个相对独立的疾病,但严重的乳腺炎可导致酒精阳性乳的发生;严重酮病可引起酒精阳性乳,但有些病牛虽然体内酮体含量比较高,酒精检测依然为阴性^[56]。闫凤周(1994)通过对酒精阳性乳牛体内无机离子的含量分析发现,酒精阳性乳的发生与机体的应激性升高有关^[57]。吴钟玲(1995)研究发现酒精阳性乳的发生和温度、湿度、降水量等气象因素密切相关。酒精阳性乳的发生率与月平均气温值有很高的相关性,高温是酒精阳性乳的重要诱发因素。酒精阳性乳的发生率夏季明显高于冬季,夏季同一天早晨的发生率比下午低很多^[58]。沈国春(2006)报道换料过于突然、牛舍阴暗潮湿、通风不良、刺激性气体、噪音等因素容易引起机体的应激反应,进而导致酒精阳性乳的发生^[59]。

综合前人的分析和本研究的结果可知,在2005年,所有样品均采自同一个牧场的同一批牛,在饲养水平和管理水平一样的条件下,随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例也随之升高;在2006年,所采样品来自于6个牧场,其规模、牛舍条件、牧场环境、饲料质量各异,这些因素会影响牛乳的酒精稳定性,因此随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例呈无规律变化。

3.4 牧场管理水平对原料乳体细胞数、内源酶活性影响的研究

2006年采样人员根据采样牧场的挤奶间卫生情况(20%)、挤奶设备(10%)、牧场

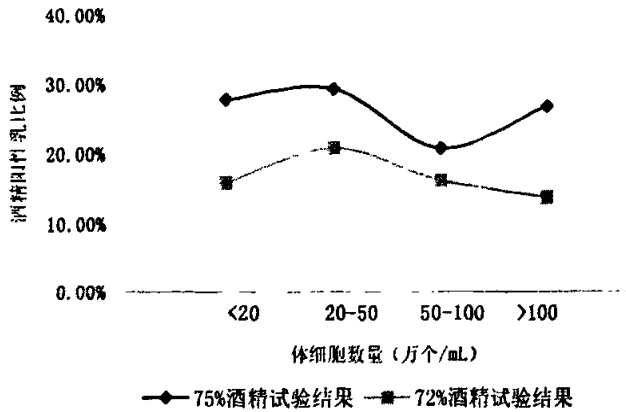


图6 酒精试验结果 (2006)

Figure6 Alcohol tests of raw milk (2006)

从图6可以看出,在2006年,随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例呈无规律变化。

马树东(2000)报道临床上的酒精阳性乳约60%是由隐性乳腺炎所致^[54]。肖定汉(1992)研究发现酒精阳性乳的发生与隐性乳腺炎的存在无关,彼此间并非为同类型,而是两种不同类型的临床表现^[55]。王孝允(1997)研究认为酒精阳性乳的发生与隐性乳腺炎是两个相对独立的疾病,但严重的乳腺炎可导致酒精阳性乳的发生;严重酮病可引起酒精阳性乳,但有些病牛虽然体内酮体含量比较高,酒精检测依然为阴性^[56]。闫凤周(1994)通过对酒精阳性乳牛体内无机离子的含量分析发现,酒精阳性乳的发生与机体的应激性升高有关^[57]。吴钟玲(1995)研究发现酒精阳性乳的发生和温度、湿度、降水量等气象因素密切相关。酒精阳性乳的发生率与月平均气温值有很高的相关性,高温是酒精阳性乳的重要诱发因素。酒精阳性乳的发生率夏季明显高于冬季,夏季同一天早晨的发生率比下午低很多^[58]。沈国春(2006)报道换料过于突然、牛舍阴暗潮湿、通风不良、刺激性气体、噪音等因素容易引起机体的应激反应,进而导致酒精阳性乳的发生^[59]。

综合前人的分析和本研究的结果可知,在2005年,所有样品均采自同一个牧场的同一批牛,在饲养水平和管理水平一样的条件下,随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例也随之升高;在2006年,所采样品来自于6个牧场,其规模、牛舍条件、牧场环境、饲料质量各异,这些因素会影响牛乳的酒精稳定性,因此随着牛乳SCC升高,酒精阳性乳比例呈无规律变化。

3.4 牧场管理水平对原料乳体细胞数、内源酶活性影响的研究

2006年采样人员根据采样牧场的挤奶间卫生情况(20%)、挤奶设备(10%)、牧场

饲养情况（50%）及挤奶操作工序（20%）分别对所采的6家牧场的管理水平评分（见表7），将其分为优、良、合格三类并对牧场管理水平与原料乳体细胞及内源酶的关系进行分析。

表7 2006年采样人员对所采的6家牧场的管理水平评分表

Table7 Score chart of management leves from 6 meadows in 2006

牧场	挤奶间卫生 情况 (20%)	牧场饲养 情况 (50%)	挤奶操作 工序 (20%)	挤奶设备 (10%)	样本数 (个)	总分	级别
CJ 牧场	15	40	15	7	60	77	优
MJM 牧场	14	38	15	7	130	74	良
BS 牧场	13	31	15	7	60	66	良
JX 牧场	11	30	12	7	25	60	合格
HX 牧场	15	45	17	8	70	85	优
YL 牧场	10	34	10	7	185	61	合格

表8 牧场管理水平与原料乳体细胞数及内源酶活性的关系 ($\bar{x} \pm SD$)

Table8 The relationship of quality of management, SCC and indigenou enzymes activity

牧场管理水平	优	良	合格	显著水平 (GLM)
样本数	130	190	210	
采样季节	春、夏	春	秋、冬	
SCC (万个/mL)	91.4 ± 186.61b	88.7 ± 153.23b	147.5 ± 177.74a	*
纤维蛋白酶 (u/mL)	12.61 ± 10.99a	13.35 ± 11.37a	13.20 ± 7.77a	NS
NAG 酶 (u/mL)	72.32 ± 46.82a	78.97 ± 65.20a	81.92 ± 54.85a	NS
过氧化物酶 (u/mL)	507.64 ± 83.98c	580.49 ± 103.72a	561.08 ± 59.54b	***
过氧化氢酶 (u/mL)	0.31 ± 0.24b	0.34 ± 0.23ab	0.38 ± 0.22a	*
FAN (mmoL/L)	1.73 ± 0.61a	1.79 ± 0.41a	1.44 ± 0.35b	***
FFA (meq/L)	0.53 ± 0.31a	0.51 ± 0.18a	0.51 ± 0.16a	NS
凝乳时间 (min)	4.4 ± 0.9a	4.2 ± 1.1a	3.7 ± 1.2b	***

注：用 NS 表示 $p > 0.05$ 不显著，* 表示 $p < 0.05$ 水平显著，** 表示 $p < 0.01$ 水平显著，*** 表示 $p < 0.001$ 水平显著。带有不同字母标记的数据间差异显著。

从表 8 可以看出, 根据牧场管理水平的优劣分组的结果显示: 过氧化物酶、FAA、凝乳时间组间差异极显著($P < 0.001$); 原料乳 SCC、过氧化氢酶组间差异显著($P < 0.05$); 纤维蛋白酶、NAG 酶、FFA 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。

结果表明不同管理水平之间原料乳 SCC 差异显著($P < 0.05$), 而乳房炎正是与管理相关的疾病, 不同的管理反映在挤奶间卫生情况、牧场饲养情况、挤奶设备、挤奶程序上的不同, 陆桂艳(1999)曾报道不同挤奶程序对乳房炎有影响^[60]; 庆麦玉(2000)也曾报道挤奶程序会影响乳中的 SCC^[61]。在本次试验中, 管理水平优良的牧场挤奶间和牛体卫生情况都比较好, 都对奶牛乳头进行药浴, 采用正确的挤奶顺序; 而管理水平合格的牧场, 其牛舍、挤奶设备的卫生状况都比较差。分析的结果是管理水平优质的牧场的 SCC 最低, 可见采取干净的挤奶设备、改善挤奶环境能够降低乳中的 SCC。

因此, 良好的管理状况可以有效地降低原料乳中的 SCC。总之, 在生产过程中要加强对奶牛场的日常管理, 给奶牛提供充足的营养以便其优良的生产性能得到充分发挥。此外, 务必严格按照规范的消毒和挤奶程序进行操作, 以最大限度地减少乳房炎的发生, 从而最大可能地提高奶牛的经济效益。

3.5 季节对原料乳体细胞数影响的研究

根据季节的不同, 对 2005 年的 SCC 进行统计, 统计结果及变化趋势见图 7。

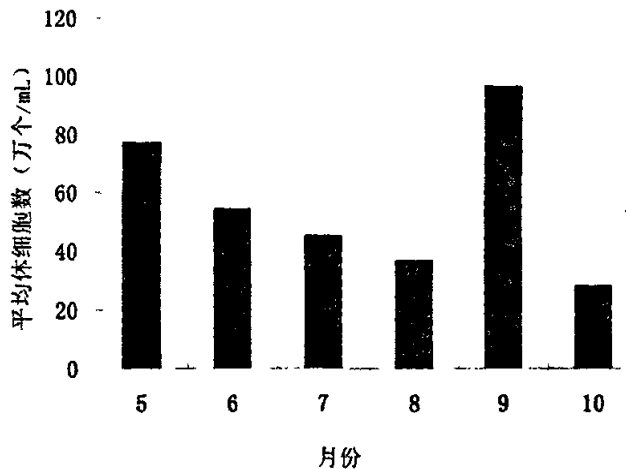


图 7 不同月份的平均体细胞数 (2005 年)
Figure 7 Mean SCC of milk by month in 2005

从图 7 分析可知, 从 2005 年 5 月到 10 月, 30 头牛平均 SCC 有逐渐降低趋势, 但 9 月骤然升高, 这与毛永江等人的研究结果相似^[62]。在 5~10 月份中, 5 月和 9 月是平均 SCC 较高的时期, 分别为 77.10 万个/mL 和 96.39 万个/mL。10 月份样品的平均 SCC 最低, 为 28.17 万个/mL。

从表 8 可以看出, 根据牧场管理水平的优劣分组的结果显示: 过氧化物酶、FAA、凝乳时间组间差异极显著($P < 0.001$); 原料乳 SCC、过氧化氢酶组间差异显著($P < 0.05$); 纤维蛋白酶、NAG 酶、FFA 组间无显著差异 ($P > 0.05$)。

结果表明不同管理水平之间原料乳 SCC 差异显著($P < 0.05$), 而乳房炎正是与管理相关的疾病, 不同的管理反映在挤奶间卫生情况、牧场饲养情况、挤奶设备、挤奶程序上的不同, 陆桂艳(1999)曾报道不同挤奶程序对乳房炎有影响^[60]; 庆麦玉(2000)也曾报道挤奶程序会影响乳中的 SCC^[61]。在本次试验中, 管理水平优良的牧场挤奶间和牛体卫生情况都比较好, 都对奶牛乳头进行药浴, 采用正确的挤奶顺序; 而管理水平合格的牧场, 其牛舍、挤奶设备的卫生状况都比较差。分析的结果是管理水平优质的牧场的 SCC 最低, 可见采取干净的挤奶设备、改善挤奶环境能够降低乳中的 SCC。

因此, 良好的管理状况可以有效地降低原料乳中的 SCC。总之, 在生产过程中要加强对奶牛场的日常管理, 给奶牛提供充足的营养以便其优良的生产性能得到充分发挥。此外, 务必严格按照规范的消毒和挤奶程序进行操作, 以最大限度地减少乳房炎的发生, 从而最大可能地提高奶牛的经济效益。

3.5 季节对原料乳体细胞数影响的研究

根据季节的不同, 对 2005 年的 SCC 进行统计, 统计结果及变化趋势见图 7。

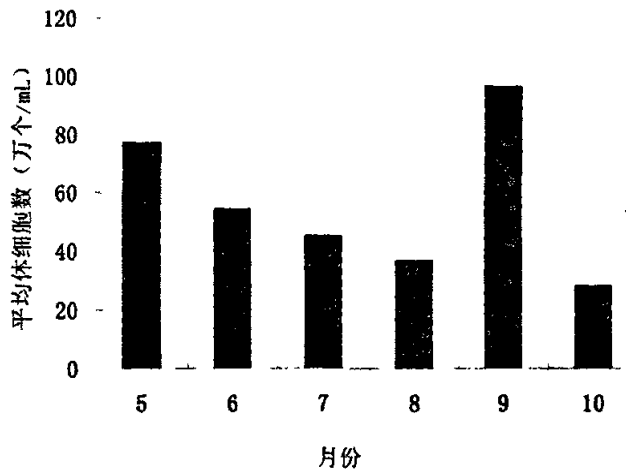


图 7 不同月份的平均体细胞数 (2005 年)
Figure 7 Mean SCC of milk by month in 2005

从图 7 分析可知, 从 2005 年 5 月到 10 月, 30 头牛平均 SCC 有逐渐降低趋势, 但 9 月骤然升高, 这与毛永江等人的研究结果相似^[62]。在 5~10 月份中, 5 月和 9 月是平均 SCC 较高的时期, 分别为 77.10 万个/mL 和 96.39 万个/mL。10 月份样品的平均 SCC 最低, 为 28.17 万个/mL。

根据季节的不同,对2006年的SCC进行统计,统计结果及变化趋势见图8。

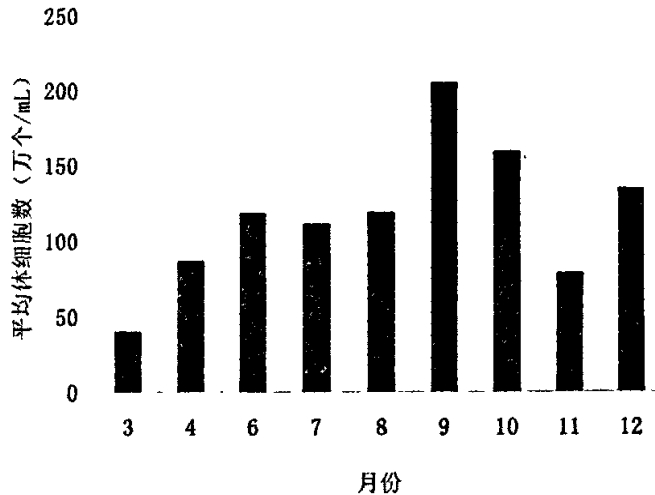


图8 不同月份的平均体细胞数(2006年)

Figure8 Mean SCC of milk by month in 2006

从图8分析可知,从2006年3月到12月,6个牧场样品的平均SCC呈先上升后下降趋势,3月份平均SCC最低,为39.82万个/mL,9月份平均SCC最高,为204.62万个/mL。

2005年的平均SCC随月份的变化呈下降趋势,2006年的平均SCC随月份的变化呈先上升后下降的趋势,这可能是由于2005年的样品均采自一个牧场,其饲养条件、管理方式、牛群等都比较稳定,SCC只受到季节的影响;而2006年的所测样品采自6个牧场,其饲养条件、管理方式、牧场周边环境等条件各不相同,SCC的变化趋势是各种因素综合影响所致。

从2005年和2006年的结果可以看出,两年中9月份的平均SCC都达到了最大值,也即在9月份,季节对SCC的影响作用要远远大于其它因素对SCC的影响作用,这可能是由于呼和浩特地区9月份是雨季,高温、高湿、降雨量多致使牛舍潮湿、运动场污水积聚,利于环境和牛体上病原菌的繁殖和侵袭;同时高温、高湿环境作用于牛体,致使牛体处于应激状态,抗病力降低,环境中的病原菌乘机侵入发病,造成SCC的升高。因此,就呼和浩特地区而言,在9月份要从加强饲养管理、改变牛体营养状况、改善牛舍通风条件等方面加大对乳房炎的防治工作。

Ng-Kwai-Hang(1984)报道冬季SCC最高,夏季SCC最低^[63],Bodoh(1976)报道的结果恰恰相反:夏季SCC最高,冬季SCC降至最低^[64]。有文献报道季节所以对SCC影响主要是季节提供了微生物生长的环境,季节效应是否是生理上的还不能肯定。季节效应虽然减弱了牛场良好的管理效果,但其不是SCC变化的主要因素。Paape(1973)报道SCC的高低是与群体乳房炎的发生率相一致的^[65]。综合前人的分析与本研究的分析的

结果可知,季节对SCC影响的实质是牧场管理对SCC的影响,只要牧场管理差,群体的乳房炎发生率高,乳中的SCC值就会升高。

4 结论

对7个牧场的982个奶样进行体细胞数、纤维蛋白溶酶、NAG酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、脂酶、游离脂肪酸含量、游离氨基氮含量、酒精稳定性、热稳定性的测定。结果显示:

1. 所采982个样本的平均体细胞数为87万个/mL,标准差为147万个/mL,不服从正态分布。
2. 不同的体细胞组间,牛乳纤维蛋白溶酶活性、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、脂酶活性、游离脂肪酸含量和游离氨基氮含量随体细胞数的升高而增加,组间有极显著差异($P < 0.001$);凝乳时间随体细胞数的升高而降低,组间有极显著差异($P < 0.001$)。
3. 牛乳体细胞数与纤维蛋白酶活性、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、脂酶活性、游离氨基氮含量、游离脂肪酸含量呈极显著正相关($P < 0.001$);牛乳体细胞数与凝乳时间呈极显著负相关($P < 0.001$)。
4. 纤维蛋白酶与游离氨基氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关,相关系数0.3628;游离脂肪酸与脂酶在 $P < 0.001$ 的水平下正相关,相关系数0.5396;凝乳时间与游离钙含量在 $P < 0.05$ 的水平下正相关,相关系数0.1280;凝乳时间与尿素氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关,相关系数0.3897;凝乳时间与乳清蛋白含量在 $P < 0.01$ 的水平下负相关,相关系数-0.4180;在本实验条件下($\text{pH} = 6.58 - 6.62$),凝乳时间与pH不相关。
5. 在饲养水平和管理水平一样的条件下,随着牛乳体细胞数升高,酒精稳定性随之降低;当牧场管理水平各异时,随着牛乳体细胞数升高,酒精稳定性呈无规律变化。
6. 管理水平较好的牧场,其原料乳平均体细胞数为91万个/mL,管理水平较差的牧场,其原料乳平均体细胞数为148万个/mL,不同管理水平之间牛乳体细胞数差异显著($P < 0.05$)。
7. 在呼和浩特地区,由于9月份高温高湿的天气情况,平均体细胞数达到了全年最大值。因此,就呼和浩特地区而言,在9月份要加大对乳房炎的防治工作。

结果可知, 季节对SCC影响的实质是牧场管理对SCC的影响, 只要牧场管理差, 群体的乳房炎发生率高, 乳中的SCC值就会升高。

4 结论

对7个牧场的982个奶样进行体细胞数、纤维蛋白溶酶、NAG酶、过氧化物酶、过氧化氢酶、脂酶、游离脂肪酸含量、游离氨基氮含量、酒精稳定性、热稳定性的测定。结果显示:

1. 所采982个样本的平均体细胞数为87万个/mL, 标准差为147万个/mL, 不服从正态分布。
2. 不同的体细胞组间, 牛乳纤维蛋白溶酶活性、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、脂酶活性、游离脂肪酸含量和游离氨基氮含量随体细胞数的升高而增加, 组间有极显著差异 ($P < 0.001$); 凝乳时间随体细胞数的升高而降低, 组间有极显著差异 ($P < 0.001$)。
3. 牛乳体细胞数与纤维蛋白酶活性、N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶活性、过氧化物酶活性、过氧化氢酶活性、脂酶活性、游离氨基氮含量、游离脂肪酸含量呈极显著正相关 ($P < 0.001$); 牛乳体细胞数与凝乳时间呈极显著负相关 ($P < 0.001$)。
4. 纤维蛋白酶与游离氨基氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关, 相关系数 0.3628; 游离脂肪酸与脂酶在 $P < 0.001$ 的水平下正相关, 相关系数 0.5396; 凝乳时间与游离钙含量在 $P < 0.05$ 的水平下正相关, 相关系数 0.1280; 凝乳时间与尿素氮在 $P < 0.001$ 的水平下正相关, 相关系数 0.3897; 凝乳时间与乳清蛋白含量在 $P < 0.01$ 的水平下负相关, 相关系数 -0.4180; 在本实验条件下 ($\text{pH} = 6.58 - 6.62$), 凝乳时间与 pH 不相关。
5. 在饲养水平和管理水平一样的条件下, 随着牛乳体细胞数升高, 酒精稳定性随之降低; 当牧场管理水平各异时, 随着牛乳体细胞数升高, 酒精稳定性呈无规律变化。
6. 管理水平较好的牧场, 其原料乳平均体细胞数为91万个/mL, 管理水平较差的牧场, 其原料乳平均体细胞数为148万个/mL, 不同管理水平之间牛乳体细胞数差异显著 ($P < 0.05$)。
7. 在呼和浩特地区, 由于9月份高温高湿的天气情况, 平均体细胞数达到了全年最大值。因此, 就呼和浩特地区而言, 在9月份要加大对乳房炎的防治工作。

致 谢

首先深深感谢我的导师张和平教授,在我攻读硕士学位期间,导师在学习、生活方面都给予了我极大的关心、指导和帮助。导师严谨的治学态度、博学的学识、敏锐的学术思想和精深的学术造诣以及精益求精的科研精神、言传身教的学者风范,给了我深刻的启迪与影响,使我受益匪浅。他那严于律己、一丝不苟、刻苦钻研的工作作风更为我榜样。

本课题在实验研究方面得到了陈永福老师、包秋华老师、乌云达来老师、孟和老师、王俊国老师的热心指导和帮助;在日常生活方面得到了于志红老师、葛芳老师的热情帮助。在此对以上老师表示衷心的感谢。

感谢我的师兄、师姐、师弟、师妹们三年来给予我的支持和帮助。博士生云振宇、李妍,硕士生付文菊、史玉东、麻士卫、王安平、邢慧敏、王记成、董成、赵树平、赵电波、云月英、徐杰、孙志宏,不仅在学习和生活中给予了我极大的帮助,而且大家团结协作、互相帮助,为我三年的学习生活创造了良好的生活环境和学习氛围。

深深感谢我的父母,他们为我的成长和学习付出了最无私的支持和帮助,想起他们我的心里就会平静下来,感受到家庭的温暖和幸福。他们是我人生前进的巨大动力。祝他们健康幸福!

感谢所有关心帮助我的人们!

参 考 文 献

- 1 叶纪梅,王加启,赵国琦. 体细胞数过高对乳制品品质的影响[J]. 中国奶牛 2006, 5: 41-43
- 2 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
- 3 董莹, 张和平. 乳体细胞对干酪生产的影响[J]. 中国乳品工业. 2005, 33(11): 30-33
- 4 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
- 5 郝建国摘译. 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
- 6 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
- 7 Hampton O, Randolph H E. Influence of mastitis on properties of milk: II. Acid production and curd firmness [J]. *J. Dairy Sci*, 1969, 52(6): 1563-1565
- 8 张爱霞, 生庆海, 王玉良等. 纤维蛋白酶及其对乳制品的影响[J]. 中国乳品工业. 2002, 30(5): 80-82
- 9 Teffi Z, Ioannis P, Ronald C G, et al. Effect of mastitis on plasminogen activator activity of milk somatic cell [J]. *J. Dairy Res*, 1992, 59: 461-467
- 10 Robert J V, David M B. Effect of coagulants, somatic cell enzymes, and extracellular bacterial enzymes on plasminogen activation[J]. *J. Dairy Sci*, 1991, 74: 772- 781
- 11 Albenzio M, Caroprese M, Santillo A, et al. Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese making properties of ewe milk [J]. *J. Dairy Sci*, 2004, 87: 533- 542
- 12 顾瑞霞, 谢继志. 干酪制造和成熟过程中的蛋白水解[J]. 中国乳品工业. 1992, 20(1): 24-28
- 13 Fox P F. Proteolysis during cheese manufacture and ripening [J]. *J. Dairy Sci*, 1989, 72(6): 1379-1400
- 14 Grandison A S, Ford G D. Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield, composition and quality of Cheddar cheese[J]. *J. Dairy Res*, 1986, 53: 645-655
- 15 Verdi R J, Barbano D M. Properties of proteases from milk somatic cells and blood leukocytes [J]. *J. Dairy Sci*, 1991, 74(7): 2077-2081
- 16 曾寿瀛. 现代乳与乳制品加工技术[M]. 北京: 中国农业出版社. 2003. 3
- 17 Kelly A L, Tiernan D, O' Sullivan C, et al. Correlation between bovine milk somatic cell count and polymerphonu clear leukocyte level for samples of bulk milk and milk from individual cows [J]. *J. Dairy Sci*, 2000, 83(2): 300-304
- 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 Culiye A Y, Creveld C V, Yagil R. Detection of subclinical mastitis in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) using somatic cell count and the N-Acetyl-D-glucosaminidase test[J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2002, 34: 95-104
- 21 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
- 22 王振刚. 乳中酶类、激素研究进展[J]. *河南畜牧兽医*, 2004, 25(7): 11-12
- 23 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
- 24 Chen L. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders [J]. *International dairy journal*, 2003, 13: 255-275
- 25 谢继志. 液态乳制品科学与技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004 周家春编. 食品工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社. 2003: 84
- 26 周家春编. 食品工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社. 2003: 84
- 27 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
- 28 Ma Y, Ryan C, Barbano D M. Effect of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk[J]. *J. Dairy Sci*, 2000, 83: 264-274
- 29 骆承庠. 乳与乳制品工艺学(第二版)[M]. 北京: 中国农业出版, 2001
- 30 郭本恒. 酸奶[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003
- 31 王芳, 胡松华. 体细胞含量与牛奶质量的关系[J]. *中国奶牛*, 2005, 4: 51-52.
- 32 赵新瑞. 酒精阳性乳发生的原因及防治措施[J]. *江西畜牧兽医杂志*, 2006, 2: 31
- 33 Linda K, Joseph Y, Aditya S, et al. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality [J]. *J. Dairy Sci*, 1998, 81: 1205- 1213
- 34 Urech E, Puhán Z, Schallibaum M, et al. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis [J]. *J. Dairy Sci*, 1999, 82: 2402- 2411
- 35 Leitner G, Merin U, Silanikove N, et al. Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in goats [J]. *J. Dairy Sci*, 2004, 87: 1719- 1726
- 36 Walstra P, Jenness R. *Dairy Chemistry and Physics*[M]. New York: John Wiley, 1984. 245-247
- 37 储明星, 石万海, 邝霞等. 浅谈奶牛乳房炎[J]. *中国奶牛*. 2001, (3): 39-40
- 38 Thomas J, Quaife. Somatic cell counts limit should be lowered to 500,000[J]. *J Dairy Herd Management*, 1999, 36: 2
- 39 Roux Y, Colin O, Laurent. Proteolysis in samples of quarter milk with varying somatic cell counts[J]. *J. Dairy Sci*, 1995, 78: 1289-1297
- 40 李春光, 赵悦, 周秀伟. 浅谈奶牛乳房炎的危害及其综合性防治措施[J]. *畜牧兽医科技信息*. 2006, 5: 19-21
- 41 Albenzio M, Caroprese M, Santillo A, et al.. Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese-making properties of ewe milk[J]. *J. Dairy Sci*, 2004, 87: 533-542
- 42 Church F C, Swaisgood H E, Porter D H, et al. Spectrophotometric assay using

- o-phthaldialdehyde for determination proteolysis in milk and isolated milk proteins[J]. J. Dairy Sci, 1983, 66(6): 1219-1227
- 43 Hurle 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
- 44 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
- 45 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, 1993, 76: 78-85
- 46 Shipe W F, Senyk G F, Fountain K B. Modified copper soap solvent extraction method for measuring free fatty in milk[J]. J. Dairy Sci, 1980, 63(2): 193-198
- 47 Ma Y, Barbano D M, Santos M. Effect of CO₂ addition raw milk on proteolysis and lipolysis at 4°C [J]. J. Dairy Sci, 2003, 86(5): 1616-1631
- 48 Harjinder S, Patrick F. Heat stability of milk: influence of modifying sulphhydryl-disulphide interactions on the heat coagulation time-pH profile[J]. J. Dairy Res, 1987, 54:347-359
- 49 许杰.中国和斯坦奶牛体细胞评分遗传参数估计[D].中国农业大学学位论文,2000
- 50 胡松华.谈奶牛乳腺的免疫机能[J].中国奶牛.1997,5:53-55
- 51 Muir D D, Sweetsur A W M. The influence of naturally occurring levels of urea on the heat stability of bulk milk[J]. J. Dairy Res, 1976, 43: 495-499
- 52 Banks W J L, Clapperton D D, Muir A K, et al. The effect of dietary-induced changes in milk urea levels on the heat stability of milk [J]. J. Sci. Food Agric, 1984, 35: 165-172
- 53 Darling D F. Heat stability of milk[J]. J. Dairy Res, 1980, 47: 199
- 54 马树东,冯丽荣,易成林.酒精阳性乳的产生原因及综合预防治疗措施[J].黑龙江畜牧科技,2000,(1):23-24
- 55 肖定汉,李兰华.酒精阳性乳与隐性乳房炎的比较试验[J].畜牧与兽医,1992,24(3):98-99
- 56 王孝允,余涛,于庆菊等.酒精阳性乳与血液PH关系的研究[J].吉林畜牧兽医,1997,(12):42
- 57 闫凤周,朱永宁,刘莉等.酒精阳性乳症的发生与应激关系的探讨[J].中国兽医科技,1994,24(8):18-19
- 58 吴钟玲,陈铁如,李琳.酒精阳性乳的产生与气象条件的关系[J].吉林气象,1995,(3):19-21
- 59 沈国春,王志军.酒精阳性乳的发病原因与防治[J].中国奶牛.2006,5:38-39
- 60 陆桂艳,暴华林,刘彦胜等.浅谈奶牛隐性乳房炎的预防对策[J].黑龙江畜牧技,1999,(2):31-32
- 61 庆麦玉.奶牛的乳房保健[J].中国奶牛,2000,(2):51-53
- 62 毛永江,杨章平,王杏龙等.南方地区荷斯坦牛乳中体细胞数及乳房性状与泌乳性能相关性的研究[J].中国奶牛,2002,(2):12-13
- 63 Ng-Kwai-Hang K F, Hays J F, Moxley J E, et al. Variability of test-day somatic

- cell counts with yield and compositional changes of bovine milk[J]. *J. Dairy Sci.*, 1984, 63: 361-371
- 64 Bodoh G W, Battista W J, Schultz L H, et al. Variation in somatic cell counts in dairy herd improvement milk samples[J]. *J. Dairy Sci.*, 1976, 59: 1119-1125
- 65 Paape M J, Schultze W D, Miller R H, et al. Thermal stress and circulating erythrocytes, leucocytes, and milk somatic cells[J]. *J. Dairy Sci.*, 1973, 56: 84-95

作者简介

郭奇慧，女，汉族，1980年11月出生于呼和浩特市。2000年考入内蒙古农业大学食品学院，食品科学与工程专业。2004年毕业并获得工学学士学位。2004年考入内蒙古农业大学食品科学与工程学院攻读硕士学位，研究方向食品科学。

发表论文：郭奇慧、张和平，牛乳体细胞数与内源酶关系的研究，《食品与生物技术学报》，2007年第4期。