

不同体细胞数的原料乳品质变化的比较研究

陈建坡¹, 陈树兴^{1,*}, 李丽丽², 韦慧娟¹, 任发政³

(1.河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003; 2.农业部畜牧总站全国奶牛生产性能测定标准物质制备实验室, 北京 101300; 3.中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 通过分析比较5组不同体细胞数(SCC)原料乳的主要成分和特性(蛋白质、脂肪含量、酪蛋白的含量等)、脂肪分解情况(脂肪酶活力、游离脂肪酸及其占总脂肪的比例)以及蛋白质水解程度(水溶性氮、非蛋白氮占总氮的比例以及酪蛋白构成)的变化情况, 探讨不同SCC对原料乳品质的影响。结果表明: 当SCC小于 4.0×10^5 个/mL时, 原料乳的成分没有显著的差异($P > 0.05$); 随着SCC的增大, 原料乳的脂肪水解程度增强, 但SCC小于 4.0×10^5 个/mL的两组原料乳的脂肪水解程度没有显著差异($P > 0.05$); 不同SCC原料乳的酪蛋白构成表现不同, 其蛋白质水解程度(WSN/TN, NPN/TN)随SCC的增大而增加, 但SCC在 4.0×10^5 个/mL以下的两组原料乳的蛋白水解程度没有显著差异($P > 0.05$)。

关键词: 体细胞数; 原料乳; 品质

Comparative Study of Properties of Raw Milk with Different Somatic Cell Counts

CHEN Jian-po¹, CHEN Shu-xing^{1,*}, LI Li-li², WEI Hui-juan¹, REN Fa-zheng³

(1. College of Food and Biotechnology, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China; 2. The Laboratory of Dairy Herd Improvement and Preparation of Standard Material of National Husbandry Service, Ministry of Agriculture, Beijing 101300, China; 3. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Five raw milk samples with different somatic cell counts (SCC) were analyzed for major chemical composition, fat decomposition degree (lipase activity, free fatty acid content and its ratio to total fat), and protein decomposition degree (water soluble nitrogen, ratio of non-protein nitrogen to total nitrogen, and casein profile) with the aim of understanding the effect of SCC on raw milk quality. The results showed that: 1) There was no significant difference ($P > 0.05$) in major components and properties for raw milk with SCC lower than 4.0×10^5 cells/mL; 2) fat decomposition was positively related to SCC level and showed no significant difference between two raw milk samples with SCC lower than 4.0×10^5 cells/mL ($P > 0.05$); 3) casein profile of raw milk varied with SCC, the ratios of water soluble nitrogen and non-protein nitrogen to total nitrogen, WAN/TN and NPN/TN, increased with increasing SCC, while no significant difference was observed between the raw milk samples with SCC lower than 4.0×10^5 cells/mL.

Key words: somatic cell count; raw milk; property

中图分类号: TS252.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)07-0034-04

牛乳中的体细胞主要是指白细胞, 也包括少量的乳腺上皮细胞。体细胞数(somatic cell count, SCC)已被接受为奶畜乳房健康评价的重要指标之一。当乳腺组织受到细菌感染时, 机体免疫系统就会分泌大量的免疫细胞来清除感染, 从而导致原料乳中体细胞数大幅升高。进一步会导致原料乳的产量和成分发生一定的变化。研究表明, 乳房炎的发生往往伴随着蛋白酶和脂肪酶含量的升高, 从而使原料乳在贮存和加工过程中发生一系列酶

解反应^[1], 主要为蛋白质水解和脂肪水解。

William等^[2]研究发现, SCC为 1.0×10^6 个/mL的原料乳与 1.0×10^5 个/mL的原料乳相比, 酪蛋白含量减少, 乳清蛋白含量升高, 酪蛋白的3种组成成分中 β -酪蛋白含量减少, γ -酪蛋白含量上升。Santos等^[3]将4组不同SCC的牛乳(2.6×10^4 、 3.76×10^5 、 7.26×10^5 、 1.113×10^6 个/mL)进行巴氏杀菌, 然后在同一温度下贮藏, 发现SCC高的牛乳即便贮存温度较低, 在贮藏时间一段时间后也出现了

收稿日期: 2012-09-13

基金项目: “十一五”国家奶业专项基金资助项目(2006BAD04A06)

作者简介: 陈建坡(1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为乳品科学。E-mail: pjc19870404@126.com

*通信作者: 陈树兴(1965—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为功能性乳制品及干酪加工技术。E-mail: chenshuxing1@163.com

异味,说明牛乳中蛋白和脂肪酶解速度也较快。其研究数据显示,SCC为 7.5×10^5 个/mL比 1.0×10^5 个/mL的贮藏奶,酪蛋白含量减少20%,奶粉得率减少4%,如果SCC在 1.0×10^6 个/mL以上,酪蛋白含量将减少25%,奶粉得率减少5%。Ma等^[4]研究发现高SCC牛乳中含有的脂肪氧化酶比低SCC的牛乳中多,游离脂肪酸的含量变化是低SCC牛乳的2~3倍。Litwinzuk等^[5]研究发现SCC和牛乳产量一样,在不同的泌乳阶段也不同。由于影响SCC的因素还包含年龄、泌乳阶段、季节、管理等因素^[6],比如,随着泌乳期的渐进,SCC也在显著增加^[7],而Lindmark等^[8]发现矿物质中锌添加量高低对SCC没有影响,因此,根据SCC来评价牛乳品质的高低还存在着一定的学术争议。不同的国家对SCC的要求也各不相同。美国要求A级奶的SCC要小于 7.5×10^5 个/mL,欧盟要求小于 4.0×10^5 个/mL,新西兰和澳大利亚则要求小于 2.0×10^5 个/mL。虽然我国还没有对SCC作一些硬性的规定,但许多企业也已把SCC作为牛乳以质论价的一个重要指标,因为只有健康的奶牛产的奶才是对其奶制品质量的一种保证,才能满足消费者需求^[9]。

高SCC(大于 1.0×10^6 个/mL)对原料乳品质的影响已被大量研究所证明。本研究旨在重点探讨中、低SCC对原料乳品质的具体影响,为国家标准的制定以及企业“以质论价”体系的完善提供数据支持。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与仪器

原料乳:首先对华夏畜牧(三河)有限公司奶牛场的3000多头奶牛进行生产性能测定。然后根据SCC的测定结果,选择10头奶牛(每组2头)分为5组:LL组(SCC小于 1.0×10^5 个/mL)、L组(SCC $1.0 \times 10^5 \sim 4.0 \times 10^5$ 个/mL)、M组(SCC $4.0 \times 10^5 \sim 7.0 \times 10^5$ 个/mL)、H组(SCC $0.7 \times 10^6 \sim 1.0 \times 10^6$ 个/mL)、HH组(大于 1.0×10^6 个/mL)。在正常的挤奶过程中使用取样器采样约200mL,快速冷却后使用车载冰箱保温并送往农业部畜牧总站全国奶牛生产性能测定标样实验室进行相关的分析测试。其中,HH组的奶牛为隔离的疑似乳房炎奶牛,须单独采样。第2天进行相同的采样与分析。

标准酪蛋白 厦门仁驰化工有限公司;异戊醇、

丙烯酰胺、*N,N'*-甲叉双丙烯酰胺、十二烷基磺酸钠、*N,N,N',N'*-四甲基乙二胺、过硫酸铵、*N*-三羟甲基氨基乙烷(Tris) 国药集团化学试剂有限公司; β -巯基乙醇 江莱生物科技有限公司;溴酚蓝、考马斯亮蓝G-250 沈阳试三生化科技开发有限公司;二巯基二硫代氨基甲酸钠 武汉市福德精细化工有限公司;三棕榈酸甘油酯(色谱纯) 上海谱振生物科技有限公司;三氯甲烷、庚烷 深圳市新庄化工有限公司;Triton-X100 上海时代生物科技有限公司;以上皆为分析纯。

Foss Milko Scan 6000型乳成分及体细胞分析仪、Foss-凯氏定氮仪 丹麦福斯公司;NCI900高效液相色谱仪 美国铂金埃尔默公司;DYY-6B型稳压稳流电泳仪、DYCZ-24A电泳槽 南京普阳科学仪器研究所;GelDoc-XR凝胶成像分析系统 北京凯慕生物技术有限公司;PHS-3D雷磁pH计、雷磁电导率仪、722分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;恒温水浴锅、鼓风干燥箱 上海精宏实验设备有限公司;比重计 北京朋利驰科技有限公司。

1.2 方法

分别用Foss Milko Scan6000型乳成分及体细胞分析仪测定原料乳的总蛋白质含量(TP)、总脂肪含量(TF)、总固形物含量(TS)、乳糖和SCC;使用雷磁PHS-3C测定pH值,雷磁DDS-307测定电导率。原料乳蛋白质中酪蛋白(casein, CN)的测定采用等电点沉淀分离酪蛋白的测定方法^[10]。原料乳脂肪酶活力的测定采用袁玮等^[11]所报道的NaOH滴定脂肪酶活力测定的方法。原料乳中游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)含量测定采用铜皂法^[12],其标准方程为 $y=380.77x+5.8495(R^2=0.9927)$,式中: x 为吸光度, y 为FFA含量($\mu\text{mol/L}$)。原料乳中水溶性氮(water soluble nitrogen, WSN)的测定采用董莹^[12]所报道的测定方法(不包含乳清蛋白)。原料乳中非蛋白氮(non-protein nitrogen, NPN)的测定采用三氯乙酸NPN测定的方法^[13]。原料乳中滴定酸度的测定采用GB 5413.34—2010《乳和乳制品酸度的测定》^[14]中0.1mol/L NaOH滴定法。原料乳中酪蛋白各组分分析采用SDS-PAGE测定^[15-16]。

2 结果与分析

2.1 原料乳的各指标测定结果

表1 原料乳的体细胞数(SCC)及各指标测定结果($\bar{x} \pm s, n=4$)

Table 1 Major composition and SCC of raw milk ($\bar{x} \pm s, n=4$)

组别	SCC数(10^4 个/mL)	蛋白质含量/%	脂肪含量/%	乳糖含量/%	总干物质含量/%	酪蛋白含量/%	pH	电导率($\mu\text{S/cm}$)	滴定酸度($^\circ\text{T}$)	比重
LL组	1.90 ± 0.20^f	3.22 ± 0.03^e	3.30 ± 0.03^e	4.80 ± 0.03^d	11.91 ± 0.03^d	2.58 ± 0.02^b	6.68 ± 0.11	0.374 ± 0.011^b	16.50 ± 0.66^b	1.031 ± 0.003
L组	11.50 ± 1.36^d	3.20 ± 0.02^e	3.38 ± 0.06^e	4.77 ± 0.04^d	11.84 ± 0.05^d	2.56 ± 0.03^c	6.69 ± 0.13	0.380 ± 0.006^b	16.80 ± 0.53^b	1.025 ± 0.003
M组	42.00 ± 5.64^c	3.28 ± 0.03^b	3.43 ± 0.05^b	4.75 ± 0.04^d	12.19 ± 0.03^e	2.56 ± 0.02^c	6.65 ± 0.10	0.389 ± 0.007^b	17.50 ± 0.57^b	1.028 ± 0.003
H组	72.30 ± 6.08^b	3.48 ± 0.03^a	3.58 ± 0.06^b	4.72 ± 0.03^b	12.39 ± 0.06^b	2.62 ± 0.02^b	6.64 ± 0.14	0.430 ± 0.008^a	18.00 ± 0.62^b	1.026 ± 0.001
HH组	158.00 ± 19.46^a	3.53 ± 0.01^a	3.76 ± 0.04^a	4.76 ± 0.03^a	12.73 ± 0.07^a	2.69 ± 0.02^a	6.62 ± 0.20	0.438 ± 0.007^a	19.20 ± 0.30^a	1.030 ± 0.003

注:肩标字母不同表示各组间差异显著($P < 0.05$)。下同。

由表1可知, HH组的原料乳的蛋白质、脂肪、总干物质、酪蛋白含量要高于LL组、L组和M组。这些成分增加的主要原因可能是奶牛乳房感染乳房炎, 使乳腺分泌组织受到伤害, 导致奶牛产奶量下降, 乳成分浓缩, 同等质量下含量升高, 这与Ma等^[4]的研究是一致的。电导率的变化说明牛乳中矿物质的含量发生改变, 原因可能是乳房炎症使乳腺组织通透性发生了变化。电导率从0.374 μ S/cm增加到0.438 μ S/cm, 说明可能是钠离子和氯离子含量的升高引起了导电性能的增强。由于原料乳中蛋白质的缓冲作用, 虽然不同SCC原料乳的滴定酸度表现了一定的差异, 但pH值的变化不大。

2.2 不同原料乳的脂肪水解程度

表2 不同原料乳的游离脂肪酸含量、游离脂肪酸占总脂肪的比例和脂肪酶活力($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 2 Free fatty acid (FFA) contents, FFA/total fat (FFA/TF) ratio, and lipase activity in different raw milk ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

指标	LL组	L组	M组	H组	HH组
脂肪酶活力/(μ mol/(L·min))	523 \pm 99 ^c	705 \pm 101 ^c	916 \pm 146 ^b	1107 \pm 117 ^b	1684 \pm 74 ^a
FFA含量/(μ mol/L)	45 \pm 3 ^c	53 \pm 4 ^c	68 \pm 2 ^b	74 \pm 5 ^b	137 \pm 6 ^a
FFA/TF/(μ mol/mL)	1.36 \pm 0.10 ^c	1.58 \pm 0.12 ^c	1.98 \pm 0.08 ^b	2.07 \pm 0.17 ^b	3.64 \pm 0.19 ^a

由表2可知, HH组原料乳的FFA含量和脂肪酶活力高于LL组和L组牛乳, 这说明SCC高的原料乳, 其FFA含量本身就高, SCC高的原料乳脂肪酶活力也高。其根本原因可能是SCC升高, 表明乳腺组织受到了炎症损伤, 通透性改变, 使酶类物质流入到原料乳中, 使其脂肪酶含量升高、活性增强, 导致其脂肪水解作用加强, 产生更多的FFA。高SCC原料乳起始的FFA含量较高, 说明高SCC原料乳脂肪已经开始水解。Ma等^[4]研究发现游离脂肪酸的增加主要是脂肪氧化酶增多, 而本实验游离脂肪酸含量与脂肪酶活力之间存在着显著的线性正相关, 相关方程为 $y=12066x+75.515(R^2=0.9609)$, 式中: x 为FFA含量(μ mol/L), y 为脂肪酶活力(μ mol/(L·min))。

游离脂肪酸占总脂肪的比例高低(FFA/TF)是衡量脂肪水解程度的重要指标。由表2可知, 5组原料乳的FFA/TF存在显著差异, HH组要显著高于其他4组($P<0.05$)。随着SCC的降低, FFA/TF也显著降低, H组和M组之间差异不显著($P>0.05$), 可以归为第2个阶层; L和LL组之间差异也不显著($P>0.05$), 可以归为第3个阶层。表明SCC小于 4.0×10^5 个/mL的原料乳的脂肪水解程度较低; 超过 1.0×10^6 个/mL的原料乳, 其脂肪已经发生了较程度的水解, 原料乳的品质较差。脂肪水解会使牛奶产品产生异味^[17], 影响到乳制品的品质。

因此, SCC原料乳FFA、脂肪酶活力和FFA/TF都较低SCC原料乳高, 也就是说高SCC原料乳脂肪更易水解, 风味较差, 这与Ahmed等^[18]的研究结果相一致。

2.3 不同原料乳的蛋白质水解

2.3.1 不同原料乳的WSN/TN和NPN/TN

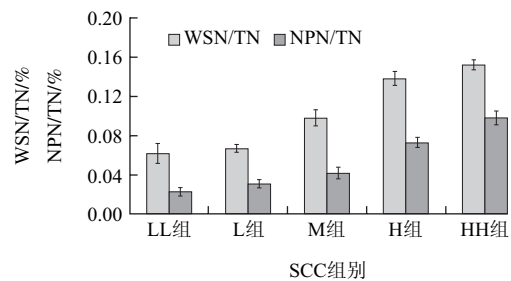


图1 不同原料乳的WSN/TN和NPN/TN

Fig.1 Water soluble nitrogen/total nitrogen ratio (WSN/TN) and non-protein nitrogen/total nitrogen ratio (NPN/TN) of different raw milk

WSN/TN和NPN/TN是衡量原料乳蛋白质水解程度的重要标志。由图1可知, SCC越高, WSN和NPN在总蛋白中所占的比例越高(HH组>H组>M组>L组>LL组), 这说明高SCC原料乳中的蛋白质更易水解。经过分析, L组和LL组差异不显著($P>0.05$), 这说明了SCC小于 4.0×10^5 个/mL, 原料乳蛋白质的水解程度没有明显差异, 超过 4.0×10^5 个/mL, 原料乳的蛋白质水解程度显著增加, SCC越高的原料乳, 其蛋白质水解的速度越快, 这与Santos等^[3]的研究结果相一致。

2.3.2 不同原料乳酪蛋白组成成分的分析

表3 不同SCC原料乳中3种酪蛋白含量的SDS-PAGE检测结果($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

Table 3 Casein contents in raw milk with different SCC ($\bar{x} \pm s$, $n=4$)

组分	LL组	L组	M组	H组	HH组	标准酪蛋白
α -酪蛋白/酪蛋白/%	75.0 \pm 1.6 ^c	74.0 \pm 1.0 ^c	72.6 \pm 1.6 ^c	72.0 \pm 1.2 ^c	71.8 \pm 0.4 ^b	74.4 \pm 0.2
β -酪蛋白/酪蛋白/%	23.0 \pm 1.4 ^c	22.4 \pm 0.4 ^c	21.4 \pm 1.2 ^c	20.2 \pm 0.8 ^b	19.4 \pm 0.8 ^b	22.0 \pm 0.4
γ -酪蛋白/酪蛋白/%	2.0 \pm 1.0 ^c	3.2 \pm 1.4 ^b	5.8 \pm 1.0 ^b	7.8 \pm 0.4 ^a	9.2 \pm 0.8 ^a	3.6 \pm 0.6

注: 点样 15 μ L。

酪蛋白主要由 α -酪蛋白、 β -酪蛋白和 γ -酪蛋白所组成, 其构成会影响到原料乳的凝乳特性。由表3可知, LL、L、M组的原料乳中 α -酪蛋白、 β -酪蛋白含量要高于其他两组; 但HH组和H组的原料乳的 γ -酪蛋白要显著高于其他组。高SCC原料乳中酪蛋白总含量降低, 且 α -酪蛋白、 β -酪蛋白含量降低, γ -酪蛋白含量升高, 这可能是因为体细胞升高导致一种碱性丝氨酸蛋白酶-血纤维蛋白溶酶(PL)活性显著增加^[19]。导致这些酪蛋白构成差异的机理及其对不同乳制品(特别是发酵乳制品)加工品质的影响, 还有待于进一步研究与探讨。

3 结论

实验对5组不同SCC原料乳的主要成分、蛋白质水解、脂肪水解以及酪蛋白组成成分进行测定, 结论如下: 1)当原料乳SCC大于 4.0×10^5 个/mL时, 原料乳的主要成分随SCC的变化而发生相应的变化; 2)原料乳的脂肪酶活力和FFA含量存在较强的线性相关, 相关系数为0.9609; 随着SCC的增加, 原料乳的脂肪水解程度也显著

增加($P < 0.05$), 但SCC小于 4.0×10^5 个/mL的原料乳的脂肪水解程度无显著差异。3)随着SCC的增加, 原料乳的蛋白质水解程度(WSN/TN、NPN/TN)也显著增强, 不同SCC原料乳的酪蛋白构成也不相同。原料乳中3种酪蛋白含量没有明确随着SCC的变化而变化。

参考文献:

- [1] 陈树兴, 赵胜娟, 石宝霞, 等. 体细胞数对半硬质山羊奶干酪品质影响的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 54-58.
- [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]. Aust J Dairy Technology, 2001, 56: 213-218.
- [3] 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]. Journal of Dairy Science, 2003, 86: 2491-2503.
- [4] MA Y, RYAN C, BARBANO D M. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life pasteurized fluid milk[J]. Journal Dairy of Science, 2000, 83: 264-274.
- [5] LITWINZUK Z, KROL J, BRODZIAK A. Changes of protein content and its fractions in bovine milk from different breeds subject to somatic cell count[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(2): 684-691.
- [6] OLDE RIEKERINK R G M, BARKEMA H W, VEENSTRA W, et al. Somatic cell count during and between milkings[J]. J Dairy Sci 2007, 90(8): 3733-3741.
- [7] 陈树兴. 共轭亚油酸和体细胞数对山羊奶及其干酪品质影响的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2007.
- [8] LINDMARK-MÅNSSON H, SVENSSON U, PAULSSON M, et al. Influence of milk components, somatic cells and supplemental zinc on milk processability[J]. International Dairy Journal, 2000, 10(7): 423-433.
- [9] HAMANN J. Relationship between somatic cell count and milk composition[J]. Bulletin-International Dairy Federation, 2002, 372: 56-59.
- [10] 邵锦震, 易理清. 等电沉淀分离酪蛋白方法的探讨: 兼对黄石市场鲜牛乳质量分析[J]. 湖北师范学院学报, 2004, 24(1): 19-22.
- [11] 袁玮, 胡海荣, 赵怀根, 等. 鲜牛乳中乳杆菌的检测及脂肪酶、蛋白酶测定方法的研究[J]. 食品与发酵工业, 2000, 27(6): 35-38.
- [12] 董莹. 不同体细胞原料乳对契达干酪品质的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2006.
- [13] 王宜生. 牛乳中非酪蛋白氮的测定: 凯氏定氮法[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(8): 227-229.
- [14] GB 5413.34—2010 食品安全国家标准 乳和乳制品酸度的测定[S].
- [15] 曾庆坤, 杨炳壮, 任发政. 水牛乳蛋白质的组成[J]. 中国乳品工业, 2007, 35(8): 31-33.
- [16] 张艳, 胡志和, 赖宜萍. 牛乳中 α_s -、 β -酪蛋白组分的分离[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 31-36.
- [17] SANTOS M V, MA Y, CAPLAN Z, et al. Sensory threshold of off-flavors caused by proteolysis and lipolysis in milk[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(5): 1601-1607.
- [18] AHMED G, HOUDA H. Total and differential bulk cow milk somatic cell counts and their relation with lipolysis[J]. Livestock Science, 2007, 113(2): 274-279.
- [19] 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]. Journal of Dairy Science, 2004, 87(3): 533-542.