

半奶牦牛泌乳生理生化特点的研究

郑玉才¹, 钟光辉², 王永², 彭先文², 毛永江², 邹思湘¹, 陈伟华¹, 陈杰¹

(¹ 南京农业大学农业部动物生理生化实验室, 南京 210095; ² 西南民族学院动物科技系, 成都 610041)

摘要:对两种泌乳类型的牦牛,即全奶牦牛和半奶牦牛乳的生化组成、凝乳特点以及血浆中3种激素、血糖、蛋白质的含量等进行了比较研究。结果显示,半奶麦洼牦牛和半奶九龙牦牛乳中的蛋白质、乳脂含量以及碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰转肽酶的活力均显著高于相应品种的全奶牦牛,挤乳量显著降低,乳糖含量和乳蛋白主要组分未见明显差异。半奶牦牛乳的生化组成与处于泌乳后期牦牛的乳相比有相似之处,但也有些明显的差异,提示半奶牦牛处于特殊的泌乳阶段。全奶和半奶麦洼牦牛乳中加入凝乳酶均能较好地凝乳,两者的凝乳时间差异不显著。半奶牦牛血浆中催乳素、孕酮浓度与全奶牦牛相比未见明显差异,而 17β 雌二醇含量则显著低于全奶牦牛。

关键词:牦牛;乳;酶;激素;凝乳

Physiological and Biochemical Characteristics of Lactation in Half-lactating Yak

ZHENG Yu-cai¹, ZHONG Guang-hui², WANG Yong², PENG Xian-wen²,

MAO Yong-jiang², ZOU Si-xiang¹, CHEN Wei-hua¹, CHEN Jie¹

(¹ Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095;

² Department of Animal Science and Technology, Southwest Nationalities College, Chengdu 610041)

Abstract: Yaks of two lactating types, half-lactating yak and total-lactating yak, were investigated in their milk compositions, milk coagulation properties, and contents of three kinds of hormones, glucose, protein in plasma. Milk of half-lactating Maiwa yak and Jiulong yak contained significantly higher contents of protein, fat, and activities of alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase than that of correspondent total-lactating yak breeds, with decreased milk yields and similar lactose levels and relative percentages of main milk protein components. Half-lactating yak resembled yak of late stage of lactation in their biochemical composition of milk, however, significant differences were also observed, which indicated that the former was in a special stage of lactation quite different from dairy cow. Milk of total-lactating or half-lactating yak could be coagulated normally by adding chymosin, with similar coagulation time. No significant difference was observed between prolactin and progesterone concentrations in plasma of half-lactating yak and total-lactating yak, however, half-lactating yak had significantly lower level of oestradiol- 17β in plasma than total-lactating yak.

Key words: Yak; Milk; Enzyme; Hormone; Milk coagulation

牦牛是我国青藏高原少数民族地区的主要特有畜种之一,具有乳、肉、皮、毛、绒兼用的特点,长期以来为高原牧民提供了必需的生产和生活资料^[1]。

与一般奶牛不同,牦牛多为二年一胎或3年两胎,并且由于采用挤乳兼犊牛哺乳的管理方式,因此,在产犊当年未怀孕的泌乳牦牛,第2年的青草季节会出

收稿日期:2000-07-11

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870607),南京农业大学动物生理生化农业部重点开放实验室资助课题的部分内容

作者简介:郑玉才(1965-),男,内蒙古海拉尔人,教授,主要从事动物生物化学教学和牦牛、山羊等动物泌乳生理生化研究。Tel:028-5523013;

Fax:028-5522799;E-mail:yucaizheng@sohu.com.cn

现第二个泌乳高峰,可继续挤乳供食用(冬季停止挤乳,仅用于犊牛哺乳),这是牦牛特有的一种泌乳现象,处于该阶段的牦牛称半奶牦牛。我们过去的初步研究表明,半奶牦牛与产犊当年挤乳的牦牛(称全奶牦牛)相比,挤乳量显著下降,而乳蛋白、乳脂含量极显著增加^[2]。鉴于半奶牦牛乳的可利用价值及乳腺在这一特殊泌乳过程中经历的功能性的变化,本试验对半奶牦牛乳的生化组成作进一步的分析,并通过血浆中激素浓度的分析以探讨半奶牦牛挤乳量下降的可能机制。

1 材料与方 法

1.1 供试牦牛

九龙牦牛样品采于四川省九龙县,麦洼牦牛样品采于四川省龙日种畜场。试验分3个系列:系列I对半奶牦牛和全奶牦牛乳的生化组成进行分析比较,包括①九龙牦牛100头,于9月份采样。其中全奶牦牛87头,平均年龄 8.7 ± 4.1 岁,胎次 3.2 ± 2.0 ,泌乳4个月左右(采样当年产犊);半奶牦牛13头,平均年龄 7.4 ± 2.1 岁,胎次 2.7 ± 1.4 ,泌乳15个月左右(采样前一年产犊)。②麦洼牦牛109头,于7月份采样。其中全奶牦牛86头,半奶牦牛23头,平均年龄分别为 7.7 ± 2.0 和 7.4 ± 2.6 岁,胎次分别为 3.2 ± 1.6 和 3.1 ± 2.1 ,泌乳分别为1~2个月和14个月左右。③泌乳后期的全奶麦洼牦牛38头,于11月份采集乳样;系列II对半奶牦牛和全奶牦牛乳的凝乳性质进行比较,包括23头全奶麦洼牦牛和28头半奶麦洼牦牛的乳样,于6月份采样;系列III对半奶牦牛和全奶牦牛血浆的生化组成进行比较,于5月份采集泌乳约1个月的全奶麦洼牦牛和泌乳约12~14个月的半奶麦洼牦牛各6头的血浆。

1.2 乳和血样的采集及处理

按照当地牧民生产惯例,夜间把泌乳牦牛与犊牛隔离,第2天挤晨乳,记录挤乳量,将乳混匀后每头牛分别采集乳约30ml,冰冻带回实验室。取10ml乳以 $800 \times g$ 于 $4^{\circ}C$ 离心20min,获得下层脱脂乳,用于酶活力及乳蛋白组成分析;其余乳样用于常规成分测定。通过颈静脉采集牦牛血,肝素抗凝,离心分离血浆并分装。以上所有样品均保存于 $-20^{\circ}C$ 至分析。

1.3 乳样的分析

1.3.1 常规营养成分 采用丹麦Foss公司的Milk scan 340 A/B全自动分析仪测定全乳中的乳蛋白、乳糖和乳脂的含量。

1.3.2 脱脂乳中酶活力 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)采用重氮试剂比色法^[3]。以100ml脱脂乳与基质在 $37^{\circ}C$ 作用60min产生 $1 \mu mol$ 的 α -萘胺为一个单位;碱性磷酸酶(AKP)采用对-硝基苯基磷酸二钠法^[4],以 $30^{\circ}C$ 条件下每毫升每分钟产生0.01微克分子的对-硝基酚为一个单位;乳过氧化物酶和N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶(NAGase)采用Hurley的比色法测定^[5]。

1.3.3 脱脂乳中蛋白质组分 采用SDS-PAGE在还原条件下分离脱脂乳中主要蛋白质组分^[6],考马斯亮兰R-250染色,用Beckman CDS-200型光密度计扫描确定主要蛋白质组分的相对含量。

1.3.4 麦洼牦牛全乳凝乳时间的测定 10ml全乳于试管中, $37^{\circ}C$ 水浴保温30min后,加入0.2ml凝乳酶(1mg/ml),记录出现凝乳块所需的时间。

1.4 血浆中激素、血糖、蛋白质含量和酶活力

催乳素、 17β 雌二醇和孕酮含量采用放射免疫法。血糖含量采用血糖试剂盒法。蛋白质含量采用染料结合分析法^[7]。 γ -GT和AKP活力的测定方法与乳中相应酶活力测定方法相同。

1.5 主要试剂

丙烯酰胺为Sigma产品,SDS为Gibco BRL产品,人催乳素、 17β 雌二醇和孕酮放免试剂盒购自天津德普生物技术和医学产品有限公司,血糖试剂盒购自四川迈克科技有限公司。其余主要试剂为国产分析纯或生化规格。

1.6 数据处理

利用SPSS和Excel软件进行统计,数据用平均值 \pm 标准误表示,差异显著性采用t检验。由于牦牛乳脂含量高,部分样品造成Milk scan 340 A/B全自动分析仪堵塞,没得到数据,这些样品的组成未列入统计分析。

2 结果与分析

2.1 乳中主要营养成分的含量

经分析显示,半奶麦洼牦牛和半奶九龙牦牛乳蛋白、乳脂含量均显著高于相应品种的全奶牦牛,乳糖含量未见明显变化,但日挤乳量显著下降,分别占全奶牦牛的64.3%和77.8%。11月份采集的处于泌乳后期的麦洼牦牛乳样,其乳蛋白、乳脂含量极显著高于全奶牦牛,而乳糖浓度显著低于全奶牦牛。结果见表1。

2.2 脱脂乳中的酶活力

两个牦牛品种中,半奶牦牛及处于泌乳后期的

牦牛脱脂乳中的 γ -GT 和 AKP 活力均极显著高于全奶牦牛,半奶九龙牦牛和处于泌乳后期的麦洼牦牛脱脂乳中 LP 活力极显著低于相应品种的全奶牦

牛,结果见表 2。脱脂乳中酶的比活力改变与活力变化规律不完全一致。另外,2 牦牛品种乳中酶的活力有一定差异,尤其是 LP 的活力。九龙牦牛乳

表 1 不同泌乳阶段或季节牦牛乳主要营养成分含量(g/L)及日挤乳量(kg)¹⁾

Table 1 Percentages of main components in yak milk and milk yield in different seasons or stages of lactation

品种 Breed	泌乳类型 Lactating type	N	月份 Month	乳蛋白 Protein	乳糖 Lactose	乳脂 Fat	日挤乳量 Daily milk yield
麦洼牦牛 Maiwa yak	半奶 Half lactating yak	17	7	60.2 ± 5.4*	47.3 ± 0.4	62.0 ± 2.3*	0.83 ± 0.07* a
	全奶 Total lactating yak	82	7	50.9 ± 5.6	50.0 ± 0.5	51.0 ± 1.3	1.29 ± 0.05 b
	全奶 Total lactating yak	38	11	93.1 ± 1.9**	42.2 ± 0.9*	78.9 ± 1.9**	未测 Not detected
九龙牦牛 Jiulong yak	半奶 Half lactating yak	13	9	64.0 ± 5.0	46.6 ± 1.7	74.0 ± 4.8*	0.77 ± 0.11*
	全奶 Total lactating yak	71	9	49.5 ± 9.8	49.1 ± 1.1	62.0 ± 5.0	0.99 ± 0.03 c

¹⁾ 上表中麦洼牦牛以 7 月份全奶牦牛为对照,九龙牦牛以 9 月份全奶牦牛为对照,* 和 ** 分别表示与同品种对照组相比 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 。
a: n = 23, b: n = 86, c: n = 84

Total lactating yak in July and in September were used as controls respectively for Maiwa yak and Jiulong yak, and in breed comparison was conducted

表 2 牦牛脱脂乳中酶的活力和比活力¹⁾

Table 2 Activities and specific activities of enzymes in yak skim milk

活力和比活力 Activity and specific activity	麦洼牦牛 Maiwa yak			九龙牦牛 Jiulong yak	
	半奶(7月) H-L (July)	全奶(7月) T-L (July)	全奶(11月) T-L (Nov.)	半奶(9月) H-L (Sept.)	全奶(9月) T-L (Sept.)
γ -GT (U)	12758 ± 773**	10627 ± 274	14695 ± 675**	15147 ± 841**	10596 ± 310
(U/mg)	2.11 ± 0.11	2.11 ± 0.05	1.59 ± 0.07**	2.56 ± 0.24	2.20 ± 0.08
LP (U)	236.70 ± 9.49	222.14 ± 3.58	136.27 ± 8.32**	23.03 ± 3.43**	87.84 ± 10.68
(U/mg)	3.92 ± 0.13**	4.41 ± 0.06	1.47 ± 0.11**	0.43 ± 0.07**	1.86 ± 0.24
AKP (U)	25.79 ± 3.24**	6.50 ± 0.52	40.68 ± 3.63**	49.37 ± 3.24**	14.53 ± 1.46
(U/mg × 10 ⁻²)	40.44 ± 5.28**	12.82 ± 1.05	41.68 ± 3.60**	86.57 ± 13.09**	29.32 ± 2.86
NAcase (U)	5.98 ± 1.45	4.46 ± 0.25	4.66 ± 0.26	5.87 ± 1.40	3.67 ± 0.15
(U/mg × 10 ⁻²)	9.88 ± 2.43	9.04 ± 0.51	5.12 ± 0.31**	10.24 ± 2.80	7.67 ± 0.31

¹⁾ 麦洼牦牛和九龙牦牛分别以 7 月份和 9 月份的全奶牦牛作对照进行比较,** $P < 0.01$

Total lactating yak in July and in September were used as controls for in-breed comparisons respectively in Maiwa yak and Jiulong yak. T-L: total lactating yak; H-L: half lactating yak

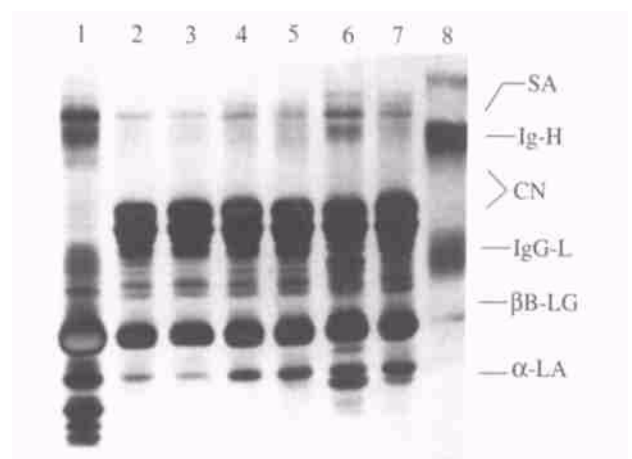
中 LP 活力小于麦洼牦牛,并且个体间差异很大,全奶九龙牦牛乳中 LP 活力个体间可相差 10 倍,LP 活力在 10 单位以下的占 30.7%,100 单位以上的占 36.9%,而麦洼牦牛乳中 LP 的活力在个体间差异相对较小。

2.3 乳中的主要蛋白组分

在 SDS-PAGE 上牦牛脱脂乳蛋白可显示 α 乳清蛋白(α -LA) β 乳球蛋白(β -LG)、酪蛋白(CN)、免疫球蛋白重链(IgG-H)、血清白蛋白(SA)等区带(图)。在 β -LG 与 CN 之间还存在一些未定性的区带;某些样品在 α -LA 前面尚存在一条明显的带。凝胶经光密度扫描显示,在所研究的 2 个牦牛品种中,乳主要营养成分的相对含量在半奶牦牛和全奶牦牛之间无显著差异(表 3)。

2.4 凝乳特性的比较

在所分析的 23 头全奶麦洼牦牛和 28 头半奶麦洼牦牛中,全乳中加入凝乳酶后均能很快凝乳,凝乳



1. 用胰凝乳蛋白酶处理脱脂乳得到的乳清; 2, 3. 泌乳后期全奶牦牛; 4, 6. 全奶牦牛; 5, 7. 半奶牦牛; 8. 纯化的牦牛 IgG

1. Whey obtained by treatment of skim milk with chymosin; 2, 3. Total lactating yak at late stage of lactation; 4, 6. Total lactating yak; 5, 7. Half lactating yak; 8. Purified yak IgG

图 麦洼牦牛脱脂乳蛋白 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳图谱

Fig SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis of proteins in skim milk of Maiwa yak

时间(min)分别为 4.01 ± 0.84 (变动范围 2.8 ~ 5.0) 和 4.07 ± 0.54 (变动范围 3.2 ~ 5.8), 差异不显著。另外, 全奶牦牛和半奶牦牛凝乳块的硬度均存在个体差异, 但本试验未进行分析和比较。

2.5 血浆中激素、血糖、蛋白质含量和酶活力

全奶麦洼牦牛(n = 6) 和半奶麦洼牦牛(n = 6)

血浆中3种与泌乳有关的激素的浓度测定显示: 半奶牦牛血浆中 17β 雌二醇浓度显著低于全奶牦牛, 其余两种激素及血糖、蛋白质含量未见显著差异, 结果见表4。半奶牦牛血浆中 AKP 活力显著高于全奶牦牛($P < 0.05$), γ -GT 活力亦有增高趋势, 但由于个体差异大, 差异不显著。

表3 牦牛乳蛋白主要组分的相对百分含量¹⁾

Table 3 Relative percentages of main protein components in yak milk

品种 Breed	泌乳类型 Type	月份 Month	N	α -LA	β -LG	CN	IgG	SA
麦洼牦牛 Maiwa yak	半奶 H-L	7	17	4.50 ± 0.35	15.35 ± 0.59	66.90 ± 0.44	1.34 ± 0.12	2.17 ± 0.20
	全奶 T-L	7	82	4.57 ± 0.16	15.46 ± 0.26	65.67 ± 0.35	1.28 ± 0.05	2.29 ± 0.08
	全奶 T-L	11	38	$2.88 \pm 0.14^{**}$	16.65 ± 0.38	67.57 ± 0.43	1.15 ± 0.06	2.25 ± 0.12
九龙牦牛 Jiulong yak	半奶 H-L	9	13	3.43 ± 0.22	15.16 ± 0.45	70.31 ± 1.13	1.10 ± 0.16	2.23 ± 0.33
	全奶 T-L	9	71	3.82 ± 0.11	15.34 ± 0.30	68.90 ± 0.44	1.07 ± 0.06	2.19 ± 0.09

¹⁾ 麦洼牦牛和九龙牦牛分别以7月份和9月份的同品种全奶牦牛作对照进行比较。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

Total lactating yak in July and in September were used as controls for in-breed comparisons respectively in Maiwa yak and Jiulong yak

表4 麦洼牦牛血浆中激素、血糖、蛋白质含量和酶活力

Table 4 Contents of hormones, glucose, protein and activities of enzymes in plasma of Maiwa yak

项目 Item	半奶牦牛 H-L	全奶牦牛 T-L
催乳素(ng/ml) Prolactin	0.52 ± 0.21	0.49 ± 0.19
17β 雌二醇(pg/ml) Oestradiol- 17β	$10.58 \pm 1.20^*$	16.29 ± 2.05
孕酮(ng/ml) Progesterone	0.12 ± 0.04	0.29 ± 0.11
血糖(mmol/L) Glucose	3.62 ± 0.20	3.47 ± 0.19
蛋白质(g/L) Protein	74.43 ± 2.73	73.31 ± 1.27
γ -GT(U)	72.91 ± 21.85	46.52 ± 7.27
AKP(U)	$6.9 \pm 1.0^*$	3.9 ± 0.5

* $P < 0.05$, 与全奶牦牛相比差异显著 Compared with total-lactating yak

3 讨论与结论

半奶牦牛泌乳现象是牦牛特有的, 其形成与牦牛采用哺乳兼人工挤乳的管理方式、繁殖特性及营养条件等因素有关, 是人-牦牛-生态环境相互作用的一个范例。在自然放牧条件下, 牦牛多为两年一胎或3年两胎, 一年一胎的仅占23.3%^[1]。产犊当年未怀孕的牦牛, 在冬季枯草期停止挤乳后, 犊牛的哺乳刺激使其乳腺保持一定的分泌水平而不进入干乳期, 因此, 母牦牛在产犊第二年营养丰富的青草季节, 会出现第二个泌乳高峰, 可重新挤乳供食用。本研究中半奶麦洼牦牛和半奶九龙牦牛的日常挤乳量分别占相应品种全奶牦牛的64.3%和77.8%, 并且含有更多的蛋白质和乳脂, 因此具有很好的利用价值。

半奶牦牛乳中蛋白质和乳脂含量、 γ -GT 和

AKP 活力显著高于全奶牦牛, 这与作者以前对麦洼牦牛的研究结果类似^[2]。酶活力在全奶牦牛和半奶牦牛间的差异与 γ -GT 和 AKP 同乳脂膜作用有关^[8,9]。乳中的有些酶具有一定的功能, 如 LP 是乳中非特异抗菌系统的一个组分^[10]; NAGase 活力则与乳中的体细胞数量有关, 可作为牛乳腺健康状况的一个指标^[11]。值得注意的是, 九龙牦牛乳中 LP 活力存在相当大的个体间差异, 而在相同的测试条件下, 麦洼牦牛中未发现这种现象, 这有待进一步研究。

乳蛋白组分的相对含量受泌乳阶段、营养及饲养管理等诸多因素影响。本试验中全奶牦牛和半奶牦牛乳主要蛋白组分未见明显差异, 提示它们的乳腺在主要蛋白质合成或分泌方面仅存在量的不同。半奶牦牛与泌乳后期牦牛乳在蛋白质、乳脂含量和酶活力等方面表现出相同的趋势, 表现出泌乳后期的一些特征, 但泌乳后期牦牛乳中乳糖含量和 α -乳清蛋白相对浓度的显著下降提示半奶牦牛乳腺机能状态不同于一般的泌乳后期。尽管试验半奶牦牛的泌乳期长于泌乳后期牦牛, 但其乳腺仍保持很活跃分泌状态。作者认为, 季节(营养)因素对牦牛泌乳的制约大于泌乳阶段的影响。对半奶牦牛泌乳机制的进一步研究, 有助于全面认识乳腺的代谢规律, 为提高牦牛、奶牛的泌乳性能提供依据或新的途径。

半奶牦牛日挤乳量下降的原因可能是乳腺上皮细胞分泌机能的自然下降, 这与一般奶牛进入干乳期前类似; 也可能与泌乳牦牛内分泌变化有关。本

研究的结果初步显示,半奶牦牛外周血液中 17β 雌二醇水平显著低于全奶牦牛。用于分析激素的血样采于5月份,牦牛尚未进入繁殖季节,不受发情等因素的影响^[12],因此试验结果在个体间具有可比性。由于 17β 雌二醇与乳腺的发育和维持泌乳有关,因此,半奶牦牛日挤乳量下降可能与之有一定关系。另外,半奶牦牛血浆中 AKP 活力的显著增加和 γ -GT活力的升高趋势可能与其乳腺代谢有关:乳腺从血液中摄取 AKP 减少或由乳腺分泌进入血液的 γ -GT 增加可造成上述现象。但本试验未观察到半奶牦牛乳中血源性的蛋白组分(如 SA)增加的现象,因此,半奶牦牛乳腺上皮的通透性是否有显著变化还不清楚。

References :

- [1] Zhang R C. China: The Yak. Lanzhou: Gansu Scientific and Technology Press, 1989:301 - 304. (in Chinese)
张容昶. 中国的牦牛. 兰州:甘肃科学技术出版社, 1989: 301 - 304.
- [2] Zheng Y C. Enzymatic activities and whey protein components in the milk of yak. Proc. 1st International Congress on Yak. Special Issue of Journal of Gansu Agricultural University, 1994: 260 - 262.
- [3] Shanghai Medical Assay Institute. Biochemical Assay in Clinic, Vol. I. Shanghai: Shanghai Scientific and Technology Press, 1979: 329 - 331. (in Chinese)
上海医学化验所主编. 临床生化检验,上册. 上海:上海科技出版社, 1979: 329 - 331.
- [4] Beijing Agricultural University. Experimental Textbook of Animal Biochemistry. Beijing: China Agriculture Press, 1986: 60 - 61. (in Chinese)
北京农业大学主编. 动物生物化学实验指导, 北京:中国农业出版社, 1986: 60 - 61.
- [5] Hurley W L. Mammary function during the nonlactating period: enzyme, protein concentrations and pH of mammary secretions. J. Dairy Sci. 1987, 70: 20 - 28.
- [6] Laemmli U K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 1970, 227: 680 - 685.
- [7] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal. Biochem. 1976, 72:248 - 254.
- [8] Baumracker C R. γ -Glutamyl transpeptidase of bovine milk membranes. J. Dairy Sci. 1979, 62: 253 - 258.
- [9] Kosikowski F V. Enzyme behavior and utilization in dairy technology. J. Dairy Sci. 1988, 71: 557 - 573.
- [10] Reiter B. Nonspecific bactericidal activity of the lactoperoxidase / thiocyanate / hydrogen system of milk against Escherichia Coli and gram negative pathogen. Infection and Immunity, 1976, 13: 800 - 807.
- [11] Kitchen B J, et al. Bovine milk N-acetyl- β -D-glucosaminidase and its significance in the detection of abnormal udder secretions. J. Dairy Res. 1978, 45: 15 - 20.
- [12] Yu S J, et al. Reproduction patterns of the yak. II. Progesterone and oestradiol- 17β levels in plasma and milk just before the breeding season; also during normal and short oestrous cycles. Br. Vet. J. 1993, 149:585 - 593.