

泌乳牛における分房乳の衛生的ならびに理化学的性状に及ぼす 搾乳過程および体細胞数の影響

阿部友香¹・トスカアレン賢太²・樋口豪紀¹・永幡 肇¹

¹ 酪農学園大学獣医学部, 江別市 069-8501

² 酪農学園大学酪農学部, 江別市 069-8501

(2010. 4. 30 受付, 2010. 10. 7 受理)

要 約 搾乳過程および分房乳の体細胞数が泌乳牛の生乳の衛生的および理化学的性状に及ぼす影響を検討する目的で, 前搾り乳中の体細胞数 10 万/mL 未満, 10~30 万/mL, 50~400 万/mL および 1000 万/mL 以上の分房乳について, 体細胞数, 総菌数, 乳成分, N-アセチル-β-グルコサミニダーゼ (NAGase), 乳酸脱水素酵素 (LDH) 活性および乳タンパク分析を実施した. 体細胞数 10 万/mL 未満, 10~30 万/mL および 50~400 万/mL の分房乳において搾乳過程に伴い体細胞数に有意な ($P < 0.05$) 増加が認められた. 乳脂肪率も体細胞数と同様の推移を示し体細胞数 10 万/mL 未満および 10~30 万/mL の 2 群で有意な ($P < 0.05$) 増加を認めた. カゼイン濃度は搾乳過程において漸減し, 体細胞数 10~400 万/mL および 1000 万/mL 以上の分房乳で減少した. NAGase および LDH 活性は後搾り乳で増高した. 搾乳過程および体細胞数により生乳の衛生的ならびに理化学的性状の変化が確認され高体細胞乳でその変化は増大することから供試乳の採取ならびにその取扱いに留意が必要である.

日本畜産学会報 82 (1), 35-43, 2011

牛乳房炎は, 減乳はじめ乳成分ならびに体細胞数や生菌数などの衛生的乳質に影響を与えている. 良質乳の生産には乳房炎を効果的に防除し乳成分ならびに衛生的乳質の向上が図られなければならない. 乳の衛生的および理化学的性状の変化を把握することは, 衛生的乳質の維持および向上において, また検査を目的とした分析乳の採取時期との関連からも重要である. 体細胞数増加の主な要因は細菌感染による乳腺の炎症であるが, 泌乳牛の年齢や泌乳ステージ, 搾乳作業, ストレス, 季節および個体差などの影響も受けることが報告されている (Schukkenら 2003; Barbanoら 2006; Olde Riekerinkら 2007). しかしながら, 体細胞数の違いおよび搾乳過程が分房乳の衛生的ならびに理化学的性状に及ぼす影響については十分には把握されていない. 乳成分の分析において, いずれの時期に乳サンプルを採取すべきか, また体細胞数のレベルによりそれらが如何に変化するかを把握しておくことは, 乳からの情報を解釈する上に必要である. また, 搾乳過程や炎症乳についての検討においては高泌乳牛における泌乳生理特性および炎症に関連した諸成分の動態の把握を目的に, 体細胞数の違いによる搾乳前分房, 搾乳準備終了後の分房および搾乳終了後の分房からの乳汁中の衛生的ならびに理化学的性状の変化

を明らかにする必要がある. 特に, 体細胞レベル 10 万/mL 未満の低体細胞乳から 1000 万/mL 以上の異常乳における乳性状の把握は該当分房からの乳採取時期との関係において重要である.

本研究では, 体細胞レベルの違いが搾乳過程により分房乳の衛生的ならびに理化学的性状がいかに変化するか検討する目的で, 前搾り乳中の体細胞数が 10 万/mL 未満, 10~30 万/mL, 50~400 万/mL および 1000 万/mL 以上の 4 種類の分房乳について, 搾乳過程に伴う乳中の体細胞数, 総菌数, 乳成分および乳房炎の指標酵素である N-acetyl-β-glucosaminidase (NAGase) 活性と乳酸脱水素酵素 (Lactate dehydrogenase; LDH) 活性ならびに乳タンパク分析を行い比較検討した.

材料および方法

1. 供試乳

供試乳は酪農学園大学附属農場で飼養されている臨床的に健康な泌乳牛 46 頭から採取され測定に用いられた. 供試牛はフリーストール方式で飼育されており給餌は飼養標準に準じ混合飼料として給与された. 搾乳牛はミルクパーラーを使用し 1 日 2 回搾乳された. 供試乳は搾乳時に常法に従い的手法で採取し冷蔵下 (8~10°C) に

連絡者: 永幡 肇 (fax: 011-387-5890, e-mail: nagahata@rakuno.ac.jp)

保持し採乳後1時間以内に分析に用いた。供試乳は5月～8月に採取された。分房乳の採乳は、①乳頭清拭前の乳（以下、前搾り乳）、②分房乳を手搾りで4～5回採取した後、殺菌剤に浸したタオルで乳頭を清拭した後の乳（以下、搾乳前の乳）および③搾乳を終了しミルクを離脱した後の乳（以下、搾乳後の乳）を採取した。分房乳は常法に従い8～10 mLを滅菌プラスチック試験管（滅菌Fスピッツ；栄研化学株式会社、東京）に採取し被検乳とした。前搾り乳の体細胞数を基準とし被検乳を10万/mL未満、10～30万/mL、50～400万/mLおよび1000万/mL以上の4群に分類した。

2. 乳房炎原因菌の分離と同定

被検乳10 μ Lを定量白金耳を用いて5%羊血液寒天培地（日本製薬株式会社、東京）に塗布し37 $^{\circ}$ Cで24時間培養し発育したコロニーをNational Mastitis Council (1999)の方法に準じて同定した。

3. 体細胞数の測定

分房乳の体細胞数は軽く攪拌した供試乳1 mLを体細胞測定装置（Fossomatic 90；Foss Electric Co. Ltd., Hillerød Denmark）を用い常法に従い測定した。

4. 総菌数の測定

供試乳の総菌数の測定は冷蔵下に保持した乳汁1 mLを供試し微生物迅速検査装置（Bioplorer FJ-VKH01；Panasonic, 東京）を用い操作手順に準じて測定した。

5. 乳成分の測定

生乳中の脂肪、タンパク質、乳糖および無脂乳固形分の測定は、乳汁1 mLを供試し乳成分分析装置（Milko-Scan134A/B, Foss Electric）を用い操作手順に準じて測定した。

6. NAGase 活性の測定

蛍光基質（2 mmol/L 4-methylumbelliferyl-acetyl- β -D-glucosaminide, pH 4.4）200 μ Lに乳汁30 μ Lを加え、37 $^{\circ}$ Cで10分間反応させた後、反応停止液（0.1 mol/L carbonate buffer, pH 10）を5.5 mL加え、蛍光光度計（RF-540；島

津、京都）を用いて励起波長365 nmおよび蛍光波長450 nmで測定し相対蛍光強度（relative fluorescence unit；RFU）を求めた（Nagahataら1987）。

7. LDH 活性の測定

乳汁のLDH活性の測定は、テトラゾリウム比色法（LDHリニアートネオ“シノテスト”，シノテスト株式会社、東京）を用いて反応させ吸光度（波長560 nm）を測定し、wroblewski unitで示した。

8. Sodium dodecyl sulfate (SDS) ゲル電気泳動 (SDS-PAGE) によるカゼインタンパクの定量

乳汁を2000 rpm, 10分間4 $^{\circ}$ Cで遠心分離後の脱脂乳を試料とした。常法に従い試料をサンプル処理液と混和し100 $^{\circ}$ C3分間処理した後、10%ゲルを用いSDS-PAGEを実施し検出されたカゼインタンパクをNIH-Image (Higuchiら2007)で定量した。

9. 統計処理

測定成績は平均値 \pm 標準偏差で示した。測定値の有意差検定はBonferroni/Dunnの多重比較検定を行い危険率5%未満（ $P < 0.05$ ）を有意とした。

結 果

1. 細菌分離率

各体細胞群における乳腺感染率および細菌分離成績を表1に示した。体細胞数が10万/mL未満の分房乳では細菌検出率は13.3%（4/30）、体細胞数10～30万/mLの分房乳では38.5%（5/13）、体細胞数50～400万/mLの分房乳では90%（9/10）、および体細胞数が1000万/mL以上の分房乳では100%（4/4）であった。検出された菌種は黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*；*S. aureus*）、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌（coagulase negative staphylococci；CNS）、環境性連鎖球菌および大腸菌群であった。

2. 体細胞数の変化

前搾り乳、搾乳前の乳および搾乳後の分房乳における

Table 1 Somatic cell levels in quarter milk, their infection rates and mastitis-related pathogens

SCC level ($\times 10^4$ /mL)	Number of quarter milk	Quarters infected	% of infection	SA ¹⁾	CNS ²⁾	OS ³⁾	CO ⁴⁾
< 10	30	4	13.3	0	3	3	0
10-30	13	5	38.5	1	3	3	0
50-400	10	9	90.0	6	0	0	0
≥ 1000	4	4	100.0	2	0	0	1
Total	47	21	44.7	9	6	6	1

scc；somatic cell count

¹⁾ *Staphylococcus aureus*

²⁾ Coagulase negative staphylococci

³⁾ Other streptococci

⁴⁾ Colliforms

搾乳過程および体細胞数と生乳性状

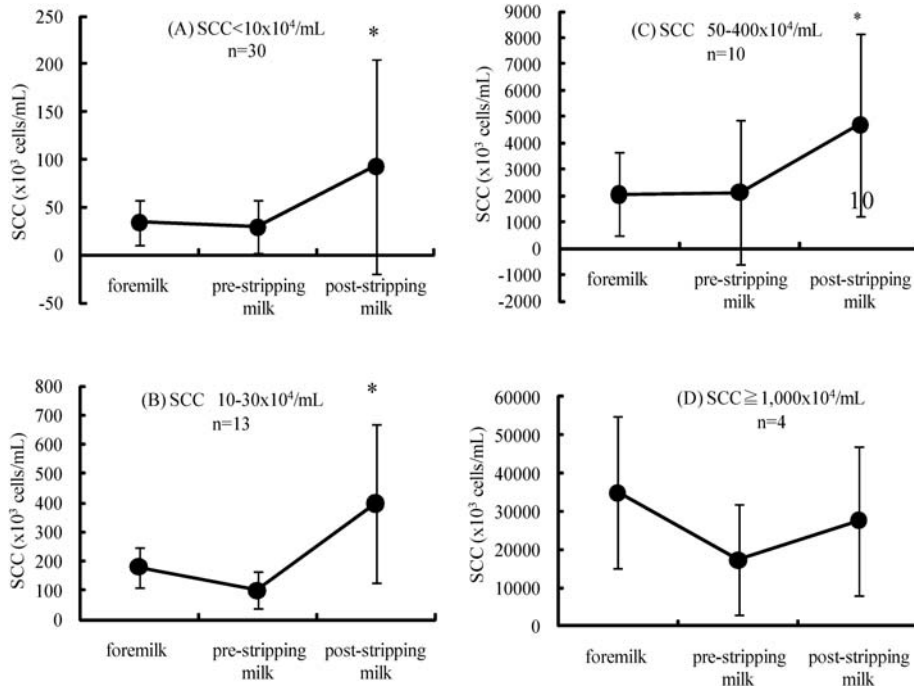


Figure 1 Changes in somatic cell counts (scc) in quarter milk from lactating cows collected from before milking, pre-milking and post-milking. Mean \pm SD * $P < 0.05$

体細胞数の変化を図1に示した。体細胞数10万/mL未満、10～30万/mLおよび50～400万/mLの分房乳は、前搾り乳の体細胞数と比較し、搾乳前のそれは同程度であったが、搾乳後の乳の体細胞数は搾乳前の分房乳と比較して有意に ($P < 0.05$) 高値を示した。体細胞数1000万/mL以上の分房乳は、前搾り乳の体細胞数と比較し、搾乳前のそれは減少傾向を示したが、搾乳後の体細胞数は搾乳前の分房乳と比較して増加傾向を認めた。

3. 総菌数の変化

前搾り乳、搾乳前の乳および搾乳後の乳における乳汁中の総菌数の変化を図2に示した。いずれの体細胞群も搾乳過程の違いによる乳中の総菌数には有意な変化は認められなかった。

4. 乳成分の変化

各体細胞群での搾乳過程における各乳の乳成分の推移を表2に示した。

1) 乳脂肪

体細胞数10万/mL未満、50～400万/mLおよび1000万/mL以上の群において、搾乳前の乳の脂肪率は前搾り乳のそれに比較し1.1～1.3倍高値であった。また、いずれの体細胞群においても搾乳後の乳の脂肪率は前搾り乳のそれに比較して1.7～2.6倍高値であった。体細胞数10万/mL未満および10～30万/mLの乳において両者間に有意差 ($P < 0.05$) を認めた。搾乳前の乳の脂肪率は体細胞数10万/mL未満の群に比較し体細胞数10～30

万/mLおよび50～400万/mLの群で低値を示す傾向にあった。

2) 乳タンパク

体細胞数が50～400万/mL以上の群における乳中の乳タンパク率は、前搾り乳のそれに比較し搾乳前の乳で有意に ($P < 0.05$) 高値であったが、搾乳後の乳で有意に ($P < 0.05$) 低値であった。他の細胞群も同様の推移を示したが有意差は認められなかった。

3) 乳糖

各体細胞群の乳における乳糖率は前搾り乳に比較し、搾乳前の乳で1.1～1.3倍高値であったが後搾り乳では低値であった。体細胞数10万/mL未満の群では、これらの変化に有意差 ($P < 0.05$) を認めた。

4) 無脂乳固形分

各体細胞群における乳中の無脂乳固形分率は前搾り乳に比較し、搾乳前の乳でわずかに (~1.3倍) 上昇したが、搾乳後の乳で低下を認めた。体細胞数が1000万/mL以上の群では、これらの変化に有意差 ($P < 0.05$) を認めた。体細胞数が10万/mL未満の群では、各搾乳過程における乳中の無脂乳固形分率は他の体細胞数群のそれらに比較して高値を示す傾向にあった。

5. NAGase 活性値の変化

各体細胞群で搾乳過程に伴う乳中のNAGase活性値の推移を測定した (図3)。体細胞数が10万/mL未満の乳のNAGase活性値は前搾り乳のそれに比較して、搾乳

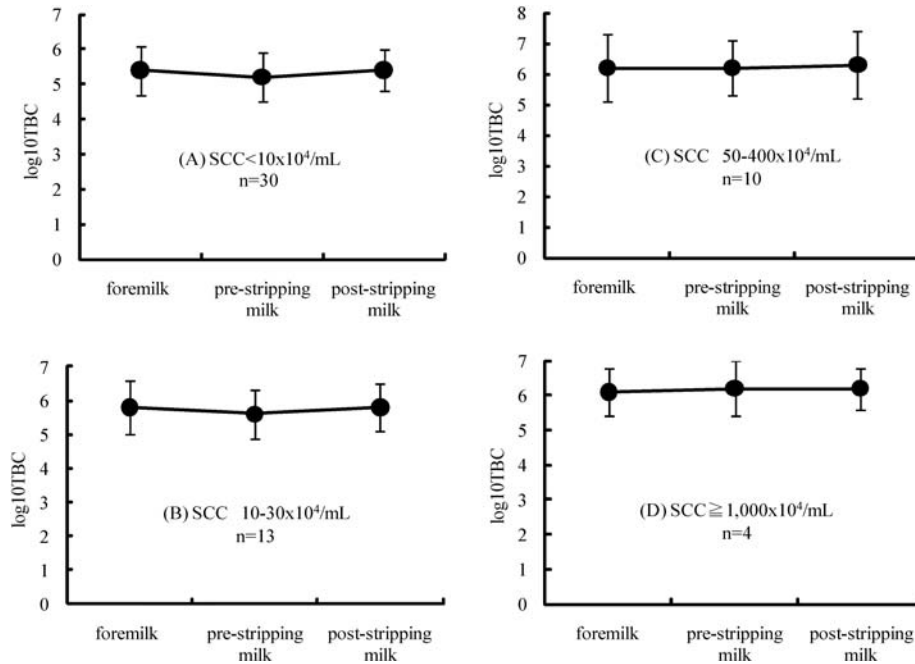


Figure 2 Changes in total bacteria counts in quarter milk from lactating cows collected from before milking, pre-milking and post-milking.
 Mean \pm SD * $P < 0.05$
 TBC : total bacterial count

Table 2 Changes in milk constituents in quarter milk from lactating cows collected from before milking, pre-milking and post-milking

Quarter milk ¹⁾ (/mL)	Milk sample	Fat, %	Protein, %	Lactose, %	SNF, %
SCC < 10 \times 10 ⁴	foremilk	2.90 \pm 0.92	3.40 \pm 0.45	4.52 \pm 0.19	8.61 \pm 0.28
	pre-stripping milk	3.30 \pm 1.31	3.50 \pm 0.61	4.66 \pm 0.12	8.76 \pm 0.25
	post-stripping milk	6.29 \pm 1.11*	3.40 \pm 0.64	4.35 \pm 0.14*	8.33 \pm 0.29
SCC10~30 \times 10 ⁴	foremilk	2.93 \pm 0.67	2.71 \pm 0.07	3.57 \pm 0.26	7.28 \pm 0.33
	pre-stripping milk	2.65 \pm 0.18	2.93 \pm 0.06	4.42 \pm 0.36	8.34 \pm 0.43
	post-stripping milk	6.04 \pm 0.65*	2.76 \pm 0.05	3.76 \pm 0.19	7.52 \pm 0.24
SCC50~400 \times 10 ⁴	foremilk	2.01 \pm 0.02	3.12 \pm 0.05	3.62 \pm 0.54	7.75 \pm 0.57
	pre-stripping milk	2.57 \pm 0.37	3.22 \pm 0.02*	4.02 \pm 0.80	8.24 \pm 0.80
	post-stripping milk	5.32 \pm 3.15	2.98 \pm 0.07*	2.83 \pm 0.89	6.83 \pm 0.94
SCC \geq 1,000 \times 10 ⁴	foremilk	2.85 \pm 1.00	3.64 \pm 0.42	1.84 \pm 1.31	6.47 \pm 0.91
	pre-stripping milk	3.93 \pm 1.45	3.88 \pm 0.58	3.85 \pm 0.73	8.73 \pm 0.17*
	post-stripping milk	5.06 \pm 1.53	3.83 \pm 0.60	2.59 \pm 1.02	7.42 \pm 0.44*

¹⁾ Selected samples of quarter milk (n = 3) were used for analysis of milk constituents.
 Mean \pm SD, * $P < 0.05$

前の乳で同程度であったが、搾乳後の乳では有意に ($P < 0.05$) 高値を示した。体細胞数が10~30万/mLの分房乳では、NAGase 活性値は前搾り乳に比較して、搾乳前の乳で有意に ($P < 0.05$) 低値を示し、搾乳後の乳で有意に ($P < 0.05$) 高値を示した。体細胞数が50~400万/

mLの群では、NAGase 活性は前搾り乳に比較して、搾乳後の乳で高値を示す傾向にあった。体細胞数が1000万/mL以上の分房乳では、前搾り乳のNAGase 活性値と比較して搾乳前の乳で低値を示したが搾乳後の乳で高値を示した。

搾乳過程および体細胞数と生乳性状

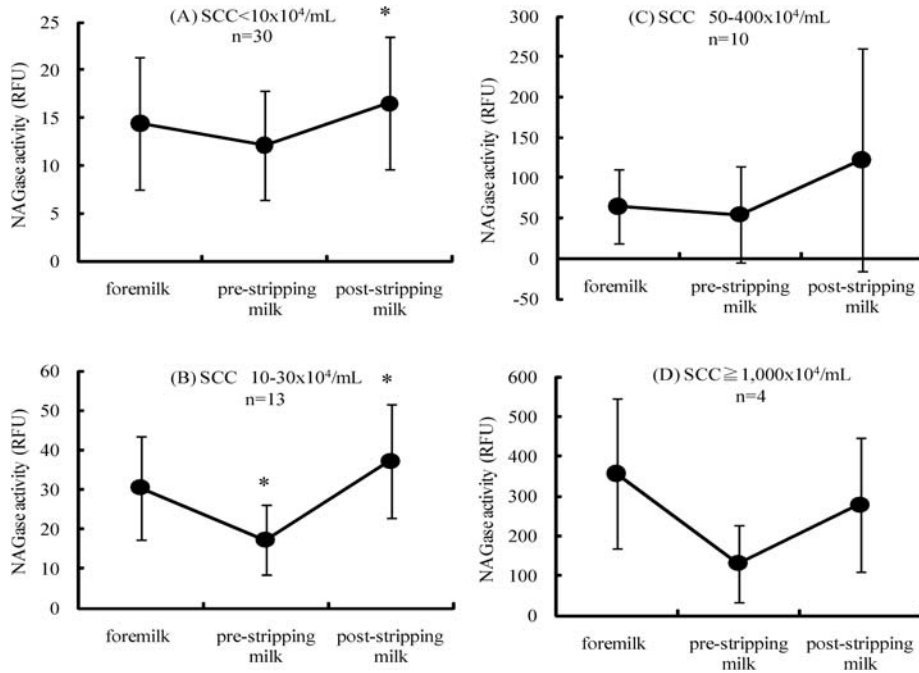


Figure 3 Changes in N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAGase) activity in quarter milk from lactating cows collected from before milking, pre-milking and post-milking. Mean ± SD **P* < 0.05
RFU : relative fluorescent unit

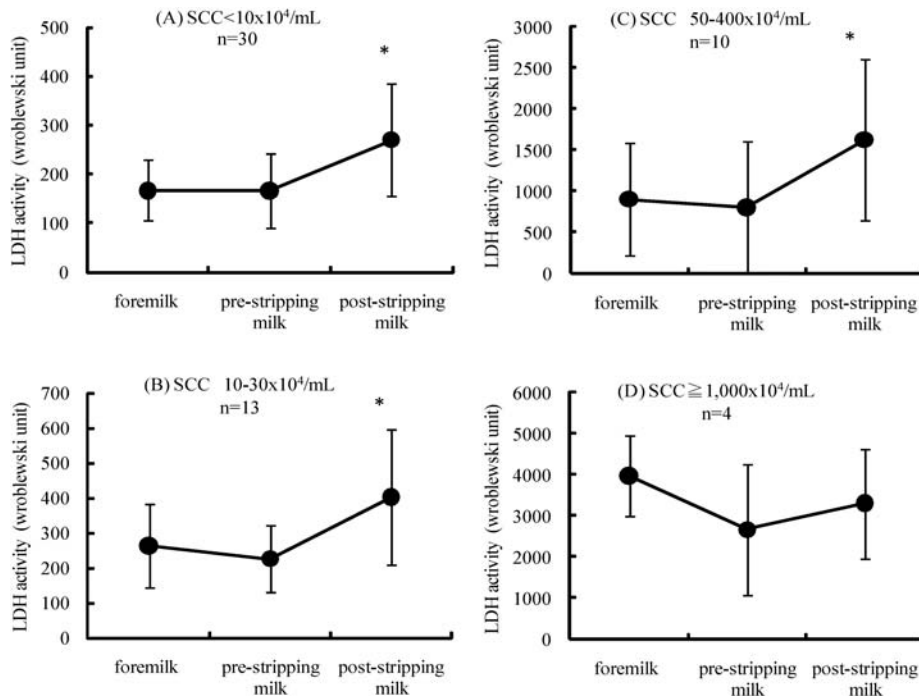


Figure 4 Changes in LDH activity in quarter milk from lactating cows collected from before milking, pre-milking and post-milking. Mean ± SD **P* < 0.05
LDH : lactate dehydrogenase

6. LDH 活性値の変化

各体細胞群で搾乳過程にともなう LDH 活性値の変化を図 4 に示した。体細胞数が 1000 万/mL 以下の 3 群では、搾乳後の乳の LDH 活性値は前搾り乳のそれに比較し有意 ($P < 0.05$) に高値を示した。体細胞数が 1000 万/mL 以上の群では、前搾り乳の LDH 活性値と比較して搾乳前のそれは低値を示し搾乳後に軽度上昇した。

7. SDS-PAGE による乳の分析

体細胞 10 万/mL 未満, 10~500 万/mL および 1000 万/mL 以上の乳汁を用いて, SDS-PAGE で分析を行った (図 5)。分子量約 20~30 kDa の範囲に 4 種類のタンパクが検出され, 分子量のサイズから α , β , κ , γ カゼインであることを確認した。体細胞数 1000 万/mL の群の 1 頭において分子量 40~75 kDa にタンパクの存在を確認した。また検出されたタンパクの密度を解析した成績を図 6 に示した。体細胞数 10~500 万/mL および 1000 万/mL 以上の群の 1 頭において, 各カゼイン濃度は搾乳過程に伴い減少する傾向が認められた。

考 察

体細胞数を基準にした生乳の分類において, 体細胞数 10 万/mL 以下の乳は感染が存在しない正常な乳汁, 10~30 万/mL は潜在性乳房炎の可能性のある乳汁そして 30 万/mL 以上の乳汁は乳房炎乳としての分類が報告されている (Belgacem ら 2002)。本研究においては, 正常な分房乳, 乳汁感染の疑いのある分房乳, 潜在性乳房炎乳および臨床型乳房炎乳について, 搾乳過程および体細胞数に伴う生乳の衛生学的ならびに理学的性状を評価するために前搾り乳中の体細胞数を基準にして 10 万/mL 未満, 10~30 万/mL, 50~400 万/mL および 1000 万/mL 以上の供試乳を用いた。

測定指標として体細胞数, 総菌数, 乳成分, NAGase 活性および LDH 活性を測定するとともに SDS-PAGE による乳タンパク分析を行い, 各体細胞レベルでの搾乳過程における乳の衛生学的ならびに理化学的性状の変化を検討した。

細菌分離率は体細胞数の増加に伴い上昇することが確認された。*S. aureus* は体細胞数 50~400 万/mL および 1000 万/mL 以上の分房乳から, また CNS は細菌検査陽性を示したすべての分房乳で検出された。環境性連鎖球菌は体細胞数が 10 万/mL 未満および 10~30 万/mL の分房乳において, また大腸菌群は体細胞数が 1000 万/mL 以上の分房乳で検出された。以上の結果から, 体細胞数の増加に伴って細菌検出率の増加および乳腺感染における伝染性および環境性乳房炎原因菌の関与が確認された。

体細胞数は搾乳過程において変化することが認められたが, 特に体細胞数が 400 万/mL 以下の群では後搾り乳で有意に上昇することが確認された。乳中の体細胞は,

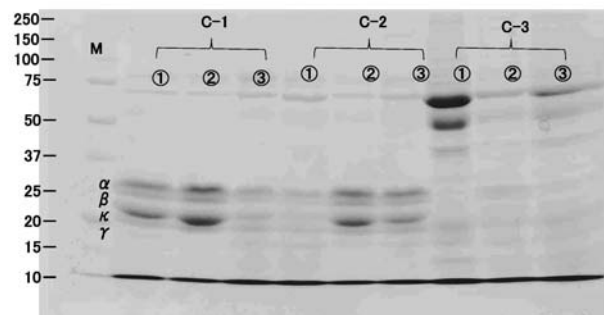
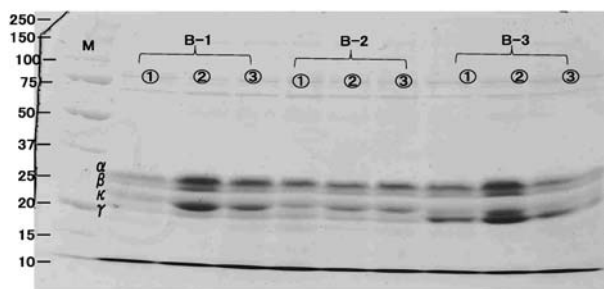
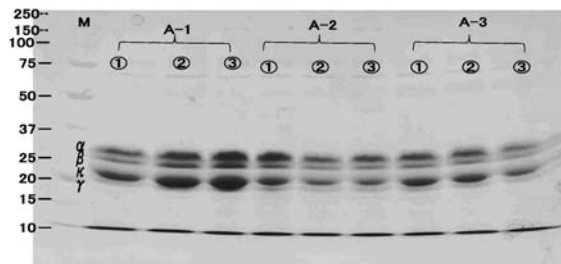


Figure 5 Photograph of sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDSPAGE) showing representative casein in (A) $SCC < 10 \times 10^4$ cells/mL, (B) $SCC 10-500 \times 10^4$ cells/mL and (C) $SCC \geq 1,000 \times 10^4$ cells/mL. ① foremilk ② pre-stripping milk ③ post-stripping milk.

白血球や乳腺上皮細胞から構成され, 乳房炎診断指標として用いられている (Middleton ら 2002 ; Nielsen ら 2005)。本研究において, 体細胞数が 400 万/mL 以下の 3 群で認められた搾乳後の体細胞数の増加は, 後搾り乳に伴う相対的な細胞密度の上昇および乳腺上皮細胞の剥離が排乳に起因して増加しているものと推察される。一方, 体細胞数が 1000 万/mL 以上の群では, 前搾り乳の体細胞数が高値を示すことを認めたが, この理由として朝と夕方の搾乳の間に, 炎症反応により多くの好中球が血液から乳腺内へ誘導され蓄積した結果に起因しているものと推

搾乳過程および体細胞数と生乳性状

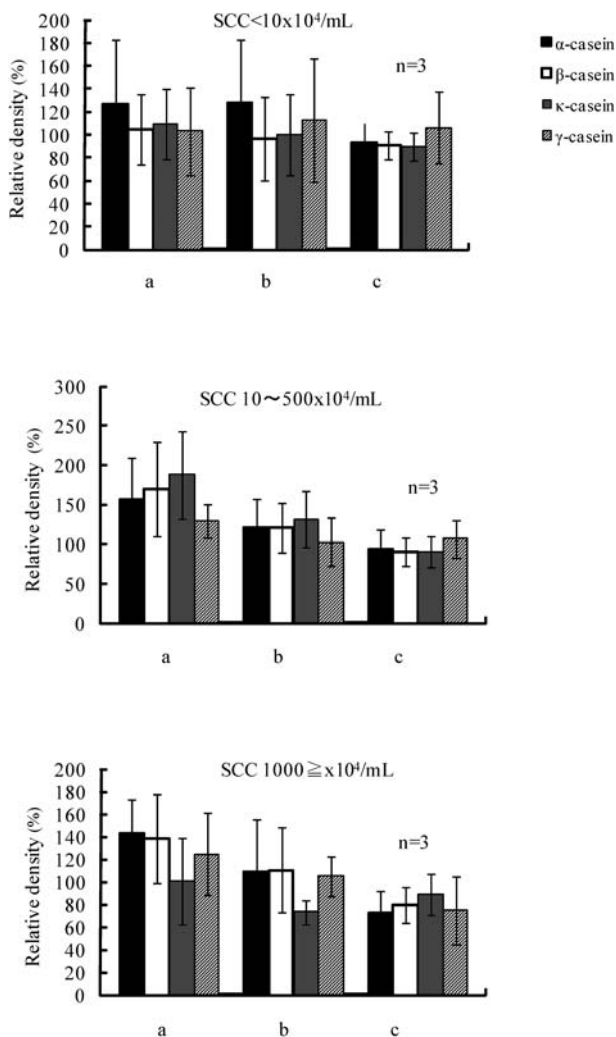


Figure 6 Densitometric analysis of milk protein (α , β , κ and γ -casein) SDS-PAGE.

(a) foremilk vs pre-stripping milk, (b) foremilk vs post-stripping milk and (c) pre-stripping milk vs post-stripping milk.

mean \pm SD

察された。

乳脂肪は搾乳前および後搾り乳で上昇したが、その変化は他の成分に比較し顕著であることが確認されたが、体細胞数 50 万/mL 以上の 2 群では搾乳後の乳においても脂肪率の有意な上昇が確認されなかった。この理由は明確ではないが、高体細胞群では乳腺細胞から乳腺腔への脂肪の難移行性との関連が推察された。

乳タンパク率は各体細胞群で前搾り乳から搾乳前の乳において増加傾向が認められたが後搾り乳で低下傾向が認められた。乳タンパクの変動要因として、乳房炎では血管の透過性亢進による乳中血清タンパク質の上昇や、乳量減少に伴う乳タンパクの相対的な増加 (Laitinen ら 1986; Urech ら 1999; Bruckmaier ら 2004), さらにタンパ

ク分解過程の促進に伴うカゼイン濃度の減少 (Nielsen ら 2005) も関与することが報告されている。一方、搾乳作業もその変動要因として挙げられており、乳タンパクが搾乳後に減少傾向を示すことが報告されている (Verdi と Barband ら 1988; Knight ら 1994; Urech ら 1999; Nielsen ら 2005; Tomotate ら 2006)。しかし、その機序については明らかにされておらず、より詳細な解析が必要と考えられる。

乳糖率の変化は、前搾り乳に比較し搾乳前の分房乳で増加し搾乳後の分房乳で減少することが明らかとなった。搾乳過程における正常乳ならびに乳房炎乳の乳糖率の変動は既報 (Pyörälä ら 2003; Nielsen ら 2005; Chagunda ら 2006) の成績とほぼ同様であった。

NAGase 活性の変化は、各体細胞群において前搾り乳に比較し、搾乳前で減少し後搾り乳で増加することが認められた。NAGase は乳腺上皮細胞内および白血球に存在するリソソーム酵素で、乳腺上皮細胞の傷害や好中球の貪食作用により乳中に遊離される。乳房炎乳で活性が上昇し体細胞数との相関性も高いことから乳房炎指標とされている (Nagahata ら 1987; Pyörälä ら 2003)。本研究で示された搾乳後の NAGase 活性の上昇は搾乳終了前の乳量減少に伴う体細胞数の相対的増加に付随して招来されるものと推察される。

LDH 活性の変化は、各体細胞群において、前搾り乳に比較し搾乳前に減少し、搾乳後の乳で増加することが認められた。LDH は解糖経路の一部を担う酵素であり生体内の組織や細胞に存在し乳中のそれは白血球由来のもので報告されている (Kato ら 1989; Chagunda ら 2006)。乳房炎による血管透過性亢進の結果、乳中に逸脱し活性が上昇することから乳房炎の指標とされ体細胞数との相関も認められている (Chagunda ら 2006)。前搾り乳の LDH 活性値が搾乳前の乳に対し高値を示すことから、前述の NAGase と同様の動態を示すものと考えられ、搾乳後の乳における LDH 活性の上昇は搾乳の終了にかけて増加する体細胞数に付随して生じるものと推察された。

カゼイン濃度は、体細胞数 10~500 万/mL および 1000 万/mL 以上の群において、前搾り乳に比較し搾乳前および後搾り乳で減少する傾向にあった。また、体細胞数が 1000 万/mL 以上の乳房炎乳汁において、分子量 40~75 kDa にタンパクが出現していることから、毛細血管の透過性亢進および炎症性細胞や組織から逸脱した炎症関連タンパク (乳腺の炎症指標) の存在が示唆された。乳房炎では活性化したプラスミンや体細胞由来のタンパク分解酵素がカゼインを分解することが報告されている (Verdi ら 1988; Tomotate ら 2006; Olde Riekerink ら 2007)。本研究でも体細胞数が 10 万/mL 以上の 2 群において、搾乳過程における顕著なカゼイン濃度の低下を認めた。特に搾乳後の乳のカゼインは炎症に伴って上昇した種々のタンパク分解酵素の影響を長時間受けることで、その分

解が促進されたものと推察される。

以上から、乳体細胞数と生乳の衛生学的ならびに理化学的性状との関係および搾乳過程におけるそれらの変化が特に乳体細胞数の増加に伴い増大する傾向を認めたことから、分析乳の採取時期および生乳の取扱いの重要性が示唆された。

謝 辞

本研究の実施にあたり乳の菌数測定に支援いただいた松下エコシステムズバイオセンシング事業部 澤山成行氏に感謝する。

文 献

- Barbano DM, Ma Y, Santos MV. 2006. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *Journal of Dairy Science* **89**, 15–19.
- Belgacem D, Bareille N, Beaudou F, Seegers F. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows, a meta-analysis. *Veterinary Research* **33**, 335–357.
- Bruckmaier RM, CE Ontosouka, Blum JW. 2004. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. *Veterinariai Medicina Czechoslovakia* **49**, 283–290.
- Chagunda MG, Larsen T, Bjerring M, Ingvarsten KL. 2006. L-lactate dehydrogenase and N-acetyl- β -D-Glucosaminidase activities in bovine milk as indicators of non-specific mastitis. *Journal of Dairy Research* **73**, 431–440.
- Higuchi H, Ishizaka M, Nagahata H. 2007. Complement receptor type 3 (CR3)- and Fc receptor (FcR)-mediated matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) secretion and their intracellular signaling of bovine neutrophils. *Veterinary Research Communications* **31**, 985–991.
- Karimuribo ED, Kusiluka LJ, Mdegela RH, Kapaga A M, Sindato C, Kambarage DM. 2005. Studies on mastitis, milk quality and health risks associated with consumption of milk from pastoral herds in Dodoma and Morogoro regions, Tanzania. *Journal of Veterinary Science* **6**, 213–221.
- Kato K, Mori K, Kato N. 1989. Contribution of leukocytes to the origin of lactate dehydrogenase isozymes in milk of bovine mastitis. *Japanese Journal of Veterinary Science* **51**, 530–539.
- Knight CH, Hirst D, Dewhurst RJ. 1994. Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. *Journal of Dairy Research* **61**, 167–177.
- Laitinen JT. 1986. Level and distribution of progesterone in bovine milk, effects of mastitis and milk composition. *British Veterinary Journal* **142**, 562–568.
- Middleton JR, Fox LK, Gay JM, Tyler JM, Besser TE. 2002. Influence of *Staphylococcus aureus* strain-type on mammary quarter milk somatic cell count and N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity in cattle from eight dairies. *Journal of Dairy Science* **85**, 1133–1140.
- Nagahata H, Saito S, Noda H. 1987. Changes in N-acetyl- β -D-glucosaminidase and β -glucuronidase activities in milk during bovine mastitis. *Canadian Journal of Veterinary Research* **51**, 126–134.
- Nielsen NI, Larsen T, Bjerring M, Ingvarsten KL. 2005. Quarter health, milking interval, and sampling time during milking affect the concentration of milk constituents. *Journal of Dairy Science* **88**, 3186–3200.
- Olde Riekerink RG, Barkema HW, Veenstra W, Berg FE, Stryhn H, and Zadoks RN. 2007. Somatic cell count during and between milkings. *Journal of Dairy Science* **90**, 3733–3741.
- Pyörälä S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research* **34**, 565–578.
- Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tikofsky L, Gonzalez RN. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research* **34**, 579–596.
- Tomotate H, Okuyama R, Katagiri M, Fujita M, Yamamoto M, Ota F. 2006. Comparison between Holstein cow's milk and Japanese-Saanen goat's milk in fatty acid composition, lipid digestibility and protein profile. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* **70**, 2771–2774.
- Urech E, Puhán Z, Schallibaum M. 1999. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science* **82**, 2402–2411.
- Verdi RJ, Barbano DM. 1988. Preliminary investigation of the properties of somatic cell proteases. *Journal of Dairy Science* **71**, 534–538.

Effects of milking process and somatic cell counts on the hygiene and physicochemical parameters of raw milk from lactating dairy cows

Yuka ABE¹, Kenta TOSKAR ALEN², Hidetoshi HIGUCHI¹ and Hajime NAGAHATA¹

¹ Department of Health and Environmental Sciences, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu 069-8501, Japan

² Department of Dairy Science, Rakuno Gakuen University, Ebetsu 069-8501, Japan

Corresponding : Hajime NAGAHATA (fax : +81 (0) 11-387-5890, e-mail : nagahata@rakuno.ac.jp)

To evaluate the effects of milking process and somatic cell count (SCC) of milk on the changes in the hygiene and physicochemical parameters of quarter raw milk from lactating dairy cows. We measured the bacterial counts, milk composition, and N-acetyl- β -glucosaminidase (NAGase) and lactate dehydrogenase (LDH) activities of quarter milk with 4 different SCCs : $< 10 \times 10^4$ cells/mL, $10-30 \times 10^4$ cells/mL, $50-400 \times 10^4$ cells/mL, and $> 1,000 \times 10^4$ cells/mL. Results : Changes in SCC values were significantly ($P < 0.05$) higher in milk with SCCs of $< 10 \times 10^4$ cells/mL, $10-30 \times 10^4$ cells/mL and $50-400 \times 10^4$ cells/mL. Milk fat content was significantly higher ($P < 0.05$) in milk with SCCs of $< 10 \times 10^4$ cells/mL and $10-30 \times 10^4$ cells/mL. The concentration of casein in milk decreased gradually during the milking process, and an apparent decrease was found in milk with SCCs of $< 10 \times 10^4$ cells/mL and $10-30 \times 10^4$ cells/mL. Changes in NAGase and LDH activities in milk increased in association with the milking process. SCCs were found to be related to the hygiene and physicochemical parameters of milk ; this was evident from the increment of SCC during the milking process. Conclusion : The present results indicate the importance of establishing hygiene measures and understanding the characteristics of raw milk.

Nihon Chikusan Gakkaiho 82 (1), 35-43, 2011

Key words : hygiene measures, milking process, milk composition, physicochemical measures, somatic cell counts.