

## تأثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام

النازخالق خواه<sup>۱</sup>، حمید عزت پناه<sup>۲\*</sup>، مسعود مشهدی اکبر بوجار<sup>۳</sup>، محمد هادی گیویان راد<sup>۴</sup>، سعیده سیف هاشمی<sup>۵</sup> و

روزبه معتمد<sup>۶</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۲۷

تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۰۲/۲۴

### چکیده

مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری که گله‌های شیری در سراسر دنیا بدان مبتلا می‌شوند، ورم پستان است. این بیماری ویژگی‌های شیر و فرآورده‌های آن را تا حد زیادی تحت تأثیر قرار می‌دهد. هدف از انجام این تحقیق بررسی تغییرات اسیدهای چرب اشباع شیر در بیماری ورم پستان تحت بالینی می‌باشد. پس از انتخاب ۳۰ راس دام (بطوریکه به هر گروه ۱۰ راس دام تعلق گیرد) شمارش سلول‌های سوماتیک به کمک دستگاه فوسوماتیک انجام شد. سپس جداسازی، شناسایی و تعیین مقادیر اسیدهای چرب با دستگاه کروماتوگرافی گازی (واریانت-۳۶۰۰) صورت گرفت. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش مقایسه‌ی میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد صورت گرفت. تفاوت معناداری در میزان اسید بوتیریک، اسید کاپریلیک، اسید کاپریک و اسید لوریک با افزایش شمار سلول‌های سوماتیک مشاهده نشد. ولی مقادیر اسیدهای چرب اشباع شامل کاپروئیک، میریستیک، پنتادکانوئیک، پالمیتیک و استئاریک به طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین مقدار اسیدهای چرب اشباع کل نیز با بروز عفونت افزایش یافت. با توجه به نقش مصرف بالای اسیدهای چرب اشباعی چون میریستیک و پالمیتیک در بروز بیماری‌های قلبی عروقی، شیر حاصل از دام مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به دلیل افزایش اسیدهای چرب اشباع ذکر شده می‌تواند امکان ابتلا به بیماری را افزایش دهد.

**کلمات کلیدی:** شیر، ورم پستان تحت بالینی، سلول‌های پیکری، اسیدهای چرب اشباع کوتاه زنجیره، اسیدهای چرب اشباع متوسط زنجیره و اسیدهای چرب اشباع بلند زنجیره.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.

۲- دانشیار گروه تخصصی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.

۳- استادیار گروه شیمی تجزیه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران.

۴- دانشیار گروه بیولوژی، دانشگاه تربیت معلم تهران

۵- مدرس دانشکده صنعت غذای تهران، دانشگاه جامع علمی کاربردی.

۶- کارشناس ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سبزوار

\* مؤلف مسئول: (hamidezzatpanah@srbiau.ac.ir)

بیماری ورم پستان را می‌توان از طرق مختلف کیفی (مانند آزمون کالیفرنایی ورم پستان<sup>۱</sup>) و کمی (مانند شمارش سلول‌های سوماتیک<sup>۲</sup> یا پیکری) تشخیص داد. شمارش سلول‌های پیکری به عنوان شاخصی جهت شناسایی این بیماری و نیز یکی از فاکتورهای تعیین کننده کیفیت شیر در سراسر جهان به کار می‌رود. ورم پستان با آسیب به بافت غدد پستانی در نهایت تغییرات بیوشیمیایی، شیمیایی و میکروبی وسیعی را در شیر رقم می‌زند (۲۷ و ۲۹). اصلی ترین عوامل میکروبی بیماری را عبارتند از *استافیلوکوکوس اورئوس*<sup>۳</sup> (مهمترین پاتوژن عامل بیماری ورم پستان)، *استرپتوکوکوس آگلالتیه*<sup>۴</sup>، *استرپتوکوکوس یویریس*<sup>۵</sup>، *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه*<sup>۶</sup> و کلی فرم‌هایی<sup>۷</sup> چون *شرشیاکلی*<sup>۱</sup> و *کلبسیلا*<sup>۹</sup>. (۲۹)

به طور کلی بیماری ورم پستان به دو نوع بالینی<sup>۱۰</sup> و تحت بالینی<sup>۱۱</sup> تقسیم می‌شود. تشخیص ورم پستان تحت بالینی به دلیل عدم وجود علائم خاص بیماری در پستان و نیز به دلیل عدم وجود تغییرات ظاهری در شیر دام مبتلا، از طریق شمارش سلول‌های سوماتیک شیر خام صورت می‌گیرد و این در حالی است که ورم پستان بالینی با داشتن علائمی چون ملتهب بودن غدد پستانی، بالا رفتن درجه حرارت بدن دام و وجود خون در شیر به مراتب سریع تر از ورم پستان تحت بالینی قابل شناسایی و تشخیص است. شیر حاصل از دام مبتلا به ورم پستان تحت بالینی از نظر شمار سلول‌های سوماتیک در سه طبقه ی پائین (دارای تعداد سلول سوماتیک کمتر از ۲۰۰ هزار در هر میلی لیتر)، متوسط (۲۰۰ هزار تا ۸۰۰ هزار سلول سوماتیک در هر میلی لیتر) و بالا (دارای بیشتر از ۸۰۰ هزار سلول سوماتیک در هر میلی لیتر از شیر تا جائیکه تغییرات ظاهری در شیر مشاهده نشود) دسته بندی می‌شود (۱ و ۲۹). چربی شیر گاو مجموعه‌ای پیچیده و طبیعی است که دلیل اصلی آن حضور تعداد بسیار زیادی از اسیدهای چرب با ویژگی‌های متفاوت است. تا کنون بیش از ۴۰۰ نوع اسید چرب متفاوت با استفاده از تکنیک‌های اسپکتروسکوپی و کروماتوگرافی در آن شناسایی شده است (۱۷ و ۳۱) و تنها ۱۵ اسید چرب مقادیر بیش از ۱٪ کل اسیدهای چرب را به خود اختصاص داده اند (۱۴ و ۱۷).

منشاء اسیدهای چرب موجود در شیر گاو را به دو مسیر نسبت می‌دهند:

- 1- California Mastitis Test (CMT)
- 2- Somatic Cell Count (SCC)
- 3- Staphylococcus aureus
- 4- Streptococcus agalactiae
- 5- Streptococcus uberis
- 6- Streptococcus dysgalactiae
- 7- Coliforms
- 8- Escherichia coli (e. coli)
- 9- Klebsiella
- 10- Clinical
- 11- Subclinical

۱- مکانیسم دنوو<sup>۱</sup>: این مکانیسم در غدد شیری صورت گرفته و حدود ۴۵ درصد از کل اسیدهای چرب شیر را تولید می‌کند.

۲-۲- لیپیدهای پلاسما<sup>۲</sup>: مسیری که از طریق تغذیه دام حدود ۵۵ درصد از اسیدهای چرب شیر را تامین می‌کند. اسیدهای چرب تولید شده از این دو مسیر از نظر ساختار بسیار متفاوت هستند. اسیدهای چربی که از مکانیسم دنوو تولید می‌شوند اکثراً کوتاه و متوسط زنجیره‌اند (از اسید بوتیریک<sup>۳</sup> تا اسید میریستیک<sup>۴</sup> و گاهی اسید پالمیتیک<sup>۵</sup>). در حالیکه اسیدهای چرب بلند زنجیره با ۱۸ کربن و بیشتر و نیز تعدادی از اسیدهای چرب ۱۶ کربنه از غذای دام و از مسیر لیپیدهای پلاسما به شیر راه می‌یابند (۱۷ و ۲۰).

پژوهش‌های زیادی قبلاً در زمینه ی تاثیر عوامل مختلف به ویژه تغذیه (۲۱) و نیز شرایط محل نگهداری دام از نظر ارتفاع و نوع علوفه ی منطقه (۶ و ۱۳)، اثر فصل (۷ و ۱۶)، استفاده از مکمل‌ها در جیره ی دام (۲) و نژاد (۳۰) بر الگوی اسیدهای چرب شیر انجام شده است. همچنین در رابطه با اثرات بیماری ورم پستان بر کمیت چربی شیر (۲۳، ۲۴ و ۲۷)، کیفیت شیر خام (۱۹) و میزان پروتئولیز و لیپولیز در شیر خام و شیر پاستوریزه (۸ و ۲۵) مطالعاتی صورت گرفته است.

نقش مصرف بالای اسیدهای چرب اشباع در افزایش خطر ابتلاء به بیماری‌های قلبی- عروقی به خوبی مشخص شده است؛ اما در این میان، اسید میریستیک را مهمترین عامل ایجاد کننده بیماری قلبی قلمداد می‌کنند و در این زمینه اسید پالمیتیک پس از این اسید چرب جای دارد و اسیدهای چرب اشباع بلند زنجیره ۱۸ کربنه همچون اسید استئاریک<sup>۶</sup> و اسیدهای چرب اشباع کوتاه زنجیره تر مانند اسید لوریک از اهمیت کمتری برخوردارند (۱۷). همانطور که ذکر شد، با بروز بیماری ورم پستان ویژگی‌های شیر تحت تاثیر قرار می‌گیرد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر افزایش شمار سلول‌های سوماتیک در بیماری ورم پستان تحت بالینی بر روی اسیدهای چرب اشباع شیر خام می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

پس از انتخاب یک دامداری صنعتی (با تعداد حدود ۱۰۰۰ راس دام که ۴۴۰ راس آن شیرده می‌باشند) در حومه ی تهران، دام‌هایی از نژاد خالص هلشتاین که در رده ی سنی ۴ تا ۶ سال و شکم زایش دوم و سوم در ماه دوم تا چهارم دوره ی شیردهی قرار داشتند، انتخاب شدند. این دام‌ها همگی از جیره ی یکسان (یونجه با ترکیب مشخصی از سویا و ذرت) استفاده می‌کردند. همچنین اطمینان حاصل شد که طی دوهفته ی قبل از نمونه گیری

1- Denovo

2- Plasma Lipids

3- Butyric Acid (C4:0)

4- Myristic Acid (C14:0)

5- Palmitic Acid (C16:0)

6- Stearic Acid (C18:0)

## تأثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام

هیچ نوع آنتی بیوتیکی به هر میزان در مورد دام‌های هدف استفاده نشده است. سپس انتخاب ۳۰ راس دام از میان دام‌های فوق به گونه‌ای صورت گرفت که به هر دسته (از نظر شمار سلول‌های سوماتیک) ۱۰ راس اختصاص یابد و نمونه گیری از دوشش صبح و به صورت مجزا از هر کارتیه انجام شد. در روز نمونه گیری ابتدا دام‌های مورد نظر همان روز به سالن شیر دوشی که بلافاصله قبل از شروع دوشش شست و شو و تمیز شده بود، منتقل شدند. پس از شست و شو و ضدعفونی کردن پستان‌ها، جهش‌های اول دوشش از هر کارتیه دور ریخته شد. نمونه گیری‌ها از هر کارتیه در دو سری ظرف مجزا صورت گرفت. به این ترتیب که یک سری نمونه در ظروف کوچک مربوط به شمارش سلول‌های سوماتیک و یک سری در ظروف اصلی تمیز و استریل گرفته شد. در حین دوشش و جمع آوری نمونه‌های اصلی نیز دقت شد که کارتیه‌ها به طور کامل تخلیه شوند. سپس ظروف حاوی نمونه‌ها در یخدان و در مجاورت بسته‌های یخ قرار گرفتند. در طول انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه نیز دمای نمونه‌ها در حد بین ۴ تا ۵ درجه سانتیگراد کنترل شد. نمونه گیری و انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه بر اساس استاندارد ISO 707,2012 و ظرف مدت حداکثر دو ساعت صورت گرفت.

شمارش سلول‌های پیکری به وسیله دستگاه CombiFoss مدل ۵۰۰۰ مطابق روش IDF, 1995 صورت گرفت و نمونه‌ها در ۳ سطح: شمار سلول‌های سوماتیک کمتر از ۲۰۰ هزار (سطح پائین)، ۲۰۰ تا ۸۰۰ هزار (سطح متوسط) و بیشتر از ۸۰۰ هزار سلول در هر میلی لیتر (سطح بالا) دسته بندی شدند. سپس جهت شبیه سازی آنچه در تانک‌های انتقال شیر به کارخانجات موجود است سطح مخلوط از سه سطح فوق به نسبت مساوی از هریک تهیه گردید.

## تعیین الگوی اسیدهای چرب اشباع

ابتدا مطابق روش ISO-IDF15884, 2002 اسیدهای چرب نمونه‌ها با روش کاتالیز بازی با استفاده از هیدروکسید پتاسیم ۲نرمال در محیط متانول بصورت استریفیه درمی آیند. جداسازی، شناسایی و تعیین مقادیر اسیدهای چرب با دستگاه کروماتوگرافی گازی<sup>۱</sup> (واریان-۳۶۰۰) مجهز به دتکتور یونیزان- شعله انجام گرفت. از ستون موئینه SP-2500 نیز به طول ۱۰۰ متر و به قطر داخلی ۰/۲۵ میلی متر با ذرات ۰/۲۵ میکرومتر، استفاده شد. درجه حرارت تزریق کننده و دتکتور در ۲۹۰ درجه سانتیگراد و درجه حرارت ستون نیز در ابتدا، به میزان ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱/۵ دقیقه تنظیم شد. تغییر دما به میزان ۸ درجه سانتیگراد در دقیقه تا رسیدن به ۱۹۰ درجه سانتیگراد انجام شد و نهایتاً در این درجه حرارت به مدت ۲۵ دقیقه ثابت ماند. سپس با افزایش ۱۵ درجه سانتیگراد در دقیقه به ۲۳۰ درجه سانتیگراد رسید و ۴/۵ دقیقه در این دما ثابت ماند. بر اساس زمان بازداری پیک‌ها ی خروجی و با استفاده از استانداردها، نوع و مقدار اسیدهای چرب مشخص شدند (۳ و ۱۱).

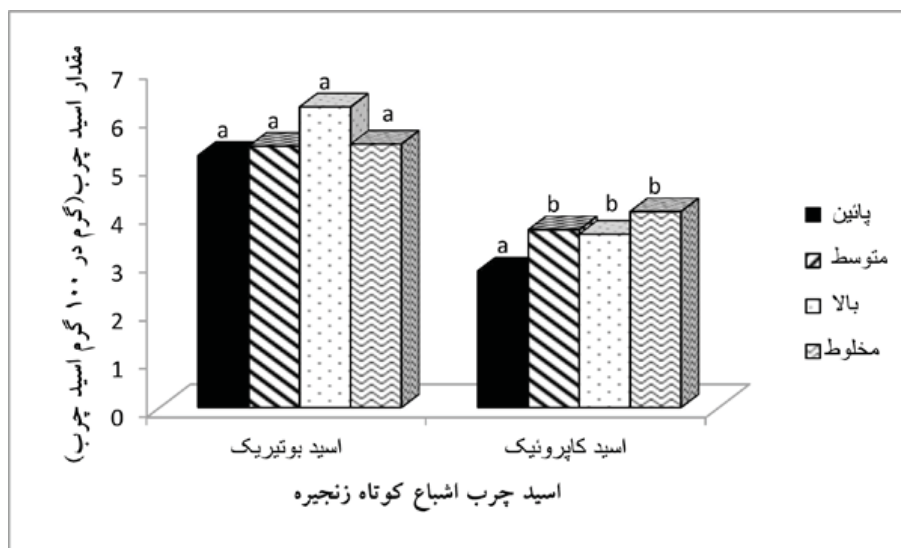
1- Gass Chromatography(GC)

## آنالیز آماری داده ها

آنالیز آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ و با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه انجام شد و آزمون مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش مقایسه‌ی میانگین چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد صورت گرفت.

## نتایج

در نمودار ۱ اثر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر مقدار اسیدهای چرب اشباع کوتاه زنجیره شیر خام نشان داده شده است.



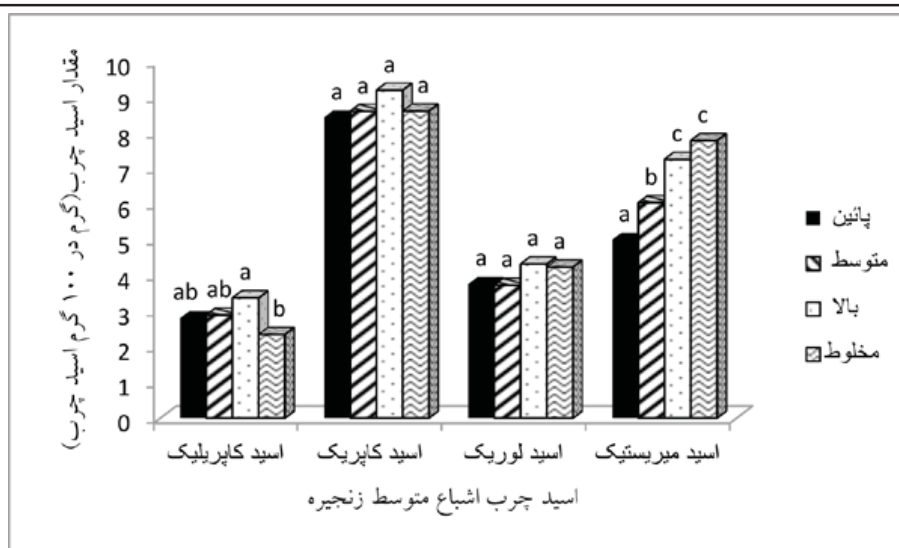
نمودار ۱ - اسیدهای چرب اشباع کوتاه زنجیره‌ی شیر خام در چهار سطح پائین، متوسط، بالا و مخلوط سلول‌های سوماتیک (حروف غیر یکسان در هر دسته، نشان دهنده‌ی تفاوت‌های معنا دار می‌باشد).

بین نمونه‌های شیر با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک از نظر میزان میانگین اسید چرب بوتیریک تفاوت معنا داری مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ ).

از نظر میانگین میزان اسید چرب کاپروئیک، بین سطح متوسط، بالا و مخلوط سلول‌های سوماتیک تفاوت معنا داری مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ )، اما سطح پائین با سه سطح فوق تفاوت معنا داری نشان داد ( $P < 0.05$ ) و حاوی مقادیر کمتری از این اسید چرب بود.

نمودار ۲ اثر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر مقدار اسیدهای چرب اشباع متوسط زنجیره شیر خام را نشان می‌دهد.

## تأثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام



نمودار ۲ - اسیدهای چرب اشباع متوسط زنجیره ی شیر خام در چهار سطح پائین، متوسط، بالا و مخلوط سلول‌های سوماتیک (حروف غیر یکسان در هر دسته، نشان دهنده ی تفاوت‌های معنا دار می‌باشد).

مقدار اسید چرب کاپریلیک<sup>۱</sup>، در نمونه‌های شیر با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک، سطوح پائین، متوسط و بالا تفاوت معنا داری با یکدیگر نداشتند ( $P \geq 0.05$ ) و مقدار این اسید چرب در شیر سطح مخلوط نیز در حدود مقدار آن در شیر خام با سطوح پائین و متوسط بود ( $P \geq 0.05$ ).

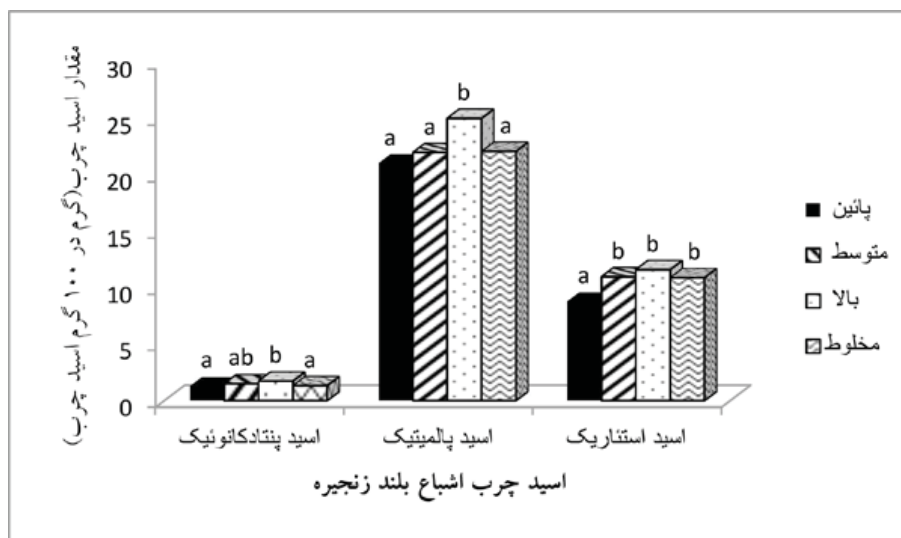
از نظر میزان میانگین اسید چرب کاپریک<sup>۲</sup>، بین نمونه‌های شیر با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک تفاوت معنا دار وجود نداشت ( $P \geq 0.05$ ).

نمونه‌های شیر با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک، در میزان میانگین اسید چرب لوریک<sup>۳</sup>، تفاوت معنا داری با یکدیگر نداشتند ( $P \geq 0.05$ ).

در مورد میانگین مقدار اسید چرب میریستیک نمونه‌های شیر، سطح پائین، کمتر از سطح متوسط و سطح متوسط، کمتر از سطح بالا قرار گرفت ( $P < 0.05$ ). سطوح بالا و مخلوط تفاوت معنا داری با یکدیگر نداشتند ( $P \geq 0.05$ ).

مقایسه مقادیر اسیدهای چرب اشباع بلند زنجیره در نمونه‌های شیر خام با سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک در نمودار ۳ نشان داده شده است.

1- Caprylic Acid (C8:0)  
2- Capric Acid (C10:0)  
3- Lauric Acid (C12:0)



نمودار ۳ - اسیدهای چرب اشباع بلند زنجیره ی شیر خام در چهار سطح پائین، متوسط، بالا و مخلوط سلول‌های سوماتیک (حروف غیر یکسان در هر دسته، نشان دهنده ی تفاوت‌های معنا دار می‌باشد).

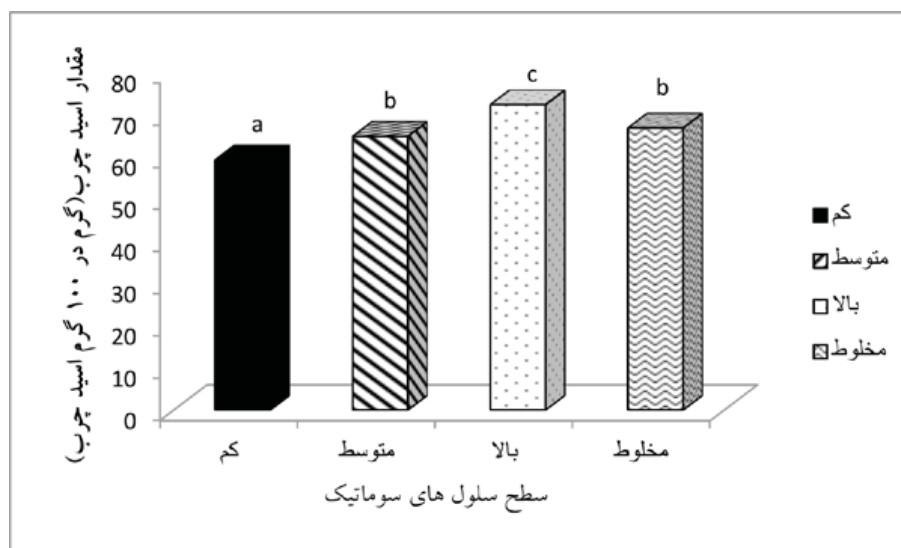
بین سطوح پائین، متوسط و مخلوط سلول‌های سوماتیک از نظر میزان میانگین اسید پنتادکانوئیک، تفاوت معنا داری مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ ). میانگین میزان این اسید چرب در شیر با سطح بالای سلول‌های سوماتیک با سطوح پائین و مخلوط تفاوت معنا داری داشت ( $P < 0.05$ )؛ اما دو سطح متوسط و بالا تفاوت معنا داری از نظر این اسید چرب با یکدیگر نداشتند ( $P \geq 0.05$ ) بطوریکه سطح متوسط میانگین حد واسط سطح بالا با دو سطح پائین و مخلوط را نشان داد.

از نظر میزان اسید چرب پالمیتیک شیر، در سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک، بین سطح پائین، متوسط و مخلوط تفاوت معنا داری مشاهده نشد ( $P \geq 0.05$ )، اما سطح بالا با سه سطح پائین، متوسط و مخلوط از نظر میانگین میزان این اسید چرب تفاوت معنا داری نشان داد ( $P < 0.05$ )، میانگین این اسید چرب در شیر سطح بالا بیشتر از سایر سطوح مشاهده شد.

در مورد میانگین میزان اسید چرب استئاریک، بین سطوح پائین با سایر سطوح سلول‌های سوماتیک تفاوت معنا دار مشاهده شد ( $P < 0.05$ )، اما بین سطوح متوسط، بالا و مخلوط تفاوت معنا داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ )؛ میانگین میزان اسید استئاریک در شیر با سطح پائین سلول‌های پیکری، کمتر از سطوح متوسط، بالا و مخلوط می‌باشد.

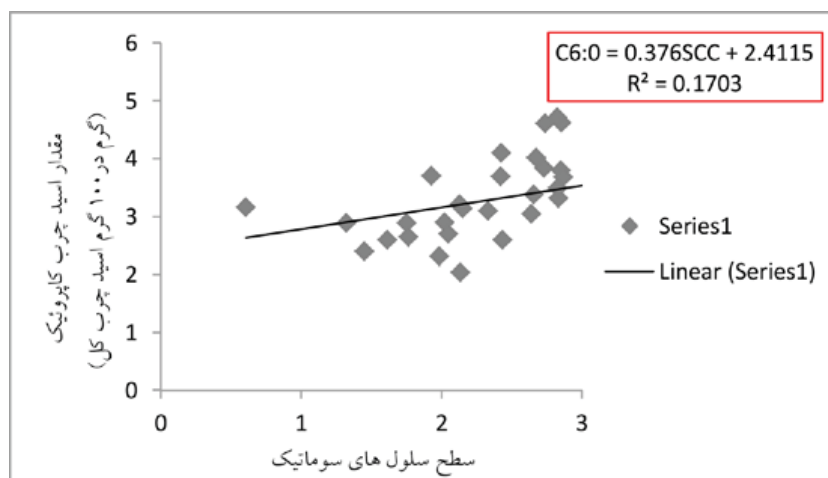
نمودار ۴ مقادیر مجموع اسیدهای چرب اشباع شیر خام را در چهار سطح پائین، متوسط، بالا و مخلوط سلول‌های سوماتیک نشان می‌دهد.

## تأثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام



نمودار ۴ - اسیدهای چرب اشباع کل شیر خام در چهار سطح کم، متوسط، زیاد و مخلوط سلول‌های سوماتیک (حروف غیر یکسان، نشان دهنده ی تفاوت‌های معنا دار می‌باشد).

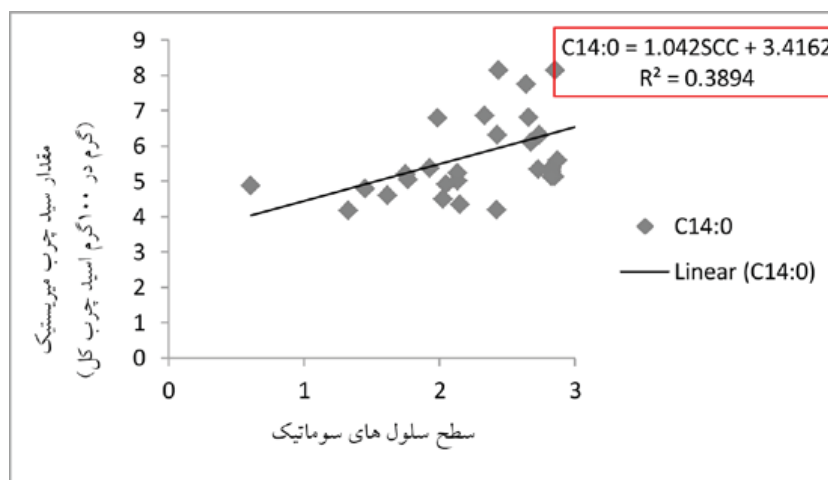
مطابق این نمودار، با افزایش میزان سلول‌های سوماتیک، میزان اسیدهای چرب اشباع کل نیز افزایش می‌یابد ( $P < 0.05$ ) و میانگین اسیدهای چرب اشباع کل سطح مخلوط، برابر با سطح متوسط مشاهده شد ( $P \geq 0.05$ ). نمودارهای زیر معادلات رگرسیون و منحنی تغییرات اسیدهای چرب اشباع را که با تغییر سطوح سلول‌های سوماتیک، به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) تغییر کرده اند، نشان می‌دهد:



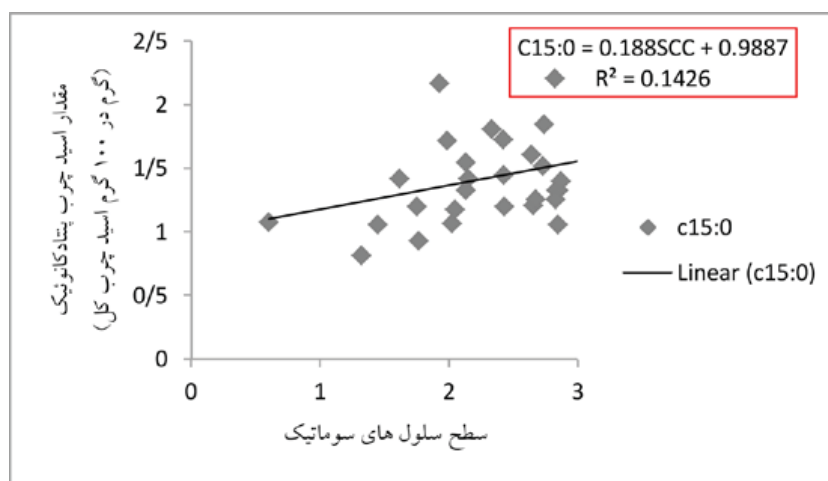
نمودار ۵ - معادله رگرسیون و منحنی رابطه بین میزان اسید چرب کاپروئیک بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب و سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک (۱=پائین، ۲=متوسط و ۳=بالا).



در نمودار ۵ با توجه به شیب مثبت ۰/۳۷۶ و  $R^2 = ۰/۱۷$  اثر افزایش سلول‌های سوماتیک در میزان اسید چرب کاپروئیک در اثر افزایش سلول‌های سوماتیک نشان داده می‌شود. در نمودار ۶ با توجه به شیب مثبت ۱/۰۴۲ و  $R^2 = ۰/۳۸$  مشاهده می‌شود که سلول‌های سوماتیک اثر افزایشی کمی بر روی اسید چرب میریستیک داشته‌اند.



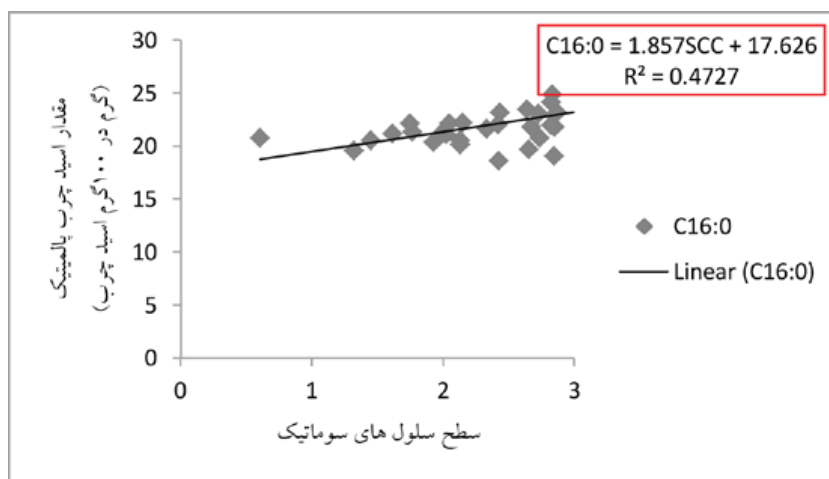
نمودار ۶- معادله رگرسیون و منحنی رابطه بین میزان اسید چرب میریستیک بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب و سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک (۱=پائین، ۲=متوسط و ۳=بالا).



نمودار ۷- معادله رگرسیون و منحنی رابطه بین میزان اسید چرب پنتادکانوئیک بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب و سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک (۱=پائین، ۲=متوسط و ۳=بالا).

مطابق  $R^2 = ۰/۱۴$  و شیب مثبت ۰/۱۸ نمودار شماره ۷، میزان اسید چرب پنتادکانوئیک با افزایش سلول‌های سوماتیک به مقدار کمی افزایش می‌یابد.

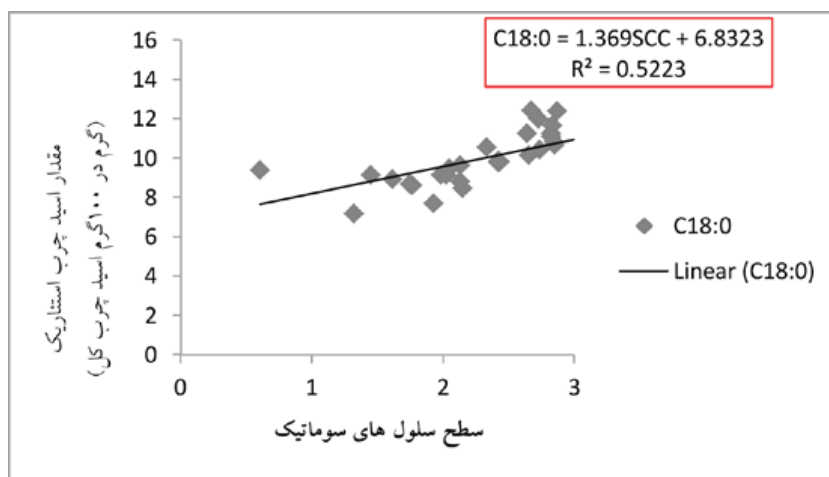
## تأثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام



نمودار ۸- معادله رگرسیون و منحنی رابطه بین میزان اسید چرب پالمیتیک بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب و سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک (۱=پائین، ۲=متوسط و ۳=بالا).

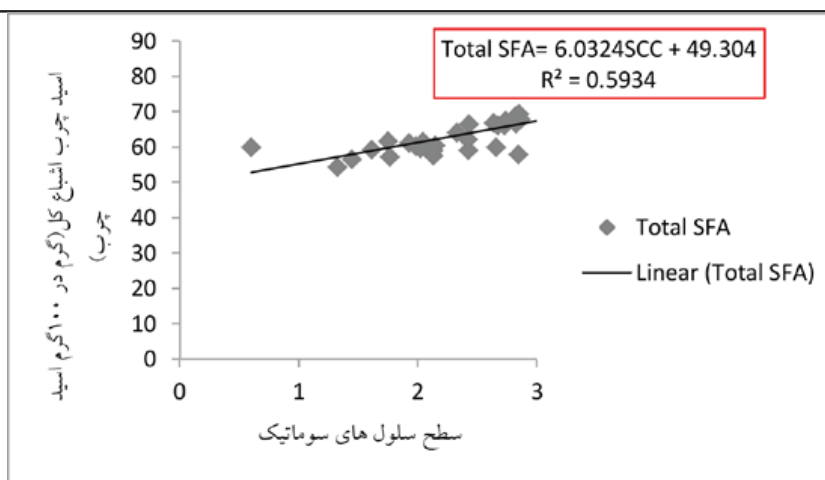
در نمودار ۸ نیز افزایش میزان اسید چرب پالمیتیک تا ۴۷ درصد در اثر افزایش سلول‌های سوماتیک مشاهده

می‌شود.



نمودار ۹- معادله رگرسیون و منحنی رابطه بین میزان اسید چرب استئاریک شیر خام بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب و سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک (۱=پائین، ۲=متوسط و ۳=بالا).

نمودار ۹ نیز افزایش ۵۲ درصدی اسید چرب استئاریک را در برابر افزایش سلول‌های سوماتیک نشان می‌دهد. با افزایش شمار سلول‌های سوماتیک، اسید استئاریک حدود ۵۲ درصد افزایش یافته است.



نمودار ۱۰- معادله رگرسیون و منحنی رابطه بین میزان اسیدهای چرب اشباع کل بر حسب گرم در ۱۰۰ گرم اسید چرب کل و سطوح مختلف سلول های سوماتیک (۱=پائین، ۲=متوسط و ۳=بالا).

در خاتمه نیز با توجه به نمودار ۱۰، افزایش ۵۹ درصدی در میزان کلی اسیدهای چرب اشباع شیر دام مبتلا به ورم پستان تحت بالینی مشاهده می شود.

## بحث

### مسیر سنتز اسیدهای چرب اشباع کوتاه و متوسط زنجیره: مکانیسم دنوو

همچنانکه پیشتر نیز اشاره شد سنتز اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیره از مکانیسم دنوو تبعیت می کند. در این مکانیسم سلولز و مواد مشابه آن در شکمبه ی نشخوارکنندگان تخمیر شده و اولین محصولات حاصل از تخمیر در شکمبه، یعنی استات و اسید بوتیریک تولید می شوند (۱۲ و ۱۶ و ۱۹). اسید بوتیریک در مراحل بعدی تخمیر و در حین جذب از بافت پوششی شکمبه به بتا هیدروکسی بوتیرات تبدیل می شود (۱۲). هنگامیکه این ترکیبات به غدد شیری راه پیدا کردند، ابتدا در غدد شیری، استات تحت اثر آنزیم استیل کوآنزیم A سنتتاز به استیل کوآنزیم A کربوکسیله شده سپس در مراحل بعدی با اثر آنزیم استیل کوآنزیم A کربوکسیلاز به مالونیل کوآنزیم A تبدیل می شود که بعد در فرآیند سنتز و طویل کردن مرحله به مرحله ی زنجیره ی اسید چرب به کار گرفته می شود (۱۷). نتیجه تولید اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیره ای است که حداقل در ۲ واحد گروه CH<sub>2</sub> با یکدیگر تفاوت دارند؛ اما همگی زوج کربنه و بدون انشعاب هستند. چنانچه به جای استات، بوتیرات و یا پروپیونات پیش ساز باشند، اسیدهای چرب فرد کربنه و یا منشعب تولید می شود (۱۴). آخرین محصول مکانیسم دنوو، اسید پالمیتیک می باشد (۱۴ و ۲۵).

همان طوریکه ذکر شد مکانیسم دنوو (مسیر اصلی سنتز اسیدهای چرب ۴ تا ۱۴ کربنه) خود از مسیرهای پیچیده ای تشکیل شده است. از سوی دیگر قبل از رسیدن پیش سازهای ساخت این اسیدهای چرب (استات،

## تاثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام

بتا هیدروکسی بوتیرات) به غدد شیری، کبد به عنوان مهم ترین ارگان موثر در تبادلات و سنتز مواد نقش به سزایی ایفا می‌کند. عملکرد کبد احتمالاً بیشتر تحت تاثیر تغذیه، نژاد و ژن دام می‌باشد (۸ و ۲۳). و آنچه از کبد به خون راه می‌یابد در مراحل بعدی به پستان می‌رسد. به علاوه کبد ترکیبات پیش ساز را بسته به شرایط فیزیولوژیکی بدن دام، به خون تحویل می‌دهد. خون، مواد را به غدد پستانی منتقل می‌کند و از این مرحله به بعد طی مکانیسمی که ذکر شد، اسیدهای چرب ساخته می‌شوند. بنابراین نوع و مقادیر این اسیدهای چرب هم وابسته به عملکرد کبد و هم عملکرد غده ی پستان است. با توجه به پیچیدگی مراحل سنتز اسیدهای چرب و نیز پیچیدگی عملکرد کبد، افزایش سطح سلول‌های سوماتیک تاثیر قابل پیش بینی بر سنتز هر یک از اسیدهای چرب نداشته باشد.

اما سنتز اسیدهای چرب کاپروئیک، میریستیک، پنتادکانوئیک و پالمیتیک روند افزایشی را با ازدیاد سلول‌های پیکری نشان می‌دهد؛ که می‌توان در تفسیر این پدیده آسیب دیدن سد بین خون و شیر و در نتیجه افزایش نفوذ پذیری غشاء سلول‌های شیر ساز را احتمال داد که سبب افزایش عبور پیش سازهای اسیدهای چرب اشباع می‌شوند. در نهایت واکنش‌های کربوکسیلاسیون استیل کوآنزیم A به مالونیل کوآنزیم A بیشتر شده و مقدار این اسیدهای چرب افزایش می‌یابند مکانیسم دیگر دخیل در بیماری، افزایش فعالیت اغلب آنزیم‌ها از جمله آنزیم استیل کو آنزیم A کربوکسیلاز است که سبب تغییر کیفیت شیر حاصل از دام مبتلا به بیماری ورم پستان می‌شود. اگر فرضیه ی ازدیاد فعالیت این آنزیم مطابق مکانیسم ذکر شده در نظر گرفته شود نیز سنتز این اسیدهای چرب افزایش می‌یابد که البته قبول این فرض نیازمند بررسی و مطالعه ی بیشتر است.

بر خلاف پیش فرض‌های موجود و طبق نتایج این تحقیق، افزایش سطح سلول‌های سوماتیک موجب افزایش هر یک از اسیدهای چرب اشباع نمی‌شود و نمی‌توان قاعده‌ای مشابه در مورد تمام آن‌ها یافت. به نظر می‌رسد آسیب به غدد شیر ساز پستان دام در اثر اختلال در مکانیسم دنوو، میزان برخی از اسیدهای چرب را تغییر داده و در کنار شرایط التهابی و بیماری ناپیدا در دام، نوع و حتی نحوه تغذیه دام نیز بر آن تاثیر داشته باشد. به عبارت دیگر از آنجائی که سنتز هر یک از اسیدهای چرب بر اساس مکانیسم دنوو در شکمبه صورت می‌گیرد، جراحی یا عفونت پستان دام بر روند تحولات شکمبه تاثیر مستقیمی نداشته است.

### هیدروژناسیون زیستی لیپیدهای جیره‌ای در شکمبه

منشاء اصلی اسیدهای چرب اشباع با تعداد بیشتر از ۱۸ (و در برخی از منابع تعداد بیشتر از ۱۶) اتم کربن و نیز منشاء اسیدهای چرب غیر اشباع عموماً جیره‌ی دام است؛ گرچه اسیدهای چربی که از بافت ذخیره کننده چربی<sup>۱</sup> آزاد می‌شوند نیز در این بین قرار می‌گیرند. لیپیدهای جیره‌ای شامل گلیکولیپیدها، فسفولیپیدها، تری

گلیسیریدها و اسیدهای چرب (غالباً اسید لینولئیک<sup>۱</sup> و اسید لینولنیک<sup>۲</sup>) می‌باشند. پیوندهای استری موجود در ساختار تری گلیسیریدها ابتدا در شکمبه هیدرولیز شده و اسیدهای چرب غیر استری تولید می‌شوند که به وسیله ی میکروارگانسیم‌ها به روش زیستی هیدروژنه می‌شوند. مسیر سنتز اسید استتاریک در انتهای توالی هیدروژناسیون زیستی اسید لینولئیک می‌باشد؛ در ابتدا اسید لینولئیک ایزومریزه شده و به اسید لینولئیک کنژوگه<sup>۳</sup> تبدیل می‌شود. این ترکیب سپس در ادامه ی هیدروژناسیون زیستی به اسید واسنیک<sup>۴</sup> و در نهایت به اسید استتاریک تبدیل می‌شود. اسید استتاریک از جریان خون به شیر منتقل می‌شود (۳، ۴ و ۱۴).

به هر حال به نظر می‌رسد در صورتیکه شمار سلول‌های سوماتیک به بیش از ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی لیتر افزایش یابد، میزان اسید استتاریک نیز افزایش می‌یابد. از آنجا که این اسید چرب آخرین محصول واکنش‌های هیدروژناسیون زیستی پی در پی شکمبه است که از جریان خون به شیر تراوش می‌کند؛ می‌توان احتمال داد که با افزایش نفوذپذیری غشاء سلول‌های شیر ساز دام بیمار، مقادیر بیشتری از این اسید چرب به شیر راه یافته است. با توجه به نتایج نمودار ۴، به طور کلی به هنگام بروز عفونت در غدد پستانی، به دلیل اختلالات پدید آمده در نقل و انتقال مواد بین جریان خون و شیر و نیز به دلیل افزایش احتمالی فعالیت آنزیم‌هایی که در سنتز این دسته از اسیدهای چرب دخالت دارند، اگرچه مقادیر تعداد کمی از اسیدهای چرب اشباع بدون تغییر باقی می‌ماند، اما تمایل سلول‌های غدد پستانی در سنتز اسیدهای چرب اشباع کل افزایش می‌یابد.

### نتیجه گیری

به طور کلی می‌توان اعلام نمود افزایش سطح سلول‌های سوماتیک شیرخام با وجودی که بر مقدار و سهم تمامی اسیدهای چرب شیر تاثیر یکسانی نداشته است، اما به افزایش معنی دار میزان اسیدهای چرب اشباع میریستیک و پالمیتیک که در ایجاد بیماری‌های قلبی و عروقی نقش دارند، منجر شده است. از سوی دیگر نمی‌توان براساس طیف اسیدهای چرب اشباع شیر به وجود بیماری در دام به سادگی پی برد، به نظر می‌رسد پیش از بروز بیماری ورم پستان تحت بالینی مقدار اسیدهای چرب تحت تاثیر نحوه تغذیه دام است که احتمالاً خود آن در شرایط التهابی، چندان مناسب نیست، البته اثبات این ادعا نیازمند پژوهش‌های بیشتری است.

می‌توان اعلام نمود که شیر حاصل از کارتیبه ی مبتلا به بیماری ورم پستان تحت بالینی اگرچه در ظاهر خود علامتی مبنی بر افت کیفیت ندارد، اما بالقوه از کیفیت خوبی برخوردار نیست و چنانچه با شیر حاصل از یک کارتیبه ی سالم مخلوط گردد، نتیجه‌ای جز هدر رفتن انرژی، وقت و هزینه‌ای که صرف تولید شیر سالم و باکیفیت مطلوبی شده است، نخواهد داشت؛ زیرا چنین شیری آنچنان که نتایج این تحقیق و تحقیقات پیشین نشان می‌دهد،

1- Linoleic Acid (C18:2)

2- Linolenic Acid (C18:3)

3- Conjugated Linoleic Acid (CLA)

4- Vaccenic Acid (C18:1 trans11)

### تاثیر سطوح مختلف سلول‌های سوماتیک بر اسیدهای چرب اشباع شیر خام

---

مخلوطی است که کیفیت ثابت، مشخص و معمولاً خوبی ندارد و اگر در صنعت مورد استفاده قرار گیرد فرآورده‌ای تولید خواهد شد که قطعاً از کیفیت و ارزش تغذیه‌ای مناسبی برخوردار نخواهد بود و در نهایت مصرف آن و یا تهیه فرآورده‌های شیری از آن منطقی به نظر نمی‌رسد.

### منابع

۱. مصلحی شاد، م. تاثیر تعداد سلول‌های سوماتیک بر میسل‌های کازئین، کیفیت شیر خام و اثر آن بر عمر ماندگاری شیر پاستوریزه. ۱۳۸۶. پایان نامه ی کارشناسی ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی. واحد علوم و تحقیقات تهران.
2. AbuGhazaleh, A., D. J. Schingoethe, A. R. Hippen, and K. F. Kalscheur. 2003. Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid in Rumen, Plasma, and milk of Cows Fed Fish Oil and Fats Differing in Saturation of 18 Carbon Fatty Acids. *Journal of dairy science*, 86:3648–3660.
3. Addis, M., A. Cabiddu, G. pinna, M. Decandia, A. pirisi and G. Molle. milk and Cheese Fatty Acid Composition in Sheep Fed Mediterranean Forages with Reference to Conjugated Linoleic Acid cis9, trans11. *Journal of Dairy Science*, 88: 3443- 3454.
4. Bauman, D. E. and A.L. Lock. 2006. Conjugated Linoleic Acid: Biosynthesis and Nutritional Significance. In: Fox, P.F., P.L.H. McSweeney. *Advanced Dairy Chemistry. Volume 2: Lipids*, 3rd edition. New York: Springer. P 93- 124.
5. Collomb, M., A. Schmid , R. Sieber , D. Wechsler and E. L. Ryhanen . 2006 . Cojugated linoleic acids in milk fat. *International Dairy Journal*. 16 : 1347 – 61.
6. Collomb, M., U. Butikofer, R. Siebert, B. Jeangros and J. O. Bosset. 2002. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. *International Dairy Journal*, 12: 649- 659.
7. Dunshea, F. R., G. P. Walker, E. Ostrowska and , P. T. Doyle .2008. Seasonal variation in the concentrations of conjugated linoleic and trans fatty acids in milk fat from commercial dairy farms is associated with pasture and grazing management and supplementary feeding practices. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 48: 1062-1075.
8. Gargouri, A., H. Hamed and A. ElFeki. 2008. Total and differential bulk cow milk somatic cell counts and their relation with lipolysis. *Livestock Science*, 113 :274–279.
9. Garton, G. A. 1963. The composition and biosynthesis of milk lipids. *Journal of lipid research*, 3: 237- 254.
10. IDF. 1995. In Enumeration of Somatic Cells. *International Dairy Federation*.
11. ISO. 2002. milk Fat- Preparation of Fatty Acid Methyl Esters. ISO 15884. IDF, 182.

12. ISO 707. 2012. milk and milk Products- Guidance on Sampling.
13. Ledoux, M., J. M. Chardigny, M. Darbois, Y. Soustre, J. L. Sebedio and L.Laloux. 2005 . Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18 : 409 – 25.
14. Lindmark- Mansson, H., C. Branning, G. Alden and M. Paulsson. 2006. Relationship between somatic cell count, individual leukocyte populations and milk components in bovine udder quarter milk. *International Dairy Journal*, 16: 717- 727.
15. Lindmark- Mansson, H. 2008. Fatty acids in bovine milk fat. *Food & Nutrition Research*.
16. Lock, A. and P. Garnsworthy. 2003 . Seasonal variation in milk conjugated linoleic acid and desaturase activity in dairy cows. *Livestock Production Science*, 79 : 47 – 59.
17. MacGibbon, A.K.H. and M.W. Taylor. 2006. Composition and Structure of Bovine milk Lipids. In: Fox, P.F., P.L.H. McSweeney. *Advanced Dairy Chemistry. Volume 2: Lipids*, 3rd edition. New York: Springer. P1- 15.
18. mittal, S. 2005. coronary heart disease in *Clinical Practice*. Springer .
19. O'Brien, B., Gallagher, B., Joyce, P., Meaney, W.J., Kelly, A. 2004. Quality and safety of milk from farm to dairy product. A project from Department of Zoology and Department of Food Science and Technology, University Collage, Cork, Ireland. Project Report NO: 4642.available: <http://www.teagasc.ie/research/reports/dairyproduction/4642/eopr-4642.pdf>
20. Palmquist, D. L. 2006. milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon. In: Fox, P.F., P.L.H. McSweeney. *Advanced Dairy Chemistry. Volume 2: Lipids*, 3rd edition. New York: Springer. P43- 80.
21. Peterson, D. G., J. L. Kelsey and D. E. Bauman. 2002. Analysis of Variation in cis-9, trans-11 Conjugated Linoleic Acid (CLA) in milk Fat of Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 85: 2164- 2172.
22. Popjak, G., T. H. French, G. D. Hunter and A. J. P. Martin. 1950. Mode of Formation of milk Fatty Acids from Acetate in the Goat. *The National Institute for Medical Research*.
23. Randolph, H. E. and R. E. Erwin. 1973. Influence of Mastitis on Properties of milk.
24. Ruegg, P.L. 2001. milk Secretion and Quality Standards. University of Wisconsin, Madison, USA. Availble : [http://www.uwex.edu/milk quality/PDF/ milk Secretion and Quality Standards.pdf](http://www.uwex.edu/milk%20quality/PDF/milk%20Secretion%20and%20Quality%20Standards.pdf).



25. Santos, M. V., Y. Ma and D. M. Barbano. 2003. Effect of Somatic Cell Count on Proteolysis and Lipolysis in Pasteurized Fluid milk During Shelf-Life Storage. *Journal of Dairy Science*, 86: 2491-2503.
26. Soyeurt, H. and N. Gengler. 2007. Genetic variability of fatty acids in bovine milk. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*,12(2): 203-210.
27. Viguier, C., S. Arora, N. Gilmartin, K. Welbeck and R. O'kennedy. 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trend in Biotechnology*, 27: 486- 493.
28. Vlaeminck, B., V. Fievez , A.R.J. Cabrita, A.J.M. Fonseca and R.J. Dewhurst. 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk. *Animal Feed Science and Technology*,131: 389–417 .
29. Wellenberg, G. J., W.H.M. vanderPoel and J.T. Van Oirschot. 2002. Viral infections and bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 88 : 27–45.
30. White, S. L., J. A. Bertrand, M. R. Wade, S. P. Washburn, J. T. Green and T. C. Jenkins. 2001. Comparison of fatty acid content of milk from Jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 84: 2295-2301.
31. Wong, N. P., J. Robert, K. Mark, M. Elmer. 2004. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. Aspen Publishers.



**Effect of Somatic Cell Count on Saturated Fatty Acid Profile of Raw Milk**

E. Khaleghkhah<sup>1</sup>, H. Ezzatpanah<sup>1\*</sup>, M. mashhadi akbar Boojar<sup>2</sup>, M.H. Givianrad<sup>1</sup>, S. Seifhashemi<sup>3</sup>  
and R. Motamed<sup>4</sup>

Received Date: 17/01/2013

Accepted Date:14/05/2013

**Abstract**

The most important and common disease in dairy herds is Mastitis. This disease influences the milk and milk products characteristics. The aim of this project was to study the effect of subclinical mastitis on saturated fatty acids of milk fat. After counting the somatic cells, separation, detection and determination of saturated milk fatty acids were carried out by means of GC methods. Statistical evaluations were performed using SPSS software and means were compared by the Duncan multiple range test at the 95 percent confidence level. The results indicated that there wasn't any significant difference between butyric acid, caprylic acid, capric acid and lauric acid of milk samples with low, medium and high SCC while other saturated fatty acids like caproic, myristic, pentadecanoic, palmitic and stearic were increased as the of SCC increased. Also the amount of total saturated fatty acids increased. Subclinical mastitis milk because of high saturated fatty acids such as myristic and palmitic acid can increase the risk of cardio vascular disease.

**Keywords:** Milk, Subclinical Mastitis, Somatic Cells, Short Chain Saturated Fatty Acids, Medium Chain Saturated Fatty Acids, and Long Chain Saturated Fatty Acids.

---

1- Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch of Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Biology, Faculty of sciences, University of Tarbiat Moallem, No: 49, Mofateh Avenue, P.O.Box: 15614. Tehran. Iran.

3- Shakelli Food Trading Company, No. 3, Sreet No. 49, 14.5 Km of Karaj Makhosos road, Tehran, Iran

4- Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

\*Corresponding author : (hamidezzatpanah@srbiau.ac.ir)