ผลของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสต่อการเปลี่ยนแปลงทางเสถียรภาพ และคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำนมในโคนมถูกผสมโฮลสไตน์

นางสาว ชลธิชา ศักดิ์สุวรรณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสรีรวิทยาการสัตว์ ภาควิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2541

ISBN 974-639-490-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 16989969 X

EFFECTS OF INORGANIC PHOSPHORUS ON STABILITY AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF MILK IN DAIRY CROSSBRED HOLSTEIN

Miss Cholthicha Saksuwan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Animal Physiology
Department of Physiology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1998

ISBN 974-639-490-8

Thesis title	Effects of Inorganic Phosphorus on Stability and Physicochemical Properties of Milk in Dairy Crossbred Holstein
By	Miss Cholthicha Saksuwan
Department	Physiology
Thesis Advisor	Professor Narongsak Chaiyabutr, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Somchai Chanpongsang, DVM, M.S.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

.....Dean of Graduate School
(Professor Supawat Chutiwongse, M.D.)

Thesis Committee

.....Chairman
(Associate Professor Duangnarumon Prachankhadee, Ph.D.)

.....Thesis Advisor
(Professor Narongsak Chaiyabutr, Ph.D.)

.....Thesis Co-Advisor
(Associate Professor Somchai Chanpongsang, DVM, M.S.)

.....Member
(Instructor Suthep Ruangwises, Ph.D.)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ชลธิชา ศักดิ์สุวรรณ : ผลของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสต่อการเปลี่ยนแปลงทางเสถียรภาพและคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำนมในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ (EFFECTS OF INORGANIC PHOSPHORUS ON STABILITY AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF MILK IN DATRY CROSSBRED HOLSTEIN) อ.ที่ปรึกษา: ศ.น.สพ.ดร. ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร; อ.ที่ปรึกษาร่วม รศ.น.สพ.สมชาย จันทร์ผ่องแสง; 53 หน้า.ISBN 974-639-490-8.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสต่อการเปลี่ยนแปลงทางเสถียรภาพและคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำนมในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ว่าเกิดขึ้นที่ภายในหรือภายนอกเซลต่อมน้ำนม โดยสัตว์ทดลอง 20 ตัว แบ่งตามลักษณะคุณภาพของน้ำนมเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ 75% เป็น 2 กลุ่ม สัตว์ทดลอง 10 ตัวเป็นกลุ่มที่ให้ผลบวกกับแอลกอฮอล์ ที่เหลือ 10 ตัวเป็นกลุ่มที่ให้ผลลบกับแอลกอฮอล์ โดยแต่ละกลุ่มทำการทดสอบผลของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสทั้งภายในและภายนอกตัวสัตว์ การทดลองภายในตัวสัตว์ทำการฉีดอนินทรีย์ฟอสฟอรัสเข้าหลอดเลือดดำขนาด 28.5 มก/นาที เป็นเวลาทั้งหมด 120 นาที ก่อนสิ้นสุดเวลาที่ทำการทดลอง ทำการเก็บตัวอย่างเลือดสำหรับวัดค่าความแตกต่างของความเข้มข้นของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในเลือดดำและเลือดแดง วัดค่าความแตกต่างของความเข้มข้นของอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในเลือดดำและเลือดแดงคิดเป็น เปอร์เซนต์ของความเข้มข้นในเลือดแดง และส่วนประกอบของไอออนในเลือด เมื่อสิ้นสุดการทดลองทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมเพื่อวัดเสถียรภาพของน้ำนมต่อแอลกอฮอล์ วัดความเข้มข้นส่วนประกอบในน้ำนม วัดการตกตะกอนของน้ำนม และวัดความสมดุลเกลือแร่ในน้ำนม ส่วนการทดลองภายนอกตัวสัตว์โดยการเติมอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในน้ำนมเพื่อเพิ่มความเข้มข้นจากเดิมที่ 3 ระดับ 0.1 0.5 และ 0.9 มก อนินทรีย์ฟอสฟอรัส/มล น้ำนม และทดสอบเสถียรภาพของน้ำนมเปรียบเทียบกับก่อนให้อนินทรีย์ฟอสฟอรัส

จากการทดลองพบว่าสัตว์ทั้ง 2 กลุ่ม ขณะฉีดสารอนินทรีย์ฟอสฟอรัสระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) ส่วนในกลุ่มที่ให้ผลบวกกับแอลกอฮอล์พบว่าต่อมน้ำนมมีการใช้อนินทรีย์ฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในระดับของส่วนประกอบไอออน (แคลเซียม โซเดียม โพแทสเซียม คลอไรด์ และแมกนีเซียม) ในเลือด และในการทดสอบการตกตะกอนน้ำนมโดยการไม่พบความแตกต่างของน้ำที่เหลือจากตะกอนระหว่างก่อนและหลังให้อนินทรีย์ฟอสฟอรัส ในการทดสอบเสถียรภาพของน้ำนมด้วยแอลกอฮอล์จะพบตะกอนเกิดขึ้นในกลุ่มที่ให้ผลบวกกับแอลกอฮอล์มากกว่าในกลุ่มที่ให้ผลลบกับแอลกอฮอล์อย่างมีนัยสำคัญ($P<0.01$) ส่วนในกลุ่มที่ให้ผลบวกกับแอลกอฮอล์พบว่ามีการเปลี่ยนความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการเกิดการตกตะกอนสูงขึ้นจาก 68% เป็น 75% หรือ 80% หลังการให้อนินทรีย์ฟอสฟอรัส ในระหว่างทำการให้อนินทรีย์ฟอสฟอรัสจะมีการเพิ่มระดับอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในน้ำนมทั้ง 2 กลุ่ม ส่วนค่าของระดับแคลเซียม โซเดียมโพแทสเซียม คลอไรด์ แมกนีเซียม ซิเตรต แลคโตส ไขมัน และโปรตีนในน้ำนมไม่พบการเปลี่ยนแปลงในทั้ง 2 กลุ่มยกเว้นค่าของระดับโซเดียมในกลุ่มที่ให้ผลบวกกับแอลกอฮอล์จะมีค่าลดลง ช่วงการทดลองไม่มีผลต่อระดับเคซีนในน้ำนม แต่ในกลุ่มที่ให้ผลลบกับแอลกอฮอล์พบว่ามีระดับ K-เคซีนมากกว่าในอีกกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) ระดับของสมดุลเกลือแร่ในน้ำนมไม่ได้รับผลจากการทดลองแต่จะพบว่าในกลุ่มที่ให้ผลลบกับแอลกอฮอล์มีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ให้ผลบวกกับแอลกอฮอล์อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) ส่วนการเติมอนินทรีย์ฟอสฟอรัสในน้ำนมที่ 0.1 0.5 และ 0.9 มก อนินทรีย์ฟอสฟอรัส/มล มีผลต่อเสถียรภาพของน้ำนมต่อการทดสอบด้วยแอลกอฮอล์อย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มที่ให้ผลบวกกับแอลกอฮอล์ ($P<0.01$)

จากการทดสอบครั้งนี้สรุปว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัสมีผลต่อเสถียรภาพและคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำนมในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ โดยที่อนินทรีย์ฟอสฟอรัสเป็นตัวช่วยให้โครงสร้างของเคซีนไมเซลมีเสถียรภาพซึ่งสามารถเกิดขึ้นทั้งภายในและภายนอกเซลต่อมน้ำนม โดยคุณสมบัติในการเกิดโครงสร้างเป็นเคซีนไมเซลก็ยังขึ้นอยู่กับลักษณะของวัวแต่ละตัวอีกด้วย

ภาควิชา สัตวบาล ลายมือชื่อนิสิต ชลธิชา ศักดิ์สุวรรณ

สาขาวิชา สรีรวิทยาการสัตว์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร

ปีการศึกษา 2541 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สมชาย จันทร์ผ่องแสง

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C855017 : MAJOR ANIMAL PHYSIOLOGY

KEY WORD: EFFECTS OF INORGANIC PHOSPHORUS ON STABILITY AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF MILK IN DAIRY CROSSBRED HOLSTEIN. THESIS ADVISOR : PROF.DR.NARONGSAK CHAIYABUTR DVM, MS, PhD. ; THESIS CO-ADVISOR ASSOC.PROF.SOMCHAI CHANPONGSANG, DVM, MS. 53 pp. ISBN 974-639-490-8

The objective of this investigation was to study the effect of inorganic phosphorus (P_i) on stability and physicochemical properties of milk whether its effect occurred intracellular or extracellular of mammary gland of crossbred Holstei Friesians. The 20 animals were divided into 2 groups depend on their milk quality test with 75% EtOH. Ten animals were assigned to positive EtOH test group. Other ten animals were assigned to negative EtOH test group. Experiments in each group were carried out both in vivo and in vitro. In in vivo study, animals received P_i 28.5 mg/min throughly 120 minutes of experimental period. Before the end of experimental period, blood sample was collected for mammary A-V difference, mammary extraction ratio and blood electrolyte concentration. The end of experimental period, milk was collected for milk stability test by ethanol (EtOH), milk composition, milk precipitation and the soluble salt balance (SSB) of milk. In in vitro study, an addition of P_i were performed at 3 levels of P_i 0.1,0.5 and 0.9 mg/ml milk. After P_i addition, milk sample was carried out for stability test to compared with that of milk before Pi addition.

During P_i solution infusion, animals in both groups showed significantly higher of plasma P_i concentration ($P<0.01$). Animals with the positive EtOH test showed a higher mammary A-V difference and mammary extraction ratio of P_i. Plasma electrolyte concentrations for Ca, Na, K, Cl and Mg were not affected by P_i solution infusion. The precipitation value of normal milk showed no differences of the optical density between before and after P_i infusion in each group. During testing the stability of milk with EtOH the occurrence of precipitation in the positive EtOH test was more than that of the negative EtOH test ($P<0.01$). A shift to higher stability from 68% to 75% or 80% were apparent after P_i infusion in positive EtOH test. During P_i infusion, the P_i concentration in milk markedly increased in both group. After P_i infusion, milk compositions of the positive EtOH test were in normal range as in the negative EtOH test exception for the milk Na concentration. P_i solution infusion did not affect to the fraction of casein concentration. The negative EtOH test had significant higher of κ-casein concentration in milk than the positive EtOH test . The SSB were not affected by P_i infusion in both groups. The SSB of the negative EtOH test showed significant lower ($P<0.01$) when compared to the positive group. The addition of P_i in milk at 0.1,0.5 and 0.9 mg P_i/ml milk would affect the stability of milk to EtOH test ($P<0.01$) in the positive EtOH testing group.

From these results, it may conclude that P_i affected the stability and physicochemical properties of milk in dairy crossbred Holstein. P_i support the structure of casein micelle either in intracellular or extracellular of mammary tissue. However, the physicochemical properties of milk and micelle forming are dependent on the property of each casein formation of individual animal.

ภาควิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต ชลธิชา ศักดิ์รุ่งวรณ

สาขาวิชา สรีรวิทยาทางสัตวแพทย์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2541 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deep gratitude to my advisor, Professor Dr. Narongsak Chaiyabutr and my co-advisor, Associate Professor Somchai Chanpongsang for their helpful consultation and guidance.

My thanks also expressed to the thesis committee for their valuable suggestions.

I am also indebted to experiment cows from Somboon Farm, Chonburi and Veterinary Practicing Farm, Chulalongkorn University which bring me to succeed in my study.

My thanks would also express to Division of Biochemistry, Department of Physiology, Department of Animal Husbundry, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Queen Sauvabha Memorial Institute Thai Red Cross Society and funding in part by Thai Research Fund for provision the facilities used in experimental works.

My warmest thanks must go to Mr.Pibul Boonpimol and Miss Hathaithip Phark-insee for their helpfulness.

My sincere and warm appreciation is expressed to Miss Siripen Komolvanich and Dr. Sumpan Preuksakorn for their kindness and technical suggestion.

Finally, I am deeply grateful to my parents and my brother for their kind encouragement throughout my study period and my life.

TABLE OF CONTENTS

Page

THAI ABSTRACT.....iv

ENGLISH ABSTRACT.....v

ACKNOWLEDGEMENT.....vi

TABLE OF CONTENTS.....vii

LIST OF TABLES.....ix

LIST OF FIGURES.....x

ABBREVIATION.....xi

CHAPTER

I. INTRODUCTION AND AIM.....1

II. BACKGROUND INFORMATION.....4

1. Milk synthesis.....4

2. Milk protein synthesis and secretion.....4

3. Physicochemical properties of casein.....7

4. Phosphorus.....9

5. Effect of phosphorus on phosphorylation of casein.....10

6. Effect of phosphorus on structure and stability of casein.....11

III. MATERIALS AND METHODS.....15

1.Animals.....15

2. Experimental procedures.....15

3. Determination of mammary arteriovenous difference and mammary extraction ratio of P_i and Ca.....19

4. Determination of the stability of milk.....20

5. Determination of the precipitation of milk.....20

6. Determination of the protein concentration in milk 21
7. Determination of the lactose concentration in milk 21
8. Determination of the fat concentration in milk..... 22
9. Determination of the citrate concentration in milk 22
10. Determination of the α,β and κ-casein concentration in milk.....23
11. Determination of electrolyte concentration in blood and milk samples.....24
12. Calculation 24
13. Statistic analysis 25

IV. RESULTS

1. The arterial plasma Pi concentration during continuous infusion of Pi solution.....26
2. Effect of P_i solution infusion on mammary arteriovenous difference and mammary extraction ratio of Pi and Ca ions.....27
3. Effect of P_i solution infusion on the arterial plasma Na, K, Cl and Mg concentrations.....29
4. Effect of P_i solution infusion on the precipitation of milk. 30
5. Effect of P_i solution infusion on the EtOH stability of milk.....31
6. Effect of P_i solution infusion on the concentrations of Pi, Ca, Na, K, Cl , Mg, citrate, lactose, fat and protein in milk.....32
7. Effect of P_i addition (0.1, 0.5 and 0.9 mg P_i/ml) on the EtOH stability of milk from the *in vitro* study..... 34
8. Effect of P_i solution infusion on the α, β and κ-casein concentration.....36
9. Effect of P_i solution infusion on the soluble salt balance of milk 40

V. DISCUSSION 42
REFERENCES.....47
BIOGRAPHY..... 53

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table **Page**

1. Effect of Pi solution infusion on the plasma concentration, mammary arteriovenous difference and mammary extraction ratio of Pi and Ca.....28
2. Effect of Pi solution infusion on the arterial plasma Na, K, Cl and Mg concentrations 29
3. Effect of Pi solution infusion on the precipitation of milk 30
4. Effect of Pi solution infusion on the EtOH stability of milk by optical density measurement.....31
5. Effect of Pi solution infusion on the concentrations of Pi, Ca, Na, K, Cl , Mg, citrate, lactose, fat and protein in milk.....33
6. Effect of Pi addition (0.1,0.5 and 0.9 mg P_i/ml) on the EtOH stability of milk from the *in vitro* study.....34-35
7. Effect of Pi solution infusion on the α,β and κ-casein concentrations 40
8. Effect of Pi solution infusion on the soluble salt balance of milk 41

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF FIGURES

Figure **Page**

1. Protein synthesized on the endoplasmic reticulum conveyed to the golgi apparatus and aggregation to casein in micelle and release by reverse pinocytosis.....6
2. Transport mechanism for milk salt and other components between the cytosol of secretory cell and the inside of golgi vesicle.....13
3. Schematic representation of submicelle (A) and a casein micelle, composed of submicelle in a spherical form (B).....14
4. Diagram of experiment in *in vivo* study.....17
5. Diagram of experiment in *in vitro* study.....19
6. Changes the arterial plasma concentration of P_i during infusion of Pi solution (28.5mg/min) in animals of both the positive and the negative EtOH testing group.....26
7. Photograph showing the casein seperation to α-casein, β-casein and κ-casein by SDS-PAGE in the positive EtOH testing group.....37
8. Photograph showing the casein seperation to α-casein, β-casein, κ-casein and standard MW by SDS-PAGE in positive EtOH testing group....38
9. Photograph showing the casein seperation to α-casein, β-casein and κ-casein by SDS-PAGE in the negative EtOH testing group.....39

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ABBREVIATION

A-V	Mammary arteriovenous difference
A-V/A x 100	Mammary extraction ratio
ml.	milliliter
µl	microliter
L	liter
mg.	milligram
µg	microgram
mg%	milligram/100 milliliter
gm%	gram/100 milliliter
MW	molecular weight
mM	millimole
nm	nanometer
EtOH	ethanol
min	minute
OD	Optical density
P_i	inorganic phosphorus
Ca	calcium
Na	sodium
K	potassium
Cl	chloride
Mg	magnesium
CMT	California mastitis test
mA	milliampere

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย