

東海大學畜產與生物科技學系  
Department of Animal Science and Biotechnology  
Tunghai University

# 碩 士 論 文

## Master Thesis

指導教授：周繼發博士  
Advisor : Chi-Fa Chow, Ph. D.

低黃嘌呤氧化酶活性及延長保存期

HTST 鮮乳之製造

## **Study on Manufacturing the Low Xanthine Oxidase Activity and Extend Shelf Life HTST Fresh Milk**

研究生：黃泰穎 撰  
Graduate Student : Tai-Ying Huang

中華民國一百零五年十月

October, 2016

低黃嘌呤氧化酶活性及延長保存期

HTST 鮮乳之製造

**Study on Manufacturing the  
Low Xanthine Oxidase Activity and  
Extend Shelf Life HTST Fresh Milk**

碩士論文

Master Thesis

黃泰穎

Tai-ying Huang

東海大學畜產與生物科技學系

Department of Animal Science and Biotechnology

Tunghai University

中華民國一百零五年十月

October, 2016

# 誌謝

本論文之完成承蒙恩師 周繼發教授於專業領域悉心提點與指導，指正我思考與邏輯的方向，讓學生於專業領域知識與技術上有更深入之了解與應用，著實受益良多，且老師對於學術研究上之熱忱、嚴謹與對於待人處世上之真誠，實為學生一生之榜樣。在求學與研究過程中，感謝老師不厭其煩的指導學生解決實驗與論文中之困惑與盲點，使能順利完成此論文，在此致上由衷的敬意與謝忱。文稿初成，復蒙口試委員王家宇教授以及何若瑄教授撥冗審閱，並於口試期間提供精闢之見解與寶貴之建議，使本論文不足處能更加完整完善，特此謹致謝忱。

於求學期間，感謝系上所有師長在各領域上的教導，讓我對所學有更深入的了解。昱韶與承甫學長於實驗室的指導及互助協力。正因為有你們的幫忙，讓我在研究所生活中增添許多有意義與美好的回憶。

最後，謹以此論文獻給我最敬愛的父母與親愛的家人們，感謝你們大家在我讀研究所期間無怨無悔的付出與關心，最後，真摯的感謝所有給予我幫助、支持、打氣朋友及貴人，泰穎在此由衷感謝所有的人。

# 目次

## 頁次

I、中文摘要.....	1
II、前言.....	2
III、文獻回顧.....	4
IV、材料與方法.....	33
V、結果與討論.....	47
VI、結論.....	57
VII、參考文獻.....	58
VIII、英文摘要.....	68
IX、作者小傳.....	69

# 表次

## 頁次

表 1. 黃嘌呤氧化酶活性於正常腦組織與腦瘤組織中腦膜瘤及星形 細胞瘤之比較.....	20
表 2. 牛奶中黃嘌呤氧化酶、鹼性磷酸酶和酸性磷酸酶組成活性 分佈.....	21
表 3. 牛乳的組成成分及大小.....	26
表 4. 硫酸銨飽和濃度表.....	38

# 圖次

## 頁次

圖 1. 牛乳之成分.....	5
圖 2. 黃嘌呤氧化還原酶之催化反. ....	10
圖 3. 黃嘌呤氧化還原酶與黃嘌呤之作用機制.....	11
圖 4. 黃嘌呤氧化酶催化黃嘌呤之作用機制.....	12
圖 5. 氧氣對於 XOR 最終電子接受者之產物的影響.....	14
圖 6. 缺血再灌流傷害發生原因之作用機轉.....	19
圖 7. 各分離程序對於可過濾物質及孔徑大小分佈圖.....	23
圖 8. 牛乳的成分大小和其所對應之膜過濾.....	27
圖 9. 垂直膜過率及掃流過濾圖.....	28
圖 10. 不同方法所產生之阻塞.....	30
圖 11. 微過濾套組.....	34
圖 12. 實驗自製不鏽鋼漿片模型.....	35
圖 13. 尿酸標準曲線圖.....	39
圖 14. 乳脂經 121°C, 30 min 後結塊與回溶於水之情形...	41
圖 15. 黃嘌呤氧化酶測定流程圖.....	43
圖 16. 生乳與微過濾處理脫脂乳體細胞數之比較.....	48
圖 17. 生乳微過濾處理前、後成分含量之比較.....	49

## 頁次

- 圖 18. 於 4°C 貯存 29 天各乳樣品之總生菌數..... 51
- 圖 19. 於 4°C 貯存 21 天其生乳、熱處理乳油 3%HTST 鮮乳及熱  
處理乳油 3%微過濾 HTST 鮮乳滴定酸度之變化..... 53
- 圖 20. 乳油無處理 3%標準化 HTST 鮮乳、乳油熱處理 3%標準化  
HTST 鮮乳及乳油熱處理 3%MF-HTST 鮮乳尿酸生成量之  
比較..... 54
- 圖 21. 低黃嘌呤氧化酶活性及延長保存期 HTST 鮮乳製造流程  
示意圖..... 56

# I、中文摘要

在牛乳品質方面，經過脫脂以及 1.5 $\mu$ m 濾膜微過濾後，體細胞 (somatic cell) 方面由生乳的 48.121 萬/mL 過濾後下降到 0.743 萬/mL，有效提高了牛乳品質。營養成分方面使用微過濾處理後之脫脂生乳其總蛋白質含量雖略有下降 (0.02-0.04%)，但蛋白質成分和比例則不變；乳糖及無脂固形物則與過濾前之差異不顯著。在貯存期方面為經熱處理乳油再標準化之 HTST 處理之鮮乳於 4°C 下可延長貯存期至 14 天。20%含脂率之乳油經均質及 121°C, 15min 熱處理後，再回填至脫脂生乳經標準化為 3%微過濾 HTST 鮮乳(3%MF-HTST)之結果顯示，黃嘌呤氧化酶活性皆顯著低於乳油無熱處理組 (P<0.05)，且可將貯存期延長至 21 天。綜上所述，欲降低乳中黃嘌呤氧化酶活性及延長 HTST 鮮乳之保存期，宜將分離之乳油以商業滅菌處理再回填至經微過濾脫脂生乳中，續以 HTST 處理可將黃嘌呤氧化活性降至最低，並宜作為改善現行牛乳加工程序以製造低活性黃嘌呤氧化酶及延長貯存期之 HTST 鮮乳之參考。

## II、前言

牛乳與乳製品是人類日常食品中富含各種營養素最均衡之食品。生乳中含有許多體細胞(somatic cells)以及孢子菌(spore bacteria)，致使牛乳貯存過程中之變質，因此藉由熱處理可達到殺菌的效果而使貯存期延長；市面上較常見鮮乳的熱處理方式有高溫短時間殺菌法(high temperature short time；HTST, 72°C, 15S)以及超高溫瞬時滅菌(ultra high temperature；UHT, 132°C, 2S)兩種 (Olesen and Jensen, 1989)，主要差異在於 HTST 法的殺菌條件為殺滅結核菌、傷寒菌等病原菌 (Olesen and Jensen, 1989)，促使乳原料中酵素失活，但耐熱產芽孢菌(thermoduric spore bacteria)或耐熱性菌(thermoduric bacteria)仍可能殘留，故而 HTST 法貯存期較 UHT 法短。UHT 法顯然比 HTST 法殺菌效果佳，近乎商業上的無菌狀態，但對乳成分中熱敏感的部分則破壞較大。目前國內市售鮮乳的貯存期限為 HTST 產品貯存期約 7-9 天，而 UHT 約兩周。

乳油更是常被作為製造冰淇淋或乳酪 (butter)之原料，以及其他相關乳油製品而使用，唯牛乳與乳油中含有豐富的黃嘌呤氧化酶(xanthine oxidase)，目前雖然無明確證據顯示牛乳中豐富的黃嘌呤氧化酶與人類心血管疾病有直接相關，但世界衛生組織統計指出，飲用乳品數量愈高的國家，其心血管疾病發生率確實亦較一般國家來的高，

並且有文獻指出飲用經均質處理過的鮮乳後，會使人體內血液中黃嘌呤氧化酶之活性從無到被偵測出有活性的程度，顯示出均質化後黃嘌呤氧化酶伴隨微細化之乳脂肪球，經由腸道直接吸收，而於人體血液內依然具備活性且發揮作用 (Mccarthy and Long, 1976; Ho and Clifford, 1977; Clifford *et al.*, 1983; Michalski *et al.* 2006)。

現今國人對於食物安全議題的重視，縱使在牛乳加工技術日益成熟的今天，人們依然對牛乳與乳製品對人類健康之影響存有疑慮 (Huth *et al.*, 2006; Jenkins and McGuire, 2006; Claeys *et al.* 2014)。本研究擬針對生乳進行微過濾及降低全脂均質鮮乳中黃嘌呤氧化酶活性之處理進行探討，並期望能製成保存期能與 UHT 鮮乳相同，且更具乳營養保存性及低黃嘌呤氧化酶活性之 HTST 鮮乳。

# III、文獻回顧

## 一、生乳一般化學組成分

牛乳主要成分包括碳水化合物、脂肪、礦物質、水分與蛋白質等均衡之營養素，除可提供個體生長所需之高營養價值食品，目前為國人廣泛攝取營養來源之一(圖 1)(張，1983)，茲分別敘述如下。

### (一) 蛋白質

牛乳中含有 2.8%~4.0%之蛋白質，為一極複雜之有機化合物(張，1983)。由於牛乳蛋白質決定了牛乳其加工特性及高營養價值，蛋白質含量主要受乳牛個體之遺傳因子所影響，但仍會依季節、泌乳期、飼料與泌乳牛本身健康狀況之不同而改變。現今已知牛乳中蛋白質主要係以下列六種蛋白質為主，分別為  $\alpha_{S2}$ -酪蛋白 ( $\alpha_{S2}$ -casein； $\alpha_{S2}$ -CN)、 $\alpha_{S1}$ -酪蛋白 ( $\alpha_{S1}$ -casein； $\alpha_{S1}$ -CN)、 $\alpha$ -乳白蛋白 ( $\alpha$ -lactalbumin； $\alpha$ -LA)、 $\beta$ -酪蛋白 ( $\beta$ -casein； $\beta$ -CN)、 $\beta$ -乳球蛋白 ( $\beta$ -lactoglobulin； $\beta$ -LG)、與  $\kappa$ -酪蛋白 ( $\kappa$ -casein； $\kappa$ -CN)，約佔整體蛋白質之 90%左右，其餘 10%微量者為  $\gamma$ -酪蛋白 ( $\gamma$ -casein； $\gamma$ -CN)、牛乳血清白蛋白 (bovine serum albumin；BSA)、免疫球蛋白 (immunoglobulin)、乳鐵蛋白 (lactoferrin)、蛋白(月示)；蛋白腓 (proteose；peptones)及乳過氧化酶 (lactoperoxidase) 等。

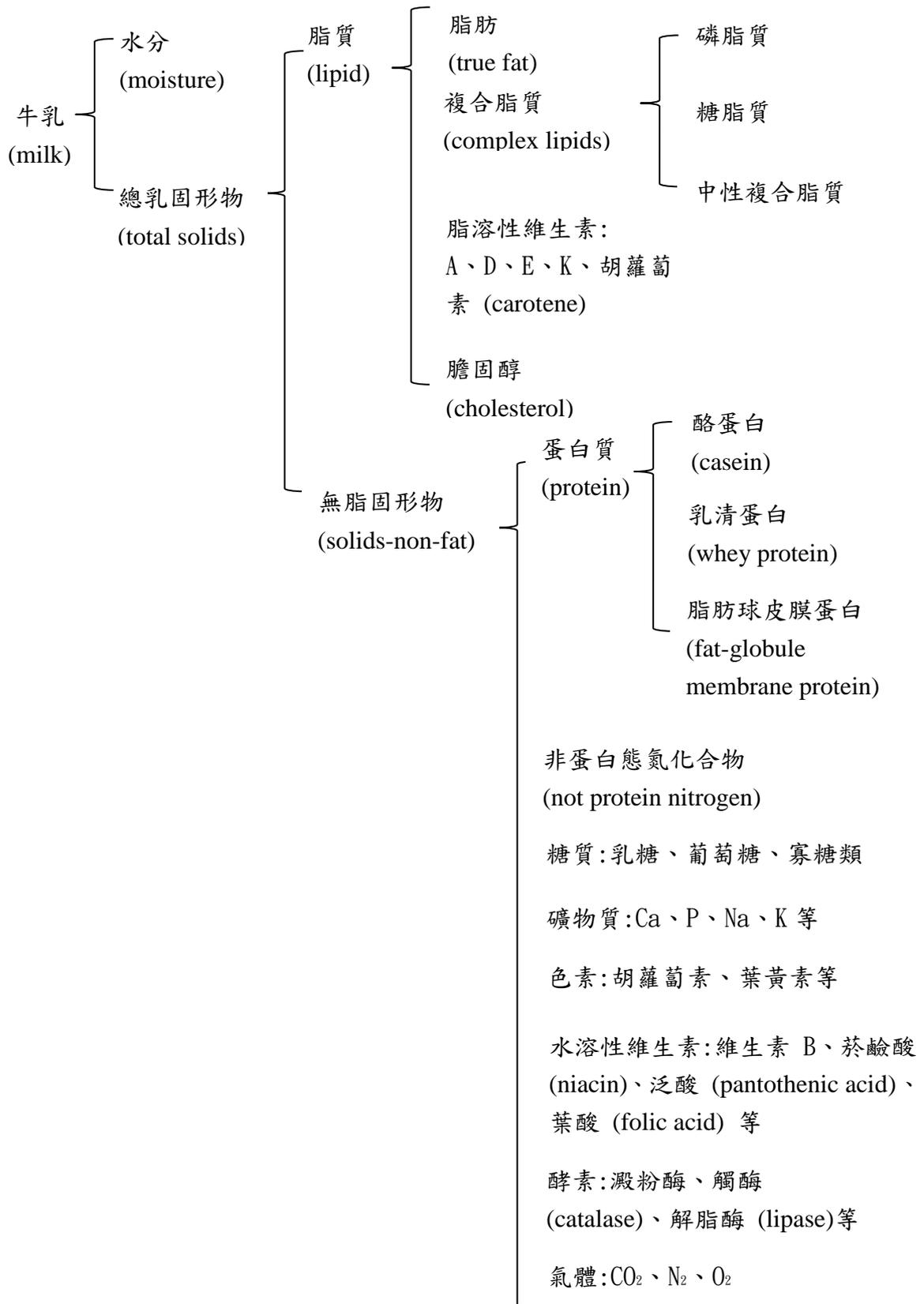


圖 1. 牛乳之成分。

Fig. 1. The composition of milk.

(張, 1983)

## (二) 乳脂肪

牛乳脂肪係以微細的乳糜狀態 (emulsion) 分散於牛乳之中，其不僅與牛乳風味有關，亦為乳油、乾酪 (cheese)、乳酪 (butter) 等之主要成分，一般佔牛乳含量的 3~5% (林，2008)。牛乳於泌乳期中分泌出無數個大小約為 0.1~25  $\mu\text{m}$  之脂肪球，每 mL 生乳約含 3,000-4,000 百萬顆。這些微細脂肪球係由一特殊的外膜所包覆，其膜是由雙層磷脂質與蛋白質所構成，因此將這些膜定義為乳脂肪球膜 (milk fat globule membrane ; MFGM) (Spitsberg, 2005 ; Morin *et al.*, 2007)。乳脂肪中主成分大多為三酸甘油酯，少數二酸甘油酯與一些脂溶性化合物。

## (三) 碳水化合物

牛乳中之碳水化合物大部分為乳糖及極微量之葡萄糖等各種醣類。就含量而言，乳糖占總碳水化合物之 99.8% 以上。

牛乳之乳糖含量通常為 4.1~5.0% 範圍，平均 4.5%，其含量受個體差異、牛乳品種及其他多數因子影響。一般含脂肪高之牛乳，乳糖亦高，而乳房健康狀態為影響乳糖含量之最大因素。

牛乳之甜味均源於乳糖，而其甜味約為蔗糖 1/5。於乳中呈現游離狀態，而僅約 0.5% 與蛋白質呈微弱結合。此非透析性乳糖將由加熱而增加，為造成牛乳及乳製品褐化的最大原因。而其溶解性比較低，故

乳糖之結晶化對煉乳及冰淇淋之品質，或凍結乳之安定性有很大的影響(張，1983；林，2008)。

#### (四) 無機質

牛乳中無機質含量約為 0.35%~1.21%，平均 0.7% 左右。主要為磷、鈣、鎂、氯、硫、鐵、鈉、鉀等。此外還有微量之碘、銅、錳、矽、鋁、氟、溴、鋅、鈷、鉛等。其含量及成分比率受到泌乳期、飼料以及健康狀況的影響(林及李，1979；Lopey *et al.*, 1985)。

#### 二、黃嘌呤氧化還原酶

黃嘌呤氧化還原酶 (xanthine oxidoreductase; XOR)，最早於 1902 年由 Schardinger 在牛乳中所發現之酵素。在牛乳中具有兩種可互相轉換之型態，一種是黃嘌呤氧化酶(xanthine oxidase; XOase)，另一種則為黃嘌呤脫氫酶 (xanthine dehydrogenase; XDH)，兩者間的差異為 XOase 只能還原氧，而 XDH 除了能還原氧之外，亦可還原  $\text{NAD}^+$ ，但是兩種型式皆能將黃嘌呤再轉化成尿酸 (uric acid) 及催化次黃嘌呤 (hypoxanthine) 轉化成黃嘌呤 (xanthine) (Stirpe and Della Corte, 1969; Waud and Rajagopalan, 1976; Hille and Nishino, 1995; Harrison, 2002; Berry and Hare, 2004; 陳, 2007)。黃嘌呤氧化酶於 1955 年由 Avis *et al.* 將此酶單離、結晶純化，且此酶主要存在於牛乳之乳脂肪球膜中，於人、馬、豬乳中被發現的含量極低 (Trotta *et al.*, 1976; 林, 1978; Spitsberg and Gorewit, 1998; Özer *et al.*, 1999)。黃嘌呤氧化酶為

一含鈾之酵素，在一般的牛乳中含量為 90-160 mg/L，其主要存在於乳脂肪球膜中 (Harrison, 2006; Singh, 2006)，而牛乳內源性之黃嘌呤氧化酶在 90.5°C, 15 sec 應可完全失活，但因脂肪球膜受到均質及加熱殺菌過程中，會吸附酪蛋白微粒於球膜表面而受到保護 (張, 1983; Michalski *et al.*, 2002; Michalski and Januel, 2006; Claeys *et al.* 2014)，故一般殺菌溫度並無法使其完全失去活性，而於鮮乳銷售期會有部分活性恢復之性質 (張, 1983)。

#### (一)黃嘌呤氧化還原酶之特性與催化反應機制

Nishino 團隊曾在 2000 年時，利用 X-ray 解析出牛乳中黃嘌呤氧化還原酶之結構，並證實牛乳中黃嘌呤氧化酶與老鼠及人類皆有相似的胺基酸序列 (Enroth *et al.*, 2000)。而黃嘌呤氧化還原酶在生物體中，分子量約為 290 KDa，以均相二聚體 (homodimer) 形態存在。在各組織正常活動下，大部分以黃嘌呤脫氫酶 (xanthine dehydrogenase, XDH) 型態存在，但當在無氧 (anaerobiosis)、冷凍 (-20°C)、加熱 (37°C) 或進行限制蛋白分解作用 (limited proteolysis) 處條件下時，XDH 就會轉化成具氧化作用的黃嘌呤氧化酶 (Stirpe and Corte, 1969; Mendel, 1983; 曹, 1997; Berry and Hare, 2004)。兩種型態的催化反應均牽涉到相似的受質，但其差異為它們有不同的電子接受者 (electron acceptor)，黃嘌呤氧化酶是以 O<sub>2</sub> 作為電子接受者，黃嘌呤脫氫酶則

是以  $\text{NAD}^+$  作為電子接受者；而當兩種型態同時存在時，可以同時以  $\text{O}_2$  及  $\text{NAD}^+$  為電子接受者，如圖 2 所示（曹, 1997; Enroth *et al.*, 2000; Harrison, 2002; Berry and Hare, 2004; Silanikove *et al.*, 2005; Boueiz and Hassoun, 2008）。黃嘌呤氧化酶有無活性，主要取決於其結構上的金屬鉬(Molybdenum; Mo)原子，根據文獻顯示，在哺乳動物乳汁中，如羊乳、牛乳、人乳等，不論何種乳汁中，若其 XOase 上缺乏 Mo 元素，或酵素中心的 Mo 上鍵結之硫原子被替換成氧原子時，則會使酵素失去活性。簡言之，XOase 上的有無 Mo 以及 Mo 上是否鍵結硫原子，皆會影響酵素本身的活性（Benboubetra *et al.*, 2004; Egwim *et al.*, 2005; Godber *et al.*, 2000）。如前述黃嘌呤氧化還原酶之兩種型態皆能催化次黃嘌呤轉化成尿酸及黃嘌呤轉化成黃嘌呤，其氧化與還原之半反應如圖 3 所示。氧化態的黃嘌呤氧化酶，可催化如嘌呤、嘧啶或含有醛基之受質，其藉由輔酶間的電子傳遞來催化受質中的烷基 (R-H) 氧化成醇基 (R-OH)，其羥基化反應為（陳, 2005）：



圖 4 中說明黃嘌呤氧化酶進行還原反應時，其位置是發生在 Mo-Co 位置上，其氧化態的 Mo (VI) 接受了受質 xanthine 所釋出的兩個電子形成轉變成還原型態的 Mo (IV)，而受質形成產物 uric acid 後

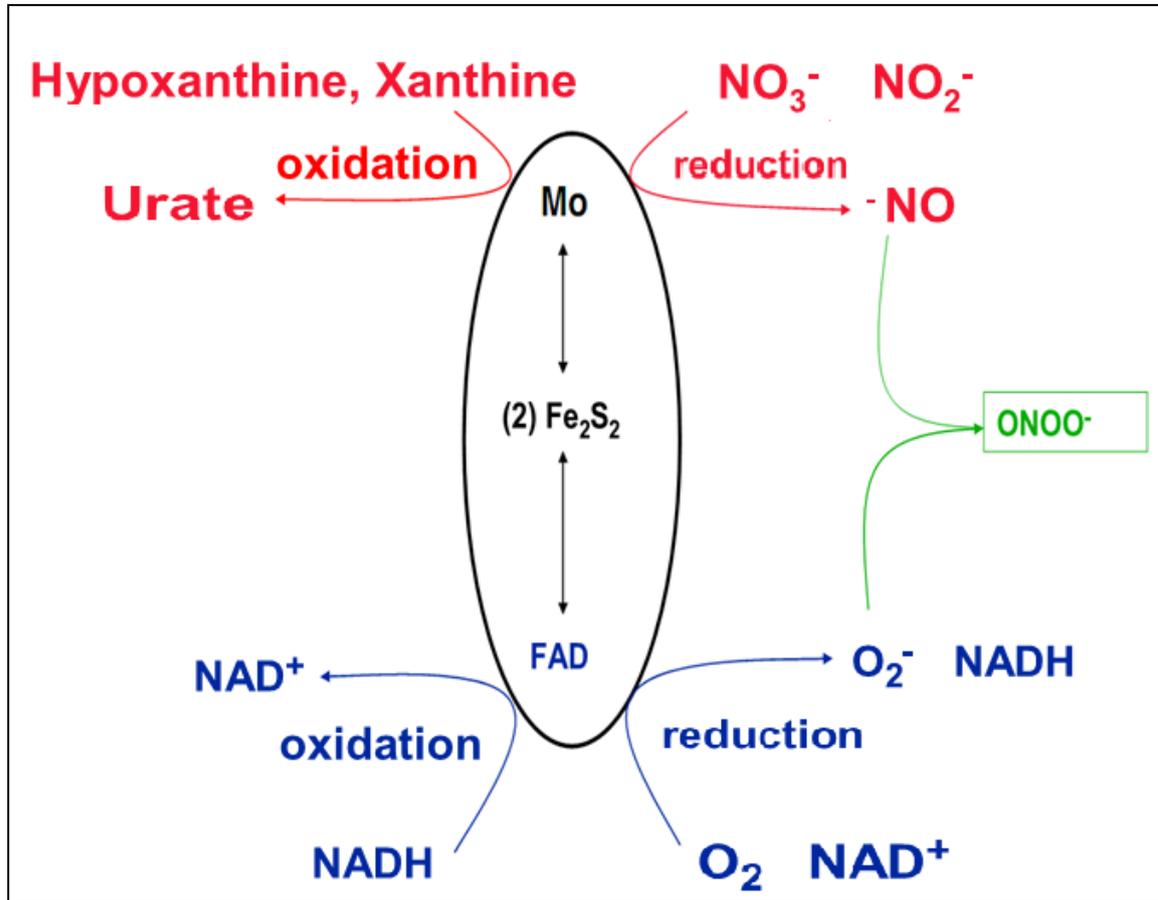


圖 2. 黃嘌呤氧化還原酶之催化反應。

Fig. 2. The reaction catalyzed by xanthine oxidoreductase.

(Boueiz and Hassoun, 2008. Cited by 徐, 2016)

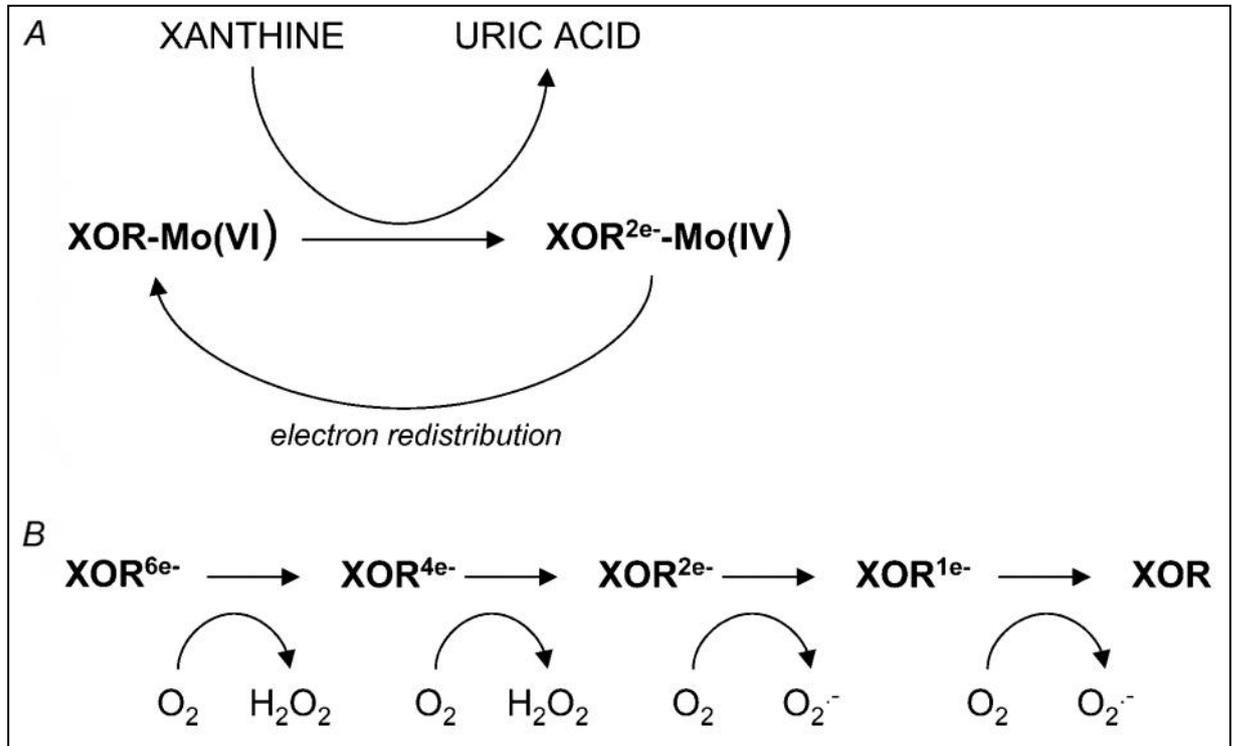


圖 3. 黃嘌呤氧化還原酶與黃嘌呤之作用機制。A.為還原半反應；  
B.為氧化半反應。

**Fig. 3. Mechanism of XOR reaction with xanthine. A, reductive half-reaction. B, oxidative half-reaction.**

(Berry and Hare, 2004)

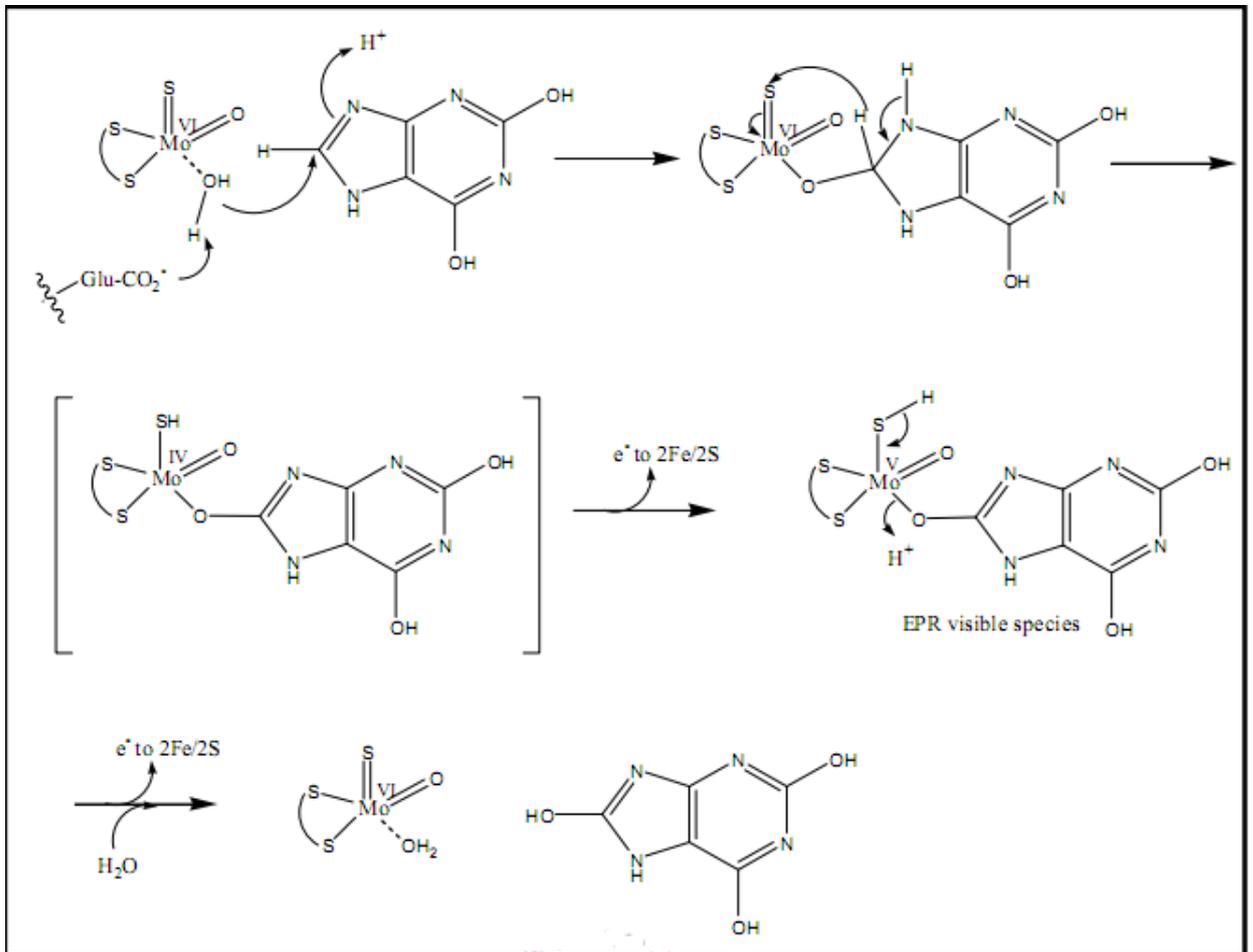


圖 4. 黃嘌呤氧化酶催化黃嘌呤之作用機制。

Fig. 4. Mechanism of Xanthine oxidase reaction with xanthine.

(Hille, 1996. Cited by 徐, 2016)

離開，之後 XOase 經分子內的電子傳遞 (intraenzyme electron transfer)，將電子傳給  $\text{Fe}_2/\text{S}_2$  (I)，再傳到  $\text{Fe}_2/\text{S}_2$  (II)，接著傳遞至 FAD，使 FAD 生成  $\text{FADH}_2$ ，最後由氧氣接受兩個電子形成  $\text{O}_2^-$  (superoxide) 及過氧化氫 (hydrogen peroxide,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 等自由基 (free radicals)，因此黃嘌呤氧化酶之催化主要是藉由氧化與還原之半反應，在 Mo-pt 進行還原半反應；在  $\text{FADH}_2$  進行氧化半反應 (Bray *et al.*, 1964; 黎, 2004; 陳, 2007; Kelley *et al.*, 2010)。此外，圖 5 也說明氧氣透過 XO 的催化反應而接受電子後之產物，取決於環境中氧氣濃度的多寡來決定其產物會形成  $\text{O}_2^-$  或是  $\text{H}_2\text{O}_2$ ，當厭氧環境且受質嘌呤濃度達飽和的情況下，氧氣接受電子後易形成  $\text{H}_2\text{O}_2$ ；隨著環境中氧氣濃度的增加會使最終產物偏向形成  $\text{O}_2^-$  (Kelley *et al.*, 2010)，而這些自由基均將會對動物健康產生不良影響。

## (二)生理功能與相關疾病之關係

於人體中黃嘌呤氧化酶在肝臟及空腸 (jejunum) 含量最多，在活體組織內，主要負責的是嘌呤類物質的代謝，其將次黃嘌呤氧化成黃嘌呤，再將黃嘌呤氧化成尿酸。正常生理狀態下，黃嘌呤氧化酶並不會在人體血液之中 (黃, 2013)。當黃嘌呤被轉為尿酸之過程中會釋放超氧化自由基，因而被推斷與許多人類疾病的發生機制產生關聯。此外，亦有研究顯示黃嘌呤氧化酶與其另一種形式之黃嘌呤脫氫酶在

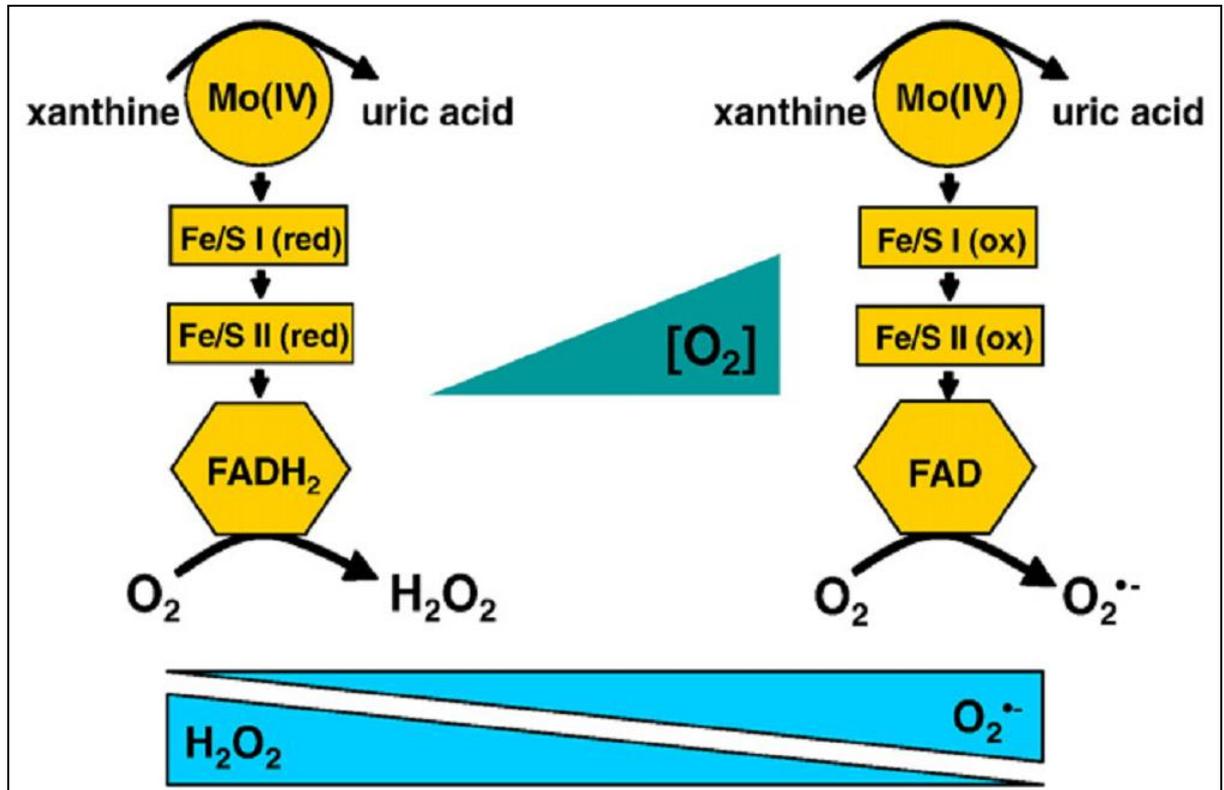


圖 5. 氧氣對於 XOR 最終電子接受者之產物的影響。

Fig. 5. Effect of O<sub>2</sub> in XOR reaction with the last electron acceptor of product.

(Kelley *et al.*, 2010)

小腸與肝臟中對於鐵的吸收與代謝均扮演重要之角色 (Mazur and Carleton, 1965; Dawson *et al.*, 1970; Martelin *et al.*, 2002)。與黃嘌呤氧化酶直接有相關的疾病包含痛風 (gout)、心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD)、缺血再灌流傷害 (ischemia-reperfusion injury)、腦瘤 (brain tumor) (張, 2009) 等，茲逐一簡述如後。

## 1. 痛風

痛風一詞源自於拉丁文 Guta，係指一滴滴有害體液所造成關節受傷害，主要是由於血液中尿酸結晶 (urate crystals) 沉積於關節之結締組織 (connective tissues) 中，嚴重時可能會沉積到身體各部位，包括軟骨、皮下組織以及腎臟等，為一種急性且反覆發作之疾病且主要好發於 40 歲以上成年男子與停經後婦女。尿酸之產生主要是由細胞代謝分解的核酸及其他嘌呤類及食物中的嘌呤經黃嘌呤氧化酶轉化而來。人體中嘌呤類之代謝主要在肝臟、小腸以及腎臟中進行。尿酸結晶的產生主要是由於血液中尿酸濃度過高所導致，約有 85% 的痛風症狀是發生於大腳趾關節上。痛風在臨床上主要包含急性痛風性關節炎、無症狀高尿酸血症、痛風性腎臟病變、慢性痛風性關節炎以及尿路結石等，其中高尿酸血症在臨床上無明顯症狀 (顏, 1997; Fang and Alderman, 2000; Yu and Luo, 2003; Janssens *et al.*, 2006; Yu, 2007) ，

但亦有研究指出高尿酸血症與心血管疾病死亡率呈現正相關，且亦為影響缺血性中風、糖尿病與高血壓之獨立危險因子（黃, 2012）。

## 2. 心血管疾病

心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 係指心臟、冠狀動脈以及腦血管方面病變之總稱。主要包含高血壓、腦中風、冠心症、心臟麻痺、心肌梗塞、出血性心臟衰竭(coronary artery disease, CAD)、缺血性心臟病 (ischemic heart disease)、高膽固醇血脂 (hypercholesterolemia)、周邊血管疾病以及動脈粥狀硬化症 (atherosclerosis) 等。根據行政院衛生署公布 104 年國人十大主要死因順序其中心血管與腦血管疾病分別佔第二與第三名，可見其防治之重要性。而造成心血管疾病之主因在於動脈病變，而動脈病變中有 70% 是由於血管阻塞形成血栓 (fibrin) 所致，另外 30% 則是因血管硬化導致心臟衰竭。一般血液中出现血栓時，血纖維蛋白溶解酶 (fibrin plasmin) 可直接將其溶解，然而如黃嘌呤氧化酶經腸道直接被吸收進入血液中時，會促使血纖維蛋白溶解酶之前驅物血纖維蛋白溶酶元 (fibrin plasminogen) 無法合成血纖維蛋白溶解酶，即無法溶解血栓，進而導致血管壁失去平滑性，引起血管粥狀化之病變。此外，有研究指出，不論是冠心病、高血壓、高膽固醇血脂與動脈硬化者，其內皮或血清中之黃嘌呤氧化酶活性，皆較一般正常者要高（施與范, 2001;

Doehner *et al.*, 2002; Landmesser *et al.*, 2002; Spiekermann *et al.*, 2003; Spitsberg, 2005; Doehner and Landmesser, 2011; Puddu *et al.*, 2012)。

### 3. 缺血再灌流傷害

缺血 (ischemia) 是指身體的局部因血管堵塞或其他原因所造成缺血之現象。再灌流 (reperfusion) 為短暫時間的缺血後，重新將血液導入該段血管之情形。缺血性再灌流傷害指的是通常在心肌梗塞、中風以及外科手術的過程中，均會有短暫性缺血現象發生，在缺血過程中組織無法獲得氧氣，進而細胞會快速代謝 ATP (速率為正常狀態下之 18 倍)，同時會產生大量之次黃嘌呤 (hypoxanthine)，此外黃嘌呤脫氫酶則又因缺氧而經蛋白質水解轉變成黃嘌呤氧化酶，此際黃嘌呤氧化酶以及次黃嘌呤所累積的量與活性即會隨著時間而增加，當血液重新再灌流回組織細胞中時，大量的黃嘌呤氧化酶與次黃嘌呤會快速反應，產生大量的超氧陰離子 ( $O_2^-$ ) 與  $H_2O_2$  等自由基，進而對組織造成傷害 (Granger, 1988; Friedl *et al.*, 1990)。雖然  $H_2O_2$  本身對組織傷害較小，但是細胞中同時存在許多金屬離子時， $H_2O_2$  與金屬離子會以  $Fe^{2+}$  作為催化劑產生 Fenton reaction，形成反應性極強之羥基自由基 (hydroxyl radical,  $\cdot OH$ )，會攻擊細胞膜上之不飽和脂肪酸，造成脂質過氧化反應 (lipid peroxidation)，導致組織永久性損害，

亦會衍生細胞凋亡、DNA 斷裂及基因突變並導致癌症等 (圖 6) (Granger, 1988; Friedl *et al.*, 1990; Priambodo *et al.*, 2011)。

#### 4. 腦瘤

腦瘤發生的原因主要為腦組織細胞發生不正常分裂、增殖，形成腫塊，並侵佔腦部空間與損害腦細胞組織。有文獻指出腦瘤組織中黃嘌呤氧化酶活性比正常腦組織中高出一倍以上，其中又以星形細胞瘤 (astrocytoma) 與腦膜瘤 (meningioma) 中黃嘌呤氧化酶的活性為最高 (表 1) (Kökoglu *et al.*, 1990; 曹, 1997)。

此外，亦有許多證據顯示，糖尿病 (diabetes)、肝炎 (hepatitis)、胰臟癌 (pancreatic cancer) 等病症患者，其血液中黃嘌呤氧化酶的活性均會升高 (Battelli *et al.*, 2001; Shamma'a *et al.*, 2005)。由於牛乳脂肪球含有較一般食材中更多黃嘌呤氧化酶，且當牛乳經均質後，細微之脂肪球及其類似微脂粒 (liposome) 之結構，極有可能直接透過小腸黏膜而進入血液中 (Clifford *et al.*, 1983; Michalski *et al.*, 2006)，並造成如上述之各種慢性疾病之形成，另亦有研究指出牛乳中之乳清膜顆粒 (whey membrane particles, WMP) 亦有許多黃嘌呤氧化酶存在 (如表 2) (Silanikove and Shapiro, 2007)。如上所述，許多文獻指出，均質鮮乳之微細脂肪球，極有可能攜帶被活話之黃嘌呤氧化酶直接進入人類之血液中，並導致飲用均質鮮乳而引發上述疾病之疑慮故而降

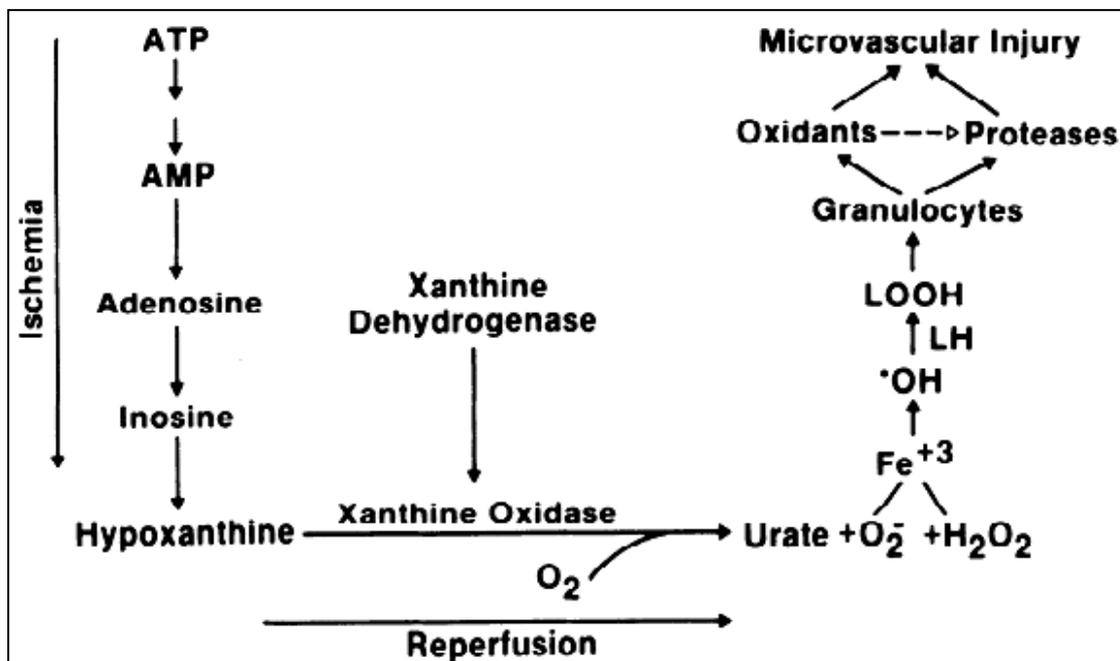


圖 6. 缺血再灌流傷害發生原因之作用機轉。

Fig. 6. The cause of mechanism of ischemia-reperfusion injury.

(Granger, 1988)

表 1. 黃嘌呤氧化酶活性於正常腦組織與腦瘤組織中腦膜瘤及星形細胞瘤之比較

**Table 1. Xanthine oxidase levels in normal and tumoral brain tissues ( $P<0.001$ ) and in meningioma and astrocytoma ( $P>0.05$ )**

Tissue	No. of samples	Xanthine oxidase activity (munits/mg protein)
Normal brain tissue	10	1.0645±0.42
Tumoral brain tissue	20	2.339±0.44
Astrocytoma	10	2.345±0.448
Meningioma	10	2.335±0.454

(Kökoglu *et al.*, 1990)

表 2. 牛奶中黃嘌呤氧化酶、鹼性磷酸酶和酸性磷酸酶組成活性分佈

**Table 2. Distribution of xanthine oxidase, alkaline phosphatase and acid phosphatase activities in milk fractions (mean±SD)<sup>a</sup>**

	Xanthine oxidase (% of total)	Alkaline phosphatase (% of total)	Acid phosphatase (% of total)
Whole milk	100±5	100±5.5	100±6.6
Fat <sup>b</sup> (MFGM)	33.0±6	45.3±6.6	47.8±6.0
Skim milk	67.0±7	54.7±6.6	52.2±6.7
Casein	3.3±1.5	0±0	0±0
WMP	20.5±5.5	38.6±6.4	34.1±6.1
Effectively soluble <sup>c</sup>	43.2±6.0	16.1±4.8	18.1±7.1

<sup>a</sup> Xanthine oxidase activity in whole milk was 50.1U/mL<sup>-1</sup> (SD=5.6), alkaline phosphatase activity was 2.5U/mL<sup>-1</sup> (SD=0.5) and acid phosphatase activity was 0.75U/mL<sup>-1</sup> (SD=0.1).

<sup>b</sup> It is assumed that activity in the fat fraction was concentrated on the milk fat globule membrane (MFGM).

<sup>c</sup> Effectively soluble activity refers to the activity in skim milk devoid of both casein (whey, or milk serum) and whey membrane particles (WMP).

(Silanikove and Shapiro, 2007)

低均質鮮乳中黃嘌呤氧化酶活性實有其必要性。

### 三、薄膜過濾技術

薄膜種類依其孔徑大小可分為微過濾(microfiltration；MF)、超過濾(ultrafiltration；UF)、奈米過濾(nanofiltration；NF)及逆滲透(reverse osmosis；RO)。圖 7 為各分離程序對於可過濾物質及孔徑大小分佈示意圖。有關各過濾程序略述如下。

#### (一)微過濾(MF)程序

微過濾薄膜其孔徑介於 0.1 微米至 10 微米之間，操作壓力為 30~300kPa。微過濾可用於微生物、懸浮物及較大顆粒汙染物質去除。MF 程序也為能量消耗最小、過濾液通過量最大之過濾程序，因此常使用在其他薄膜程序之前處理方法。

#### (二)超過濾(UF)程序

超過濾孔徑約介於 0.002~0.1 微米之間，操作壓力為 50~700kPa。超過濾可過濾病毒及大分子有機物等物質。超過濾薄膜常使用於蛋白質等大分子的分離濃縮，例如在果汁等食品工業中。

#### (三)奈米過濾(NF)程序

奈米過濾薄膜之膜孔徑約為 1nm，操作壓力為 350~1000 kPa。奈米過濾可去除溶液中之二價離子以及小分子有機物，常應用於鈣鎂

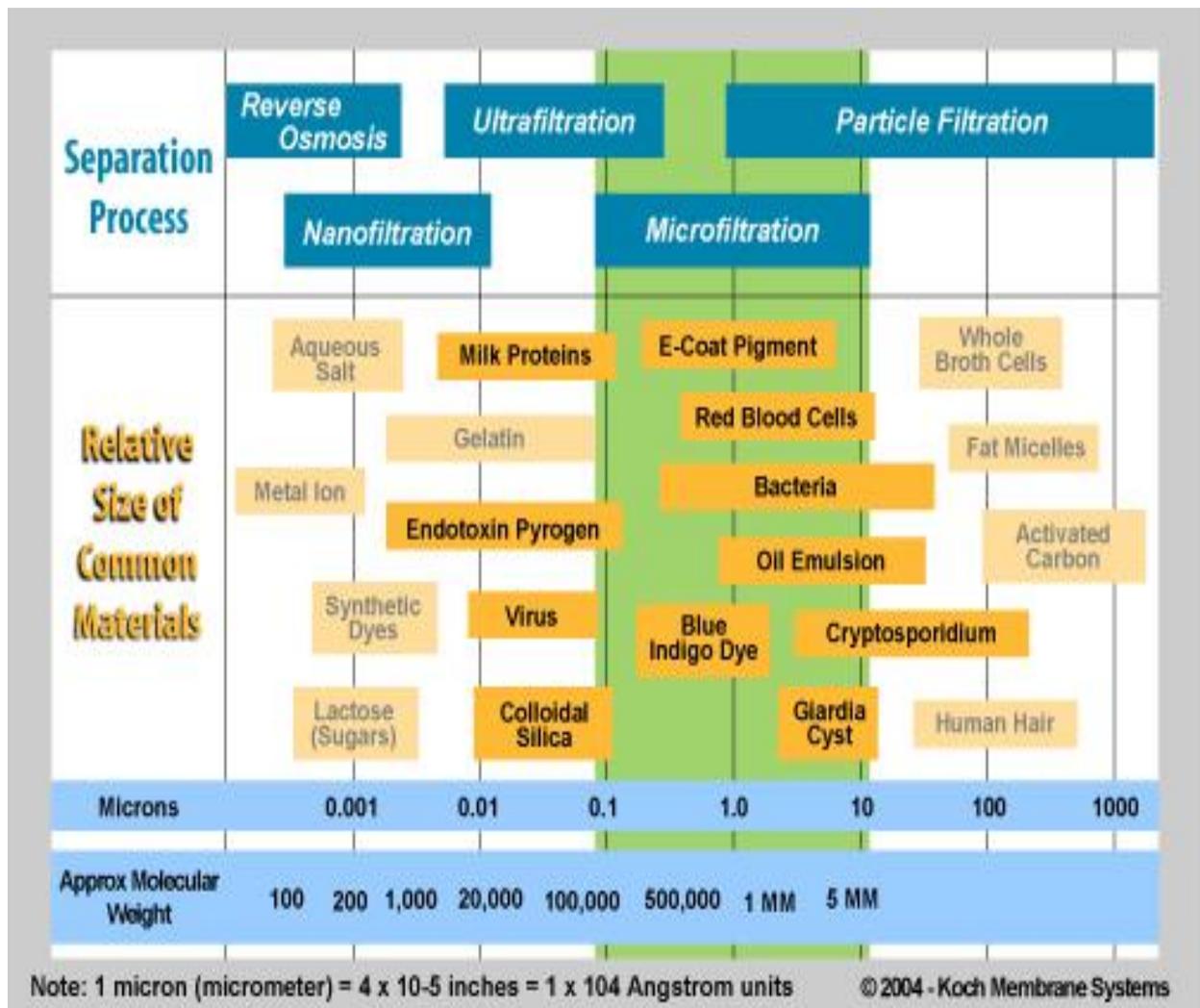


圖 7. 各分離程序對於可過濾物質及孔徑大小分佈圖。

Fig. 7. For each separate program can filter material and pore size distribution.

(蘇，2016)

等硬度物質之去除方面。

#### (四)逆滲透(RO)程序

逆滲透薄膜膜孔徑小於 1nm，操作壓力為 800~8000 kPa。逆滲透可去除溶液中所含之金屬離子及溶解性鹽類。主要使用於海水淡化、家庭淨水器以及高科技業超純水製造。

#### 四、微過濾於乳品之應用

微過濾是薄膜處理中運用最廣的技術，常作為逆滲透之前處理程序，其分離機制是利用膜孔大小篩選可通過的粒子與分子，比薄膜孔徑大的顆粒便會被阻擋於膜面。MF 是最早出現的膜過濾程序，德國在 1920 年代就開始利用 MF 濾除水中細菌，薄膜分離程序技術發展之分水嶺是在 1960 年初由 Loed-Sourirajan 程序所製備，具有 defect-free、高透過量之非對稱反滲透壓醋酸纖維膜(reverse osmosis cellulose acetate membrane) 開始(Loeb *et al.*, 1997)。MF 常用於生物安定化、除菌等，以低溫膜過濾可省去傳統以巴斯德加熱殺菌的步驟。例如從 1960 年代就開始有人以 MF 進行啤酒的安定化，在啤酒包裝前通過薄膜過濾，使產品擁有生啤酒的營養及風味，並且具長時間存放的方便性，後來也應用於其他酒類以避免酒精的酸發酵。

乳製品很難保持新鮮，而加熱殺菌會造成牛奶的風味流失，若利

用微過濾，不但可以保留原料的生鮮風味與機能性成分，還能濾除產品中的微生物，讓產品的冷藏貯存期大幅延長。而牛乳中富含許多營養成分，主要包括乳糖、乳脂、酪蛋白以及乳清蛋白等，其組成含量以及分子大小如表 3 所示(Brans *et al.*, 2004)。由圖 8 可以看出乳脂肪球大小介於體細胞、生菌及菌胞之間，因此生乳經脫脂後再進行微過濾處理應可將導致較低強度熱處理 HTST 鮮乳無法擁有更長保存期之體細胞及菌胞去除大部分 (Hoffmann *et al.*, 2006)。

微過濾的處理程序以壓力作為驅動力，利用薄膜孔徑大小達到分離物質的效果，依照溶液流動的放線與過濾面的關聯可分為垂直流過濾(Dead-end filtration)及掃流過濾(Crossflow filtration)兩種，如圖 9 所示。垂直流過濾及進水流方向和薄膜垂直，乾淨之過濾液通過薄膜，而大於薄膜孔徑之物質則被阻隔於薄膜，隨著過濾時間增加，待過濾物質會在薄膜上快速累積，使通量大幅衰減，最後造成薄膜阻塞(Cheryan, 1998)。而掃流過濾期進行流水方向與薄膜成平行，相較於過濾需時常更換濾膜或是定期沖洗回復因阻塞而降低之通量垂直過濾，掃流過濾利用平行於過濾面之水流，在過濾面產生一剪應力，可帶走薄膜表面所生成之部分物質，以達到抑制膜表面濾餅累積之效果，進而增加過濾液之流通量，因此掃流過濾方式比起垂直可以有較長時間之連續試操作，薄膜表面雖然還是會慢慢累積物質使其阻塞，

表 3. 牛乳的組成成分及大小

Table 3. Average composition of cow milk: concentration and size distribution

	Concentration in whole milk (g/L)	Size range and average (at weight average)
Water	87.1	
Fat globules	4.0	0.1–15 $\mu\text{m}$ , average 3.4 $\mu\text{m}$
Casein (in micelles)	2.6	20–300 nm, average 110 nm
Serum proteins	0.7	3–6 nm
$\alpha$ -Lactalbumin	0.12	14 kDa
$\beta$ -Lactoglobulin	0.32	18 kDa
BSA	0.04	66 kDa
Proteose-pepton	0.08	4–40 kDa
Immunoglobulins	0.08	150–900 kDa
Lactoferrin	0.01	86 kDa
Transferrin	0.01	76 kDa
Others	0.04	
Lactose	4.6	0.35 kDa
Mineral substances	0.7	
Organic acids	0.17	
Other	0.15	

(Brans *et al.*, 2004)

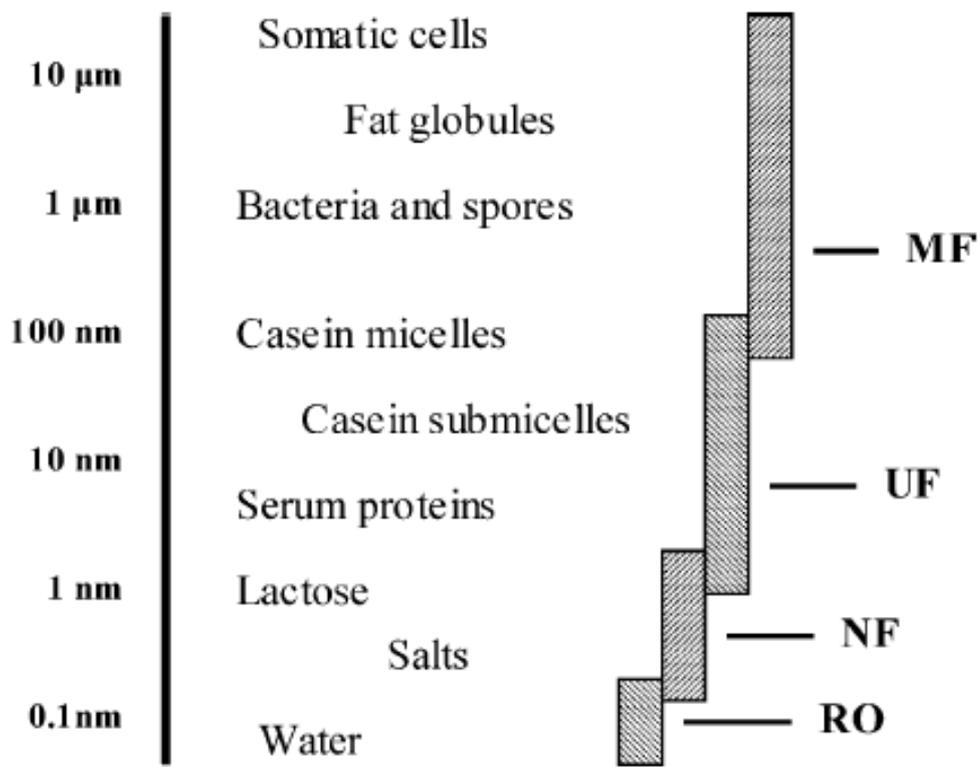


圖 8. 牛乳的成分大小和其所對應之膜過濾。

Fig. 8. Components in milk: size indication and membrane processes. MF: microfiltration, UF: ultrafiltration, NF: nanofiltration, RO: reverse osmosis.

(Brans *et al.*, 2004)

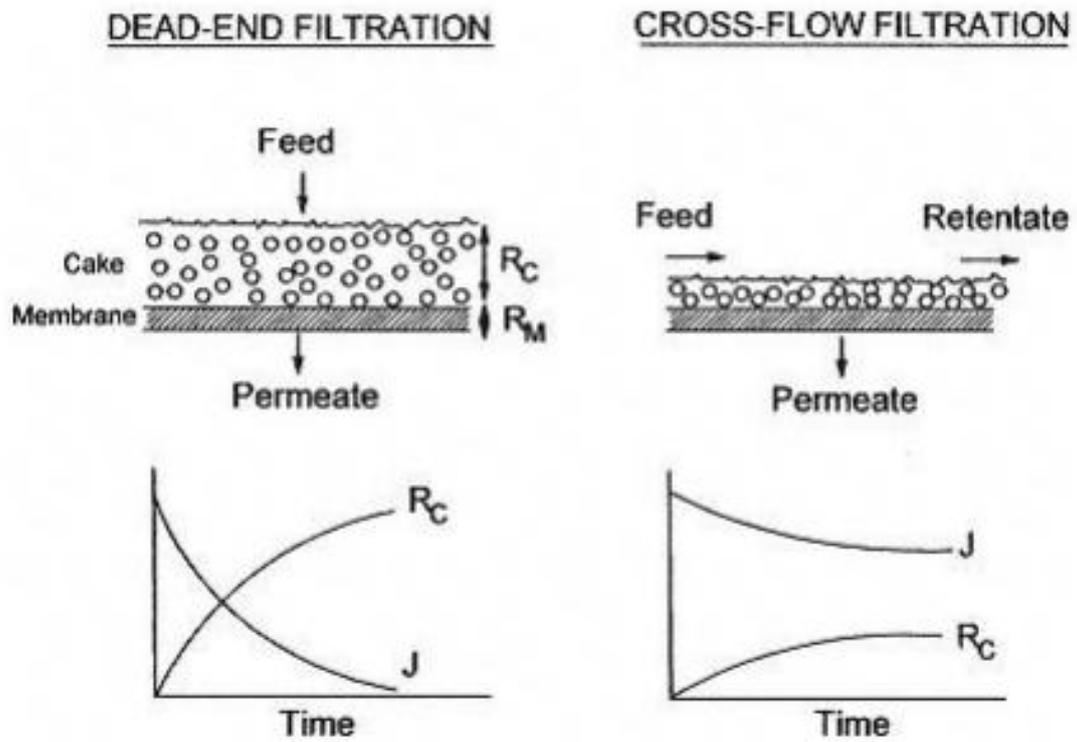


圖 9. 垂直流過濾及掃流過濾圖。

Fig. 9. Dead-end filtration and Cross-flow filtration.

(Cheryan, 1998)

但在(Brans *et al.*, 2004)的研究中指出，使用磁力的輔助可有效降低薄膜表面的阻塞情況如圖 10 (I)所示，適合使用於大規模之生產，而沒使用磁力輔助的掃流模過濾(III-1)形成之結垢則需使用反向之壓力得以清除(III-2)。

## 五、微過濾主要去除之物質

### (一) 生乳中之體細胞

#### 1.體細胞之定義

體細胞係指源自於乳線脫落之上皮細胞(epithelial cell)及血液之血球，而血球以白血球(leucocyte)為主，其總稱為體細胞數(somatic cell counts; SCC)。將體細胞分為淋巴球(lymphocyte)、單核球(monocyte)、上皮細胞(epithelial cell)及多核型白血球(polymorphonuclear leucocyte)，而源自於乳頭皮膚(teat skin)和乳頭管(streak cannal)之大型扁平細胞(large squamous cell)另予列入; Schonberg(1956)則將巨大細胞(giant cells)，紅血球(erythrocyte)及所有分裂之細胞(nissen's bodies)亦予納入體細胞數之範圍。

#### 2. 體細胞對乳品質之影響

體細胞數與蛋白質分解酶活性呈現正相關，與解脂酶活性相關很低，脂肪、乳糖、蛋白質以及無脂固形物卻隨體細胞數增加而減少，

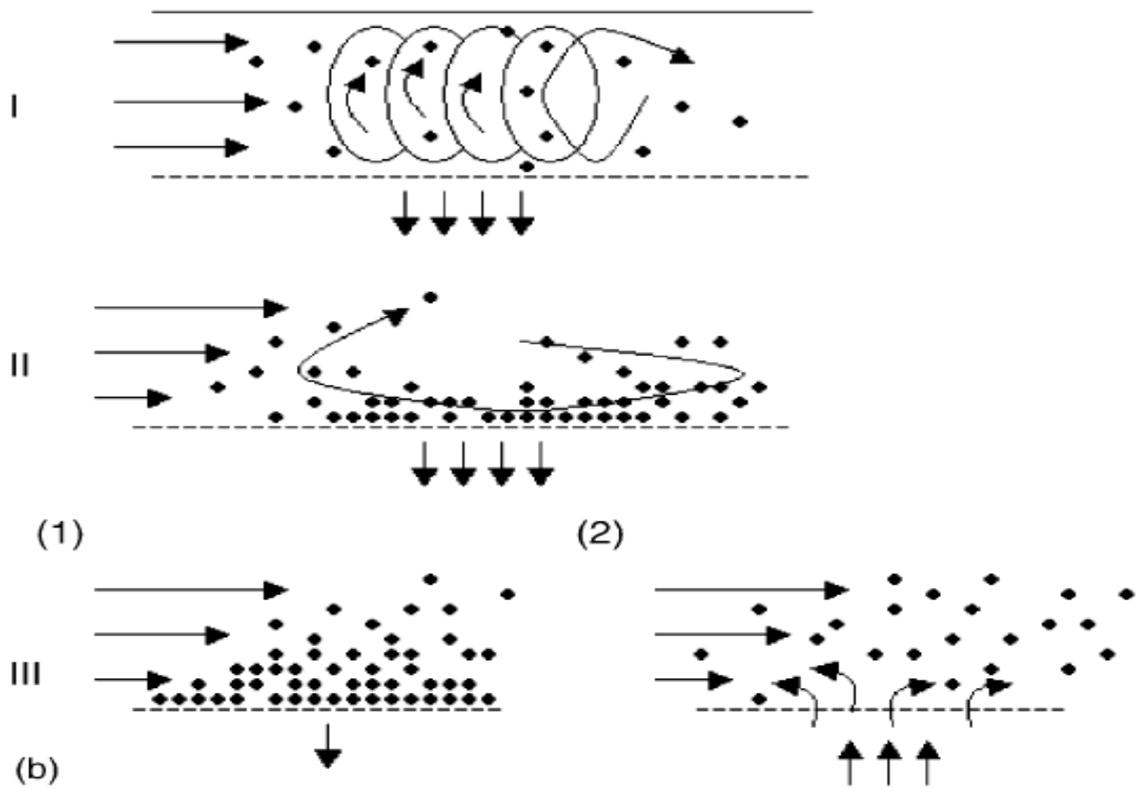


圖 10. 不同方法所產生之阻塞。

Fig. 10. Graphical representation of fouling in different flux regimes.

(Brans *et al.*, 2004)

乳糖尤其劇烈。可推論，體細胞多寡除會影響泌乳量，在貯存時其中的酵素也會造成蛋白質之水解，影響牛乳於貯存期間之品質及風味。

### 3. 體細胞標準

我國生乳收購時，體細胞數每毫升不得大於 100 萬 cells，體細胞數越低，則收購價格越高，反之體細胞數越高，則價格越低。生乳品質以體細胞數來分等級，由品質優到劣，依序為 A、B、C、D 共 4 級，A 級為 30 萬(含)/mL 以下，B 級為 30 萬以上 50 萬以下(含)/mL，C 級為 50 萬以上 80 萬(含)/mL 以下，D 級為 80 萬以上 100 萬(含)/mL 以下。

## (二) 生乳及鮮乳中導致品質劣變之主要微生物

### 1. 低溫菌(psychrotrophic bacteria)

係指於不論其最適生長溫度為何，能在 7°C 以下能發育之細菌(張，1983)。定義，細菌之世代時間於 48 小時以內者，亦屬於低溫菌。

### 2. 耐高溫菌(thermoduric bacteria)

於在經由高溫短時間(HTST)熱處理後仍不致完全死滅之細菌，其中牛乳產品又以 *Bacillus*、*Clostridium*、*Enterococci* 和 *Paenibacillus* 等菌屬會形成孢子，並於牛乳製品的貯存過程中萌發生長，導致乳品質之劣變(Ranieri *et al.*, 2009; Schmidt *et al.*, 2012)。HTST 乳製品很難

保持新鮮，本研究之構想期利用微過濾濾除產品中的體細胞、孢子及大部份微生物，讓產品的冷藏貯存期大幅延長，並同時佐以徐(2016)降低乳之中所富含黃嘌呤氧化酶之方法製造，期能在不大幅變動鮮乳生產線之前提下，製造低黃嘌呤氧化酶活性之全脂均質 HTST 鮮乳。

# IV、材料與方法

## 一、牛乳及乳油

生乳及乳油(cream; 乳脂率為 46% 以上)取自東海大學農牧場，預熱至 50°C 後經由脫脂處理(桌上型乳油分離機：Elecream 3, Denmark，於約 50°C 下分離乳脂肪。)，所得到之脫脂乳各項組成平均為：pH 值 6.78、脂肪含量 0.28%、蛋白質 3.23%、乳糖 4.89% 和無脂固形物 8.82%，冷藏 7°C 以下處理與分析。

## 二、微過濾裝置

微過濾使用直徑 4.7 cm 孔徑 1.5 $\mu$ m 之過濾膜(Whatman, No. 1820047, 英國)，藉由抽氣馬達的壓力(2 atm)輔助，使得脫脂乳得以通過濾膜(圖 11)，所取得之滲透液即為微過濾乳樣品。

## 三、藥品及自行組裝之設備

(一)乳脂率測定所需硫酸之配置(sulfuric acid;  $H_2SO_4$ , FW=98.08)：購自聯工化學廠股份有限公司，台灣。製備條件依東海大學乳品加工廠測定乳脂率之方法配置，冬季為 500 mL 濃硫酸加入 70 mL 去離子水中；夏季為 500 mL 濃硫酸加入 80 mL 去離子水中。

(二)自製不鏽鋼漿片模型 (圖 12)。

(三)甲苯 (toluene;  $C_6H_5CH_3$ , FW=92.13)：購自 J. T. Baker 公司，

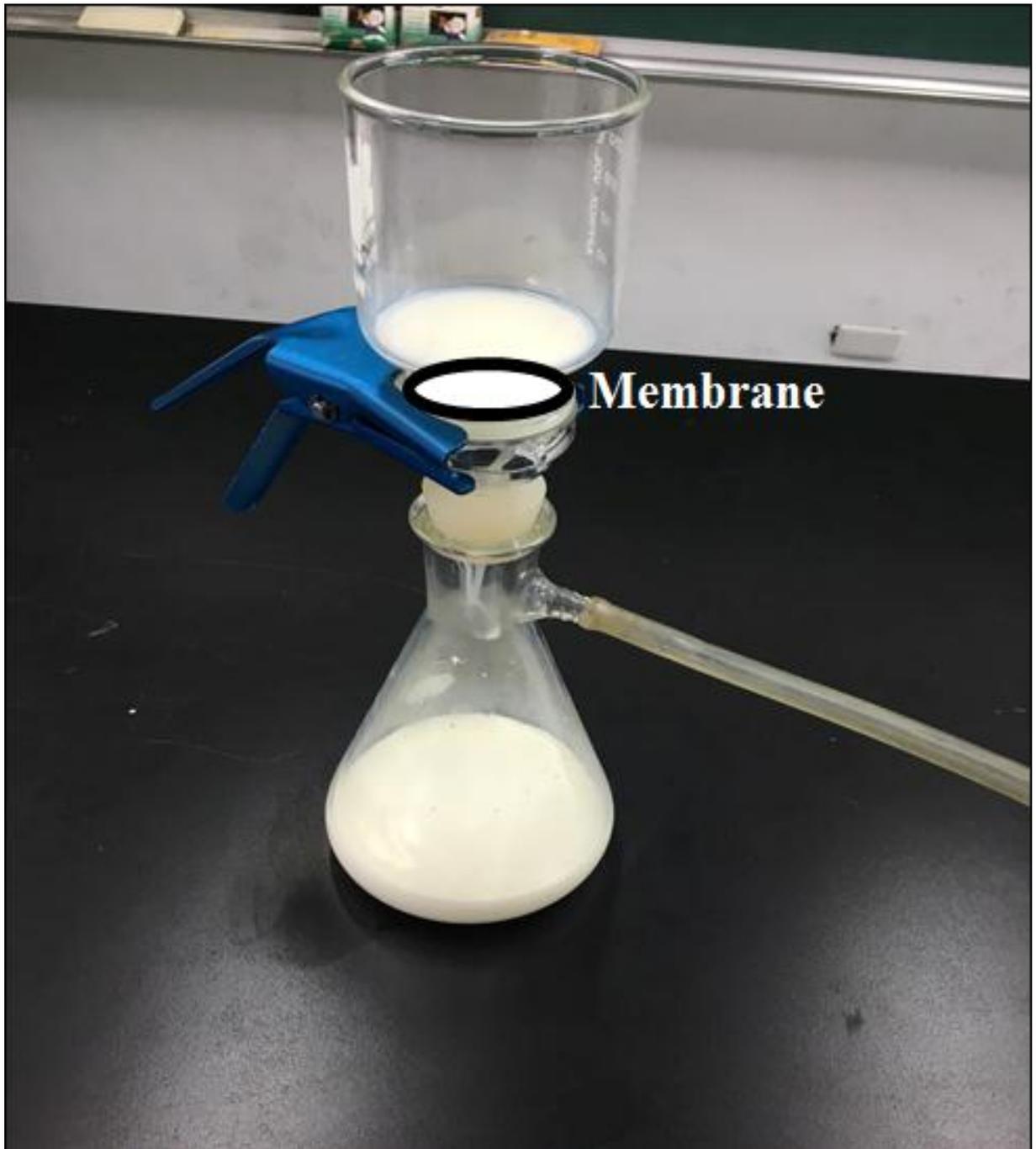


圖 11. 微過濾套組

Fig.11. The mircofiltration module.



圖 12. 實驗自製不鏽鋼漿片模型。

Fig. 12. The experimental special stainless steel lodicule model .

美國。取甲苯溶液溶於 250 mL 乳樣品中至 3%。

(四)乙二胺四乙酸二鈉 (ethylene diamine tetracetic acid, EDTA :  $C_{10}H_{14}O_8N_2Na_2 \cdot 2H_2O$ , FW=372.24) , 購自藥理化學工業株式會社, 日本。取 EDTA 粉末 0.1861 g 溶於 250 mL 乳原料中至 2mM。

(五)硫酸銨 (ammonium sulfate ;  $(NH_4)_2SO_4$ , FW=132.14) : 購自百瑞克公司 (Panreac Quimica S. A. U.) , 歐盟。先將硫酸銨研磨至粉狀, 置恆溫箱 (約 70°C) 內乾燥至少兩小時後, 置於血清瓶內保存備用 ; 38% 及 50% 飽和硫酸銨則分別測量過濾牛乳樣品的量後依飽和硫酸銨飽和濃度表 (表 4) 查表推算之。

(六)三羥甲基氨基甲烷鹽酸鹽 (trizma hydrochloride ;  $C_4H_{11}NO_3 \cdot HCl$ , FW=157.60) : 購自 Promega 公司, 美國。依後述之方法配置 50 mM 之 Tris-HCl。取 7.88 g 溶於 900 mL 之去離子水中後, 以 3N NaOH 調整 pH 值至 7.5 後, 再加入去離子水至總體積 1000 mL。

(七)黃嘌呤 (xanthine ;  $C_5H_4N_4O_2$ , FW=152.11) : 購自 Sigma 公司 (023k0605 EC 200-718-6), 美國。取 0.1 mM 之黃嘌呤溶液作為受質以檢測其轉換為尿酸之速率。

(八)尿酸 (uric acid ;  $H_4N_4O_3$ , FW=168.11) : 購自 Sigma 公司 (114k06222 EC 200-720-7), 美國。分別製取尿酸溶液 1.5625、3.125、6.25、12.5、25、50、100 及 200  $\mu$ M, 利用分光光度儀透過全圖譜掃

表 4. 硫酸銨飽和濃度表

Table 4. Ammonium sulfate saturation concentration table

°C		Final concentration of ammonium sulfate saturation percentage															
		Add 1 L solution of solid ammonium sulfate grams															
		20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90	100	
The initial percentage saturation concentration of ammonium sulfate	0	106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	603	697	0
	20	0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	469	557	20
	25		0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	436	522	25
	30			0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	402	488	30
	35				0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	369	453	35
	40					0	29	58	89	120	153	187	222	258	335	418	40
	45						0	29	59	90	123	156	190	226	302	383	45
	50							0	30	60	92	125	159	194	268	348	50
	55								0	30	61	93	127	161	235	313	55
	60									0	31	62	95	129	201	279	60
	65										0	31	63	97	168	244	65
	70											0	32	65	134	209	70
	75												0	32	101	174	75
80													0	34	139	80	
90														0	70	90	
100															0	100	

(Dennis and Dennis, 1990. Cited by 徐, 2016)

描確認其最大吸光值為 285 nm 後，再於 285 nm 吸光值下測定該八種濃度樣品之吸光值，以製成標準曲線 (圖 13)。

#### 四、儀器設備

- (一)恆溫振盪水浴槽：Firstek Sharking Bath，B602D，購自今日儀器公司，台灣。
- (二)貝氏乳脂肪離心機：Garver electrifuge (dependable industrial centrifuges-bench top)，購自台陽貿易有限公司，台灣。
- (三)貝氏乳脂肪瓶振盪器：Carter motor company (CUB5005C5)，購自台陽貿易有限公司，台灣。
- (四)超高速離心機：Kubota 離心機，KN-70，日本。
- (五)酸鹼值測定計：Seven Easy (S20)，購自 Ettlter-Toledo 公司，瑞士。
- (六)桌上型乳油分離機：Elecream 3, Denmark。
- (七)恆溫箱：DENY YNG (DB-60)，購自上格科技公司，台灣。
- (八)分光光度儀：Dynamica Halo DB-20 UV / Visible Double Beam Spectrophotometer，澳洲。
- (九)高壓均質機：YUH SHING 均質機，YS-3000，購自鈺興機械工業有限公司，台灣。

#### 五、試驗方法

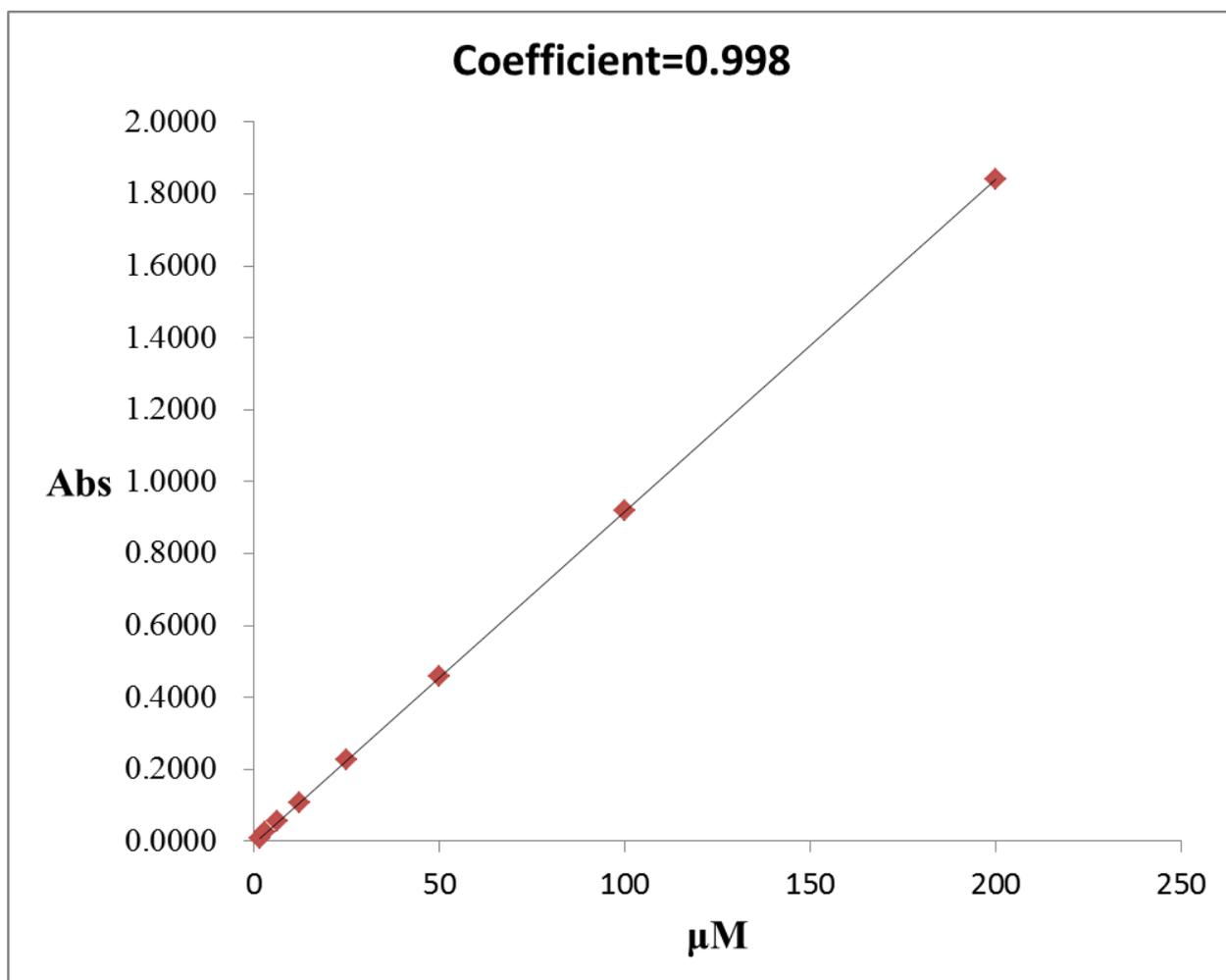


圖 13. 尿酸標準曲線圖。

Fig 13. The standard curve of uric acid.

### (一)乳油

1. 取回之生乳油依照貝氏測定方法進行測定，所得出乳脂率再使用 Pearson Square 試算，依照試算之結果將生乳油混合脫脂乳，將其乳脂率調整至 20%，避免因乳脂過高受熱後產生凝結並發生復水不全之現象(圖 14)。
2. 乳脂率 20%之乳油樣品 1 L 以上，進行均質機操作，使乳脂均勻分散。
3. 20%乳油均質，以滅菌釜進行 121°C,15 min 的熱處理，取 250 ml 備用檢測。
4. 再次利用 Pearson Square 試算，將受熱處理後之 20%乳油回填至脫脂乳中，成為 3%之乳樣品。
5. 乳脂率 3%之乳樣品則需再次進行均質處理，避免靜置乳脂上浮發生，完成均質後，再依照實驗設計以 HTST 進行熱處理，再待後續處理。

### (二)微過濾 3.0%脂肪率 HTST(3%MF-HTST)鮮乳之製備

1. 東海大學牧場生乳。
2. 脫脂乳:預熱至 50°C 後經脫脂處理。
3. 微過濾脫脂乳: 使用 1.5  $\mu\text{m}$  孔徑之濾膜將脫脂乳過濾。
4. 微過濾 3.0%乳脂率 HTST 鮮乳: 將經熱處理後之 20%乳油回填至

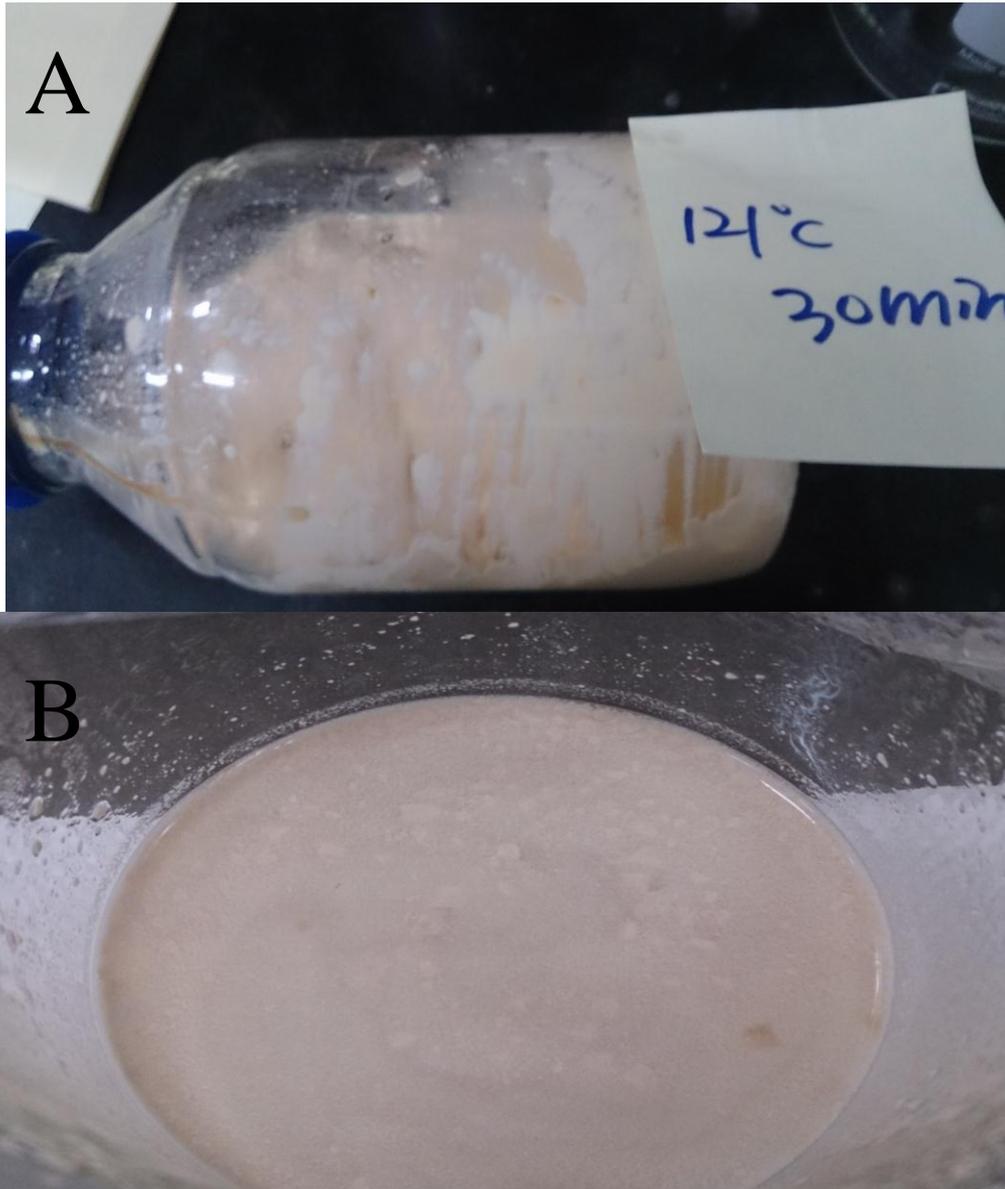


圖 14. A.乳油經 121°C, 30min.後結塊情形。B. 乳脂回溶於水之情形。

Fig. 14. A. The agglomerated situation of cream through 121°C, 30 min. B. The situation of cream resoluble into water.

微過濾脫脂乳中，成為微過濾 3.0% 乳脂率原料乳，再分別以 72°C,15sec 殺菌製成 HTST 鮮乳之樣品，冷藏於 4°C 待測。

## 六、測定項目

(一)乳樣品中黃嘌呤氧化酶之萃取與分析：依照徐(2016)所描述之方法敘述修飾如圖 15 所示。

1. 取各待測乳樣品 250 mL，置入 500 mL 之振盪錐形瓶中。
2. 於裝有乳樣品之振盪錐形瓶中加入濃度 3% 甲苯 (7.5 mL) 及 2 mM 之 EDTA (0.1861g)。
3. 將不鏽鋼漿片攪拌棒固定於瓶口橡皮塞後蓋緊於瓶口，再以石蠟膜密封瓶口，使樣品中之甲苯無法揮發至瓶外。
4. 將乳樣品置於 30°C 水浴槽中，設定加熱至 45°C 以 125RPM 振盪 30 min 後，冰浴降溫至 4°C。
5. 重複步驟 4 的步驟一次後，再將乳樣品重新放回預熱 30°C 水浴槽中，設定加熱至 45°C 振盪 12 小時以上 (overnight) 後再冰浴降溫至 4°C。
6. 取市售藥膳袋 (9×11.5 cm) 重疊套三層做初步過濾 (去除乳酪粒)。
7. 以 38% 硫酸銨進行鹽析，攪拌至少 30min。
8. 置於 50 mL 離心管中，以超高速離心機 (8,000 ×g) 離心 15min。

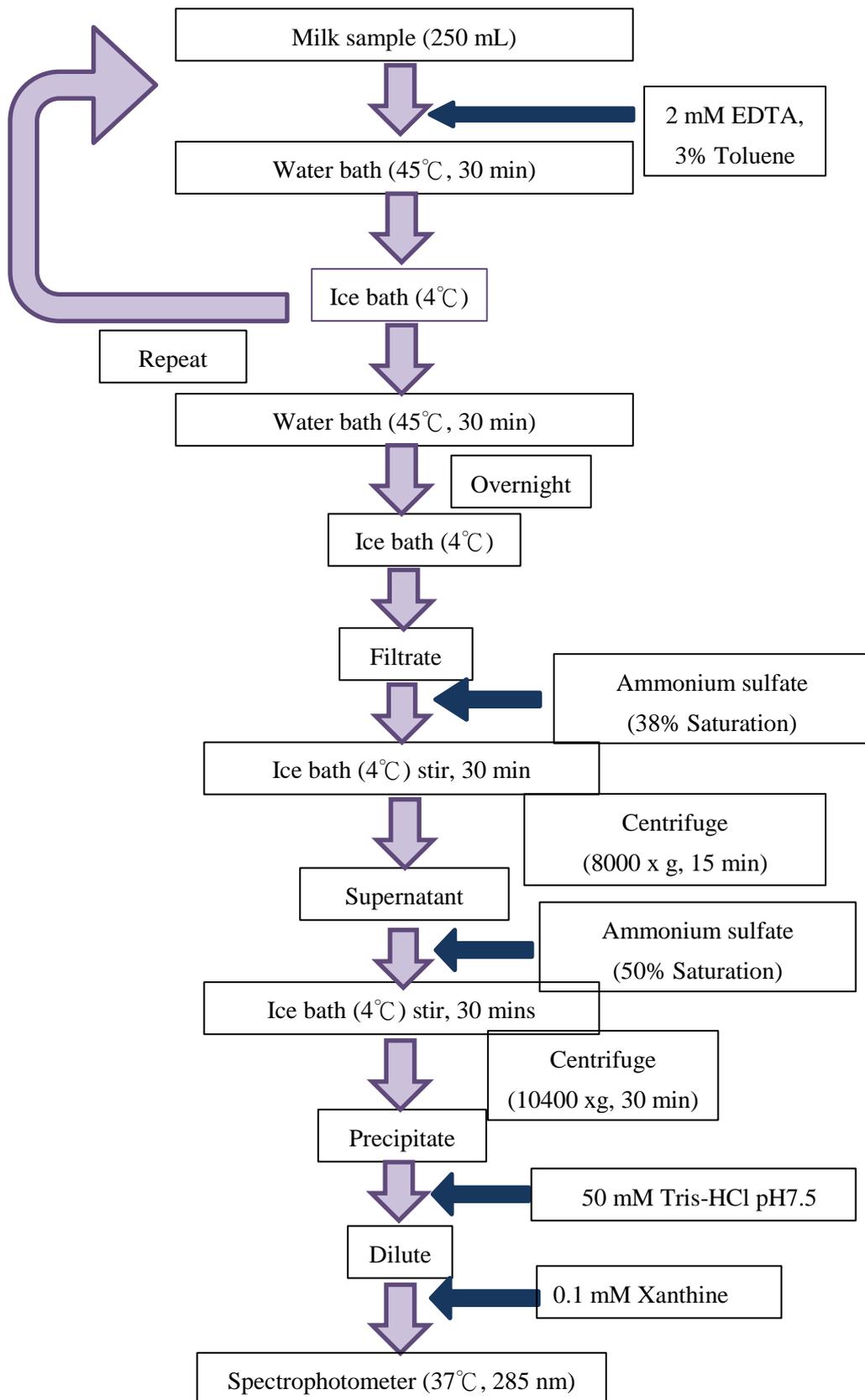


圖 15. 黃嘌呤氧化酶萃取與分析流程圖。

Fig. 15. The experimental flow chart for xanthine oxidase detection.

9. 取上清液後，再以 50% 硫酸銨進行鹽析，攪拌至少 30min。
10. 置於超高速離心管中，以超高速離心機 (10,400 ×g) 離心 30 min。
11. 取沉澱物以 250 mL 之 50 mM 之 Tris-HCl (pH 7.5) 稀釋溶液至透明態。
12. 取上述 9 mL 沉澱物溶液加入 1 mL 之 1 mM 之黃嘌呤溶液 (使其黃嘌呤濃度為 0.1 mM)。
13. 置於 37°C 水浴槽中振盪，每經 5 min 採樣一次，直到 45 min 為止。
14. 利用分光光度儀，於 285 nm 之波長下測定樣品每 5 min 之反應吸光值。
15. 利用分光光度儀中吸光值計算出尿酸每 5 min 的濃度變化進而推算出 xanthine oxidase 每五分鐘的酵素活性變化。

**(二)體細胞數(somatic cell counts ; SCC)之測定：**

冷藏於 7°C 乳樣品直接寄送新竹畜產試驗分所代分析。

**(三)總生菌數(Total plate count) (CNS3452)：**

PCA(Plate count agar)培養基：每 1 L 水中加入 23.5 g 培養基粉末，調整至 pH 7.0±0.2 並放入滅菌釜中 121°C, 15 分鐘。

將乳樣品取出均勻震盪後取 1 mL 加入 9 mL 之滅菌水中，即為稀釋十倍之乳樣品，重複此動作得到稀釋 10 的次方倍之乳樣品，分別倒入含有 PCA 培養基之培養皿中。放入 35~37°C 恆溫培養箱中 48 小時候計算菌落數，再乘所稀釋的倍數。

#### **(四) 滴定酸度(titration of acidity) (CNS3441):**

精確秤取適量 9 g 之試樣，置於杯中，加入等量含 CO<sub>2</sub> 之蒸餾水稀釋。加入 1% 酚酞酒精溶液 0.5 mL，以 0.1N 氫氧化鈉溶液滴定至成微紅色，此色 30 秒鐘內不消失則為滴定終點。

酸度以乳酸%表示計算公式如下:

$$\text{乳酸}\% = [0.1\text{N NaOH 滴定數} \times 0.009 \times f] \div \text{試樣重量} \times 100$$

f=0.1N NaOH 之力價

#### **(五) 貯存期:**

檢測 5 個不同處理之乳樣品於保存期( 0、7、14、21 及 28 天)，產品貯存過期的標準分別為總菌數超過 6 (log cfu/mL) 或滴定酸度高於 0.18%。

#### **(六) 統計分析**

本實驗每種樣品重複兩次，每次分析取三重複，並以 Statistical

analysis system (SAS) 統計套裝軟體分析。將實驗數據分別採用變異數分析 (Analysis of variance; ANOVA) 與一般線性模式 (General Linear Model's Procedure; GLM) 進行 t - test 統計分析比較各乳樣品平均值之差異。

# V、結果與討論

## 一、微過濾對牛乳體細胞數之影響

將生乳預熱至50°C進行脫脂之處理，續將脫脂乳經由1.5 μm孔徑濾膜進行微過濾處理，測定其體細胞的含量變化，結果顯示於圖16。圖16中樣品分別為生乳及微過濾脫脂乳，可看出經由微過濾處理之脫脂乳樣體細胞數與生乳相比呈顯著地的下降( $P < 0.05$ )，與蘇(2016)之結果相符合。

## 二、微過濾對乳成分之影響

生乳經過脫脂以及1.5 μm孔徑之膜過濾後，其主要成份分析結果如圖17所示。

### (一) 乳脂率

由圖17顯示，經由脫脂可處理去除大部分脂肪( $P < 0.05$ )以利於1.5 μm孔徑微過濾處理。脫脂乳與微過濾脫脂乳脂肪含量差異不顯著( $P > 0.05$ )，惟若脫脂不完全在過濾過程中會在濾片上形成堆積阻塞，僅有少部分乳脂肪能通過濾膜，此結果與(Hoffmann *et al.*, 2006)所作結果近似。

### (二) 蛋白質含量

由圖17顯示，微過濾處理前、後之乳樣品其總蛋白含量雖略有

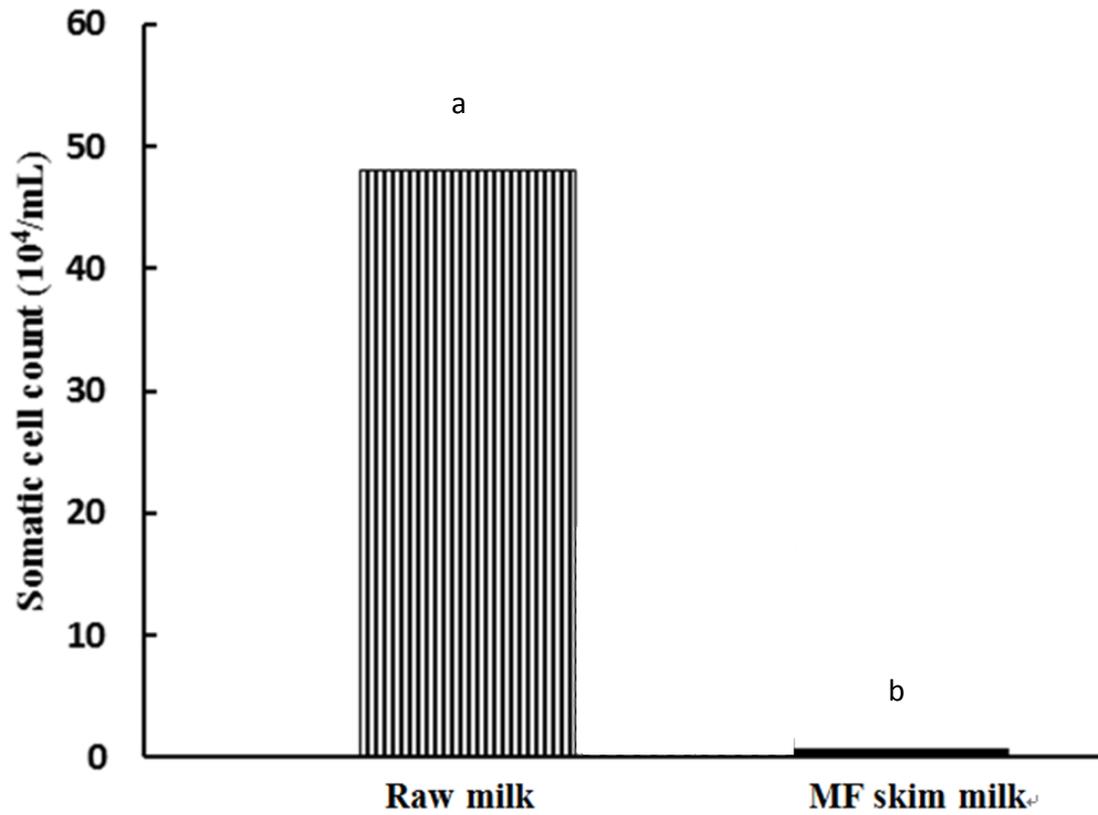


圖 16. 生乳與微過濾處理脫脂乳體細胞數之比較

Fig 16. The count of the somatic cells in raw milk and MF-skim milk ( $P < 0.05$ ).

<sup>a,b</sup> Means without same superscripts was different significantly ( $P < 0.05$ ).



圖 17. 生乳、脫脂乳及微過濾脫脂乳成分含量之比較。

Fig. 17. The comparison of composition content among raw milk, skim milk and MF skim milk.

下降，但兩者之間並未有顯著差異，顯示大多數蛋白質均可透過微過濾膜。

### (三) 乳糖含量及無脂固形物

由圖 17 顯示出微過濾對乳糖含量亦無影響( $P > 0.05$ )，而無脂固形物方面亦同。

### 三、 微過濾對生菌數之影響

環境以及生乳中含有些會在熱處理的過程中形成孢子的菌株，而當該菌株又同屬於低溫菌時，即可在鮮乳冷藏過程中萌發使乳品變質，故須使用較強程度之超高溫瞬間滅菌(UHT sterilization)才能使菌株及孢子完全死滅，但同時也會破壞牛乳中較多的營養成分，但如使用微過濾的輔助則可將多量的菌株及孢子自脫脂乳中除去，而使熱處理之溫度得以降低（蘇，2016；徐，2016），故擬針對此目的而探究膜過濾對 MF-HTST 乳貯存期之影響。

將生乳預熱至 50°C 進行脫脂後，脫脂乳續經由 1.5 $\mu$ m 孔徑濾膜進行微過濾處理，並與經熱處理降低黃嘌呤氧化酶活性之乳油標準化至 3%，最後再進行 72°C、15 秒熱處理。冷藏於 4°C 並分別測定生乳、3%HTST 鮮乳以及 3%MF-HTST 鮮乳之總生菌數，結果顯示於圖 18。生乳於第 7 天總菌數含量即達標準值( $10^6 \log \text{cuf/ml}$ )。乳油經熱處

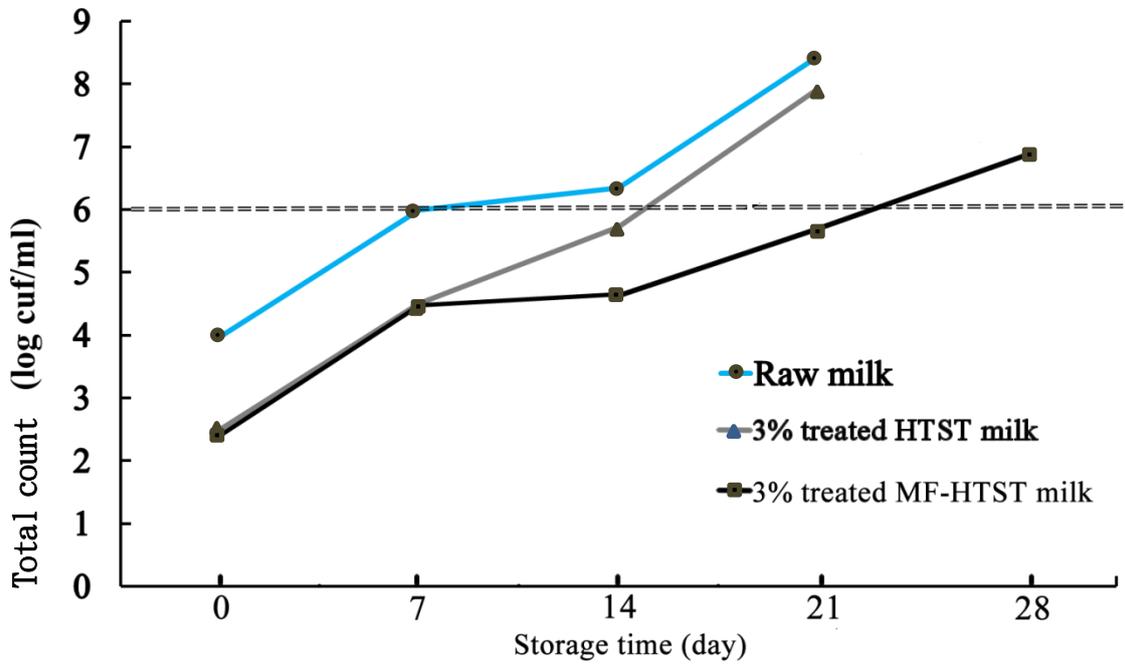


圖 18 於 4°C 貯存至 29 天各儲存期乳樣品之總生菌數。

Fig. 18. The total count of various milk samples at 4°C during storage 28 days.

理，脫脂乳未經微過濾之 HTST 鮮乳可貯存至 14 天，而使用微過濾法並且進行 HTST 熱處理之鮮乳(3% MF-HTST)其貯存期則可達到 21 天。結果顯示，乳油經熱處理及脫脂乳經微過濾確實具有降低總菌數並且延長產品貯存期之效果。

#### 四、微過濾對酸度之影響

牛乳是一種緩衝溶液。由圖 19 中可看出生乳在第 7 天酸度即超過標準(0.18%)，而當乳油經熱處理再將脫脂乳標準化後之 HTST 鮮乳(3%)在第 14 天達標準值，而乳油經熱處理之微過濾 HTST 鮮乳則有最低的酸度，可以耐到第 21 天之貯存。顯示乳油加熱處理及脫脂乳之微過濾處理均可達降低細菌數、體細胞數及滴定酸度之效果。

#### 五、乳油熱處理對 3%乳脂標準化 HTST 鮮乳黃嘌呤氧化酶活性之影響

由徐(2016)得知利用均質後滅菌處理其乳油中黃嘌呤氧化酶活性可被有效降低，因此更進一步探討鮮乳製造之生產線上，將被分離的乳油經均質及熱處理再回填脫脂乳及經微過濾之脫脂乳進行標準化，再經 HTST 處理其鮮乳中黃嘌呤氧化酶活性之變化。圖 20 所示，乳油無處理直接回填標準化成乳脂率 3%之 HTST 鮮乳，其 45min 之尿酸生成量為 59.9180  $\mu\text{M}$ ，顯著高於乳油經處理後標準化 HTST 鮮

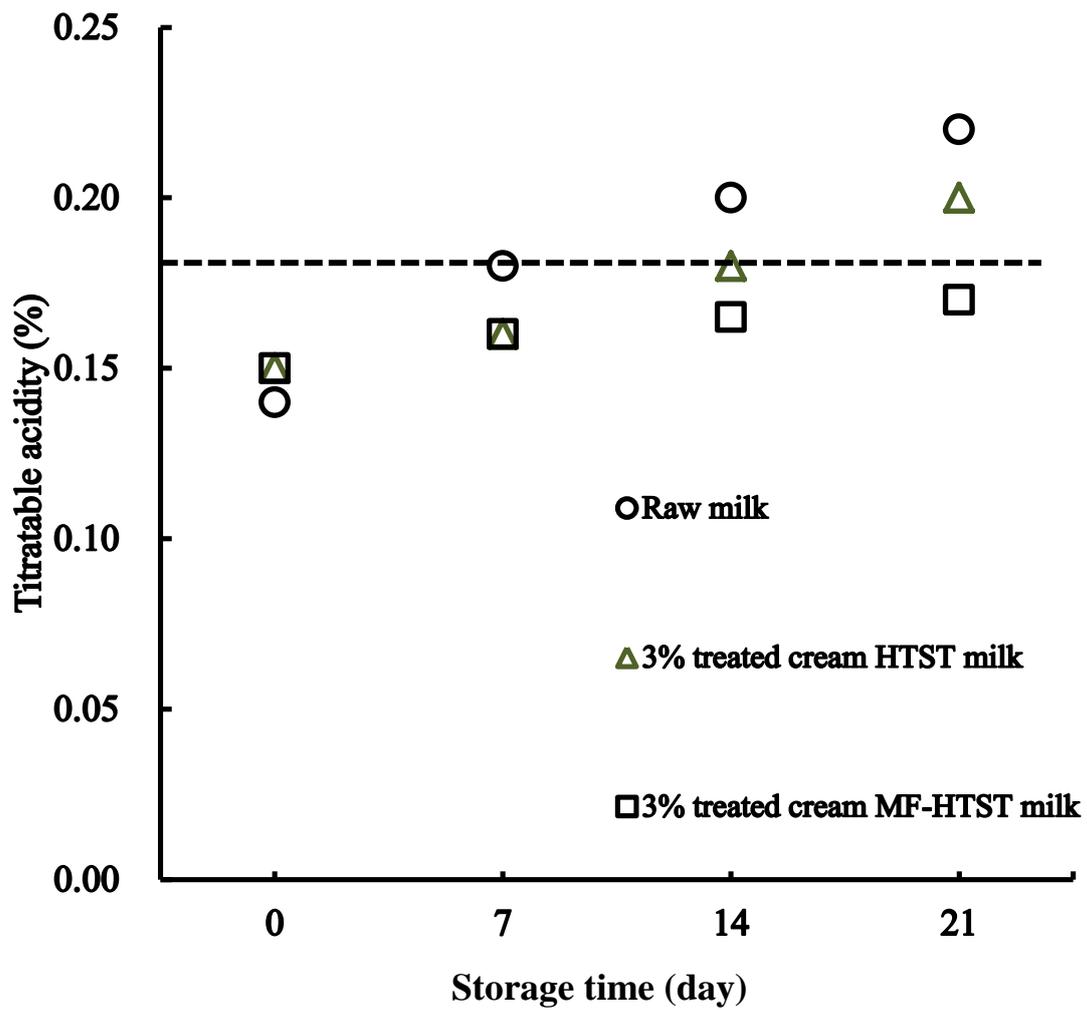


圖 19. 於 4°C 貯存至 21 天其生乳、熱處理乳油 3%HTST 鮮乳及熱處理乳油 3%微過濾 HTST 鮮乳之滴定酸度變化。

Fig. 19. The titratable acidity of Raw milk, 3% treated cream HTSH milk and 3% treated cream MF-HTST milk during 21 days in 4°C storage.

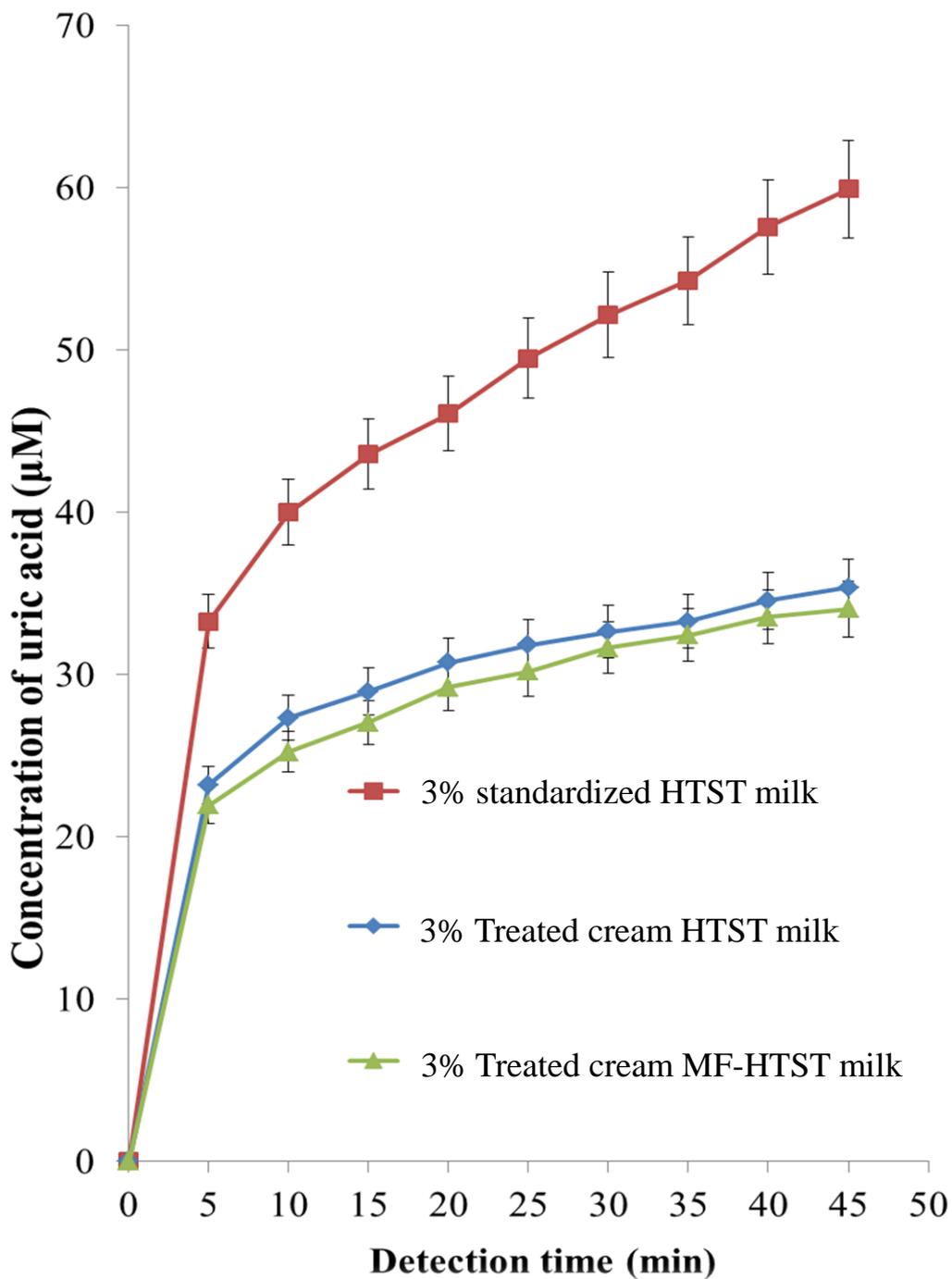


圖 20.乳油無處理 3%標準化 HTST 鮮乳、乳油熱處理 3%標準化 HTST 鮮乳及乳油熱處理 3%MF-HTST 鮮乳尿酸生成量之比較。  
 Fig. 20. The comparison of uric acid production among 3% standardized HTST milk, 3% treated cream HTST milk and 3% treated cream MF-HTST milk.

乳之 35.3676  $\mu\text{M}$  及 MF-HTST 鮮乳之 34.0453  $\mu\text{M}$ ，(p < 0.05)，而後兩者間則差異不顯著，此外，因部分黃嘌呤氧化酶在於脫脂乳中，故完成標準化程序後，再次以 HTST 熱處理仍無法使黃嘌呤氧化酶完全失去活性。黃等人 (2013) 研究發現，就熱處理而言，雖會隨著加熱溫度愈高或加熱時間增加，使黃嘌呤氧化酶活性下降，但在 LTLT (low temperature short time) 與 HTST 熱處理條件下，仍然無法使酵素完全失活。此外，因為有研究顯示經噴霧乾燥後的乳粉，其黃嘌呤氧化酶活性呈失活狀態 (張, 2009)，而乳粉製程中大多經 UHT 殺菌後，再以 130~180°C 熱風噴霧乾燥，但是亦有因裝置種類達 200°C 以上者 (張, 1983)，顯示乳脂肪球膜中黃嘌呤氧化酶係因這些高溫處理導致失活。實驗顯示針對乳油的處理可達成在不大幅度變更生產線的條件下，達到黃嘌呤氧化酶的活性下降，但無法使黃嘌呤氧化酶如同乳粉完全失去活性。

## 六、低黃嘌呤氧化酶活性及延長保存期 HTST 鮮乳之推薦製備流程

由上述實驗結果得知，如能利用均質及 UHT 殺菌機處理之乳油再回填至已將絕大多數體細胞去除及菌數降低之 MF 脫脂乳，然後再經 HTST 處理(圖 21)，應可製得 4°C 貯存超過 21 天之 MF-HTST 殺菌鮮乳。

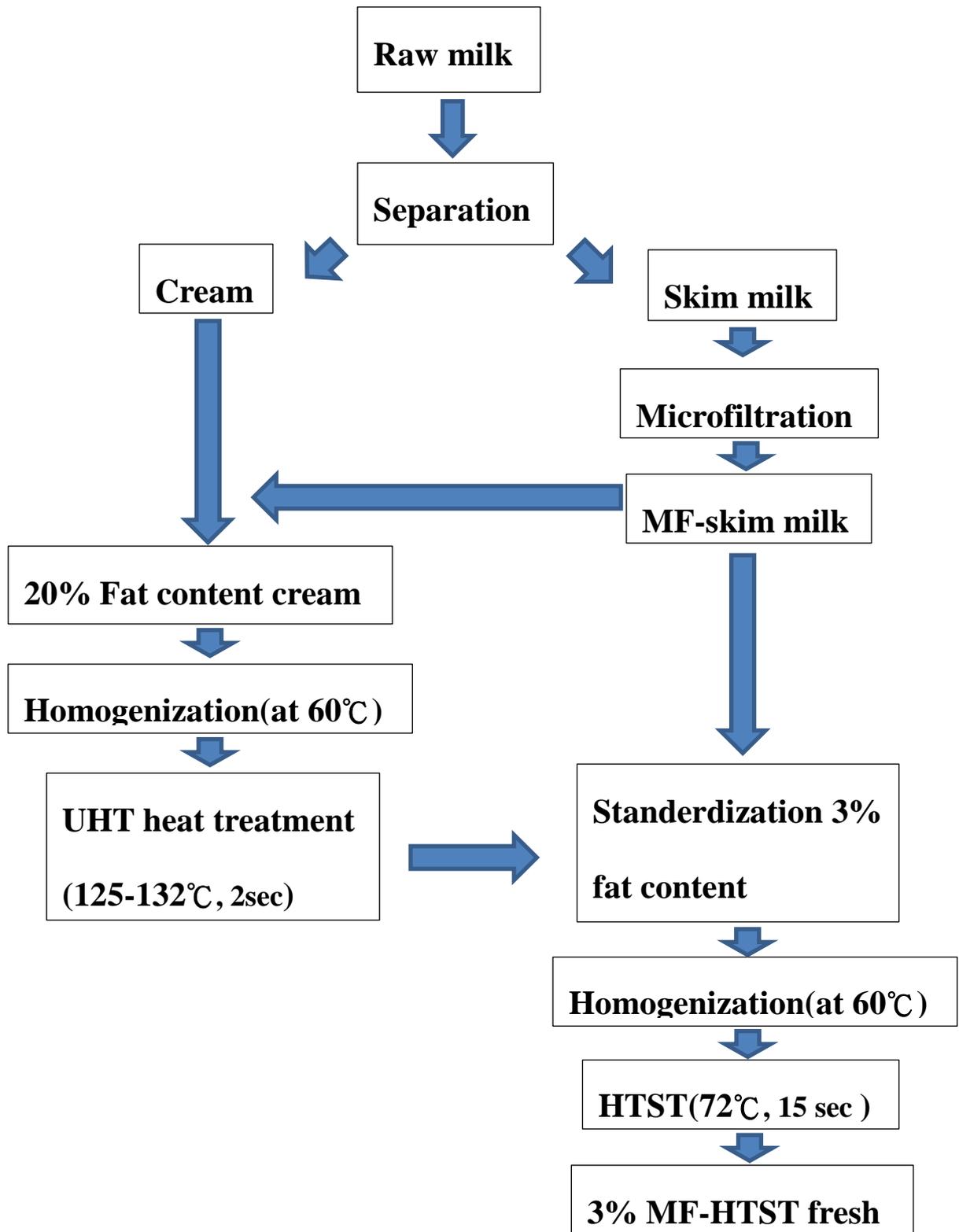


圖 21. 低黃嘌呤氧化酶活性及延長保存期 HTST 鮮乳製造流程示意圖。

Fig. 21. The model of manufacturing process for low xanthine oxidase activity and extended shelf life of MF-HTST fresh milk.

## VI、結論

綜上所述，於不大幅變動現有鮮乳生產線上流程，將乳油經熱處理後，可達成降低黃嘌呤氧化酶活性之目的，經由微過濾處理不僅可以降低體細胞數提升脫脂生乳品質，也有降低總菌數之功效，在不影響原有乳成分含量之前提下有效的延長 HTST 鮮乳產品的貯存期限，而可因應大包裝鮮乳的發展及增加鮮乳的運輸距離，並且避免使用 UHT 滅菌對鮮乳在加工生產的過程中對營養所造成之損失。

## VII、參考文獻

- 林慶文。1993。乳製品之特性與機能。第 33 頁，第 35-44 頁。華香園出版社。台北市。
- 林慶文。2008。乳品加工學。華香園出版社，民國九十七年十月三版四刷，台北市。
- 林慶文，李瑞宗。1979。羊乳與牛乳。科學農業，27(1-2): 40-46。
- 張勝善。1983。牛乳與乳製品。長河出版社，台北市。
- 李素珍。1986。台灣乳牛生乳中體細胞術語乳汁品質關係之研究。碩士論文。台灣大學畜牧系研究所。
- 周繼發、扈志平。1997a。季節更替對生牛乳體細胞數與乳汁品質之關係。中畜會誌，26(1): 87-97。
- 周繼發、扈志平。1997b。季節更替及體細胞數與生牛乳乳汁品質之關係。中畜會誌，26(3):359-371
- 施英隆、范宜琮。2001。納豆~神奇之保健食品。生物資源生物技術，4：37-45。
- 徐承甫。2016。乳油熱處理對 HTST 鮮乳黃嘌呤氧化酶活性之影響。碩士論文。東海大學畜產系。
- 陳泰吉。2005。黃嘌呤氧化酶兩單體間之交互作用對催化受質機制之探討。碩士論文。清華大學化學系。

- 陳宥蓁。2007。黃嘌呤氧化酶與受質 6-formylpterin 作用機制及其中間產物形式之研究。碩士論文。清華大學化學系。
- 曹偉。1997。斑蝥文獻考察暨斑蝥素實驗研究--斑蝥素及其類似體對黃嘌呤氧化酶和超氧化物自由基活性作用之研究。博士論文。中國醫學研究所。
- 黃姿穎、張佳瑜、周繼發。2013。鮮乳中黃嘌呤氧化酶之活性(1) 熱處理、均質化與乳脂肪含量對牛乳中黃嘌呤氧化酶活性之影響。東海學報，54:1-9。
- 黃雅婷。2012。痛風病患服藥經驗之探討。碩士論文。中臺科技大學護理系。
- 張勝善。1983。牛乳與乳製品，第 72-74 頁，第 146-147 頁，第 220-227 頁，第 323-342 頁，第 499-507 頁，第 598-601 頁，第 630-635 頁，長河出版社，台北市。
- 黎明倩。2004。黃嘌呤氧化酶催化過程交互作用之研究。碩士論文。清華大學化學系。
- 顏正賢。1997。痛風。高醫醫訊，17(2)：5-6。
- 蘇昱韶。2016。以微過濾處理提升脫脂鮮乳品質及延長貯存期之研究。碩士論文。東海大學畜產系。
- Bray, R. C., and B. G. Malmstron. 1964. The chemistry of xanthine oxidase. The amino acid composition. *Biochem. J.* 93:633-634.

- Battelli M. G., S Musiani, M Valgimigli, L Gramantieri, F Tomassoni, L Bolondi and Stirpe F. 2001. Serum Xanthine Oxidase in Human Liver Disease. *Am J Gastroenterol.* 96:1194-1199
- Benboubetra, M., A. Baghiani, D. Atmani, and R. Harrison. 2004. Physicochemical and kinetic properties of purified sheep's milk xanthine oxidoreductase. *J. Dairy Sci.* 87(6):1580-1584.
- Berry, C. E., and J. M. Hare. 2004. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease:molecular mechanisms and pathophysiological implications. *J. Physiol.* 555(3):589-606.
- Brans, G., C. G. P. H. Schroën, R. G. M. van der Smaan and R. M. Boom. 2004. Membrane fractionation of milk: state of the art and challenges. *J Memb Sci.* 243: 263–272.
- Bartoszewicz, M., B. M. Hansen, and I. Swiecicka. 2008. The members of the *Bacillus cereus* group are commonly present contaminants of fresh and heat-treated milk. *Food Microbiol.* 25:588–596.
- Boueiz, A., M. Damarla, and P. M. Hassoun. 2008. Xanthine oxidoreductase in respiratory and cardiovascular disorders. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 294:L830-L840.
- Clifford, A. J., C. Y. Ho, and H. Swenerton. 1983. Homogenized bovine milk xanthine oxidase: a critique of the hypothesis relating to plasmalogen depletion and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 38:327-332.
- Cheryan, M., *Ultrafiltration Hand book.* Technomic PUBLISHING Co. 1998.
- Claeys, W. L., C. Verraes, S. Cardoen, J. De Block, A. Huyghebaert, K. Raes, K. Dewettinck and L. Herman. 2014. Consumption of raw or

- heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control* 42:188-201
- Dawson, R. B., S. Rafal, and L. R. Weintraub. 1970. Absorption of hemoglobin iron: the role of xanthine oxidase in the intestinal heme-splitting reaction. *Blood* 35(1):94-103.
- Doehner, W., N. Schoene, M. Rauchhaus, G. Schuler, and R. Hambrecht. 2002. Effect of xanthine oxidase inhibition with allopurinol on endothelial function and peripheral blood flow in hyperuricemic patients with chronic heart failure: results from two placebo-controlled studies. *Circulation* 105:2619-2624.
- Doehner, W., and U. Landmesser. 2011. Xanthine oxidase and uric acid in cardiovascular disease: clinical impact and therapeutic options. *Seminars in Nephrology*. 31(5):433-440.
- Enroth, C., B. T. Eger, K. Okamoto, T. Nishinoi, and E. F. Pai. 2000. Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: structure-based mechanism of conversion. *PNAS*. 97(20):10723-10728.
- Egwim, E. C., M. A. Vunchi, and P. O. Egwim. 2005. Comparison of xanthine oxidase activities in cow and goat milks. *Biokemistri*. 17(1):1-6.
- Friedl, H. P., D. J. Smith, G. O. Till, P. D. Thomson, D. S. Louis, and P. A. Ward. 1990. Ischemia-reperfusion in humans: appearance of xanthine oxidase activity. *Am. J. Pathol.* 136(3):497-495.
- Fang, J., and M. H. Alderman. 2000. Serum uric acid and cardiovascular mortality the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1992.

- National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 283:2404-2410.
- Granger, D. N. 1988. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia –reperfusion injury. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 255:H1269-H1275.
- Godber, B. L. J., J. J. Doel, J. Durgan, R. Eisenthal, and R. Harrison. 2000. A new route to peroxynitrite: a role for xanthine oxidoreductase. *FEBS Lett.* 475:93-96.
- Ho, C. Y., and A. J. Clifford. 1977. Bovine milk xanthine oxidase, blood lipids and coronary plaques in rabbits. *J. Nutr.* 107:758-766.
- Hille, R., and T. Nishino. 1995. Flavoprotein structure and mechanism. 4. Xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase. *FASEB J.* 9(11):995-1003.
- Harrison, R. 2002. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic. Biol. Med.* 33(6):774-797.
- Harrison, R. 2006. Milk xanthine oxidase: properties and physiological roles. *Int. Dairy J.* 16: 546-554.
- Hoffmann, W., C. Kiesner, I. Clawin-Rädecker, D. Martin, K. Einhoff, P. C. Lorenzen, H. Meisel, P. Hammer, G. SuhRen, and P. Teufel. 2006. Processing of extended shelf life milk using microfiltration. *Int. J. Dairy Technol.* 59(4):229-235.
- Hoffmann, W., C. Kiesner, I. Clawin-Rädecker, D. Martin, K. Einhoff, P. Lorenzen, C. Meisel, H. Hammer, G. Suhren, and P. Teufel. 2006. Processing of extended shelf-life milk using microfiltration. *Int. J. Dairy Technol.* 59:229-235.

- Huth, P. J., D. B. DiRienzo, and G. D. Miller. 2006. Major Scientific Advances with Dairy Foods in Nutrition and Health. *J. Dairy Sci.* 89:1207-1221.
- Janssens, H. J. E. M., E. H. van de Lisdonk, M. Janssen, H. J. M. van den Hoogen, and A. L. M. Verbeek. 2006. Gout, not induced by diuretics? A case-control study from primary care. *Ann. Rheum. Dis.* 65:1080-1083.
- Jenkins, T. C., and M. A. McGuire. 2006. Major Advances in Nutrition: Impact on Milk Composition. *J. Dairy Sci.* 89:1302-1310.
- Kökoglu, E., A. Belce, E. Özyurt, and Z. Tepeler. 1990. Xanthine oxidase levels in human brain tumors. *Cancer Lett.* 50 (3) :179-181.
- Kelley, E. E., N. K. H. Khoo, N. J. Hundley, U. Z. Malik, B. A. Freeman, and M. M. Tarpey. 2010. Hydrogen peroxide is the major oxidant product of xanthine oxidase. *Free Radic. Biol. Med.* 48:493-498.
- Lopey, A., W. F. Collons and H. L. Williams, 1985. Essential elements, cadmium, and lead in raw and pasteurized cow and goat milk. *J. Dairy Sci.* 68:1878-1886.
- Loeb, S., L. Titelman, E. Korngold, and J. Freiman, 1997. Effect of porous support fabric on osmosis through a Loeb-Sourirajan type asymmetric membrane. *J Membrane Sci.* 129:243-249.
- Landmesser, U., S. Spiekermann, S. Dikalov, H. Tatge, R. Wilke, C. Kohler, D. G. Harrison, B. Hornig, and H. Drexler. 2002. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation* 106:3073-3078.

- Mazur, A., and A. Carleton. 1965. Hepatic xanthine oxidase and ferritin iron in the developing rat. *Blood* 26(3):317-322.
- Mccarthy, R. D., and C. A. Long. 1976. Bovine milk intake and xanthine oxidase activity in blood serum. *J. Dairy Sci.* 59:1059-1062.
- Mendel, R. R. 1983. Release of molybdenum co-factor from nitrate reductase and xanthine oxidase by heat treatment. *Phytochemistry.* 22(4):817-819.
- Martelin, E., R. Lapatto, and K. O. Raivio. 2002. Regulation of xanthine oxidoreductase by intracellular iron. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 283(6):1722-1728.
- Michalski, M. C., R. Cariou, F. Michel, and C. Garnier. 2002. Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *J. Dairy Sci.* 85:2451-2461.
- Morin, P., R. Jiménez-Flores, and Y. Pouliot. 2007. Effect of processing on the composition and microstructure of buttermilk and its milk fat globule membranes. *Int. Dairy J.* 17:1179-1187.
- Michalski, M. C., and C. Januel. 2006. Does homogenization affect the human health properties of cow's milk? *Trends Food Sci. & Technol.* 17:423-437.
- Olesen N., & Jensen F. 1989. Microfiltration. The influence of operating parameters on the process. *Milchwissenschaft.* 44:476-479

- Ö zer, N., M. M. D. Ataman, A. Ercan, and I. H. Ö güs. 1999. Simple, high-yield purification of xanthine oxidase from bovine milk. *J. Biochem. Biophys. Methods* 39:153-159.
- Priambodo, R., Y. J. Shih, Y. J. Huang, and Y. H. Huang. 2011. Treatment of real wastewater using semi batch (photo)-electro-fenton method. *Sustain. Environ. Res.* 21(6): 389-393.
- Puddu, P., G. M. Puddu, E. Cravero, L. Vizioli, and A. Muscari. 2012. The relationships among hyperuricemia, endothelial dysfunction, and cardiovascular diseases: molecular mechanisms and clinical implications. *J. Cariol.* 59:235-242.
- Ranieri, M. L., J. R. Huck, M. Sonnen, D. M. Barbano, and K. J. Boor. 2009. High temperature, short time pasteurization temperatures inversely affect bacterial numbers during refrigerated storage of pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.* 92:4823-4832.
- Schonberg, 1956. Number and types of somatic cells, in *Bovine Mastitis*. Schalm. O. W., E. J. Carroll, and N. C. Jain. 1971. Lea and Febiger, Philadelphia, Pa. U. S. A.
- Stirpe F., and E. Della Corte. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol. Chem.* 244(14):3855-3863.
- Spitsberg, V. L., and R. C. Gorewit. 1998. Solubilization and purification of xanthine oxidase from bovine milk fat globule membrane. *Protein Expr. Purif.* 13:229-234.

Spiekermann, S., U. Landmesser, S. Dikalov, M. Bredt, G. Gamez, H. Tatge, N. Reepschläger, B. Hornig, H. Drexler, and D. G. Harrison. 2003. Electron spin resonance characterization of vascular xanthine and NAD(P)H oxidase activity in patients with coronary artery disease. *Circulation* 107: 1383-1389.

Shamma'a, M. H., S. M. Nasrallah, and U. A. S. Al-Khalidi. 2005. Serum xanthine oxidase, an experience with 2000 patients. *Digest. Dis.* 18:15-22.

Silanikove, N., F. Shapiro, A. Shamay, and G. Leitner. 2005. Role of xanthine oxidase, lactoperoxidase, and NO in the innate immune system of mammary secretion during active involution in dairy cows: manipulation with casein hydrolyzates. *Free Radical Bio. Med.* 38:1139-1151.

Spitsberg, V. L. 2005. Invited review: bovine milk fat globule membrane as a potential nutraceutical. *J. Dairy Sci.* 88:2289-2294.

Singh, H. 2006. The milk fat globule membrane-A biophysical system for food applications. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 11:154-163.

Silanikove, N., and F. Shapiro. 2007. Distribution of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase activity in bovine milk: Physiological and technological implications. *Int. Dairy J.* 17:1188-1194.

Schmidt V. S. J., V. Kaufmann, U. Kulozik, S. Scherer, and M. Wenning. 2012. Microbial biodiversity, quality and shelf life of microfiltered and pasteurized extended shelf life (ESL) milk from Germany, Austria and Switzerland. *Int. J. Food Microbiol.* 154:1-9.

- Trotta, P. P., E. M. Smithwick, and M. E. Balis. 1976. A normal level of adenosine deaminase activity in the red cell lysates of carriers and patients with severe combined immunodeficiency disease. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 73(1):104-108.
- Waud, W. R., and K.V. Rajagopalan. 1976. Purification and properties of the NAD<sup>+</sup>-dependent (type D) and O<sub>2</sub>-dependent (type O) forms of rat liver xanthine dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.* 172(2):354-364.
- Yu, K., and S. Luo. 2003. Younger age of onset of gout in taiwan. *Rheumatology* 42(1):166-170.
- Yu, K. H. 2007. Febuxostat: a novel non-purine selective inhibitor of xanthine oxidase for the treatment of hyperuricemia in gout. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.* 1:69-75.

## VIII、英文摘要

High-temperature short-time (HTST) thermal pasteurization has been effectively used for decades as a method to extend the shelf life of fluid milk. The purpose of this study is to test the HTST full cream milk quality, xanthine oxidase activity, shelf life and nutritional content after microfiltration treatment (MF). After separating the cream, microfiltration is using 1.5 $\mu$ m filter paper to filtrated the skim milk and support by pump. Separated cream will heat through 121 $^{\circ}$ C, 15min, and followed by standardization, homogenization and pasteurized by HTST treatment. The results showed microfiltration treatment can effectively reduce the number of the somatic cells, the total number of bacteria and the content of protein and non-fat solids (SNF) are no significant difference. The shelf life of the MF-HTST full cream fresh milk refrigerated at 4 $^{\circ}$ C can be extended to 21 days. After cream heat treatment (121  $^{\circ}$ C , 15min), xanthine oxidase activity becomes significantly lower then un-heated treatment. In conclusion, the best way to decrease xanthine oxidase activity and extend the shelf life of HTST milk will to sterilize 20% fat content cream before standardizing the MF skim milk and through HTST processing. This study may provide a suitable method to produce the lower xanthine oxidase activity of long shelf life HTST fresh milk.