

doi:10.12301/spxb202300050

文章编号:2095-6002(2023)02-0070-11

引用格式:孟繁宇,韩兆盛,张哲婷,等.浸入式和喷射式超高温瞬时灭菌对牛乳中活性蛋白和风味化合物的影响[J].食品科学技术学报,2023,41(2):70-80.



MENG Fanyu, HAN Zhaosheng, ZHANG Zheting, et al. Effect of steam infusion and steam injection ultra-high temperature treatment on active proteins and flavor compounds in milk[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023,41(2):70-80.

浸入式和喷射式超高温瞬时灭菌对牛乳中活性蛋白和风味化合物的影响

孟繁宇¹, 韩兆盛¹, 张哲婷¹, 丁浩¹, 卢晓莉², 陆淳²,
马利刚², 康志远^{2,*}, 王蓓^{1,*}, 李妍¹

(1.北京工商大学食品与健康学院,北京 100048;2.君乐宝乳业集团有限公司,河北石家庄 050221)

摘要:超高温瞬时灭菌(ultra-high temperature treatment,UHT)是常用的牛乳杀菌技术,可分为直接式与间接式处理,其中直接式UHT技术由于成本高在乳品行业使用较少。近年来,随着消费者对牛乳营养物质和风味需求的升级,直接式UHT技术由于升温速度快、风味及营养成分损失少的优点,再次受到广泛关注。对比了浸入式和喷射式2种直接式处理技术对牛乳理化性质、活性乳清蛋白含量和挥发性化合物含量的影响。结果表明,浸入式UHT乳较喷射式UHT乳的平均粒径、失稳系数和黏度值均更小,但乳清蛋白变性率高。通过2种萃取方法——箭型固相微萃取法和溶剂辅助萃取法,结合气相色谱-质谱联用仪的分析结果,共在UHT乳中检测出59种挥发性化合物,其中,浸入式UHT乳中检测出50种,喷射式UHT乳中检测出52种。浸入式UHT乳中的酮、醛和脂肪酸类化合物比喷射式UHT乳中占比低,而酯类和醇类化合物占比高。主成分分析结果表明,浸入式UHT乳和喷射式UHT乳可根据挥发性化合物进行区分,说明不同的直接式UHT工艺可能对UHT乳风味产生影响。研究结果表明:若生产奶味更重的UHT乳,可选择喷射式UHT;若生产蒸煮味轻、异味少,且贮藏更为稳定的UHT乳,可选择浸入式UHT。研究结果旨在对乳品企业选择恰当的热杀菌工艺,生产货架期长、营养成分高、风味良好的UHT乳提供数据支撑与理论参考。

关键词:超高温瞬时灭菌;牛乳;挥发性化合物;理化性质;乳清蛋白变性

中图分类号:TS252.1

文献标志码:A

超高温瞬时灭菌(ultra-high temperature treatment,UHT)乳是目前市场上液态奶产品的最大品类,其在常温下的保质期通常6~9个月^[1-2]。UHT根据杀菌工艺的不同可分为直接式UHT和间接式

UHT,其中直接式UHT具有升温快、风味及营养成分损失少的优点^[3]。目前已有相关研究对直接式UHT和间接式UHT乳中挥发性化合物和活性蛋白含量的差异进行研究,结果表明,直接式UHT乳比

收稿日期:2023-02-01

基金项目:博士后国际交流“加快推进北京科创中心建设”引进项目;北京工商大学食品科学与工程“双一流”学科建设培育项目团队建设项目。

Foundation: Beijing Postdoctoral Research Foundation “Accelerate the Construction of Beijing Science and Technology Innovation Center” Introduction Project; Cultivation Project of “Double First-Class” Disciplines of Food Science and Engineering, Beijing Technology & Business University.

第一作者:孟繁宇,女,在站博士后,主要从事乳品成分分析方面的研究。

*通信作者:王蓓,女,教授,博士,主要从事乳制品风味分析方面的研究;

康志远,男,工程师,主要从事益生菌与功能性乳制品方面的研究。

间接式 UHT 乳中未变性的 α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白的含量高,并且直接式 UHT 乳中蒸煮风味低^[4]。此外,在原料乳相同的条件下,直接式 UHT 乳中丁酸、癸酸、壬酸等短链脂肪酸的含量高,这些酸类物质对牛乳的奶香味具有较高贡献^[5]。

直接式 UHT 又可分为浸入式 UHT 和喷射式 UHT。尽管在原理上都是蒸汽与牛乳直接接触使牛乳温度升高,浸入式 UHT 中蒸汽储存在蒸汽室中等待牛乳经过,而喷射式 UHT 中蒸汽则通过蒸汽喷射器注入^[6]。这 2 种不同的热杀菌处理方法会导致牛乳中理化性质、活性成分含量,以及风味化合物(主要为挥发性化合物)的变化^[7-9]。已有研究认为,浸入式 UHT 比喷射式 UHT 更温和,因为浸入式 UHT 不涉及牛乳中蒸汽气泡的冷凝^[10];且浸入式 UHT 乳相较喷射式 UHT 乳中的酪蛋白平均粒径更大,蛋白质凝块尺寸更小,形成的沉淀更少^[11]。风味方面,有研究表明,浸入式 UHT 和喷射式 UHT 均可减少由于牛乳加热带来的蒸煮味^[12],但是其他风味,例如甜味和奶味也会减少^[13]。目前,对比 2 种方法的相关研究较少,且已有的研究发表时间较早,研究方法和技术手段相对落后。

本研究拟对同一批原料乳进行浸入式 UHT 和喷射式 UHT(温度和加热时间相同),对浸入式 UHT 乳和喷射式 UHT 乳的 3 种理化性质,包括粒径、黏度和稳定性进行监测;同时,利用凯氏定氮法和十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)凝胶电泳法对 2 种 UHT 乳中的蛋白质变性率及活性 α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白含量进行定量。此外,通过箭型固相微萃取法(solid-phase microextraction arrow, SPME-arrow)和溶剂辅助萃取法(solvent assisted flavour evaporation, SAFE)提取 UHT 乳中的挥发性化合物,使用气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对 2 种 UHT 乳中的挥发性化合物进行测定,希望结合理化性质、蛋白质变性率和挥发性化合物的分析结果更全面地分析 2 种杀菌方式对牛乳品质的影响,为乳品企业选择恰当的热加工工艺提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料乳,君乐宝乳业集团有限公司;氦气(纯度 99.999%),北京氮普北分气体工业有限公司;正构

烷烃($C_7 \sim C_{40}$, 色谱纯),英国 o2si Smart Solutions 公司;正己烷(色谱纯),安耐吉化学;考马斯亮蓝 R-250,美国 Bio-Rad 公司;氯化钠、三氯乙酸(TCA)、丙烯酰胺、Tris-HCl、十二烷基硫酸钠(SDS)、过硫酸铵、四甲基乙二胺(TEMED)、4×蛋白上样缓冲液(主要成分为 SDS、 β -巯基乙醇、溴酚蓝、缓冲盐溶液)、甘氨酸、乙醇、冰醋酸,均为分析纯,2-甲基-3-庚酮,色谱纯,上海 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 仪器与设备

VTIS 型直接式 UHT 设备,瑞典 Tetra Pak 公司;7890B-5977A 型气相色谱-质谱联用仪、DB-WAX 型毛细管柱(60 m×0.25 mm, 0.25 μ m)、箭型固相微萃取进样器及 DVB/CAR/PDMS(120 μ m×20 mm)的 SPME arrow 萃取头,美国 Agilent 公司;LUMiSizer 型稳定性分析仪,德国 L. U. M. GmbH 公司;SALD-2300 型激光衍射粒度仪,日本岛津公司;Brookfield DV III 型数字黏度计,美国 Brookfield 公司;Kjeltec 8400 型全自动凯氏定氮仪,丹麦 Foss 公司;Mini-PROTEAN Tetra 型电泳槽、Gel DocTM XR+ 型分子成像仪,美国 Bio-Rad 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 牛乳取样、热加工与贮藏

新鲜原料乳取自本地牧场,快速冷却至 4 $^{\circ}$ C 运往乳品加工厂。同批次原料乳采用巴氏杀菌温度进行预热和预杀菌后,分别进行浸入式 UHT 和喷射式 UHT 处理,生产工艺如图 1。蒸汽使用食品饮料用洁净蒸汽,蒸汽流量为 2 100 kg/h,物料流量为 10 000 kg/h;利用配备冷凝器的真空容器进行闪蒸冷却。经无菌罐装后,UHT 乳中蛋白质质量分数为 3.6%,脂肪质量分数为 3.9%,碳水化合物质量分数为 4.8%,能量为 282.1 kJ/dL。常温保持 1 周后进行检测。

1.3.2 UHT 乳理化性质测定

1.3.2.1 粒径的测定

采用激光衍射粒度仪对样品的粒径进行测定。用蒸馏水将样品稀释 10 倍,在涡旋振荡器上震动 15 s 左右,混匀。混匀后立即取适量样品于流通池内进行连续测量,每个样品测量 3 次。粒子折射率设为 1.45,介质的折射率设为 1.33,精准率为 0.001。以中位粒径作为衡量样品颗粒大小的标准,并根据粒径分布图进一步分析。

1.3.2.2 失稳系数的测定

采用稳定性分析仪通过牛乳的透光率对样品的

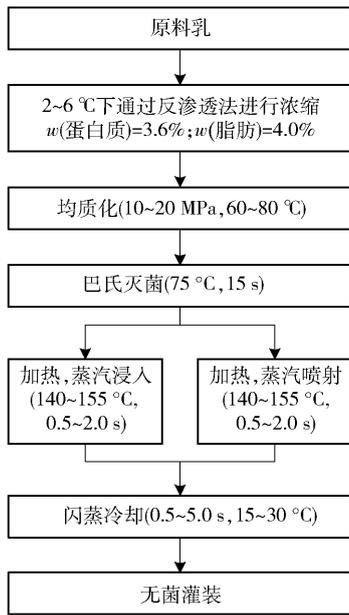


图1 运用浸入或喷射工艺生产 UHT 乳流程

Fig.1 Flow chart of UHT milk processed by steam infusion or steam injection

失稳系数进行测定。牛乳样品装样量 0.4 mL, 在温度为 25 °C、转速为 2 500 r/min、时间间隔为 30 s 的条件下观测 7 620 s。

1.3.2.3 黏度的测定

采用数字黏度计在室温下对样品黏度进行测定。向样品池中加入约 8 mL 样品, 设定转子型号及转速, 使扭矩在 20% ~ 80%。设定参数: 转子型号 SC4-18, 转速 200 r/min, 测定时间 4 min, 取平均黏度为最终结果。每个样品测试 3 次, 取平均值。

1.3.3 蛋白质活性的测定

1.3.3.1 样品处理和乳清蛋白变性率的测定

1) 非酪蛋白氮(NCN)的提取。取约 200 mL 牛乳样品, 加入 80 g NaCl 至溶液饱和以沉淀酪蛋白。前 15 min 搅拌混合物使其均匀加热, 40 °C 水浴静置 15 min 后趁热过滤, 收集上清液。

2) 非蛋白氮(NPN)的提取。将质量分数 15% 的 TCA 与过滤后的乳清按体积比 4:1 混合来沉淀乳清蛋白。静置 5 min 后, 用中速滤纸过滤。滤液中剩余的为非蛋白氮组分(氨基酸、尿素等)。

3) 乳清蛋白变性率的测定。总氮(TN)、NCN 和 NPN 含量使用全自动凯氏定氮仪根据总氮浓度进行分析。氮含量转化为等效蛋白质含量, TN 和 NCN 的氮-蛋白质转换因子均为 6.38, NPN 的氮-蛋白质转换因子为 1。依据陈立红^[14]的公式, 活性乳清蛋白(WP)含量的计算方法见式(1)。

$$\rho(\text{WP}) = \frac{m(\text{NCN}) \times 6.38 - m(\text{NPN})}{m(\text{TN}) \times 6.38 - m(\text{NPN})} \times \rho_{\text{H}_2\text{O}} \div 100. \quad (1)$$

式(1)中, $\rho(\text{WP})$ 、 $m(\text{NCN})$ 、 $m(\text{NPN})$ 、 $m(\text{TN})$ 分别为原料乳中活性乳清蛋白质量浓度(g/100 mL)、非酪蛋白氮质量(g)、非蛋白氮质量(g)以及总氮质量(g), $\rho_{\text{H}_2\text{O}}$ 为水密度, 1 g/mL。

根据式(2)计算 UHT 处理后牛乳样品中乳清蛋白变性率(%)^[14]。

乳清蛋白变性率 =

$$\left[1 - \frac{m(\text{NCN}) \times 6.38 - m(\text{NPN})}{m(\text{TN}) \times 6.38 - m(\text{NPN})} \right] / w(\text{WP}) \times 100\%. \quad (2)$$

式(2)中, $m(\text{NCN})$ 、 $m(\text{NPN})$ 、 $m(\text{TN})$ 分别为热处理后牛乳中非酪蛋白氮质量(g)、非蛋白氮质量(g)以及总氮质量(g), $w(\text{WP})$ 为原料乳中活性乳清蛋白质量分数, %。

1.3.3.2 α -乳白蛋白与 β -乳球蛋白含量的测定

α -乳白蛋白与 β -乳球蛋白含量通过 SDS 凝胶电泳法测定。以质量分数 12% 的分离凝胶、质量分数 5% 的浓缩凝胶制胶。取 30 μL 的样品滴入 20 μL 的 2 \times 蛋白缓冲混合液(加入质量分数为 10% 的甘油)中, 并使用沸水煮沸 5 min, 使蛋白质变性, 离心 2 min。将玻璃板置于充满电极缓冲液的电泳装置中, 缓慢取出梳子, 用移液枪吸入 15 μL 配置好的样品, 点入胶孔内, 并留下一个蛋白标准品标记的胶孔。电泳点样结束后, 胶体置于电泳槽内, 调节电流 25 mA 跑至浓缩胶结束, 并切换电流 35 mA 跑至分离胶结束。电泳结束后放入固定液(乙醇、冰醋酸、水三者的体积比为 5:10:85)中静置 10 min; 将胶置于染色盒内, 倒入适量的考马斯亮蓝 R-250 染色液淹没胶体, 放入 60 °C 的水浴锅内 10 min。将染好色的胶体置于脱色盒内, 放置于摇床上脱色。脱色完成后的胶体置于分子成像仪获得凝胶和条带强度的图像, 并使用 Image LabTM 软件对 α -乳白蛋白与 β -乳球蛋白条带进行定量。

1.3.4 UHT 乳中挥发性化合物的测定

依据文献[15]的方法对 UHT 乳中的挥发性化合物进行测定。

1.3.4.1 挥发性化合物的 SPME-arrow 萃取

在顶空瓶中称取 10 g 样品乳, 加入 1 g NaCl, 用微量进样器吸取 1 μL 质量浓度为 0.816 mg/mL 的内标物(2-甲基-3-庚酮)打入顶空瓶中。设置水浴

锅的温度为 45 °C, 密封好的顶空瓶放入水浴锅中加热平衡 20 min 后, 将 SPME-arrow 的萃取头 (DVB/CWR/PDMS, 1.1 mm × 120 μm) 插入顶空瓶中, 推出萃取纤维。待顶空吸附 30 min 后, 缩回萃取纤维, 并拔出萃取头, 随后萃取头在 250 °C 的进样口解析 5 min。

1.3.4.2 挥发性化合物的 SAFE 萃取

在 SAFE 装置中, 500 mL 圆底烧瓶用于收集萃取液, 置于 -196 °C 液氮的冷阱中; 1 000 mL 圆底烧瓶用于收集废液, 并稳定在 40 °C 的恒温水浴锅中。整个 SAFE 装置需要维持在 1×10^{-4} Pa 的真空度下, 并且循环水浴的温度保持在 50 °C。待 SAFE 装置的真空度和水浴温度都稳定后, 将 200 mL 牛乳和 200 μL 2-甲基-3-庚酮 (0.816 mg/mL) 混匀后倒入 SAFE 装置的分液漏斗中, 打开滴液漏斗活塞, 缓慢滴加, 萃取过程中保证真空泵的压力处于稳定状态。待滴液漏斗中剩余少量牛乳时, 停止萃取, 关闭真空泵, 压力逐渐释放。将萃取液移至 250 mL 分液漏斗中, 同时用重蒸后的 50 mL 二氯甲烷分 3 次进行萃取得到有机相, 用 100 mL 圆底烧瓶接收有机相后, 将圆底烧瓶置于 50 °C 水浴锅中, 用 Vigreux 柱精馏浓缩后氮吹至 200 μL, 然后取 1 μL 萃取液进行 GC-MS 分析。

1.3.4.3 挥发性化合物的分离和检测

利用 GC-MS 对 UHT 乳中的挥发性化合物进行分离和检测。

GC 条件: 以氦气作为载气, 设置恒定流速为 1.2 mL/min。色谱柱的升温程序: 起始柱温为 40 °C, 以 7 °C/min 升温到 75 °C; 以 2 °C/min 升到 150 °C; 以 5 °C/min 升到 230 °C, 维持 2 min。采用不分流模式。

MS 条件: 电子电离 (electron ionization, EI) 源, 电子能量 70 eV; 进样口温度为 250 °C, 离子源温度为 230 °C, 四极杆温度为 150 °C; 全扫描模式, 质量扫描范围是 m/z 35 ~ 350 u。

1.3.4.4 挥发性化合物的定性和定量分析

利用质谱法 (MS) 和保留指数 (retention index, RI) 2 种方法定性化合物。在 NIST14 谱库中检索、对比化合物, 计算化合物的保留指数并与文献中的保留指数进行对比。在与样品牛乳相同的色谱条件下, 测得正构烷烃 $C_7 \sim C_{40}$ GC 保留时间, 根据式 (3) 计算待测化合物的保留指数。

$$RI = 100 \times n + \frac{100(t_i - t_n)}{t_{n+1} - t_n} \quad (3)$$

式 (3) 中, RI 为保留指数; t_i 为样品 i 的保留时间, min; n 为碳原子数; t_n 为碳原子数为 n 的正构烷烃的保留时间, min; t_{n+1} 为碳原子数为 $n+1$ 的正构烷烃的保留时间, min; $n < i < n+1$ 。

利用内标半定量法计算各挥发性风味化合物的含量。

1.4 数据处理

利用 RStudio 软件进行独立 t 检验分析, 比较浸入式和喷射式 UHT 乳中各理化性质差异; $P < 0.05$ 表示数据具有显著差异。利用 SIMCA 软件对挥发性化合物结果进行主成分分析 (principle component analysis, PCA), 利用 <http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/> 的画图软件绘制韦恩图。

2 结果与分析

2.1 浸入式 UHT 和喷射式 UHT 对牛乳理化性质和活性蛋白的影响

浸入式和喷射式 UHT 乳的理化指标分析结果见表 1。由表 1 可知, 相较喷射式 UHT 乳, 浸入式 UHT 乳的平均粒径、失稳系数和黏度值均更小 ($P < 0.05$)。经均质步骤后, UHT 乳的粒径分布在 0.1 ~ 10.0 μm, 与先前的报道一致^[16]。牛乳的粒径主要取决于脂肪球、酪蛋白胶束, 以及脂肪和蛋白质聚集体的大小。粒径大小是衡量牛乳保质期内稳定性的重要指标, 初始平均粒径小、粒径分布呈单峰分布的牛乳更稳定, 而不稳定的牛乳中可出现粒径高达 700 μm 的颗粒群 (主要为酪蛋白胶束的聚集体)^[17]。由此可见, 浸入式 UHT 乳可能较喷射式 UHT 乳更为稳定。本研究利用稳定性分析仪加速测定得到的喷射式 UHT 乳的失稳系数高于浸入式 UHT 乳也印证了这一结论。

表 1 浸入式和喷射式 UHT 乳的理化性质比较

Tab. 1 Comparison of physicochemical properties of UHT milk processed by steam infusion and steam injection

	d (平均)/μm	失稳系数	η /(mPa·s)
浸入式	0.55 ± 0.000	0.060 ± 0.000	2.18 ± 0.020
喷射式	0.57 ± 0.000	0.068 ± 0.001	2.25 ± 0.010
P	0.000 3	0.001	<0.000 1

UHT 步骤中, 热处理结合均质会导致牛乳的黏度上升^[18]。已有的研究显示, 导致牛乳黏度增加的主要反应是 β -乳球蛋白的展开以及酪蛋白胶束

的交联^[19]。由此推测,本研究中浸入式 UHT 乳的黏度较喷射式 UHT 乳低的原因是 β -乳球蛋白变性率或 β -乳球蛋白与酪蛋白胶束的交联程度比喷射式 UHT 乳低。

实验测得的浸入式和喷射式 UHT 乳的总乳清蛋白变性率,见表 2。由表 2 可知,浸入式和喷射式 UHT 乳的乳清蛋白变性率分别为 48.82% 和

37.17%。浸入式 UHT 乳中蛋白质变性率较喷射式 UHT 乳更高,这一结果与前人报道的结果不同,可能与本实验采用实际生产设备,物料量较大,温度控制上略有偏差有关。Jong 等^[10]的研究表明,喷射式 UHT 乳中乳清蛋白变性率更高,而 Malmgren^[11]的研究表明,2 种直接式 UHT 乳的乳清蛋白变性率无显著差异。

表 2 浸入式和喷射式 UHT 乳中未变性乳清蛋白含量比较

Tab. 2 Comparison of undenatured whey proteins in UHT milk processed by steam infusion and steam injection

	ρ (总蛋白)/ ($\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$)	ρ (未变性乳清 蛋白)/ ($\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$)	ρ (非蛋白氮)/ ($\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$)	乳清蛋白 变性率/ %	ρ (未变性 α - 乳白蛋白)/ ($\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$)	ρ (未变性 β - 乳球蛋白)/ ($\text{g}\cdot 100\text{ mL}^{-1}$)
浸入式	3.598 ± 0.000	0.406 ± 0.006	0.042 ± 0.003	48.82 ± 1.000	0.196	0.098
喷射式	3.598 ± 0.026	0.443 ± 0.005	0.046 ± 0.004	37.17 ± 1.536	0.111	0.083
<i>P</i>	0.99	<0.000 1	0.1	0.001	—	—

“—”表示未检测。

有研究表明,直接式 UHT 乳中 α -乳白蛋白的变性率(浸入式 UHT:21.4%,喷射式 UHT:23.0%)低于 β -乳球蛋白变性率(浸入式 UHT:61.6%,喷射式 UHT:62.0%)^[7],与本实验发现的未变性 α -乳白蛋白较未变性 β -乳球蛋白含量高的结果相符。就蛋白质的不可逆变性而言,牛乳中 β -乳球蛋白较 α -乳白蛋白热依赖性更强^[20]。此外,相较浸入式 UHT 乳,喷射式 UHT 乳中的变性 β -乳球蛋白含量更高,从而有更多的 β -乳球蛋白结构发生变化并聚集,进而导致黏度增加,这与本研究中测定的喷射式 UHT 乳黏度高的结果相符。

2.2 浸入式和喷射式 UHT 对牛乳中挥发性化合物含量的影响

利用 SAFE 和 SPME 这 2 种萃取方法得到的挥发性化合物数量和种类的分析结果见图 2。由图 2(a)可知,本研究检测到了浸入式和喷射式 UHT 乳中的挥发性物质共 59 种;SPME 法测到 19 种,SAFE 法测出 54 种,其中有 14 种物质使用 2 种萃取方法都能检测到,具体物质的含量见表 3。这 14 种化合物包括己醛、壬醛、2-十一酮、 δ -癸内酯、二甲基砜,以及一些短链酸等化合物(表 3)。据已有报道,SAFE 对于醇类、脂肪酸类和醛类物质的萃取效果

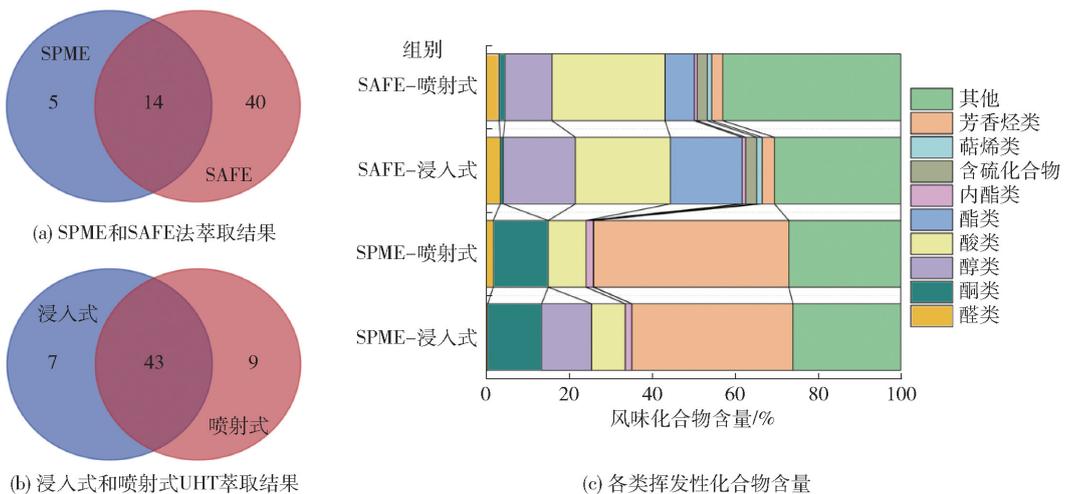


图 2 UHT 乳中挥发性风味化合物的数量和种类分析

Fig. 2 Analysis of amounts and types of volatile flavor compounds in UHT milk

较好,而 SPME 对于酯类及含硫化合物萃取效果更佳^[21]。然而,本实验结果表明,在牛乳体系中 SPME 对牛乳中的重要风味化合物 2-庚酮、2-壬酮和 3-己

醇以及苯酚和苯甲醛萃取效果佳,但是对酯类及含硫化合物萃取效果不如 SAFE。可见,SAFE 和 SPME 结合能更全面地分析牛乳中的风味化合物。

表3 SPME 和 SAFE 萃取的浸入式和喷射式 UHT 乳中的挥发性物质含量

Tab.3 Concentrations of volatile compounds in UHT milk processed by steam infusion and steam injection using SPME and SAFE extraction

风味物质	CAS	RI	$w/(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$			
			SPME-浸入式	SPME-喷射式	SAFE-浸入式	SAFE-喷射式
醛类						
己醛	66-25-1	1079	1.25 ± 1.17	0.72 ± 0.69	7.66 ± 1.40	7.60 ± 1.52
壬醛	124-19-6	1390	—	1.63 ± 1.88	82.81 ± 9.37	62.98 ± 6.02
13-十四烯醛	85896-31-7	1964	—	—	31.32 ± 27.17	45.77 ± 39.69
酮类						
2-庚酮	110-43-0	1213	12.56 ± 12.85	9.25 ± 0.67	—	—
2-壬酮	821-55-6	1386	15.36 ± 3.42	6.58 ± 0.44	—	—
2-十一酮	112-12-9	1615	4.18 ± 0.84	1.17 ± 1.12	14.84 ± 2.57	13.14 ± 1.21
2-十三酮	593-08-8	1816	—	—	—	16.47 ± 3.98
3-羟基-2-丁酮	513-86-0	1280	—	—	—	10.20 ± 1.53
6,10-二甲基-5,9-十一双烯-2-酮	689-67-8	1862	—	—	9.97 ± 8.96	12.01 ± 4.60
醇类						
2-甲基-2-丁醇	75-85-4	1000	—	—	10.75 ± 1.80	8.88 ± 1.44
3-己醇	623-37-0	1190	29.62 ± 6.13	—	—	—
2-辛醇	123-96-6	1398	—	—	9.08 ± 1.90	7.82 ± 1.61
2-乙基-1-己醇	104-76-7	1484	—	—	—	8.02 ± 6.95
1-十二醇	112-53-8	1977	—	—	360.86 ± 54.73	234.67 ± 26.50
1-十四醇	112-72-1	2145	—	—	177.85 ± 24.43	109.31 ± 12.85
1-十六醇	36653-82-4	2400	—	—	47.32 ± 8.19	38.95 ± 4.14
酸类						
甲酸	64-18-6	1499	—	—	4.87 ± 0.54	5.83 ± 0.66
乙酸	64-19-7	1461	—	—	22.96 ± 5.18	20.98 ± 2.61
丙酸	79-09-4	1540	—	—	4.70 ± 0.49	4.83 ± 0.85
丁酸	107-92-6	1647	0.53 ± 0.30	0.21 ± 0.20	10.20 ± 1.92	8.07 ± 1.30
己酸	142-62-1	1838	2.02 ± 2.19	1.45 ± 0.40	78.67 ± 15.27	66.11 ± 12.71
庚酸	111-14-8	1950	—	—	15.93 ± 7.80	13.46 ± 0.96
辛酸	124-07-2	2070	5.38 ± 2.20	3.71 ± 1.95	230.39 ± 72.17	332.55 ± 66.84
壬酸	112-05-0	2169	1.72 ± 1.64	0.56 ± 0.51	100.37 ± 88.77	126.98 ± 29.50
癸酸	334-48-5	2314	6.14 ± 5.53	2.50 ± 2.19	194.64 ± 37.94	159.47 ± 16.42
十二酸	143-07-7	2503	4.25 ± 4.23	3.33 ± 3.39	96.90 ± 4.92	212.98 ± 51.23
9-癸烯酸	14436-32-9	2348	—	—	35.15 ± 10.02	28.05 ± 3.15
酯类						
乙酸丁酯	123-86-4	1100	—	—	27.50 ± 4.39	23.37 ± 3.90
十六酸甲酯	112-39-0	2251	—	—	192.42 ± 32.73	154.46 ± 16.14
十六酸乙酯	628-97-7	2246	—	—	142.44 ± 74.63	39.38 ± 3.01
十八酸甲酯	112-61-8	2445	—	—	70.08 ± 10.52	—

续表3

风味物质	CAS	RI	$w/(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$			
			SPME-浸入式	SPME-喷射式	SAFE-浸入式	SAFE-喷射式
十八酸乙酯	111-61-5	2 455	—	—	11.60 ± 10.96	—
己二酸二异丙酯	6938-94-9	1 430	—	—	22.56 ± 0.97	17.24 ± 2.10
亚油酸乙酯	544-35-4	2 521	—	—	74.54 ± 13.42	—
2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	6846-50-0	1 591	—	—	—	19.36 ± 6.53
(Z)-9-十八烯酸乙酯	111-62-6	2 476	—	—	60.76 ± 10.65	—
内酯类						
δ-癸内酯	705-86-2	2 229	3.95 ± 3.64	2.23 ± 2.30	21.21 ± 1.70	17.78 ± 19.22
2(5H)-呋喃酮	497-23-4	1 767	—	—	8.74 ± 1.87	6.71 ± 0.68
含硫化物						
二甲基硫醚	75-18-3	760	—	—	25.79 ± 4.23	22.22 ± 2.94
二甲基砷	67-71-0	1 912	—	0.16 ± 0.17	62.56 ± 9.33	63.79 ± 8.50
二甲基亚砷	67-68-5	1 553	—	—	3.98 ± 3.66	1.22 ± 1.80
萜烯类						
D-柠檬烯	5989-27-5	1 031	—	—	44.98 ± 5.75	39.24 ± 5.69
芳香烃类						
甲苯	108-88-3	1 037	95.79 ± 31.59	60.36 ± 5.09	70.34 ± 11.44	65.20 ± 9.05
乙苯	100-41-4	1 168	—	—	17.36 ± 2.56	15.37 ± 2.10
对二甲苯	106-42-3	1 136	—	—	16.06 ± 2.19	14.25 ± 2.18
其他						
苯酚	108-95-2	2 006	—	0.23 ± 0.21	—	—
苯甲醛	100-52-7	1 528	6.80 ± 0.71	3.75 ± 0.39	—	—
苯乙酮	98-86-2	1 638	0.46 ± 0.04	0.25 ± 0.24	11.46 ± 2.79	8.55 ± 1.80
雪松醇	77-53-2	2 109	—	—	—	4.42 ± 4.05
邻苯二甲酸二乙酯	84-66-2	2 361	—	—	19.29 ± 2.98	495.47 ± 105.75
水杨酸-2-乙基己基酯	118-60-5	1 807	—	—	—	13.84 ± 1.36
1,2-苯二甲酸二异丁酯	84-69-5	2 361	—	—	—	160.41 ± 24.68
2-苯基-2-丙醇	617-94-7	2 592	—	—	38.04 ± 7.28	—
2-(苯甲基)辛醇	101-86-0	1 776	—	—	12.20 ± 7.55	—
2,6-二叔丁基对甲基苯酚	128-37-0	1 513	—	—	152.80 ± 34.46	92.83 ± 16.11
2,4-二叔丁基酚	96-76-4	1 920	—	—	787.34 ± 132.24	679.47 ± 76.87
3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛	1620-98-0	2 321	—	—	20.51 ± 4.99	14.44 ± 3.11
4-乙基苯甲醛	4748-78-1	1 163	56.91 ± 9.77	30.42 ± 4.87	15.63 ± 3.94	12.73 ± 2.36
7,9-二叔丁基-1-氧杂螺[4.5]癸-6,9-二烯-2,8-二酮	82304-66-3	1 719	—	—	—	38.09 ± 7.72

“—”表示未检出。

浸入式 UHT 乳中的挥发性化合物(50 种)较喷射式 UHT 乳(52 种)数量少[图 2(b)]。在喷射式 UHT 乳中检测出的二甲基砷、壬醛、2-十三酮和 3-羟基-2-丁酮等风味化合物并未在浸入式 UHT 乳中

检测出(表 3)。在具体含量上,结合 2 种萃取方法结果,浸入式 UHT 乳中 2-十一酮和癸酸含量高,而二甲基砷含量低。二甲基砷等含硫化物与牛乳的蒸煮味有关,壬醛带有油脂的味道,癸酸带有酸臭

味,甲基酮类则带有奶油味^[22-23]。UHT乳中含硫化化合物主要来源于乳蛋白中甲硫氨酸的Strecker降解,含硫化化合物会随温度升高而增多,带来的蒸煮味是UHT乳在感官上不被接受的主要原因^[24]。浸入式UHT乳中含硫化化合物含量低,蒸煮味轻,可能是因为浸入式UHT处理时,预热后的牛乳在进样时不与温度比自身高的金属接触^[11],而喷射式UHT乳的风味可能会更复杂,因为其不仅仅有蒸煮味,还可能带有油脂味和奶油味。事实上,由于2种直接式UHT乳都经历了闪蒸冷却,与原料乳相比,可能都会有一定程度上的味道脱除^[25]。

由表3可知,UHT乳中检测到的挥发性化合物可分为醛、酮、醇、酸、内酯、含硫化化合物、萜烯、芳香烃类以及其他化合物。SAFE-GC-MS测定出的总挥发性化合物含量远高于SPME-GC-MS。除酮类外,SAFE萃取出的其他各类挥发性化合物均高于SPME萃取出的挥发性化合物含量。图2(c)展示了各类挥发性化合物的含量差异。SPME的萃取结果显示,相比浸入式UHT乳,喷射式UHT乳中芳香烃类化合物和醛类化合物占比高,而醇类化合物占比低;SAFE的萃取结果则显示,喷射式UHT乳中酮类和酸类化合物占比高,醇类和酯类占比低。喷射式UHT乳中占比较高的酮、醛和脂肪酸类物质的风味阈值低并且风味特征显著^[5,15]。酸类在适当含量范围内,可呈现乳香味,醛类和酮类同样对奶油香、油脂味等有所贡献^[5],说明喷射式UHT乳中奶香味可能更重。浸入式UHT乳中占比高的酯类和醇类,分别带有果香、清甜味道以及植物香、芳草、泥土等风味^[26],说明浸入式UHT乳中的味道更偏清香、甜香。

利用主成分分析(principal component analysis, PCA)方法进行的多元统计分析发现,无论是利用SPME,还是SAFE结合GC-MS,浸入式UHT乳样品和喷射式UHT乳样品都可以依据挥发性成分进行区分(图3)。由图3(a)可知,基于SPME数据的降维结果,前2个主成分(principal component, PC)总共描述了整组数据72.2%的差异性,其中PC1为43.5%,PC2为28.7%。在PC1维度(x 轴)的正方向上,主要的驱动变量(即挥发性化合物)为苯甲醛、2-壬酮、3-己醇等;而负方向上的主要驱动变量为二甲基砜、壬醛和苯酚。在PC2维度(y 轴)上,正方向的主要驱动变量为辛酸、 δ -癸内酯等,负方向则为己醛和癸酸。根据样品在PCA双序图上的分布

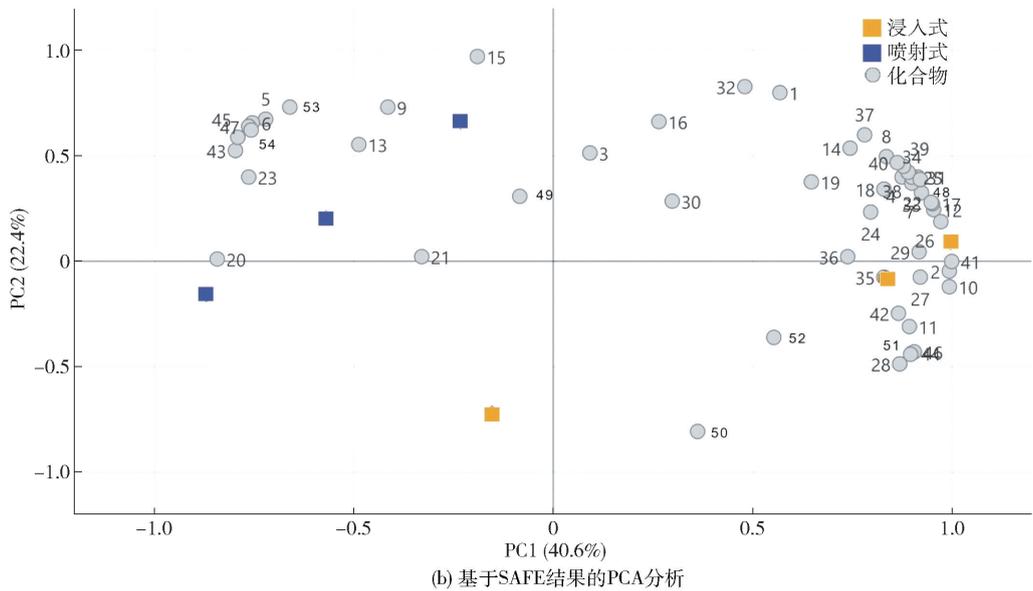
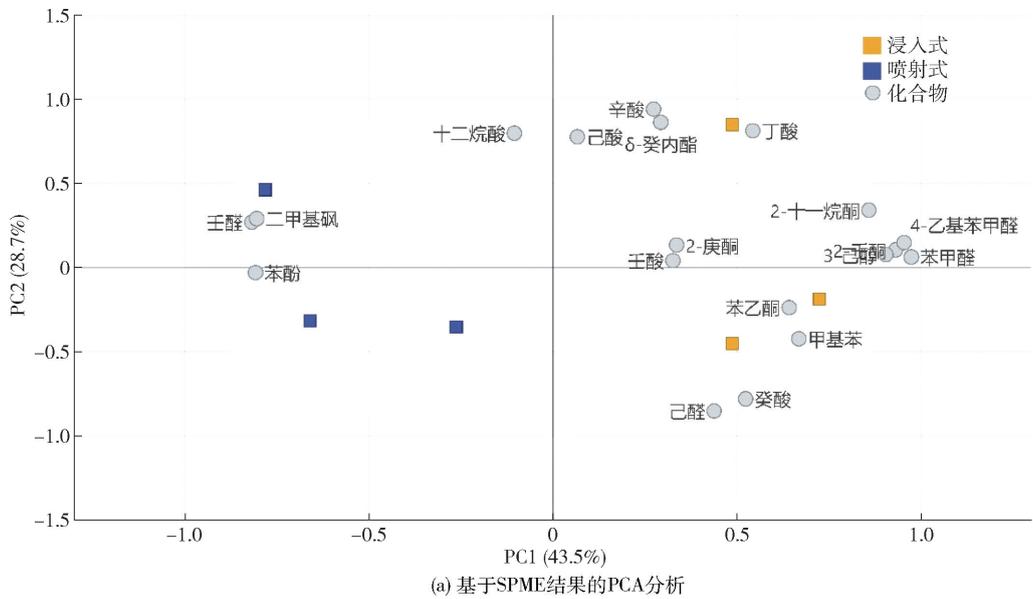
可知,区分浸入式UHT乳(y 轴右侧)和喷射式UHT乳(y 轴左侧)主要基于PC1;即浸入式UHT乳比喷射式UHT乳中苯甲醛、2-壬酮、3-己醇等含量高,而壬醛、二甲基砜和苯酚含量低。此外,在浸入式UHT乳内部,样品间的一些酸类、 δ -癸内酯和己醛含量存在差异。

图3(b)展示了基于SAFE数据的PCA结果。相较基于SPME数据的PCA结果,前2个主成分的占比变大,共描述83.0%的差异性。在PC1(40.6%)维度的正方向上,主要的驱动变量较多,包括壬醛、2,6-二叔丁基对甲酚、二甲基亚砜、丁酸、癸酸、2-甲基-2-丁醇等;而负方向上的主要驱动变量为3-羟基-2-丁酮、辛酸、邻苯二甲酸二乙酯等。在PC2(22.4%)维度上,正方向的主要驱动变量为甲酸、二甲基砜、己醛等,负方向则为2-(苯甲亚基)辛醇。SAFE的结果表明,浸入式UHT乳较喷射式UHT乳含有更多的壬醛、丁酸等风味物质,而甲酸、辛酸等含量较少。

本研究的优势在于利用高标准液态奶生产车间,对已经商业化的生产线进行工艺改良,并生产得到UHT乳,而非实验室小试,并结合了2种不同的萃取方法进行挥发性化合物的分析。本研究也存在一些局限性,包括未对原料乳的理化性质以及挥发性化合物进行检测,以及没有进行感官实验等。在今后的实验中,应补充这方面信息,以实现直接式UHT乳更为全面的风味分析。

3 结 论

本研究通过对比浸入式和喷射式UHT乳的理化性质(平均粒径、失稳系数和黏度值),发现浸入式UHT乳较喷射式UHT乳物理稳定性高。尽管根据凯氏定氮法测定的结果,浸入式UHT乳的总乳清蛋白变性率高,但其中的未变性 β -乳球蛋白和 α -乳白蛋白的含量更高。同时结合SPME和SAFE的萃取结果来看,浸入式UHT和喷射式UHT对牛乳风味产生的影响不同。浸入式UHT乳检测出的风味化合物少,但一些化合物,如2-十一酮和癸酸等含量高。根据PCA分析,无论是基于SPME还是SAFE萃取的挥发性化合物,浸入式UHT乳和喷射式UHT乳间均有明显差异,但是主要导致差异的化合物不同。本研究从多角度分析了浸入式UHT和喷射式UHT对牛乳产生的影响;



图(b)中化合物:1.己醛,2.壬醛,3.13-十四烯醛,4.2-十一酮,5.2-十三酮,6.3-羟基-2-丁酮,7.2-甲基-2-丁醇,8.2-辛醇,9.2-乙基-1-己醇,10.1-十二醇,11.1-十四醇,12.1-十六醇,13.雪松醇,14.乙酸,15.甲酸,16.丙酸,17.丁酸,18.己酸,19.庚酸,20.辛酸,21.壬酸,22.癸酸,23.十二酸,24.9-癸烯酸,25.乙酸丁酯,26.十六酸甲酯,27.十六酸乙酯,28.十八酸甲酯,29.十八酸乙酯,30.8-癸内酯,31.二甲基硫醚,32.二甲基砷,33.二甲基亚砷,34.D-柠檬烯,35.2(5H)-呋喃酮,36.苯乙酮,37.甲苯,38.4-乙基苯甲醛,39.乙苯,40.对二甲苯,41.2,6-二叔丁基对甲酚,42.己二酸二异丙酯,43.邻苯二甲酸二乙酯,44.亚油酸乙酯,45.水杨酸-2-乙基己基酯,46.2-苯基-2-丙醇,47.1,2-苯二甲酸二乙酯,48.2,4-二叔丁基酚,49.6,10-二甲基-5,9-十一双烯-2-酮,50.2-(苯甲亚基)辛醇,51.(Z)-9-十八烯酸乙酯,52.3,5-二叔丁基-4-羟基苯甲醛,53.2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯,54.7,9-二叔丁基-1-氧杂螺[4.5]癸-6,9-二烯-2,8-二酮。

图3 浸入式和喷射式UHT乳中挥发性化合物的主成分分析

Fig.3 PCA of volatile compounds in UHT milk processed by steam infusion and steam injection

探讨了不同杀菌方式对牛奶的生物活性、物理稳定性以及风味影响的异同,得出浸入式UHT在脱异味、整体稳定性上优于喷射式UHT的结论,但喷射式UHT可以得到奶味更重,整体风味更复杂的

牛乳产品。希望本研究结果可以帮助乳品企业选择和优化加工工艺,生产兼具高活性蛋白含量和良好风味的UHT乳,为我国乳业高质量发展提供技术支撑和理论参考。

参考文献:

- [1] ANEMA S G. Age gelation, sedimentation, and creaming in UHT milk: a review [J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2019, 18(1): 140–166.
- [2] 苏玉芳, 汪厚银, 黄文强, 等. UHT 纯牛奶消费喜好和关键感官特性的关联分析 [J]. *现代食品科技*, 2022, 38(8): 273–279.
- SU Y F, WANG H Y, HUANG W Q, et al. Correlation analysis between consumer liking and key sensory attributes of ultra-high temperature (UHT) pure milk [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2022, 38(8): 273–279.
- [3] EISNER M D. Direct and indirect heating of milk: a technological perspective beyond time-temperature profiles [J]. *International Dairy Journal*, 2021, 122: 105145.
- [4] 闫虹, 李洪亮, 钱文涛, 等. 直接 UHT 灭菌对牛乳营养成分、感官和风味的影响 [J]. *食品工业*, 2020, 41(5): 329–332.
- YAN H, LI H L, QIAN W T, et al. Effect of direct UHT sterilisation on nutrient composition, sensory and flavour of cow's milk [J]. *The Food Industry*, 2020, 41(5): 329–332.
- [5] 王万厚, 母智深. UHT 热处理对牛奶中风味物质的影响 [J]. *中国乳品工业*, 2012, 40(4): 36–38.
- WANG W H, MU Z S. Effect of UHT heat treatment on volatile compounds in milk [J]. *China Dairy Industry*, 2012, 40(4): 36–38.
- [6] BYLUND G. Dairy processing handbook [M/OL]. 1995:331–352. [2023-02-01]. <http://dairy-processing-handbook.tetrapat.com/chapter/long-life-milk>.
- [7] MALMGREN B, ARDÖ Y, LANGTON M, et al. Changes in proteins, physical stability and structure in directly heated UHT milk during storage at different temperatures [J]. *International Dairy Journal*, 2017, 71: 60–75.
- [8] KELLEHER C M, TOBIN J T, O'MAHONY J A, et al. A comparison of pilot-scale supersonic direct steam injection to conventional steam infusion and tubular heating systems for the heat treatment of protein-enriched skim milk-based beverages [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2019, 52: 282–290.
- [9] RAUH V M, SUNDGREN A, BAKMAN M, et al. Plasmin activity as a possible cause for age gelation in UHT milk produced by direct steam infusion [J]. *International Dairy Journal*, 2014, 38(2): 199–207.
- [10] JONG P D, WAALEWIJN R, LINDEN H J L J V D. Performance of a steam-infusion plant for heating milk [J]. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 1994, 48: 181–199.
- [11] MALMGREN B. Evaluation of UHT milk processed by direct steam injection and steam infusion technology [D]. Lund: Swedish University Dissertations, 2007.
- [12] AL-ATTABI Z, D'ARCY B R, DEETH H C. Volatile sulphur compounds in UHT milk [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2009, 49(1): 28–47.
- [13] OCHI H, SUMI M, NAKATA I, et al. Sensometric calibration of sensory characteristics of commercially available milk products with instrumental data [J]. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93(5): 1794–1806.
- [14] 陈立红. 未变性乳清蛋白的测定及其对产品特性的影响 [D]. 天津: 天津科技大学, 2015.
- CHEN L H. Detection of undenatured whey protein and its effect on product properties [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015.
- [15] WANG J, YANG Z J, WANG Y D, et al. The key aroma compounds and sensory characteristics of commercial Cheddar cheeses [J]. *Journal of Dairy Science*, 2021, 104(7): 7555–7571.
- [16] RANSMARK E, SVENSSON B, SVEDBERG I, et al. Measurement of homogenisation efficiency of milk by laser diffraction and centrifugation [J]. *International Dairy Journal*, 2019, 96: 93–97.
- [17] DEETH H C. The effect of UHT processing and storage on milk proteins [M] // BOLAND M, SINGH H. *Milk Proteins*. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press, 2020: 385–421.
- [18] LEE S J, SHERBON J W. Chemical changes in bovine milk fat globule membrane caused by heat treatment and homogenization of whole milk [J]. *Journal of Dairy Research*, 2002, 69(4): 555–567.
- [19] JEURNINK T J M, DE KRUIF K G. Changes in milk on heating: viscosity measurements [J]. *Journal of Dairy Research*, 1993, 60(2): 139–150.
- [20] ANEMA S G. The whey proteins in milk: thermal denaturation, physical interactions, and effects on the functional properties of milk [M] // BOLAND M, SINGH H. *Milk Proteins*. 3rd ed. Amsterdam: Academic Press, 2020: 325–384.
- [21] LIU Y, HE C C, SONG H L. Comparison of SPME versus SAFE processes for the analysis of flavor compounds in watermelon juice [J]. *Food Analytical Methods*, 2018, 11(6): 1677–1689.
- [22] 王蓓, 韩兆盛, 杨智杰, 等. 6 类常见食品中含硫化物风味特征及形成机理研究进展 [J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(6): 13–25.
- WANG B, HAN Z S, YANG Z J, et al. Research progress on flavor characteristics and formation mechanism

- of sulfur compounds in six common foods [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(6): 13–25.
- [23] BASSETTE R, FUNG D Y C, MANTHA V R, et al. Off-flavors in milk [J]. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 1986, 24(1): 1–52.
- [24] AL-ATTABI Z, D'ARCY B R, DEETH H C. Volatile sulfur compounds in pasteurised and UHT milk during storage [J]. *Dairy Science & Technology*, 2014, 94(3): 241–253.
- [25] CARTER B G, JO Y, CADWALLADER D C, et al. The effect of flash vacuum cooling on the flavor of ultra-pasteurized milk [J]. *JDS Communications*, 2022, 3(3): 169–173.
- [26] CADWALLADER K R, SINGH T K. Flavours and off-flavours in milk and dairy products [M] // MC-SWEENEY P, FOX P F. *Advanced Dairy Chemistry (Volume 3) Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*. New York: Springer New York, 2009: 631–690.

Effect of Steam Infusion and Steam Injection Ultra-High Temperature Treatment on Active Proteins and Flavor Compounds in Milk

MENG Fanyu¹, HAN Zhaosheng¹, ZHANG Zheting¹, DING Hao¹, LU Xiaoli², LU Chun²,
MA Ligang², KANG Zhiyuan^{2,*}, WANG Bei^{1,*}, LI Yan¹

(1. *School of Food and Health, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;*

2. *Junlebao Dairy Group Co Ltd, Shijiazhuang 050221, China*)

Abstract: Ultra-high temperature treatment (UHT) is a common sterilization method for milk that can be classified as direct and indirect UHT. Direct UHT was not widely applied in the dairy industry due to the high cost. Recently, with higher requirements of nutrients and flavor of milk from consumers, direct UHT was re-concerned due to its high heating rate, short heating time, and low loss of flavor and nutrients. This study compared the effects of two direct UHT methods, steam infusion and steam injection on physiochemical properties, native whey proteins content, and volatile compounds content of milk. The results showed that UHT milk treated by steam infusion had lower mean particle size, instability index, and viscosity, whereas higher levels of desaturated whey proteins, compared to that in UHT milk treated by steam injection. 59 volatile compounds in total were detected in UHT milk through two extraction methods as solid-phase microextraction arrow and solvent-assisted flavor evaporation combined with gas chromatography-mass spectrometry, of which 50 volatile compounds were detected in steam-injection-treated UHT milk and 52 volatile compounds were detected in steam-infusion-treated UHT milk. Steam-infusion-treated UHT milk had a lower proportion of ketones, aldehydes, and fatty acids, while a higher proportion of esters and alcohols compared to that in UHT milk treated with steam injection. Principal component analysis results showed that steam-injection-treated UHT milk and steam-infusion-treated UHT milk could be distinguished by volatile compounds, indicating that different direct UHT methods could influence the flavor of UHT milk. It was recommended that dairy companies select steam injection if they intend to produce UHT milk with a heavier milky flavor, while select steam infusion if they plan to produce UHT milk with less cooking flavor, less off-flavor, and higher physical stability during storage. The result of this study aimed to provide supporting data and theory reference for the dairy industry to choose proper sterilization methods and produce UHT milk with a longer shelf-life, higher levels of nutrients, and better flavor.

Keywords: UHT; milk; volatile compounds; physiochemical properties; whey protein denaturation

(责任编辑:叶红波)