

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240409006

基于荧光法快速判定巴氏杀菌乳和超高温灭菌乳

徐瑾钰^{1,2}, 张雨萌¹, 王筠钠¹, 谢 宁¹, 李 旭¹, 逢晓阳^{1*}, 吕加平¹, 张书文^{1,2*}

(1. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193; 2. 国家乳业技术创新中心, 呼和浩特 010110)

摘 要: **目的** 基于荧光法快速简便地鉴别巴氏杀菌乳和超高温(ultra high temperature, UHT)灭菌乳。**方法** 基于美拉德产物荧光值的不同, 采用直接荧光法结合综合热损伤(fluorescence of advanced Maillard products and soluble tryptophan, FAST)指数快速鉴定巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳。**结果** 巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳由于热处理强度不同, 二者的荧光值存在显著差异($P<0.01$), 巴氏杀菌乳荧光值在 $(13215\pm236)\sim(15359\pm156)$ 之间、UHT 灭菌乳荧光值范围为 $(15788\pm200)\sim(20440\pm270)$ 。与巴氏杀菌乳相比, UHT 灭菌乳直接测定荧光强度和 FAST 指数明显升高且差异显著($P<0.01$)。在商品巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳结果的基础上, 利用自制产品对荧光法进行了验证。**结论** 直接荧光测定法和 FAST 指数能够快速有效区分和识别巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳, 该技术对产品热处理强度评价及质量监管具有一定指导意义。

关键词: 巴氏杀菌乳; 超高温灭菌乳; 荧光强度; 综合热损伤指数; 鉴别

Rapid determination of pasteurized milk and ultra high temperature milk by fluorescence method

XU Jin-Yu^{1,2}, ZHANG Yu-Meng¹, WANG Yun-Na¹, XIE Ning¹, LI Xu¹,
PANG Xiao-Yang^{1*}, LV Jia-Ping¹, ZHANG Shu-Wen^{1,2*}

(1. Institute of Food Sciences and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China;
2. National Center of Technology Innovation for Dairy, Hohhot 010110, China)

ABSTRACT: Objective To distinguish pasteurized milk and ultra high temperature (UHT) sterilized milk quickly and easily by fluorescence methods. **Methods** Based on the different fluorescence values of Maillard products, direct fluorescence assay combined with fluorescence of advanced Maillard products and soluble tryptophan (FAST) index was used to identify pasteurized milk and UHT sterilized milk rapidly. **Results** The fluorescence values of pasteurized milk and UHT milk were significantly different due to the different heat treatment intensity ($P<0.01$). The fluorescence values of pasteurized milk ranged from (13215 ± 236) to (15359 ± 156) , and the fluorescence values of UHT milk ranged from (15788 ± 200) to (20440 ± 270) . Compared with pasteurized milk, the fluorescence intensity and

基金项目: 国家乳业创新中心开放课题项目(2022-20)、国家奶牛产业技术体系项目(CARS-36)、中国农业科学院基金项目(G2022-IFST-04)

Fund: Supported by the Open Project of National Center of Technology Innovation for Dairy (2022-20), the National Dairy Industry and Technology System (CARS-36), and the Science Foundation of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (G2022-IFST-04)

*通信作者: 逢晓阳, 博士, 研究员, 主要研究方向为乳酸菌选育及遗传改良研究。E-mail: pangxiaoyang@163.com

张书文, 博士, 副研究员, 主要研究方向为乳品加工。E-mail: zswcaas@hotmail.com

*Corresponding author: PANG Xiao-Yang, Ph.D, Professor, Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.2, West Yuanmingyuan Road, Haidian District, Beijing100193, China. E-mail: pangxiaoyang@163.com

ZHANG Shu-Wen, Ph.D, Associate Professor, Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.2, West Yuanmingyuan Road, Haidian District, Beijing100193, China. E-mail: zswcaas@hotmail.com

FAST index measured directly by UHT sterilized milk were significantly increased and the difference was significant($P<0.01$). In addition, on the basis of the results of commercial pasteurized milk and UHT pasteurized milk, the fluorescence method was verified by using lab-made products. **Conclusion** The direct fluorescence assay and FAST index can distinguish between pasteurized milk and UHT pasteurized milk rapidly and effectively. This technology has a certain guiding significance for heat treatment strength evaluation and quality supervision of products.

KEY WORDS: pasteurized milk; ultra high temperature milk; fluorescence intensity; fluorescence of advanced Maillard products and soluble tryptophan index; identification

0 引 言

为了保证原料乳的微生物安全, 杀灭致病微生物, 需要对原料乳进行热处理, 适当的热处理是保证牛奶安全和货架期品质的重要前提^[1-2]。但在采用不同热处理方法时, 由于热处理温度的差异, 不同热处理强度对乳的影响也有差别^[3]。采用超高温(ultra high temperature, UHT)灭菌处理的牛乳中发生较多化学变化, 虽然使 UHT 灭菌乳货架期得以延长, 但在 UHT 灭菌过程中也造成了牛乳风味的变化从而间接影响消费者的接受度^[4-8]。巴氏杀菌法可杀灭牛乳中大部分病原菌, 包括大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、沙门氏菌等, 将数量降低至对人体健康无害的水平, 同时将牛乳品质变化降到最低, 但货架期较短^[9-11]。在实际生产销售过程中, 可能会出现一些企业通过提高牛乳灭菌温度或以 UHT 灭菌乳代替巴氏杀菌乳, 以此延长产品货架期, 扰乱市场公平竞争的情况。如何将巴氏杀菌乳与 UHT 灭菌乳快速区分, 是迫切需要解决的技术问题。

经过热处理后的牛乳会发生多种理化反应, 包括美拉德反应、乳糖异构化以及蛋白变性等^[12-13]。由于加热时间、温度和总热负荷的差异, UHT 灭菌乳和高温短时巴氏杀菌乳的感官特性有很大不同^[14-15]。较高的杀菌温度虽然保证了最终牛乳产品的安全, 但是也导致了牛乳中一些重要的功能性成分损失^[16]。风味变化是 UHT 灭菌乳保质期的主要限制因素^[17]。在美拉德反应的不同阶段中, 会产生各种不同的复杂物质, 其中大部分是有害物质, 如 5-羟甲基糠醛(5-hydroxymethylfurfural, HMF)等^[18-21]。通过美拉德反应, 可评估牛乳的热加工程度及经过热处理的样品中蛋白质营养损失情况^[22]。FAST 指数能够快速、灵敏地评估牛乳的热处理强度^[23]。这一指标综合考虑了牛乳中色氨酸与美拉德反应产物的荧光强度, 为区分不同热处理强度的牛乳提供了依据。

本研究对荧光法判定巴氏杀菌乳、UHT 灭菌乳进行研究, 通过直接荧光测定方法结合综合热损伤(fluorescence of advanced Maillard products and soluble tryptophan, FAST)

指数方法, 对市售和自制巴氏杀菌乳、UHT 灭菌乳进行测定, 根据荧光值的不同来区分巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳, 为维护消费者合法权益, 规范乳制品行业的发展提供了依据, 对产品热处理强度评价及质量监管具有一定指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

巴氏杀菌乳 A1~A9、UHT 灭菌乳 B1~B9 各 9 个品牌, 购自超市; 原料乳, 北京三元绿荷牧场。自制巴氏杀菌乳, 对原料乳使用杀菌机进行 75℃、15 s(巴氏杀菌)处理; UHT 灭菌乳, 对原料乳使用杀菌机进行 135℃、5 s(UHT 杀菌)处理制备样品。

乙酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 冰醋酸(分析纯, 北京市通广精细化工公司)。所有实验均采用超纯水。

1.2 仪器与设备

PT-20 UHT 杀菌机(日本 Powerpoint International 公司); PHSJ-3F pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司); JA3003 电子天平(精度 0.0001 g, 上海越平科学仪器有限公司); 3K15 台式高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); Spark 20MTECAN 酶标仪(上海帝肯有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 直接荧光测定法

取 200 μL 样品于 96 孔板中, 通过酶标仪直接进行测定。具体参数设置为: 激发波长设定为 460 nm, 发射波长为 500~600 nm, Gain 值设定为 70。

1.3.2 FAST 指数测定法

取样品 0.5 mL 加入 4.5 mL 的乙酸钠-冰醋酸缓冲液(pH=4.6), 涡旋后在 4000 $\times g$ 条件下离心 10 min, 上清液通过 0.45 μm 滤膜过滤。取 0.3 mL 滤液加 2.7 mL 超纯水于 5 mL 离心管中, 等待测定。具体参数设置为: 测定高级美拉德产物荧光强度(fluorescence of advanced Maillard products, FAMP)时, 激发波长设定为 360 nm, 发射波长 440 nm; 测定色氨

酸荧光强度(fluorescence of tryptophan, FTrp)时, 激发波长设定为 290 nm, 发射波长 340 nm, 计算公式见(1)。

$$FAST = \frac{FAMP}{FTrp} \times 100 \tag{1}$$

1.4 数据处理

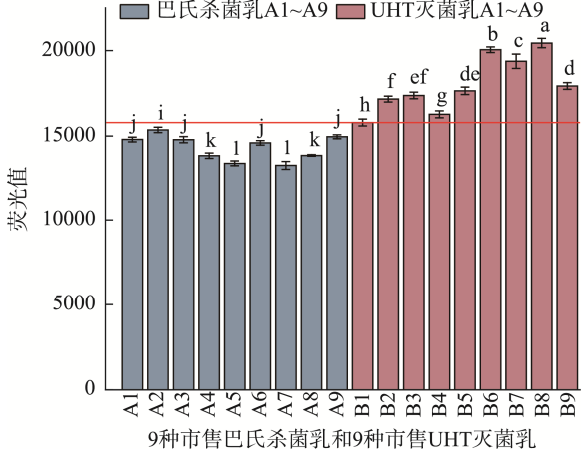
使用 SPSS Statistics 26 进行差异显著性分析; 使用 Origin 2018 软件绘图。每个样品重复 3 次, 实验结果以平均值±标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 市售巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳荧光值比较

牛乳在高温下进行杀菌、干燥等加工过程中, 随着温度的升高, 牛乳中各种特性成分的荧光强度发生了改变, 牛乳蛋白的固有荧光强度也随之下降^[24]。基于荧光强度变化的荧光法可以检测乳制品中的掺假行为。荧光法因具有灵敏度高、操作简便等特点被广泛应用^[25]。BRANDAO 等^[26]采用时间分辨荧光法检测山羊奶粉是否掺有牛奶粉, 能有效筛选出掺假山羊奶粉。GENIS 等^[27]通过同步荧光光谱法对羊奶和水牛奶中的牛奶掺假进行定性和定量, 该方法对山羊奶、母羊奶和水牛奶的检出限分别为 3.52%、4.06% 和 3.52%。本研究中通过直接荧光法, 对市售巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳进行区分。图 1 显示了对市售巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳样品荧光强度的扫描, 在固定激发波长为 460 nm 后, 发射波长设置为 500~600 nm 得到荧光扫描图谱。由图 1 可以看到, 经过不同热处理工艺的牛乳荧光强度最大值都出现在发射波长 522 nm 附近。图 1 也显示出, 激发波长为 460 nm 时, 5 种市售 UHT 灭菌乳(B2、B4、B5、B6、B8)的荧光强度均高于 5 种市售巴氏杀菌乳(A1、A4、A5、A6、A9)。这也说明 UHT 灭菌乳的糖基化水平高于巴氏杀菌乳, 并且牛乳在加热过程中会因蛋白质和还原糖发生美拉德反应生成特定产物, 如赖氨酸衍生物、吡嗪和吡啶衍生物等, 这类物质的荧光强度也会相应增加。

由表 1 可知, 9 种市售巴氏杀菌乳(A1~A9)直接测定的荧光强度平均值为 14296±751, 最大值为 15359±156, 最小值为 13215±236; 9 种市售 UHT 灭菌乳(B1~B9)的荧光强度平均值为 18004±1575, 最大值为 20440±270, 最小值为 15788±200。与巴氏杀菌乳样品相比, UHT 灭菌乳样品的荧光强度平均值提高了 25.94%。从图 2 中可以直观地看出, UHT 灭菌乳的荧光强度显著高于巴氏杀菌乳 ($P<0.01$)。对比巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳的荧光值, 实验结果表明荧光值在(13215±236)~(15359±156), 可判断样品为巴氏杀菌乳; 荧光值在(15788±200)~(20440±270), 可判断为 UHT 灭菌乳。杨晓倩等^[28]的研究发现, 随着热处理温度和时间

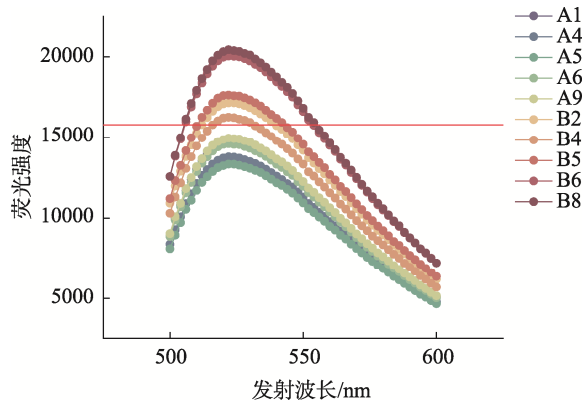


注: A1~A9: 9种市售巴氏杀菌乳; B1~B9: 9种市售UHT灭菌乳。
图1 巴氏杀菌乳和UHT灭菌乳荧光扫描图
Fig.1 Fluorescenceintensity scan of pasteurized milk and UHT milk

表 1 9 种市售巴氏杀菌乳和 9 种市售 UHT 灭菌乳荧光值
Table 1 Fluorescence values of 9 kinds of commercially available pasteurized milk and 9 kinds of commercially available UHT sterilized milk

种类	品牌	荧光值	平均值
巴氏杀菌乳	A1	14799±138 ^j	14296±751
	A2	15359±156 ⁱ	
	A3	14787±176 ^j	
	A4	13791±160 ^k	
	A5	13339±143 ^l	
	A6	14604±133 ^j	
	A7	13215±236 ^l	
	A8	13804±48 ^k	
	A9	14962±115 ^j	
UHT灭菌乳	B1	15788±200 ^h	18004±1575
	B2	17164±171 ^f	
	B3	17374±192 ^{ef}	
	B4	16271±205 ^g	
	B5	17645±216 ^{de}	
	B6	20050±167 ^b	
	B7	19374±422 ^c	
	B8	20440±270 ^a	
	B9	17929±193 ^d	

注: 不同字母表示组间具有显著性差异, $P<0.01$, 下同。



注: 不同字母表示组间具有显著性差异, $P < 0.01$, 下同。

图2 巴氏杀菌乳和UHT灭菌乳荧光值对比

Fig.2 Comparison of fluorescence values between pasteurized milk and UHT milk

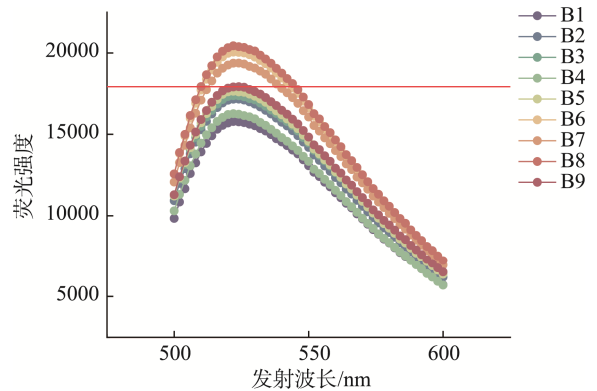
信号逐渐增强。AYALA 等^[29]对热处理脱脂牛乳中的色氨酸荧光进行了评价和表征, 则观察到热负荷的增加会引起前表面荧光强度的降低和红移。造成这种现象原因是红移可能由影响 β -乳球蛋白的构象变化主导, 这种乳清蛋白含有两个色氨酸(tryptophan, Trp)残基: (Trp¹⁹)埋在蛋白质结构内部, Trp⁶¹位于其表面, Trp⁶¹残基贡献了20%的荧光发射, 而 Trp¹⁹由于天然蛋白产生了剩余的80%的荧光^[30]。在乳清蛋白变性过程中, Trp¹⁹残基暴露并从非极性环境移动到极性环境, 即随着溶剂极性的增加而发生变色位移。

2.2 国产 UHT 灭菌乳和进口 UHT 灭菌乳荧光值比较

不同品牌牛乳热处理工艺有所不同, 不同的热处理对牛乳中荧光物质造成不同程度破坏, 这种破坏程度可以通过牛乳荧光强度反映。在测定的9种市售UHT灭菌乳样品中, 对比了国产UHT灭菌乳(B1~B5)及进口UHT灭菌乳(B6~B9)的荧光强度, 如图3所示, 牛乳荧光强度扫描图中峰值出现在522 nm左右, 4种市进口UHT灭菌乳(B6、B7、B8、B9)的荧光强度均高于5种国产UHT灭菌乳(B1、B2、B3、B4、B5)。可能是进口UHT灭菌乳经过了较国产UHT灭菌乳更高强度的热处理, 糠氨酸和乳果糖含量升高, 从而导致荧光强度增加。

另外, 表1显示了在测定的9种市售UHT灭菌乳样品中, 对比国产UHT灭菌乳(B1~B5)和进口UHT灭菌乳(B6~B9)的荧光值, B1~B5的荧光平均值为 16848 ± 746 , 最大值为 17645 ± 216 , 最小值为 15788 ± 200 。B6~B9的荧光平均值为 19449 ± 1027 , 最大值为 20440 ± 270 , 最小值为 17929 ± 193 。进口UHT灭菌乳荧光值较国产UHT灭菌乳提高了15.44%。图3显示出样品中4种进口UHT灭菌乳

的荧光值均高于5种国产UHT灭菌乳。陈美霞^[31]的研究显示, 对比国产UHT灭菌乳和进口UHT灭菌乳的保质期, 发现国产UHT灭菌乳的保质期明显低于进口品牌, 进口UHT灭菌乳可能经过了更强的热处理, 存在过热加工的风险。



注: B1~B5: 国产UHT灭菌乳; B6~B9: 进口UHT灭菌乳。

图3 国产和进口UHT灭菌乳荧光强度对比

Fig.3 Comparison of fluorescence intensity between domestic and imported UHT milk

2.3 不同热处理强度对牛乳荧光强度的影响

牛乳的热处理程度可通过美拉德反应产生物质的荧光强度反映。在本研究中, 如图4所示, 不同热处理条件下牛乳的荧光强度也发生了变化。经过不同温度和时间热处理的牛乳样品在发射波长为500~600 nm处得到荧光扫描图谱, 荧光强度最大值出现在522 nm附近。图4显示, 荧光强度: UHT灭菌乳>巴氏杀菌乳>原料乳, 结果可验证牛乳的荧光强度与热处理工艺有关, 热处理强度高的UHT灭菌乳, 直接测定荧光强度高于巴氏杀菌乳, 经过热处理的牛乳荧光强度高于未经过热处理的原料乳。从图4中可以发现, 与巴氏杀菌乳相比, UHT灭菌乳荧光值提高了39.97%, UHT灭菌乳的荧光值较原料乳提高了45.20%。巴氏杀菌乳的荧光值低于直接荧光测定法中UHT灭菌乳判定的最低阈值, 且UHT灭菌乳的荧光值显著高于巴氏杀菌乳($P < 0.01$), 这表明该方法可较好判定自制巴氏杀菌乳和UHT灭菌乳。由结果可知, 随热处理强度的增加, 牛乳的直接测定荧光值增加, 且UHT灭菌乳的荧光值高于巴氏杀菌乳, 这是由于随热处理强度的增加, 美拉德反应产物积累, 牛乳会出现荧光性增加的过程。ZHANG等^[32]对不同热处理条件下的牛乳荧光强度变化进行测定, 研究发现与75℃处理5 s的样品相比, 135℃处理5 s的样品的荧光值增加了42%, 这与本研究的结果相似。

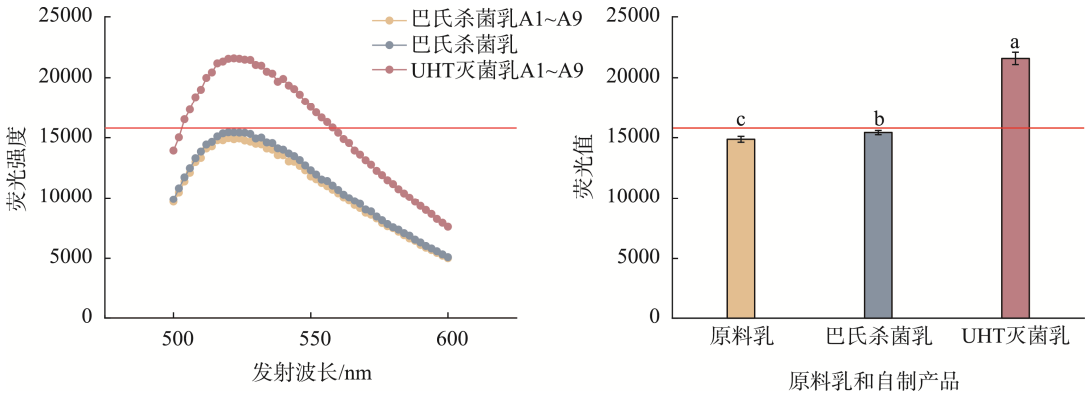


图4 原料乳、巴氏杀菌和UHT灭菌处理下牛乳的荧光强度
Fig.4 Fluorescence intensity of raw milk and milk treated with pasteurization and UHT sterilization

2.4 综合热损伤指数 FAST 的变化

美拉德反应高级阶段是棕色的含氮聚合物以及褐黑色的共聚物类黑精的形成,反应过程伴随着共轭体系的形成与增加,并导致紫外可见光区的吸收^[33]。赖氨酸在美拉德反应最终阶段会有损失^[34]。因此美拉德反应的后期反应程度主要根据呈现的颜色及高级产物的荧光特性来判断。FAST 指数是通过计算 FAMP 与 FTrp 与之比来表示牛乳的综合热损伤指数。它能够反映不同热处理方法对牛乳综合热损伤程度的影响^[35]。其中,色氨酸的荧光信号显示了乳蛋白受热后的变性程度^[27]。乳蛋白中 80%为酪蛋白,由于酪蛋白变性温度在 75℃以上,加热温度大于 75℃时,随温度升高,色氨酸荧光信号下降。FAST 指数受 FAMP 和 FTrp 值的影响,指数值越高,牛乳综合热损伤程度越高。卜登攀等^[24]应用 FAST 指数,通过色氨酸荧光强度的测定,对巴氏杀菌乳是否使用复原乳做出可靠的定性判断。本研究中,FAST 指数可用于判断 UHT 灭菌乳和巴氏杀菌乳。如表 2 所示,9 种市售巴氏杀菌乳(A1~A9)测定的 FAST 指数平均值为 143.83±30.53,最大值为 209.49±7.42,最小值为 100.39±3.39; 9 种市售 UHT 灭菌乳(B1~B9)的 FAST 指数平均值为 334.29±41.95,最大值为 403.72±7.51,最小值为 267.29±4.83。如图 5 所示,UHT 灭菌乳的 FAST 指数显著高于巴氏杀菌乳($P<0.01$)。UHT 灭菌乳样品的 FAST 指数平均值高于巴氏杀菌乳样品 56.97%。主要原因是 UHT 灭菌乳和巴氏杀菌乳在热处理过程中蛋白质的变性程度各不相同,UHT 灭菌乳中蛋白质二级结构的变化程度较巴氏杀菌乳更严重,从而导致色氨酸的相对荧光值降低程度不同^[36]。对比分析巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳的 FSAT 指数,实验结果表明,FSAT 指数值为 (100.39±3.39)~(209.49±7.42),可判断为巴氏杀菌乳;FAST 指数值为 (267.29±4.83)~(403.72±7.51),可判断为 UHT 灭菌乳。

表 2 9 种市售巴氏杀菌乳和 9 种市售 UHT 灭菌乳 FAST 指数
Table 2 FAST index of 9 kinds of commercially available pasteurized milk and 9 kinds of commercially available UHT sterilized milk

种类	品牌	FAST指数	平均值
巴氏杀菌乳	A1	141.18±4.31 ^k	143.83±30.53
	A2	100.39±3.39 ^m	
	A3	160.95±1.96 ^j	
	A4	160.76±4.34 ^j	
	A5	122.70±4.09 ^l	
	A6	209.49±7.42 ⁱ	
	A7	148.88±4.15 ^k	
	A8	124.25±4.73 ^l	
	A9	125.87±2.87 ^l	
UHT灭菌乳	B1	344.89±12.10 ^d	334.29±41.95
	B2	277.04±2.60 ^g	
	B3	267.29±4.83 ^h	
	B4	334.47±0.80 ^e	
	B5	314.97±4.08 ^f	
	B6	357.50±5.36 ^c	
	B7	403.72±7.51 ^a	
	B8	336.44±3.10 ^e	
	B9	372.26±1.61 ^b	

为了评估牛乳实际的热处理强度,可以用 β -乳球蛋白、 α -乳蛋白、乳果糖、糠氨酸和 5-羟甲基糠醛等指标来评估。分析方法主要基于测定酶活性的荧光法或光度法,以及测定 β -乳球蛋白、5-羟甲基糠醛、糠氨酸等的高效液相色谱法^[37]。NI 等^[38]通过拉曼光谱法结合乳糖指数筛选和支持向量机,采用高分辨质谱法证实了乳糖与蛋白质之

间的美拉德反应, 表明乳糖指数变量与巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳掺假有很强的相关性。毛细管电泳和其他分析工具(如气相色谱法、红外法)也适用于评价牛乳和乳制品的热处理强度。聚合酶链反应是一种广泛用于乳制品测试的成熟分子技术, 以其高灵敏度、特异性和成本效益而闻名, 然而, 由于 DNA 在加热过程中易受降解的影响, 这种方法具有一定局限性^[39-40]。但这些测试方法存在预处理方法烦琐、测定耗时长、设备费用高等问题。相较于以上测定方法, 荧光测定法检测成本更低、检测速率更快, 既可以应用于基础研究, 也可以应用于乳制品行业, 也可以作为监测乳制品生产的在线传感器^[41]。FSAT 指数测定方法中所用溶剂费用低、易得, 适合大批量乳样的检测。

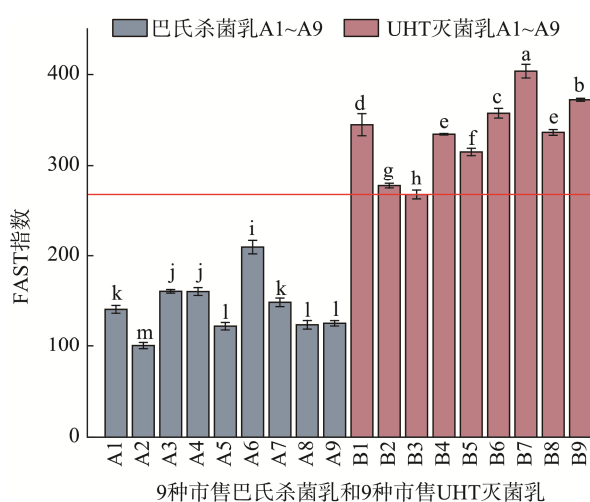


图5 巴氏杀菌乳和UHT灭菌乳FAST指数
Fig.5 FAST index of pasteurized milk and UHT milk

3 讨论与结论

本研究应用直接荧光测定法结合 FAST 指数可明显将巴氏杀菌乳与 UHT 灭菌乳区分出来。市售 UHT 灭菌乳和巴氏杀菌乳的荧光值和 FAST 指数有显著差异($P<0.01$), 自制 UHT 灭菌乳的荧光值显著高于自制巴氏杀菌乳。9 种市售 UHT 灭菌乳的荧光强度均高于 9 种巴氏杀菌乳, UHT 灭菌乳的荧光强度和巴氏奶差异显著($P<0.01$), 当荧光值在 $(13215\pm236)\sim(15359\pm156)$, 可判断样品为巴氏杀菌乳, 荧光值在 $(15788\pm200)\sim(20440\pm270)$, 可判断样品为 UHT 灭菌乳; 其中, 进口 UHT 灭菌乳的平均荧光值较国产 UHT 灭菌乳高 15.44%。UHT 灭菌乳样品的 FAST 指数平均值比巴氏杀菌乳样品高 56.97%, 且 FSAT 指数值为 $(100.39\pm3.39)\sim(209.49\pm7.42)$ 时, 可判断为巴氏杀菌乳, FAST 指数值为 $(267.29\pm4.83)\sim(403.72\pm7.51)$ 时, 可判断为 UHT 灭菌乳。该方法与先前研究相比, 具有操作简单、快捷等优点, 并且能够快速区分巴氏杀菌乳和 UHT 灭菌乳,

可很好地应用于质量控制及市场监管。

参考文献

- [1] 刘海燕, 任青兮, 马莺. 热处理对牛乳理化特性的影响[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(10): 9-14.
LIU HY, REN QX, MA Y. Effect of heat treatment on physical and chemical properties of milk [J]. Chin Dairy Ind, 2019, 47(10): 9-14.
- [2] 赵树静, 刘宗尚, 李红娟. 乳制品中美拉德反应机制及控制方法研究进展[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(3): 37-41.
ZHAO SJ, LIU ZS, LI HJ. Research progress of Maillard reaction mechanism and control methods in dairy products [J]. Chin Dairy Ind, 2021, 49(3): 37-41.
- [3] ZENK N, LAUMER F, DALABASMAZ S, *et al.* Comprehensive species- and processing-specific peptide profiling of pasteurized, extended shelf-life and ultra-high temperature milk from cow, goat, sheep, buffalo, and mare [J]. Food Chem, 2024, 438: 137973.
- [4] DEETH HC. Heat treatment of milk: Extended shelf-life (ESL) and ultra-high temperature (UHT) treatments [M]. 3rd ed. Oxford: Academic Press, 2022.
- [5] LIU G, CAROE C, QIN Z, *et al.* Comparative study on quality of whole milk processed by high hydrostatic pressure or thermal pasteurization treatment [J]. LWT, 2020, 127: 109370.
- [6] SUNDS AV, RAUH VM, SORENSEN J, *et al.* Maillard reaction progress in UHT milk during storage at different temperature levels and cycles [J]. Int Dairy J, 2018, 77: 56-64.
- [7] BIMBO F, BONANNO A, LIU X, *et al.* Hedonic analysis of the price of UHT-treated milk in Italy [J]. J Dairy Sci, 2016, 99(2): 1095-1102.
- [8] ROSENBERG M. UHT sterilized milks [M]. 3rd ed. Oxford: Academic Press, 2022.
- [9] 夏忠悦, 邱菊, 谭莲英, 等. 不同热处理工艺对牛乳中 5 种活性物质的影响[J]. 中国乳业, 2023, (6): 89-94.
XIA ZY, QIU J, TAN LY, *et al.* Effects of different heat treatment processes on five active substances in milk [J]. Chin Dairy, 2023, (6): 89-94.
- [10] 张书文, 刘鹭, 李红娟, 等. 应用浊度法快速鉴别原料乳、巴氏乳和 UHT 乳[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(S1): 100-104.
ZHANG SW, LIU L, LI HJ, *et al.* Rapid identification of raw milk, pasteurized milk and UHT milk using turbidity method [J]. Chin Anim Husb Vet Med, 2013, 40(S1): 100-104.
- [11] COLE S, GOETZE A, MEUNIER-GODDIK L. Pasteurized milk [M]. 3rd ed. Oxford: Academic Press, 2022.
- [12] 蒋世尧. 闪蒸脱氧技术协同 UHT 灭菌对牛乳品质的影响[D]. 天津: 天津科技大学, 2022.
JIANG SY. Effects of flash deoxygenation technology combined with UHT sterilization on milk quality [D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2022.
- [13] SHIMAMURA T, KUROGI Y, KATSUNO S, *et al.* Demonstration of the presence of aminoreductone formed during the Maillard reaction in milk [J]. Food Chem, 2011, 129(3): 1088-1092.
- [14] LEE AP, BARBANO DM, DRAKE MA. The influence of ultra-pasteurization by indirect heating versus direct steam injection on skim and 2% fat milks [J]. J Dairy Sci, 2017, 100(3): 1688-1701.
- [15] JO Y, BENOIST DM, BARBANO DM, *et al.* Flavor and flavor chemistry differences among milks processed by high-temperature, short-time pasteurization or ultra-pasteurization [J]. J Dairy Sci, 2018, 101(5): 3812-3828.
- [16] TROISE AD, FIORE A, COLANTUONO A, *et al.* Effect of olive mill wastewater phenol compounds on reactive carbonyl species and Maillard reaction end-products in ultrahigh-temperature-treated milk [J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(41): 10092-10100.

- [17] RAUH VM, SUNDGREN A, BAKMAN M, *et al.* Plasmin activity as a possible cause for age gelation in UHT milk produced by direct steam infusion [J]. *Int Dairy J*, 2014, 38(2): 199–207.
- [18] 依胜男, 芦晶, 逢晓阳, 等. 热处理对牛乳美拉德反应程度及挥发性成分的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(14): 9–15.
- YI SN, LU J, PANG XY, *et al.* Effect of heat treatment on Maillard reaction degree and volatile components of milk [J]. *Food Sci*, 2021, 42(14): 9–15.
- [19] LI H, YANG H, LI P, *et al.* Maillard reaction products with furan ring, like furosine, cause kidney injury through triggering ferroptosis pathway [J]. *Food Chem*, 2020, 319: 126368.
- [20] PRATA R, PETRARCA MH, FILHO JT, *et al.* Simultaneous determination of furfural, 5-hydroxymethylfurfural and 4-hydroxy-2, 5-dimethyl-3(2H)-furanone in baby foods available in the Brazilian market [J]. *J Food Compos Anal*, 2021, 99: 103874.
- [21] FARAG MR, ALAGAWANY M, BIN-JUMAH M, *et al.* The toxicological aspects of the heat-borne toxicant 5-hydroxymethylfurfural in animals: A review [J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 25081941.
- [22] 赵春卉, 项爱丽, 张立田, 等. 乳制品热处理强度评价方法研究进展[J]. *中国奶牛*, 2018, (7): 63–65.
- ZHAO CH, XIANG AIL, ZHANG LT, *et al.* Research progress of heat treatment intensity evaluation methods for dairy products [J]. *Chin Dairy Cattle*, 2018, (7): 63–65.
- [23] 毕日秀. 液态奶热加工程度评价及其控制技术研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2021.
- BI RX. Research on evaluation and control technology of hot processing degree of liquid milk [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2021.
- [24] 卜登攀, 李树聪, 张瑞超, 等. FAST 指数在复原乳区分中的应用初探[J]. *中国农学通报*, 2006, (11): 1–7.
- BU DP, LI SC, ZHANG RC, *et al.* Application of FAST method in determination of the presence of reconstituted milk [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2006, (11): 1–7.
- [25] 蔺晓晓, 生威, 高志贤. 基于 Al^{3+} 与 ATP 协同增敏荧光法快速检测牛奶中氧氟沙星[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(6): 40–46.
- LIN XX, SHENG W, GAO ZX. Rapid detection of ofloxacin in milk by fluorescence method based on synergetic sensitization of Al^{3+} and ATP [J]. *J Food Saf Qual*, 2023, 14(6): 40–46.
- [26] BRANDAO MP, NETO MG, DE CARVALHO DOS ANJOS V, *et al.* Detection of adulteration of goat milk powder with bovine milk powder by front-face and time resolved fluorescence [J]. *Food Control*, 2017, 81: 168–172.
- [27] GENIS DO, SEZER B, BILGE G, *et al.* Development of synchronous fluorescence method for identification of cow, goat, ewe and buffalo milk species [J]. *Food Control*, 2020, 108: 106808.
- [28] 杨晓倩, 刘小鸣, 周鹏. 前表面荧光法在牛奶美拉德反应检测中的应用[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(16): 157–160.
- YANG XQ, LIU XM, ZHOU P. Application of front-face fluorescence spectroscopy for determination of Maillard reaction in milk [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(16): 157–160.
- [29] AYALA N, ZAMORA A, RINNAN A, *et al.* The effect of heat treatment on the front-face fluorescence spectrum of tryptophan in skim milk [J]. *J Food Compos Anal*, 2020, 92: 103569.
- [30] ESTÉVEZ N, FUCIÑOS P, BARGIELA V, *et al.* Influence of pH on viscoelastic properties of heat-induced gels obtained with a β -lactoglobulin fraction isolated from bovine milk whey hydrolysates [J]. *Food Chem*, 2017, 219: 169–178.
- [31] 陈美霞. 不同热处理条件下牛奶中热敏指标与功能性蛋白变化规律研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- CHEN MX. Changes of heat indicators and functional proteins in milk under various heat treatments [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.
- [32] ZHANG Y, YI S, LU J, *et al.* Effect of different heat treatments on the Maillard reaction products, volatile compounds and glycation level of milk [J]. *Int Dairy J*, 2021, 123: 105182.
- [33] RENZONE G, ARENA S, SCALONI A. Proteomic characterization of intermediate and advanced glycation end-products in commercial milk samples [J]. *J Proteomics*, 2015, 117: 12–23.
- [34] ROCCHETTI G, GALIMBERTI S, CALLEGARI ML, *et al.* Metabolomics and proteomics approaches provide a better understanding of non-enzymatic browning and pink discoloration in dairy products: A mini review [J]. *Food Biosci*, 2023, 56: 103328.
- [35] 关荣发. 液态乳中复原乳检测方法的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- GUAN RF. Studies on detective methods for reconstituted milk in liquid milk [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- [36] VAN DEN OEVER SP, MAYER HK. Analytical assessment of the intensity of heat treatment of milk and dairy products [J]. *Int Dairy J*, 2021, 121: 105097.
- [37] DENG L, LI A L, GAO Y, *et al.* Detection of the bovine milk adulterated in camel, horse, and goat milk using duplex PCR [J]. *Food Anal Methods*, 2020, 13(2): 560–567.
- [38] NI X, JIANG Y, ZHANG Y, *et al.* Identification of liquid milk adulteration using Raman spectroscopy combined with lactose indexed screening and support vector machine[J]. *Int Dairy J*, 2023, 146: 105751.
- [39] GUO L, QIAN J P, GUO Y S, *et al.* Simultaneous identification of bovine and equine DNA in milks and dairy products inferred from triplex TaqMan real-time PCR technique [J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101(8): 6776–6786.
- [40] JI Z, ZHANG J, DENG C, *et al.* Identification of pasteurized mare milk and powder adulteration with bovine milk using quantitative proteomics and metabolomics approaches [J]. *Food Chem: X*, 2024, 22: 101265.
- [41] KAMAL M, KAROUI R. Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2015, 46(1): 27–48.

(责任编辑: 蔡世佳 于梦娇)

作者简介



徐瑾钰, 硕士, 主要研究方向为食品化学与营养。

E-mail: xujinyu1110@163.com



逢晓阳, 博士, 研究员, 主要研究方向为乳酸菌选育及遗传改良研究。

E-mail: pangxiaoyang@163.com



张书文, 博士, 副研究员, 主要研究方向为乳品加工。

E-mail: zswcaas@hotmail.com