

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240529002

超高温灭菌乳货架期影响因素及预测模型研究进展

程方键^{1#}, 陈晓民^{2#}, 盛玉娟³, 李慧娟⁴, 贺凯茹¹, 秦思文⁴,
苗瑛钰¹, 张丙辉^{5*}, 武俊瑞^{1*}

[1. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁省食品发酵技术工程研究中心, 沈阳市微生物发酵技术创新重点实验室, 沈阳 110866; 2. 蒙牛乳业(尚志)有限责任公司, 尚志 150600; 3. 内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司, 呼和浩特 010010; 4. 蒙牛乳业(沈阳)有限责任公司, 沈阳 100122; 5. 蒙牛乳业(齐齐哈尔)有限公司, 齐齐哈尔 161000]

摘 要: 超高温灭菌(ultra-high temperature treated, UHT)乳是一类长期储存的液态乳品, 其货架期长短直接影响着产品的市场竞争力和消费者满意度。UHT 乳的货架期常常受到多种因素的影响, 包括但不限于: 即使经过 UHT 却仍在乳中残留的部分生物因子、货架期预测模型的合理性与准确性等。这些因素往往导致成品 UHT 乳在其储存货架期内发生如凝胶老化、脂肪上浮、风味改变、颜色改变等品质劣变现象。本文以近年来国内外对于影响 UHT 乳货架期稳定性的因素着手, 分别解释了耐热芽孢、蛋白酶及脂肪酶影响 UHT 乳货架期寿命的机制, 阐述了其引起的 UHT 乳货架期内的品质劣变现象; 总结介绍了 Arrhenius 方程、多因素回归方程和 BP 神经网络 3 种货架期预测模型, 在分别分析其运用环境的同时, 对其优缺点进行了对比; 最后在 UHT 乳的收奶端及生产端对延长 UHT 乳货架期的辅助技术进行了综述, 以期从影响 UHT 乳货架期的相关因素入手, 为今后 UHT 乳的生产及相关研究提供参考。

关键词: 超高温灭菌乳; 货架期; 生物因子; 货架期预测模型; 辅助技术

Progress of research on influencing factors and prediction models of ultra-high temperature treated milk shelf life

CHENG Fang-Jian^{1#}, CHEN Xiao-Min^{2#}, SHENG Yu-Juan³, LI Hui-Juan⁴, HE Kai-Ru¹,
QIN Si-Wen⁴, MIAO Shuang-Yu¹, ZHANG Bing-Hui^{5*}, WU Jun-Rui^{1*}

[1. College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Liaoning Provincial Engineering Research Center for Food Fermentation Technology, Shenyang Key Laboratory of Microbial Fermentation Technology Innovation, Shenyang 110866, China; 2. Mengniu Dairy (Shangzhi) Co., Ltd., Shangzhi 150600, China; 3. Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co., Ltd., Hohhot 010010, China; 4. Mengniu Dairy (Shenyang) Co., Ltd., Shenyang 100122, China; 5. Mengniu Dairy (Qiqihar) Co., Ltd., Qiqihar 161000, China]

基金项目: 国家自然科学基金项目(32172279)、蒙牛乳业横向合作项目(202309186027032916)、沈阳市科技创新平台项目(21-104-0-14、21-104-0-28)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32172279), the Mengniu Dairy Horizontal Cooperation Project (202309186027032916), and the Shenyang Science and Technology Innovation Platform Project (21-104-0-14, 21-104-0-28)

[#]程方键、陈晓民为共同第一作者

[#] CHENG Fang-Jian and CHEN Xiao-Min are Co-first Authors

***通信作者:** 张丙辉, 工程师, 主要研究方向为食品加工与检验。E-mail: zhangbinghui@mengniu.cn

武俊瑞, 博士, 教授, 主要研究方向为食品科学。E-mail: junruiwu@126.com

***Corresponding author:** ZHAN Bing-Hui, Engineer, Mengniu Dairy (Qiqihar) Co., Ltd., Qiqihar 161000, China. E-mail: zhangbinghui@mengniu.cn

WU Jun-Rui, Ph.D, Professor, College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Liaoning Provincial Engineering Research Center for Food Fermentation Technology, Shenyang Key Laboratory of Microbial Fermentation Technology Innovation, Shenyang 110866, China. E-mail: junruiwu@126.com

ABSTRACT: Ultra-high temperature treated (UHT) milk is a type of liquid milk that has been stored for a long time, and its shelf life directly affects the market competitiveness and consumer satisfaction of the product. The shelf life of UHT milk is often affected by a variety of factors, including but not limited to: Some biological factors that remain in the milk even after UHT, and the rationality and accuracy of the shelf life prediction model. These factors often lead to quality deterioration phenomena such as gel aging, fat floating, flavor change, color change and so on during the storage shelf life of finished UHT milk. In this paper, we explained the mechanisms of heat-resistant spores, proteases and lipases affecting the shelf life of UHT milk based on the factors affecting the shelf life of UHT milk at home and abroad in recent years, and elaborated the quality deterioration caused by UHT milk shelf life. This paper summarized 3 kinds of shelf-life prediction models, namely Arrhenius equation, multivariate regression equation and BP neural network, and analyzed their advantages and disadvantages are compared while their application environments. Finally, the auxiliary technologies for extending the shelf life of UHT milk were reviewed at the milk collection end and production end of UHT milk. The purpose of this article is to start from the relevant factors affecting the shelf life of UHT milk, and to provide a reference for the production and related research of UHT milk in the future.

KEY WORDS: ultra-high temperature treated milk; shelf-life; biological factors; shelf-life prediction models; assistive technology

0 引 言

超高温灭菌(ultra-high temperature treated, UHT)乳是指通过超高温技术,在 135~150 °C 的灭菌温度下处理 1~10 s,以达到商业无菌条件的灭菌乳^[1]。由于该工艺的目标主要针对的是乳中的微生物,因此在 UHT 乳储存期内,其微生物指标极其稳定^[2],在正常条件下储藏的 UHT 乳货架期一般可以达到 3 至 6 个月。但是,由于其原奶在较低温度下的运输和储存过程中,其内嗜冷菌所产生的耐热酶类物质无法在后续的 UHT 工艺中完全除去^[3],这些残留的酶类物质会与耐热芽孢杆菌的孢子一起,在 UHT 乳的货架期内引导一些物理或化学变化的发生,进而导致如脂肪上浮、蛋白水解、凝胶形成等现象的出现^[4]。例如在 STOECKEL 等^[5]的研究中,对从鲜奶中提取出来的假单胞菌属所产的耐热蛋白酶、纤溶酶及纤溶酶原系统进行 UHT 处理,发现在经过超高温处理后,假单胞菌属所产生的耐热蛋白酶依旧保持较高水平活力,纤溶酶及纤溶酶原系统仍有部分活力;同时在向 UHT 乳中添加了预处理后的耐热蛋白酶及纤溶酶后,发现这些酶类物质与 UHT 乳凝胶老化等现象息息相关^[6]。这些现象不仅会影响 UHT 乳的货架期和可接受程度,严重的还会危害人体健康。

食品的货架期指的是在标签上规定的条件下,保持食品质量(品质)的期限。通常来说,温度是影响食品质量与品质的最关键因素^[7]。因此,基于温度变化,一种辅助食品货架期建立的方法—加速实验(accelerated test, ALST)应运而生。ALST 的基本原理是通过计算在较高温度下食品的货架期进而结合模型推算出较低温度下食品的货架期,其主要适用于品质劣变速率与温度变化速率相关的变化^[8]。因其可以很大程度上提升货架期的检测效率、提高产品研

发速率而广泛应用于高货架期的食品中。在某种高货架期产品的货架期预测实验中,RAN 等^[9]正是利用了 ALST 的原理,将产品置于 4~25 °C 的环境下加速测取产品指标,进而完成了随温度变化的产品货架期预测模型的建立。因此,对于 UHT 乳来说,ALST 与其他货架期模型联用进而推测其产品货架期是目前使用的主要手段。

本文将从影响 UHT 乳货架期的因素入手,综述并对比了近些年 UHT 乳货架期建立模型的优缺点,总结了延长或使 UHT 乳货架期稳定的辅助技术,以期 UHT 乳生产工艺优化及与 UHT 乳货架期相关的实验开展提供参考。

1 UHT 乳货架期的影响因素

1.1 耐热微生物

微生物感染是加工后牛奶保质期缩短的主要原因。尽管经过超高温处理可以杀死绝大部分微生物,但是一些微生物,如部分芽孢杆菌属会在极端恶劣的环境下形成内生孢子^[10]。这些孢子可以在冷、热、酸碱度的巨大变化中存活,并在环境条件适合生长时转变为营养细胞。研究发现^[11],乳品中一些细菌会在超高温处理时由于生长环境的剧烈变化,进而转变为适合高温的高耐热(high heat resistance, HHR)孢子。这些孢子来源十分广泛,遍布牧场端、挤奶端和生产端。它们可以在 UHT 工艺中存活下来,并且借助 UHT 工艺将不耐高温的孢子除去,进而在成品乳中获得优势的生长环境^[12]。在成品乳中,这些转变后的营养细胞通过释放各种胞外酶类物质以改变成品乳中各营养成分的结构进而使乳中各营养成分的状态发生改变,降低成品 UHT 乳的可接受度^[13]。目前已经证实可产生 HHR 孢子的细菌如表 1 所示。其中,蜡样杆菌杆菌、地衣芽孢杆菌在 UHT 乳的高持久性均已得到证明^[14]。

表 1 产生 HHR 孢子的细菌及来源
Table 1 HHR spores-producing bacteria and their sources

细菌名称	样品来源	分离筛选条件	参考
耐热芽孢杆菌 LMG17897	突尼斯 4 个随机乳品加工厂生产的 UHT 乳	无	[14]
耐热芽孢杆菌 M215 I 型			
耐热芽孢杆菌 M215 II 型			
球形芽孢杆菌 10987			
地衣芽孢杆菌 14580			
蜡样芽孢杆菌 ATCC 100987	突尼斯不同季节生产的 UHT 乳	经 100 °C, 4 次处理	[15]
苔藓芽孢杆菌			
布米卢斯芽孢杆菌			
多粘类芽胞杆菌			
抗枯菌(Terribacillusaidingensi)			
解淀粉芽孢杆菌	巴西不同地区不同季节生产的 UHT 乳	80 °C, 12 min	[16]
枯草芽孢杆菌			
短小芽孢杆菌			
坚硬芽孢杆菌			
短芽孢杆菌			
蕈状芽孢杆菌	不同国家, 同一杀菌工艺(140 °C, 4 s)处理生产的 UHT 乳	85 °C, 30 s	[17]
巨大芽孢杆菌			
嗜热脂肪芽孢杆菌			
地衣芽孢杆菌			
凝结芽孢杆菌			
蜡样芽孢杆菌			

1.2 酶类物质

1.2.1 蛋白酶

引起 UHT 乳货架期内变质的蛋白酶根据其来源不同可分为两类, 一类为牛自身所带的内源蛋白酶, 即纤溶酶; 另一类来自于微生物或生产过程中途径设备上残留的外源蛋白酶。其所分泌的蛋白酶根据其酸碱性质, 可分为酸性蛋白酶、中性蛋白酶以及碱性蛋白酶^[18]。其中, 酸性蛋白酶多以霉菌分泌产生^[19]; 中性蛋白酶大多为金属蛋白酶, 不过其热稳定性较差, 很容易自溶失活或热失活; 而碱性蛋白酶由于其广泛存在、分泌速率高、并且部分碱性蛋白酶展现出极强的耐热属性, 因此其对于 UHT 乳货架期的影响极为重要^[20-21]。

对于纤溶酶来说, 其首先以无活性的酶活形式储存在牛的血液当中^[22], 其中一部分转运至乳腺时, 与内源纤溶酶原抑制剂结合, 转变为有活性的纤溶酶^[23]; 另一部分通过乳腺排到原奶里, 与外源纤溶酶原抑制剂结合, 转变为纤溶酶。这种纤溶酶激活体系导致纤溶酶在 UHT 乳中广泛存在, 并且活性会随着成品乳储存时间的增加而增加, 通常来说其活性会在 UHT 乳储存 15~45 d 时达到顶峰^[4]。研究发现, 这种纤溶酶系统即使在经历 120 °C, 30 s 的热处理后, 依旧保有活性^[5]。对于外源蛋白酶来说, 除了极少部

分来源于生产过程中的工艺设备, 其余几乎全部来源于微生物分泌。其中最主要的是在原奶运输和储存过程中嗜冷菌分泌的耐热蛋白酶以及部分嗜热芽孢重新形成营养细胞后所分泌的蛋白酶。近年来的研究表明, 嗜冷菌分泌的耐热蛋白酶主要来源于假单胞菌属^[24]。其中, 主要由荧光假单胞菌分泌的金属蛋白酶 *AprX* 被认为是热杀菌牛奶产生腐败变质的靶向耐热酶, 占据 UHT 乳耐热蛋白酶种类的 80%^[25]。这种 *AprX* 蛋白酶具有很高的耐热性, 在脱脂乳的环境下对其进行 138 °C, 18 s 的超高温处理后, 依然显示有平均 37.1% 的酶活性残留^[26]。然而, *AprX* 蛋白酶同样令人困扰的是因为其不同来源所导致的巨大酶体差异性和其广泛的作用位点。实验证明, 来自荧光假单胞菌和脆弱假单胞菌菌株之间 *AprX* 的相似性为仅仅为 57%~69%。同时。不同菌株分泌的 *AprX* 酶在不同环境下水解 α_{s1} 、 α_{s2} 、 β 和 κ 酪蛋白的顺序与程度均不同^[27-28]。这些酶学特性导致无法针对性地将 *AprX* 酶除去。除了 *AprX* 之外, 由铜绿假单胞菌分泌的蛋白酶 *AprA*、由液化沙雷氏菌分泌的两种蛋白酶 *Ser1* 和 *Ser2* 以及由黏质沙雷氏菌分泌的蛋白酶 *S3-R1* 目前也都在乳制品生产的环境中有所发现^[29-30]。其中在 BAUR 等^[26]的实验中发现, *AprA* 酶在经过 UHT 工艺处理后仍有较显著的活力残留。对于 *S3-R1* 和 *Ser* 系列蛋白酶, 研究人员在对其进行 95 °C 不同时间的处理后发现, 其蛋

白酶活性依旧很高并且蛋白酶活力稳定。但其中除 *Ser2* 蛋白酶经实验证明可以抵御 UHT 工艺处理外, 其余蛋白酶能否经受住 UHT 工艺的处理目前并未有实验提及^[31]。

然而, 不论是纤溶酶还是外源蛋白酶, 其都在 UHT 乳货架期中发挥着作用。其中, 最明显的就是对 UHT 色泽的影响。王一恬^[32]通过比较添加了 4 种耐热蛋白酶的 UHT 乳储藏期间的色泽变化, 发现对于正常 UHT 乳来说, 添加了蛋白酶的 UHT 乳其色泽都有明显的色差变化, 其中添加了 *AprA* 蛋白酶的色泽变化最大。同时, 在理化性质上, 蛋白酶还会使 UHT 乳产生凝胶老化以及蛋白沉淀现象。研究表明, 这两个过程的进行都与蛋白酶同酪蛋白的作用相关。蛋白酶通过水解 κ -酪蛋白以及 β -酪蛋白, 使原本形成的酪蛋白胶束被破坏。经破坏的酪蛋白胶束与乳中其他营养物质相互混合, 进而导致凝胶化以及沉淀的产生^[33]。除此之外, UHT 乳货架期内气味的变化也与蛋白酶息息相关。相关实验证实, 牛奶中残存的 *AprX* 酶与纤溶酶在分解酪蛋白使其产生苦味肽的同时, 还会间接影响乳中的美拉德反应进而产生不利的风味物质^[34-35]。

1.2.2 脂肪酶

脂肪酶又称甘油酯水解酶, 在 UHT 乳中, 残留的脂肪酶能够逐步地将乳脂分解, 释放游离脂肪酸、单酰基和双酰基甘油以及甘油^[36]。与 UHT 乳中蛋白酶的来源相同, 脂肪酶的来源也分为内源脂肪酶和外源脂肪酶。其中, 内源脂肪酶包括吸附在脂肪球膜之间的膜脂肪酶以及与酪蛋白紧密结合的乳浆脂酶^[37]。由于这些内源脂肪酶在经过 UHT 处理后近乎完全失活, 其对 UHT 乳的影响微乎其微。因此, 来源于微生物的脂肪酶是影响 UHT 乳货架期品质的主要脂肪酶。

与蛋白酶相同的是, 荧光假单胞菌分泌的脂肪酶 *LipA* 同样作为当今研究最多的嗜冷菌耐热脂肪酶。同时, *LipA* 基因编码与蛋白酶 *AprX* 位于同一操纵子中, 跟随着 *AprX* 基因的表达而表达, 并且与 *AprX* 基因类似, 都与 Ca^{2+} 离子紧密结合以此来维系基因序列的高稳定性^[38], 使得其所产生的脂肪酶稳定性较好。在近期的实验中, 研究人员将从原料奶中分离出的来源于假单胞菌的脂肪酶进行 135 °C(分别持续 5、10 和 15 s)的热处理后, 发现其仍平均具有 19.16% 的残余酶活性^[39]。然而即使是进行 142 °C、4 s 的 UHT 处理, 仍有超过三分之一从原料乳中分离出来的假单胞菌所生产的脂肪酶仍然保留着酶活性; 同时其还发现, 在所分离的假单胞菌属中, 产热稳定的脂肪酶比例多于热不稳定耐热脂肪酶^[40]。当然, 除假单胞菌外, 其他嗜冷菌也有分泌耐热脂肪酶的能力。SALGADO 等^[41]从储藏的原料奶中分离出液化沙雷氏菌, 并将其分泌的脂肪酶置于 140 °C 处理 1 min 后, 发现其还有一半以上的酶活残余。

然而相比于假单胞菌来说, 更多比例的从原料奶中分离出来的耐热芽孢杆菌在经过相同的 UHT 处理后也仍

旧保持着 50%~75% 的残留酶活性^[40]。然而无论是哪种来源的外性源脂肪酶, 其都能通过水解脂肪球膜, 使脂肪球失去阻断机制, 进而导致脂肪球聚集黏连为更大的脂肪团, 发生脂肪上浮现象^[42]。与此同时, 脂肪水解的过程中会释放脂肪酸。但由于不同微生物源脂肪酶水解脂肪的过程不一致, 导致脂肪分解所释放的脂肪酸的种类和数目有所差异, 由此导致货架期内 UHT 乳可能产生无法预料的气味, 如腥味、臭味、酸味、苦味或肥皂味, 使消费者难以接受^[42]。

2 UHT 乳货架期方程的建立

由于像 UHT 乳这种货架期较长的食品通过实际测量检测其货架期费时费力。因此, 该类食品通常采用 ALST 与货架期模型相结合的方式, 通过货架期内食品理化性质的变化规律, 推演其正常储存温度下的货架期限。对于 UHT 乳产品来说, 常用的货架期模型包括 Arrhenius 方程、多因素回归方程以及反向传播(back propagation, BP)神经网络。

2.1 Arrhenius 方程

Arrhenius 方程是瑞典的阿伦尼乌斯所创立的化学反应速率常数随温度变化关系的经验公式。在 UHT 乳的货架期模型中, 其常与一级动力学模型与二级动力学模型联用, 形成以化学动力学为基础的货架期预测模型。其使用的前提是该反应所产生的活化能(activation energy, E_a)不以温度的变化而变化, 即 E_a 是与反应无关的常数, 因而在一定的温度范围内, 可以通过 E_a 数值的恒定, 以较高温度下 ALST 的货架期推算出较低储藏温度下的货架期。其所涉及的方程如表 2 所示。

表 2 Arrhenius 方程法建立货架期预测模型方程
Table 2 Shelf life prediction model equation was established by the Arrhenius equation method

	零级反应	一级反应
基础化学动力学模型	$A=A_0-kt$	$A=A_0e^{-kt}$
Arrhenius 方程	$\ln k=\ln k_0-E_a/RT$	
联用后的化学动力学模型	$t=-(A-A_0)/[k_0e^{-(E_a/RT)}]$	$t=-(\ln A-\ln A_0)/[k_0e^{-(E_a/RT)}]$

注: t : 储存的天数; A : 储存 t 天时样品的品质; A_0 : 样品的初始品质; k : 食品变化速率常数; k_0 : 前因子; E_a : 反应的活化能; R : 气体常数, 8.314 J/mol; T : 开式参数。

对于 UHT 乳来说, Arrhenius 方程建立货架期是其最为常见的方法, 其常用于研究微生物、酶对 UHT 乳的影响。如代良超^[43]借助 Arrhenius 方程, 尝试以酸度、粒径、蛋白水解度、游离氨基酸含量、游离脂肪酸含量为表征品质的指标, 建立货架期预测模型, 用作研究原料乳中嗜冷菌所产胞外耐热蛋白酶以及耐热脂肪酶对 UHT 乳的影响;

邓应旺^[44]借助 Arrhenius 方程,选择蛋白水解度、酸度、黏度、色泽为表征品质的指标,进行了荧光假单胞菌所产胞外耐热蛋白酶对 UHT 乳储存期内品质的影响研究。Arrhenius 方程建立货架期预测模型经不断改善后,大致可分为如下基本步骤。首先经过两个或两个以上较高温度的 ALST, 测量 UHT 乳在较高温度储藏下各项指标与储藏天数之间的变化规律。通过将所有指标的变化规律带入逐步回归方程,将部分指标舍去后,以逐步回归方程中各项指标的系数大小确立影响 UHT 乳到达货架期终点的最重要指标;其次,将该指标分别通过线性回归和二次回归分析,通过回归方程 R^2 大小的比较,确定该指标随储藏时间的变化最接近的反应级数;之后建立 Arrhenius 方程— $\ln k$ 与 $1/T$ 的线性关系式,并与化学动力学模型联用得出最后的货架期模型。

显而易见的是,使用 Arrhenius 方程建立货架期模型是一个简单而又快速的方法,但是由于 Arrhenius 方程的使用前提,导致其在推算离所测温度温差较大的温度下的货架期时,往往误差较大。同时由于逐步回归分析与化学反应级数的确立是两个相对独立的环节,因此在某些情况下会导致两个环节无法对应,进而导致误差产生。因此,为了使基于 Arrhenius 方程的 UHT 乳货架期预测模型更为可靠,研究人员对温度引起的货架期测量误差进行了优化。李泽鹏^[45]在原本温度变化的基础上,尝试引入光通量和初始不饱和脂肪酸含量,以多因素的方法定义样本。在以期减少温度变化所引起的误差的同时,尽可能地模拟实际储运情况,进行了基于溶解氧消耗总量的 UHT 乳货架期劣变模型的建立。经不同样本验证,其预测结果的相对误差均小于 3%,远低于单一依靠温度变化建立的 Arrhenius 货架期预测模型的测量误差。

2.2 多因素回归方程

由于对 UHT 乳进行加速储藏实验时往往测量多个指标与储藏时间之间的关系,同时实验证明,UHT 乳达到货架期终点或多或少都会对这些指标产生影响,因此王辉等^[46]在乳内源、外源蛋白酶对 UHT 乳货架期内品质不良的影响的研究中,采用多因素回归方程的思想来建立 UHT 乳的货架期模型。其首先将存疑的因素(纤维蛋白溶酶活性、嗜冷菌数和菌落总数)经过三因素二水平旋转组合设计出最优的 UHT 乳样本,同时通过将其中一个因素定零控制,进而确定该 3 种因素对 UHT 乳品质劣变的影响程度。接着通过测量样本 UHT 乳储存过程中与存疑三因素相同或相关联的指标,并将这些指标进行逐步回归分析,得到最后的多元回归方程作为该 UHT 乳样本的货架期方程。

与 Arrhenius 方程建立 UHT 乳货架期不同的是,Arrhenius 方程方法侧重的是预测单一温度变量下的 UHT 乳货架期,而多因素回归方程法则侧重于多种因素改变下的 UHT 乳货架期,需要根据不同的影响因素更改侧重点;

同时由于通常默认使用的多因素回归方程都是线性回归方程,而 UHT 乳储藏中各指标的变化规律可能成指数对数的趋势变化,其造成的误差不可忽略,因此相较于 Arrhenius 方法来说,该方法的使用相对较少。

2.3 BP 神经网络

随着食品的种类越来越多,产品中所含有的营养物质逐渐丰富,并且部分食品在制作和运输期间环境温度的不稳定,传统的化学动力学方程已经无法满足多因素货架期的预测,因此基于人工神经网络的一种算法—BP 神经网络用以建立货架期预测模型逐步得到运用。其不仅可以近似的通过多个指标共同解释食品的货架期模型;同时可以近乎忽视指标化学反应级数的计算而使结果变得更为准确^[47]。因此近年来,有关使用 BP 神经网络预测食品保质期的文章逐渐浮现。例如 MAO 等^[48]基于红外透射光谱和 BP 神经网络建立起了鲢鱼片货架期预测模型,其在温度波动的储藏实验期间,展现出了很好的稳定性;易甜等^[49]将 pH、硬度、黏度、需氧微生物总数和感官评价作为所需指标,通过 BP 神经网络建立起了酸奶的货架期模型,并与传统的动力学模型进行比较,发现基于 BP 神经网络的货架期模型准确度更高。

BP 神经网络的一般分为 3 个部分,即输入变量的输入层、输出结果的输出层和能够捕捉非线性数据的隐藏层^[50]。其特点在于在输出层计算误差并向后传递,以保证训练的准确性^[51]。传统 BP 神经网络的结构图如图 1 所示。对于食品货架期的 BP 神经网络算法来说,输入层一般指的是研究环境变量及需要控制的物质,如温度、湿度、菌落数目、酶类活力、各营养物质等等;隐藏层则起到对输入的数据进行转换和处理的效果,其与输入层的指标往往具有某些函数关系。

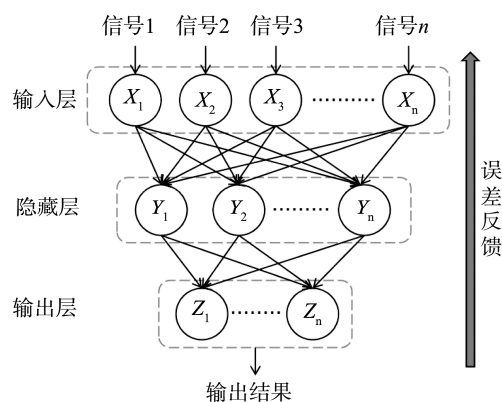


图1 神经网络的结构图

Fig.1 Structure diagram of a neural network

对于 UHT 乳来说,从运输环节到销售的过程中温度的变化基本不大,因此基于 BP 神经网络的货架期模型的运用更多的在于多因素影响下的 UHT 乳货架期的预测以

及提高其计算的准确性。如习鸿杰等^[52]基于 BP 神经网络建立起了多因素—牛奶褐变指数和蛋白水解度与货架期之间的关系。而代良超^[43]在原料乳中嗜冷菌对 UHT 乳货架期影响的研究中, 以同一组数据分别用 Arrhenius 方程法和 BP 神经网络建立了两种货架期模型, 经比较发现使用 BP 神经网络建立货架期方程的准确度更高, 并且无限接近于真实值。

3 UHT 乳货架期延长辅助技术

3.1 对原料乳进行品质控制

原料乳是所有乳制品的前体, 其特性与其衍生产品的质量息息相关。常见的原料乳控制指标包括成分特性、微生物计数、体细胞计数、药物残留、异味等。研究表明, 较高水平的体细胞数和细菌数与酶的活性增加有关, 原料乳中的一些酶即使在经历过高热度的热杀菌后依然保有活性^[53]。同时, 原料乳中的体细胞数目也被认为是反应原料乳中纤溶酶含量的阈值之一^[23]。因此, 对于 UHT 乳来说, 严格控制其原料乳中的微生物数和体细胞数是维护其货架期稳定的重中之重。

对于体细胞计数, 现阶段研究人员更关心原料乳中体细胞数的阈值确立。目前来说, 一般认为原料乳体细胞数在小于 30 万个/mL 时, 其生产的 UHT 乳将不会在货架期内产生质量缺陷^[54]。然而对于微生物计数, 更加先进、准确的计数方法在近年来得到了大量尝试。传统的微生物计数方法一般采用平板计数法。该方法不仅检测时间久, 还容易收到人为因素的干扰^[55-56], 因此快速、高精度的基于偏最小二乘回归(partial least squares regression, PLSR)预测模型的微生物计数法近年来得到了广泛提及^[57]。赵文静等^[58]采用近红外光谱成像技术, 通过扫描 400~1000 nm 的光谱数据, 与测得的微生物数目相结合建立 PLSR 模型。同时通过对比不同的光谱预处理方法和数据降维方法, 得到了卷积平滑+连续投影算法+PLSR 的快速、一体的微生物预测模型。与此同时, FELICIANO 等^[59]也进行了基于 PLSR 的微生物计数模型实验。与赵文静等^[58]不同的是, 他们选择以原料乳的物理化学性质和环境因素为指标, 建立 PLSR 模型。结果显示, 相比于单独使用相关性分析和主成分分析, PLSR 模型未能更好反映出微生物数量与原料乳物理化学性质和环境因素的相关性, 其推测产生这种现象的原因是无法单单用线性解释原料乳的物理化学性质与微生物数目的关系。不过针对于对 UHT 乳影响较大的嗜冷菌, 辛亮^[60]给出了一种独特的检测方法。其通过从经低温保藏后的不同地区产的原料乳中, 分离出产耐热蛋白酶和脂肪酶的荧光假单胞菌和一株产生具有最强脂肪酶活性的菌株。并以所筛选菌种蛋白酶和脂肪酶基因的保守区为目的基因, 建立了利用环介导等温扩增和实时环介导等温扩

增对目标菌种菌群数目的检测方法。经测量, 采用实时环介导等温扩增进行检测仅用时 80 min。

3.2 预处理

在 UHT 处理前对原料奶进行预处理用以延长 UHT 乳保质期的方法目前已得到了初步研究。这些处理方式或直接改善 UHT 乳的理化品质, 使其可接受度增加; 或通过影响其原料奶中菌落和酶类物质的活性进而延长其保质期。其中, 预热处理是目前已经投入使用的 UHT 乳预处理方式, 广泛应用于各品牌 UHT 乳生产当中。其通过在超高温处理前使原料奶经过长时间预热, 使部分酶三级结构展开, 同时辅助以蛋白水解的作用, 尽可能去除酶类物质^[61]。然而 ERTAN 等^[62]注意到, 对于从乳中分离出的假单胞菌所产生的特异性金属酶—AprX 蛋白酶, 采用预热处理的方式并不能有效降低该蛋白酶的活性。同时预热处理对温度的掌控也存在较大限制。温度过低则无法对酶类及耐热芽孢有显著的灭活作用; 而温度过高不仅会使成品乳颜色发生改变, 还会导致乳中营养物质的降解^[63]。因此, 其他类型的预处理方式近年来得到了广泛研究。

蒋世尧^[64]通过对原料奶增加闪蒸脱氧技术, 大大降低了原料乳中氧气的含量, 减少了脂肪氧化、蛋白质氧化, 抑制了美拉德反应, 提高了 UHT 成品乳的可接受度。VIANNA 等^[65]通过向原料乳中添加 CO₂ 发现, 经添加处理的原料乳在经过 UHT 处理后, 微生物蛋白酶水解释放的肽量较低, 同时其脂肪分解率也有明显下降, 同时猜测添加 CO₂ 处理后的 UHT 乳可能对凝胶老化显示出敏感性。受到该方法的启发, 研究人员开始尝试向原料乳中通入其他惰性气体, 发现经过 N₂ 冲洗的原料奶中细菌数量在储存 7 d 后下降了 3~4 个对数, 后对残留菌群进行基因测序分析显示, 经 N₂ 冲洗过的原料奶中假单胞菌的数量出现明显下降, 推测 N₂ 处理可以选择性抑制原料乳中假单胞菌的生长^[66]。随后, LOTT 等^[67]发现, 在热杀菌前增加微滤处理可以尽可能减少原料奶中耐热微小微生物或耐热孢子的存在。同时, 通过分别对非微滤 UHT 乳和微滤 UHT 乳进行货架期储藏实验, 发现无论是低体细胞乳还是高体细胞乳, 微滤 UHT 乳都比非微滤 UHT 乳的货架期长^[68]。

3.3 耦合杀菌

由上文所述, 影响 UHT 乳货架期内劣变的原因一部分是因为耐热微生物及耐热孢子的存在。因此, 在热杀菌的同时耦合其他杀菌模式是目前延长热杀菌乳货架期的重要尝试。首先, D'INCECCO 等^[69]对 UHT 耦合微滤技术进行了尝试, 其在采用 1.4 μm 的滤膜过滤的同时, 附加相对正常 UHT 工艺温和的 137 °C, 3 s 处理的改善后的 UHT 工艺, 发现与正常 UHT 乳相比, 耦合微滤处理的 UHT 乳其蛋白凝胶化和蛋白沉淀的出现延后了 4~5 个月。但是值得注意的是, 由于滤膜尺寸的限制, 实验发现对于一些非常

小的亲水性孢子,如地衣芽孢杆菌的孢子无法通过使用滤膜来除去。然而对于超高压均质技术(ultra-high pressure homogenizer, UHPU)来说,研究表明,当使用 UHPU 达到 300 MPa 时,其可以将芽孢杆菌的孢子尽数破坏掉^[70]。AMADOR-ESPRJO 等^[71]利用这一结论,在进行 300 Mpa 的 UHPU 同时,耦合较低温度的 UHT 处理,成功实现了无菌牛奶的生产;同时发现该杀菌工艺对牛奶中水融性和脂溶性维生素的破坏可以忽略不计。与 UHPU 针对性除去耐热芽孢的孢子目的相同,李欣霏等^[72]提出了一种利用超声波耦合热的方法以除去乳中的耐热芽孢。但是值得注意的是,受限于 UHT 乳加工时间的影响,若要在 UHT 处理时耦合超声波处理,就势必要采用高强度超声技术以保证灭菌效果。但研究证明,高强度超声处理可能会导致蛋白质变性,产生橡胶香气和烧焦味^[73]。

4 结束语

随着人们物质条件的逐渐丰富,人们在乳制品上的消费占比也在逐渐升高。UHT 乳因其营养丰富、安全性高,因此是乳制品消费市场上的宠儿。目前在 UHT 乳货架期的研究中,已经取得了显著的进展,不仅对 UHT 乳货架期内品质劣变的成因有了明显突破,同时与其他学科交叉建立的货架期模型解决了 UHT 乳产品货架期难以计算的困境。然而对于如何有效地保持 UHT 乳货架期稳定、延长 UHT 乳货架期的相关研究仍处于萌芽阶段。UHT 乳在货架期内品质劣变仍需得到进一步的研究与解决。

在未来对 UHT 乳货架期的研究中,应从如下几个方面着手:(1)建立更为准确与智能的货架期预测模型,并将其应用在成品乳的检验当中。同时完善 UHT 乳货架期的预测因素,将感官评价等因素纳入其货架期评判的标准当中,以期在企业产品的出口端将可能发生货架期内劣变的 UHT 乳阻断;(2)完善 UHT 乳中产耐热酶类菌种的溯源机制,建立从检测到溯源再控制的保障模式,从源头减少 UHT 乳中耐热蛋白酶和脂肪酶的含量;(3)在确保 UHT 乳中营养物质不会流失的前提下,不断研发并确定新技术在延长 UHT 乳货架期上的可能性,如尝试新的耦合热杀菌模式、探究其他预处理方式在 UHT 乳中的可行性。进一步提高 UHT 乳制品的质量和货架期,以满足不断增长的市场需求,同时促进乳制品行业的可持续发展。

参考文献

- [1] COOLBEAR T, JANIN N, TRAILL R, *et al.* Heat-induced changes in the sensory properties of milk [J]. *Int Dairy J*, 2022, 126: 105199.
- [2] 洪青, 刘振民. 牛乳杀菌技术研究进展[J]. *乳业科学与技术*, 2022, 45(6): 50–54.
HONG Q, LIU ZM. Research progress on milk sterilization technology [J]. *J Dairy Sci Technol*, 2022, 45(6): 50–54.
- [3] ALAN LK, LOTTE BL. Agents of change enzymes in milk and dairy products: Enzymes in milk and dairy products [M]. Cham: Springer Nature Switzerland, 2021.
- [4] WANG Y, GUO M, WU P, *et al.* New insights into the destabilization of fat globules in ultra-instantaneous UHT milk induced by added plasmin: Molecular mechanisms and the effect of membrane structure on plasmin action [J]. *Colloid Surf B*, 2024, 240: 113987.
- [5] STOECKEL M, LIDOLT M, STRESSLER T, *et al.* Heat stability of indigenous milk plasmin and proteases from *Pseudomonas*: A challenge in the production of ultra-high temperature milk products [J]. *Int Dairy J*, 2016, 61: 250–261.
- [6] RAUH VM, JOHANSEN LB, IPSEN R, *et al.* Plasmin activity in UHT milk: Relationship between proteolysis, age gelation, and bitterness [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(28): 6852–6860.
- [7] KIM MJ, MIN J, HYE RP, *et al.* Guideline for proper usage of time temperature integrator (TTI) avoiding underestimation of food deterioration in terms of temperature dependency: A case with a microbial TTI and milk [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2016, 25: 713–719.
- [8] LI Y, DING S, WANG Y. Shelf life predictive model for postharvest shiitake mushrooms [J]. *J Food Eng*, 2022, 330: 111099.
- [9] RAN M, HE L, LI C, *et al.* Quality changes and shelf-life prediction of cooked cured ham stored at different temperatures [J]. *J Food Protect*, 2021, 84(7): 1252–1264.
- [10] FERRERO A, FERRERO F, CASALE M, *et al.* The impact of different temperatures on spore count and browning of UHT milk over a long storage period [J]. *Int Dairy J*, 2024, 155: 105948.
- [11] KENT DJ, CHAUHAN K, BOOR KJ, *et al.* Spore test parameters matter: Mesophilic and thermophilic spore counts detected in raw milk and dairy powders differ significantly by test method [J]. *J Dairy Sci*, 2016, 99(7): 5180–5191.
- [12] YANG Y, WEI S, ZHONG J, *et al.* Exposure assessment of *Bacillus cereus* introduced into reconstituted milk production in China [J]. *Food Biosci*, 2024, 59: 104024.
- [13] KUMARI S, SARKAR PK. *Bacillus cereus* hazard and control in industrial dairy processing environment [J]. *Food Control*, 2016, 69: 20–29.
- [14] AOUADHI C, MAAROUI A, MEJRI S. Incidence and characterisation of aerobic spore-forming bacteria originating from dairy milk in Tunisia [J]. *Int J Dairy Technol*, 2014, 67(1): 95–102.
- [15] KMIHA S, AOUADHI C, KLIBI A, *et al.* Seasonal and regional occurrence of heat-resistant spore-forming bacteria in the course of ultra-high temperature milk production in Tunisia [J]. *J Dairy Sci*, 2017, 100(8): 6090–6099.
- [16] PINTO CLO, SOUZA LV, MELONI VÍAS, *et al.* Microbiological quality of Brazilian UHT milk: Identification and spoilage potential of spore-forming bacteria [J]. *Int J Dairy Technol*, 2018, 71(1): 20–26.
- [17] GHELLAI L, MOUSSABOUDJEMAA B. Aerobic spore-forming bacteria

- in the ultra high temperature milk produced in the north west of Algeria [J]. J Agric Sci Tech-Iran A, 2013, 3(9A): 697.
- [18] 赵龙妹, 张玲. 产蛋白酶芽孢杆菌的筛选鉴定及酶学特性分析[J]. 畜牧与兽医, 2021, 53(3): 59–64.
- ZHAO LM, ZHANG L. Screening, identification of protease-producing bacillus and analysis of enzymatic characteristics [J]. Anim Husb Vet Med, 2021, 53(3): 59–64.
- [19] 艾雨晴, 陈松骏, 秦娟, 等. 微生物产蛋白酶的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(19): 451–458.
- AI YQ, CHEN SJ, QIN J, *et al.* Research progress on microbial protease production [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(19): 451–458.
- [20] AGUILERA-TORO M, KRAHG ML, THOMASEN AV, *et al.* Proteolytic activity and heat resistance of the protease *AprX* from *Pseudomonas* in relation to genotypic characteristics [J]. Int J Food Microbiol, 2023, 391: 110147.
- [21] ZHANG C, BIJL E, SVENSSON B, *et al.* The extracellular protease *AprX* from *Pseudomonas* and its spoilage potential for UHT milk: A review [J]. Comp Rev Food Sci F, 2019, 18(4): 834–852.
- [22] THOMAS CF. Encyclopedia of dairy sciences [M]. Third edition. Amsterdam: Elsevier, 2022.
- [23] CHARISMIADOU M, KARLA G, THEODOROU G, *et al.* The effect of health status of the udder on plasminogen activator activity of milk somatic cells in ovine milk [J]. Small Ruminant Res, 2015, 133: 54–57.
- [24] DU BY, MENG L, LIU HM, *et al.* Diversity and proteolytic activity of *Pseudomonas* species isolated from raw cow milk samples across China [J]. Sci Total Environ, 2022, 838: 156382.
- [25] MARTINS ML, PINTO UM, RIEDEL K, *et al.* Milk-deteriorating exoenzymes from *Pseudomonas fluorescens* 041 isolated from refrigerated raw milk [J]. Braz J Microbiol, 2015, 46(1): 207–217.
- [26] BAUR C, KREWINKEL M, KUTZLI I, *et al.* Isolation and characterisation of a heat-resistant peptidase from *Pseudomonas panacis* with standing general UHT processes [J]. Int Dairy J, 2015, 49: 46–55.
- [27] AURÉLIE M, MURIEL GN, FRANOIS B, *et al.* Proteolysis of milk proteins by *AprX*, an extracellular protease identified in *Pseudomonas LBSA1* isolated from bulk raw milk, and implications for the stability of UHT milk [J]. Int Dairy J, 2015. DOI: 10.1016/j.idairyj.2015.04.008
- [28] AGUILERA-TORO M, NIELSEN SDH, KRAHG ML, *et al.* Peptidomic fingerprints of stored UHT milk inoculated with protease extracts from different *Pseudomonas* strains relative to *AprX* expression and visible spoilage [J]. Dairy, 2023, 4(1): 83–97.
- [29] NAM MS, WHANG KS, CHOI SH, *et al.* Purification, characterization, and properties of an alkaline protease produced by *Serratia marcescens* S3-R1 inhabiting Korean ginseng rhizosphere [J]. J Sci Food Agric, 2013, 93(15): 3876–3882.
- [30] MACHADO SG, HEYNDRIKX M, DE BJ, *et al.* Identification and characterization of a heat-resistant protease from *Serratia liquefaciens* isolated from Brazilian cold raw milk [J]. Int J Food Microbiol, 2016, 222: 65–71.
- [31] BAGLINIÈRE F, TANGUY G, SALGADO RL, *et al.* *Ser2* from *Serratia liquefaciens* L53: A new heat stable protease able to destabilize UHT milk during its storage [J]. Food Chem, 2017, 229: 104–110.
- [32] 王一恬. 荧光假单胞菌耐热性蛋白酶特性及其对液态乳品质影响的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2024.
- WANG YT. Study on the protease characteristics of *Pseudomonas fluorescens* and its effect on the quality of liquid milk [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2024.
- [33] ZHANG C, BIJL E, MUIS KE, *et al.* Stability of fat globules in UHT milk during proteolysis by the *AprX* protease from *Pseudomonas fluorescens* and by plasmin [J]. J Dairy Sci, 2020, 103(1): 179–190.
- [34] LOTT TT, WIEDMANN M, MARTIN NH. Shelf-life storage temperature has a considerably larger effect than high-temperature, short-time pasteurization temperature on the growth of spore-forming bacteria in fluid milk [J]. J Dairy Sci, 2023, 106(6): 3838–3855.
- [35] KARLSSON M, LANGTON M, INNINGS F, *et al.* Changes in stability and shelf-life of ultra-high temperature treated milk during long term storage at different temperatures [J]. Heliyon, 2019, 5(9): e02431.
- [36] DECIMO M, BRASCA M, ORDÓÑEZ JA, *et al.* Fatty acids released from cream by psychrotrophs isolated from bovine raw milk [J]. Int J Dairy Technol, 2017, 70(3): 339–344.
- [37] 靳磊, 范贵生, 吕加平. 耐热性脂肪酶及其对 UHT 乳品质的影响[J]. 食品研究与开发, 2008, (4): 173–177.
- JIN L, FAN GS, LV JP. Heat-stable lipase and its effect on UHT milk quality [J]. Food Res Dev, 2008, (4): 173–177.
- [38] BEVEN CA, DIECKELMANN M, BEACHAM IR. A strain of *Pseudomonas fluorescens* with two lipase-encoding genes, one of which possibly encodes cytoplasmic lipolytic activity [J]. J Appl Microbiol, 2010, 90(6): 979–987.
- [39] DAI LC, HU SZ, PANG XY, *et al.* Community diversity of psychrophilic bacteria in dairy farm raw milk and its characteristic enzyme production at different temperature [J]. Food Biosci, 2023, 54: 102921.
- [40] VITHANAGE NR, DISSANAYAKE M, BOLGE G, *et al.* Biodiversity of culturable psychrotrophic microbiota in raw milk attributable to refrigeration conditions, seasonality and their spoilage potential [J]. Int Dairy J, 2016, 57: 80–90.
- [41] SALGADO, CLEONICEI A, FRANÇOIS B, *et al.* Spoilage potential of a heat-stable lipase produced by *Serratia liquefaciens* isolated from cold raw milk [J]. LWT, 2020, 126: 109289.
- [42] DEETH HC. Lipoprotein lipase and lipolysis in milk [J]. Int Dairy J, 2006, 16(6): 555–562.
- [43] 代良超. 原料乳中嗜冷菌对 UHT 乳品质及货架期的影响研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2023.
- DAI LC. Effect of psychrophilic bacteria in raw milk on the quality and

- shelf life of UHT milk [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2023.
- [44] 邓应旺. 荧光假单胞菌 W3 胞外蛋白酶对 UHT 乳品质的影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2021.
- DENG YW. Effect of *Pseudomonas fluorescens* W3 extracellular protease on UHT milk quality [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2021.
- [45] 李泽鹏. UHT 纯牛奶光氧化特性及其包装货架期研究[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
- LI ZP. Study on the photooxidation characteristics of UHT pure milk and its packaging shelf life [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.
- [46] 王辉, 孙琦, 刘鹭, 等. UHT 乳货架期预测模型的建立及检验[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 586–594.
- WANG H, SUN Q, LIU L, *et al.* Establishment and testing of UHT milk shelf life prediction model [J]. China J Agric Sci, 2013, 46(3): 586–594.
- [47] 靳啸. 基于神经网络的牛奶运销过程新鲜度检测系统的研究[D]. 太原: 太原理工大学, 2020.
- JIN X. Research on freshness detection system in milk distribution process based on neural network [D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2020.
- [48] MAO S, ZHO J, HAO M, *et al.* BP neural network to predict shelf life of channel catfish fillets based on near infrared transmittance (NIT) spectroscopy [J]. Food Packaging Shelf, 2023, 35: 101025.
- [49] 易甜, 程鹏飞. BP 人工神经网络对酸奶货架期的预测[J]. 绿色科技, 2017, (10): 242–246.
- YI T, CHENG PF. BP artificial neural network prediction of yogurt shelf life [J]. Green Technol, 2017, (10): 242–246.
- [50] JIANG YJ, YANG XY, JIN HN, *et al.* Shelf-life prediction and chemical characteristics analysis of milk formula during storage [J]. LWT, 2021(1): 111268.
- [51] 王少雷, 谭冬飞, 张清阳, 等. 光氧化对超高温灭菌乳感官品质的影响研究[J]. 中国食物与营养, 2021, 27(4): 35–38.
- WANG SL, TAN DF, ZHANG QY, *et al.* Effect of photooxidation on sensory quality of UHT milk [J]. Food Nutr China, 2021, 27(4): 35–38.
- [52] 习鸿杰, 宋利君, 邓玉明, 等. 基于 BP 神经网络的 UHT 纯牛奶包装货架期预测[J]. 食品工业科技, 2024, 45(4): 205–210.
- XI HJ, SONG LJ, DENG YM, *et al.* Shelf life prediction of UHT pure milk packaging based on BP neural network [J]. Sci Technol Food Ind, 2024, 45(4): 205–210.
- [53] MURPHY SC, MARTIN NH, BARBANO DM, *et al.* Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield [J]. J Dairy Sci, 2016, 99(12): 10128–10149.
- [54] 李志国, 边燕飞, 闫清泉, 等. 原料乳体细胞数对乳酪品质影响的研究进展[J]. 食品科技, 2021, 46(12): 82–87.
- LI ZG, BIAN YF, YAN QQ, *et al.* Research progress on the effect of raw milk cell count on cheese quality [J]. Food Sci Technol, 2021, 46(12): 82–87.
- [55] LEE RT, EVANOWSKI RL, GREENBAUM HE, *et al.* Troubleshooting high laboratory pasteurization counts in organic raw milk requires characterization of dominant thermophilic bacteria, which includes non-sporeformers as well as sporeformers [J]. J Dairy Sci, 2024, 107(6): 3478–3491.
- [56] 张鹏博, 李智星, 魏勇, 等. 不同检测时间对原料乳中嗜冷菌检测结果的影响[J]. 中国乳业, 2023(1): 77–80.
- ZHANH PB, LI ZX, WEI Y, *et al.* Effect of different detection times on the detection results of psychophilic bacteria in raw milk [J]. Chin Dairy, 2023(1): 77–80.
- [57] 蔡亚洁, 乌日娜, 周津羽, 等. 乳制品中有害微生物检测新技术研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(1): 41–47.
- CAI YJ, WU RN, ZHOU JY, *et al.* Research progress on new technologies for the detection of harmful microorganisms in dairy products [J]. J Food Saf Qual, 2024, 15(1): 41–47.
- [58] 赵文静, 崔腾飞, 陈锦华. 可见/近红外高光谱成像技术对冷藏过程中原料乳细菌总数的无损检测[J]. 食品安全导刊, 2018, (30): 167–170.
- ZHAO WJ, CUI TF, CHEN JH. Non-destructive detection of the total number of bacteria in raw milk during refrigeration by visible/near-infrared hyperspectral imaging technology [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, (30): 167–170.
- [59] FELICIANO RJ, BOUÉ G, MOHSSIN F, *et al.* Raw milk quality in large-scale farms under hot weather conditions: Learnings from one-year quality control data [J]. J Food Compos Anal, 2023, 117: 105127.
- [60] 辛亮. 原料乳中嗜冷菌多样性研究及 LAMP 快速检测方法的构建[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018.
- XIN L. Study on the diversity of psychophilic bacteria in raw milk and the construction of a rapid detection method for LAMP [D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2018.
- [61] STOECKEL M, LIDOLT M, STRESSLER T, *et al.* Heat stability of indigenous milk plasmin and proteases from *Pseudomonas*: A challenge in the production of ultra-high temperature milk products [J]. Int Dairy J, 2016, 61: 250–261.
- [62] ERTAN H, CASSEL C, VERMA A, *et al.* A new broad specificity alkaline metalloprotease from a *Pseudomonas* sp. isolated from refrigerated milk: Role of calcium in improving enzyme productivity [J]. J Mol Catal B-Enzym, 2015, 113: 1–8.
- [63] LU J, ZHU T, DAI Y, *et al.* The effect of heat treatment on the lactosylation of milk proteins [J]. J Dairy Sci, 2023, 106(12): 8321–8330.
- [64] 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, 2024.
- JIANG SY. Effect of flash deoxidation technology combined with UHT sterilization on milk quality [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2024.
- [65] VIANNA PC, WALTER EH, DIAS ME, *et al.* Effect of addition of CO₂ to

- raw milk on quality of UHT-treated milk [J]. *J Dairy Sci*, 2012, 95(8): 4256–4262.
- [66] GSCHWENDTNER S, ALATOSSAVA T, KUBLIK S, *et al.* N₂ gas flushing alleviates the loss of bacterial diversity and inhibits psychrotrophic *Pseudomonas* during the cold storage of bovine raw milk [J]. *PLoS One*, 2016, 11(1): e0146015.
- [67] LOTT TT, MARTIN NH, DUMPLER J, *et al.* Microbacterium represents an emerging microorganism of concern in microfiltered extended shelf-life milk products [J]. *J Dairy Sci*, 2023, 106(12): 8434–48.
- [68] 孔凡丕. 微滤除菌技术提高乳品品质的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- KONG FP. Research on microfiltration and sterilization technology to improve the quality of dairy products [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2011.
- [69] D'INCECCO P, ROSI V, CABASSI G, *et al.* Microfiltration and ultra-high-pressure homogenization for extending the shelf-storage stability of UHT milk [J]. *Food Res Int*, 2018, 107: 477–485.
- [70] RODARTE D, ZAMORA A, TRUJILLO AJ, *et al.* Effect of ultra-high pressure homogenization on cream: Shelf life and physicochemical characteristics [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2018, 92: 108–115.
- [71] AMADOR-ESPRJO GG, GALLARDO-CHACON JJ, NYKÄNEN H, *et al.* Effect of ultra high-pressure homogenization on hydro-and liposoluble milk vitamins [J]. *Food Res Int*, 2015, 77: 49–54.
- [72] 李欣霏, 杨姗姗, 贺凯茹, 等. 声热耦合杀菌对乳中耐热枯草芽孢杆菌抑制作用研究进展[J/OL]. *食品科学*, 2023, 1-12. [2024-07-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230920.2020.008.html>
- LI XF, YANG SS, HE KR, *et al.* Research progress on the inhibitory effect of acoustothermal coupled sterilization on heat-tolerant *Bacillus subtilis* in milk [J/OL]. *Food Chem*, 2023, 1-12. [2024-07-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230920.2020.008.html>
- [73] CARRILLO-LOPEZ LM, GARCIA-GALICIA IA, TIRADO-GALLEGOS JM, *et al.* Recent advances in the application of ultrasound in dairy products: Effect on functional, physical, chemical, microbiological and sensory properties [J]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 73: 105467.
- (责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)

作者简介



程方键, 主要研究方向为食品科学。
E-mail: 763945692@qq.com

陈晓民, 主要研究方向为食品加工与检验。
E-mail: chenxiaomin@mengniu.cn

张丙辉, 工程师, 主要研究方向为食品加工与检验。
E-mail: zhangbinghui@mengniu.cn



武俊瑞, 博士, 教授, 主要研究方向为食品科学。
E-mail: junruiwu@126.com