

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240724001

生乳稳定性快速评价方法体系研究

于 敏¹, 喻东威², 逯 刚², 孟克达来², 王晓敏², 刘治国³,
白慧园¹, 张慧敏¹, 张 琳^{1*}

[1. 内蒙古蒙牛高科乳业有限公司, 呼和浩特 011500; 2. 内蒙古蒙生乳业(集团)股份有限公司, 呼和浩特 011500; 3. 蒙牛高新乳业(和林格尔)有限公司, 呼和浩特 011500]

摘 要: 目的 建立用于生乳稳定性快速评价的方法。**方法** 通过对设计不同新鲜程度的生乳, 进行热凝聚时间法检测生乳稳定性的研究, 以及与磷酸盐添加方法、氯化钙添加方法、盐酸添加方法相结合, 通过降低生乳稳定性, 进行有效识别生乳的稳定性。**结果** 通过实验确定热凝聚时间法最佳取样量 120 mL, 油浴时间 40 min, 并开发了一种热凝聚时间法检测装置, 包含锥形瓶, 油浴锅, 冷凝管装置, 有效解决生乳加热过程中糊管和溢出容器的问题; 同时确定了最优的添加浓度, 磷酸盐添加方法为 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液 1.1 mL, 氯化钙添加方法为 0.09 mol/L 氯化钙溶液 0.66 mL, 盐酸添加方法为 0.1 mol/L 盐酸溶液 0.7 mL, 并与热凝聚时间方法相关联, 建立了快速测试生乳稳定性的方法。**结论** 本研究建立了快速、批量、重复性好的生乳稳定性检测方法, 用于生乳质量监控管理, 为探索牛乳稳定性评价指标和检测方法提供理论参考依据。

关键词: 稳定性; 检测装置; 热凝聚时间; 磷酸盐添加法实验; 氯化钙添加法实验

Study on the system of rapid evaluation methods for milk stability

YU Min¹, YU Dong-Wei², LU Gang², MENG Ke-Da-Lai², WANG Xiao-Min²,
LIU Zhi-Guo³, BAI Hui-Yuan¹, ZHANG Hui-Min¹, ZHANG Lin^{1*}

[1. Inner Mongolia Mengniu High-Tech Dairy, Co., Ltd., Hohhot 011500, China; 2. Inner Mongolia Mengniu Dairy (Group) Co., Ltd., Hohhot 011500, China; 3. Mengniu High-Tech Dairy (Holinger) Co., Ltd., Hohhot 011500, China]

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapid evaluation the stability of raw milk. **Methods** Through the study of raw milk with different degrees of freshness designed, the heat coagulation time method was used to detect the stability of raw milk, and the combination of phosphate addition method, calcium chloride addition method and hydrochloric acid addition method was used to effectively identify the stability of raw milk by reducing the stability of raw milk. **Results** In the experiment, the optimum sampling amount for the heat coagulation time method was 120 mL, and the oil bath time was 40 min, a heat coagulation time detection device was developed, included conical bottle, oil bath pot, condensing tube device, which effectively solved the problem of burning tube and overflowing container during raw milk heating process. At the same time, the optimal addition concentration was determined, 0.5 mol/L potassium dihydrogen phosphate solution 1.1 mL, 0.9 mol/L calcium chloride solution 0.66 mL, and 0.1 mol/L hydrochloric acid solution 0.7 mL, which orrelated with heat coagulation time method, and a rapid method for testing the stability of raw milk was established. **Conclusion** In this study, a rapid, batch and

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD1301005)

Fund: Supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFD1301005)

*通信作者: 张琳, 工程师, 主要研究方向为食品安全与质量管理。E-mail: zhanglin@mengniu.cn

*Corresponding author: ZHANG Lin, Engineer, Inner Mongolia Mengniu High-Tech Dairy, Co., Ltd., Hohhot 011500, China. E-mail: zhanglin@mengniu.cn

reproducible raw milk stability detection method is established to monitor and manage raw milk quality, and providing a theoretical reference for exploring milk stability evaluation indexes and detection methods.

KEY WORDS: stability; detection device; heat coagulation time; phosphate addition method experiment; calcium chloride addition method experiment

0 引言

现代牛乳加工技术中热处理已经成为乳品加工的关键工艺^[1-3], 生乳具有非常高的热稳定性^[4], 能够耐受大多数常规应用的加工条件。牛乳热稳定性^[5-6]一般通过热凝聚时间^[7] (heat coagulation time, HCT)表示, HCT 变短, 表明牛乳的热稳定性变差, 虽然 HCT 变短不能明确是哪种或哪几种原因导致, 但通过 HCT 可以推断这种生乳制备产品的稳定性^[8]。生乳的热稳定性影响因素有很多^[9-10], 其中包括生乳本身作为处于稳定状态的缓冲体系^[11-12], 当改变条件^[13], 如过度加热、加入某些盐类^[14]、酸度过大, 极有可能影响生乳固有的盐类平衡体系^[15-16], 导致乳蛋白聚集形成沉淀^[17], 生乳的稳定性显著降低, 基于这个原理, 可以采用添加盐类或盐酸降低生乳热稳定性^[18], 建立快速测试生乳稳定性评价方法, 实现短时间内发现生乳本身稳定性的情况。

生乳稳定性的评价至关重要^[19], 用于指导生产加工不同类型产品使用^[20]。目前牛乳热稳定性有多种评价方法, 例如 HCT 实验、磷酸盐^[21]、氯化钙、盐酸实验以及酒精实验^[22-23]等。HCT 实验方法有相关文献提出, 但只是停留在理论层面, 相关文献没有介绍具体实验方法和使用器具及如何实施, 急需建立一种用于生乳稳定性检测的 HCT 方法; 除酒精实验方法外, 其他稳定性评价方法不健全或机理不清, 不能满足质量管理工作要求。

本研究通过使用胰蛋白酶, 类似嗜冷菌^[24]产的耐热蛋白酶, 导致生乳蛋白聚沉, 来模拟嗜冷菌蛋白酶对生乳的影响, 在生乳中添加胰蛋白酶用以降低生乳稳定性和低温冷藏控制乳中微生物繁殖保持乳品质量同时有利嗜冷菌生存的方式^[25-30], 设计不同新鲜程度的生乳样品作为分析对象, 建立 HCT 方法, 同时对磷酸盐添加法、氯化钙添加法和盐酸添加法检验生乳稳定性实验进行进一步研究, 用于批量快速准确的评价生乳质量^[31-32], 为企业生产提供指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

磷酸二氢钾(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂); 氯化钙(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂); 盐酸(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂)。

1.2 仪器与设备

HH-S50 油浴恒温油浴锅(杭州保温恒温技术有限公司); C-MAG HP7 S25 电热板(德国 IKA 公司); AL204 万分之一电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 HCT 方法建立

(1)样品的制备

a. 生乳 4 °C 下分别放置 0、24、48 h。

b. 将 0.1 g 胰蛋白酶与 1 mL 无菌水混匀后, 吸取 900 μ L 加入到 600 mL 生乳中混匀, 4 °C 下分别放置 0、24、48 h。

(2)检测步骤

将油浴锅内油温升高到 140 °C; 取样品 120 mL, 放置于锥形瓶中, 进行油浴 40 min; 实验过程中每 20 min 观察一次样品的组织状态是否发生变化。

(3)检测条件的确定

本研究采用生乳和添加胰蛋白酶放置后的生乳样品, 对 HCT 方法检测条件实验用器具及型号、取样量和油浴时间进行研究, 确定最优的检测条件。

1.3.2 磷酸盐添加法实验

(1)样品的制备

a. 生乳, 4 °C 下放置 0、16、24 h。

b. 将 0.1 g 胰蛋白酶与 1 mL 无菌水混匀, 分别吸取 100、200、300 μ L 加入到 600 mL 生乳中混匀, 4 °C 下放置 24 h。

c. 将 0.1 g 胰蛋白酶与 1 mL 无菌水混匀, 分别吸取 50、100 μ L 加入到 600 mL 生乳中混匀, 4 °C 下放置 16 h。

(2)检测步骤

取上述样品 10 mL 于试管中, 加入不同体积 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液混匀, 将试管浸于沸腾的水浴中 5 min, 取出摇晃, 常温水浴冷却 1 min 后倒入培养皿, 立即观察组织状态, 有絮状物表示样品热稳定性不好, 结果呈阳性, 无絮状物, 结果呈阴性。

1.3.3 氯化钙添加法实验

(1)样品的制备

a. 将 0.1 g 胰蛋白酶与 1 mL 无菌水混匀, 分别吸取 100、200、300 μ L 加入到 600 mL 生乳中混匀, 4 °C 下放置 24 h。

b. 生乳, 4 °C 下放置 24 h。

(2)检测步骤

取上述样品 10 mL 于试管中, 加入不同体积 0.09 mol/L

氯化钙溶液混匀, 将试管浸于沸腾的水浴中 5~6 min, 摇匀后倒入培养皿, 立即观察组织状态。有絮状物表示样品热稳定性不好, 结果呈阳性, 无絮状物, 结果呈阴性。

1.3.4 盐酸添加法实验

(1)样品的制备

a. 将 0.1002 g 胰蛋白酶与 1 mL 无菌水混匀, 吸取 100 μ L 加入到 600 mL 生乳中混匀, 4 $^{\circ}$ C 下放置 24 h。

b. 生乳, 4 $^{\circ}$ C 下放置 24 h。

(2)检测步骤

取上述样品 10 mL 于试管中, 加入不同体积 0.1 mol/L 盐酸溶液混匀, 将试管浸于沸腾的水浴中 5 min, 取出摇晃, 冷却后倒入培养皿, 观察组织状态, 有絮状物表示样品热稳定性不好, 结果呈阳性, 无絮状物, 结果呈阴性。

(3)检测条件的确定

通过不同新鲜程度的生乳样品的实验研究, 确定最优的磷酸盐、氯化钙、盐酸添加浓度。通过与 HCT 方法关联, 建立快速测试生牛乳稳定性方法, 实现短时间内发现牛乳稳定性的情况。

1.4 数据处理

本研究中的所有未标明数据均设置 3 个平行, 使用 SPSS 25.0 和 SAS 软件对数据进行统计学分析, 运用 Excel 2016 统计实验数据, CorelDRAW 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 HCT 方法建立

2.1.1 HCT 方法器具及型号的确定

将 1.3.1 中(1)制备的 a 样品, 分别放入 18 mm $\times$ 180 mm 试管、280 mL 蛋白质消化管、250 mL 锥形瓶中, 依据 1.3.1 中(2)检测步骤检测, 确定最适的器具及型号。

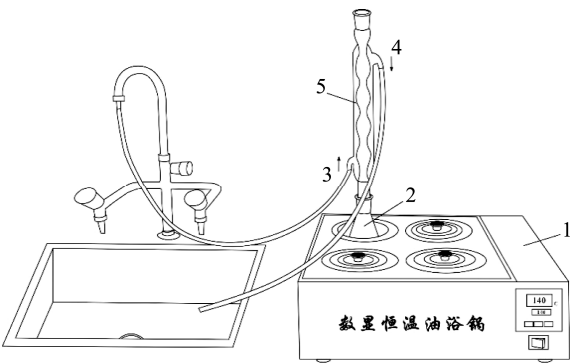
表 1 HCT 方法器具结果数据
Table 1 Result data of HCT method instrument

器具	型号	现象	凝结时间
试管	18 mm $\times$ 180 mm	出现沸腾、起泡、溢出容器、糊管	无法观察生乳的凝结时间
蛋白质消化管	280 mL	出现沸腾、起泡、糊管	无法观察生乳的凝结时间
锥形瓶	250 mL	出现沸腾、起泡、溢出容器	无法观察生乳的凝结时间

表 1 可知, 单独使用器具均有缺陷, 温度未达到 140 $^{\circ}$ C 时生乳已出现沸腾、起泡、溢出容器、糊管的现象, 不能满足实验需求, 为近一步研究工作, 需建立和设计一种可以避免上述现象的 HCT 法检测装置, 实现有效的实验观察和时间确定。

通过实验研究探索, 建立一种 HCT 法检测装置, 如图 1 所示, 油浴锅中二甲基硅油能够提供均匀稳定 140 $^{\circ}$ C 煮沸环境, 广口锥形瓶能够保证液体均匀受热, 避免出现

样品局部过热而导致的糊管现象, 冷凝管装置包含有内腔和外腔, 当生乳沸腾起泡后, 有足够的内腔空间, 能够避免出现生乳溢出容器的现象。



注: 1 为油浴锅; 2 为锥形瓶; 3 为进水口; 4 为出水口; 5 为冷凝管装置。

图1 HCT方法检测装置

Fig.1 Detection device of HCT method

2.1.2 HCT 方法取样量及油浴时间的确定

将 1.3.1 中(1)制备的 a 和 b 样品, 分别吸取 100、120、150 mL, 使用 HCT 法检测装置, 依据 1.3.1 中(2)检测步骤检测, 确定最佳取样量及油浴时间。由表 2 可知, 生乳稳定性较高, 低温下放置 48 h 组织状态未发生变化; 加入胰蛋白酶后的生乳稳定性下降, 低温下放置 48 h 油浴达到 40 min 时组织状态发生变化, 故确定最佳油浴时间为 40 min, 用以判断牛乳的稳定度; 此外样品取样量 100 mL 时, 由于长时间油浴水分蒸发, 样品量少不利于观察, 而样品取样量 150 mL 时, 油浴后样品量偏多存在浪费资源的情况, 故确定最佳取样量为 120 mL。

表 2 HTC 方法油浴时间结果数据表
Table 2 Oil bath time result data of HCT methods

样品名	样品制备		组织状态			
	胰蛋白酶	放置时间	油浴时间/min			
	/g	/h	20	40	60	80
生乳	0	0	无变化	无变化	无变化	无变化
		24	无变化	无变化	无变化	无变化
		48	无变化	无变化	无变化	无变化
生乳	0.1003	0	无变化	无变化	凝洁	凝洁
		24	无变化	无变化	凝洁	凝洁
		48	无变化	凝洁	凝洁	凝洁

2.2 磷酸盐添加法实验结果

2.2.1 放置 24 h 实验结果

将 1.3.2 中(1)制备的 a 和 b 样品分别加入不同体积 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液混匀, 依据 1.3.2 中(2)检测步骤检测, 结果如表 3 所示。由表 3 可知, 低温下放置 24 h 后, 加入胰蛋白酶溶液的样品均呈现阳性, 生乳样品中加入 1.1 mL 和 1.2 mL 的 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液样品呈现阳性。

表 3 磷酸盐添加法实验结果(24 h)
Table 3 Experimental results of phosphate addition method (24 h)

样品	样品制备				处理条件			结果	感官
	胰蛋白酶/g	加入量/ μ L	生乳/mL	时间/h	样品量/mL	磷酸二氢钾溶液/mL	无菌水/mL		
1	0.1003	300	600	24	10	0.8	0.4	+	水乳分离, 明显絮状物
						0.9	0.3	+	
						1.0	0.2	+	
						1.1	0.1	+	
						1.2	0	+	
2	0.1003	200	600	24	10	0.8	0.4	+	明显絮状物
						0.9	0.3	+	
						1.0	0.2	+	
						1.1	0.1	+	
						1.2	0	+	
3	0.1003	100	600	24	10	0.8	0.4	+	极小絮状物
						0.9	0.3	+	明显絮状物
						1.0	0.2	+	
						1.1	0.1	+	
						1.2	0	+	
4	0.1003	0	600	24	10	0.8	0.4	-	无絮状物
						0.9	0.3	-	
						1.0	0.2	-	
						1.1	0.1	+	极小絮状物
						1.2	0	+	

注: +表示结果呈阳性, -表示结果呈阴性, 下同。

2.2.2 放置 16 h 实验结果

将 1.3.2 中(1)制备的 a 和 c 样品加入不同体积 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液混匀, 依据 1.3.2 中(2)检测步骤检测, 结果如表 4 所示。由表 4 可知, 低温下放置 16 h 后, 加入 100 μ L 胰蛋白酶溶液的样品, 除了加入 0.8 mL 的 0.5 mol/L 磷酸

二氢钾溶液的样品外, 其余均呈现阳性结果, 有明显的絮状物; 加入 50 μ L 胰蛋白酶溶液和生乳的样品, 除了加入 1.1 mL 和 1.2 mL 的 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液的样品外, 其余均呈现阴性, 但加入 50 μ L 胰蛋白酶溶液的样品出现明显的絮状物, 生乳样品只出现极小的絮状物。

表 4 磷酸盐添加法实验结果(16 h)
Table 4 Experimental results of phosphate addition method (16 h)

样品	样品制备				处理条件			结果	感官
	胰蛋白酶/g	加入量/ μ L	生乳/mL	时间/h	样品量/mL	磷酸二氢钾溶液/mL	无菌水/mL		
1	0.1003	100	600	16	10	0.8	0.4	-	无絮状物
						0.9	0.3	+	明显絮状物
						1.0	0.2	+	
						1.1	0.1	+	
						1.2	0	+	
2	0.1003	50	600	16	10	0.8	0.4	-	无絮状物
						0.9	0.3	-	
						1.0	0.2	-	
						1.1	0.1	+	
						1.2	0	+	明显絮状物
3	0.1003	0	600	16	10	0.8	0.4	-	无絮状物
						0.9	0.3	-	
						1.0	0.2	-	
						1.1	0.1	+	
						1.2	0	+	极小絮状物

2.2.3 不同水浴时间实验结果

将 1.3.2 中(1)制备的 a 和 b 样品加入 1.0 mL、0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液混匀,并浸于沸腾的水浴中 4、5、6、7 min 不同时间,依据 1.3.2 中(2)检测步骤检测,结果如表 5 所示。由表 5 可知,生乳样品均呈阴性,加入胰蛋白酶样品均呈阳性。水浴 5 min 既能确保充分反应又能够保证检测时效性。

实验结果表明,加入胰蛋白酶含量越高,对生乳样品污染程度越高,导致生乳的稳定性越差,感官絮状物越明显;低温下放置时间越长,生乳潜在的嗜冷菌污染风险越大,感官絮状物越明显;水浴加热短时间内的差异,对感官实验结果无明显影响。通过磷酸盐添加法检测生乳稳定性实验研究,确定加入 1.1 mL 的 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液为最优浓度,能够导致生乳的稳定性变差,与新鲜生乳感官检测结果有很大的差异。

2.2.4 与 HCT 方法关联实验结果

将 1.3.2 中(1)制备的 a 和 c 样品,依据 1.3.2 中(2)和 1.3.1 中(2)检测步骤和检测,结果如表 6 所示。由表 6 可知,加入胰蛋白酶低温放置 16 h 样品,加入 1.1 mL 的 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液稳定性最差,磷酸盐添加法实验结果为阳性,且有明显絮状物,HCT 法实验组织状态在 20 min 出现凝结;生乳低温放置 16 h,加入 1.1 mL 的 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液稳定性变差,磷酸盐添加法实验结果为阳性,且有极小絮状物,HCT 法实验组织状态在 40 min 出现凝结;新鲜生乳加入 1.1 mL 的 0.5 mol/L 磷酸二氢钾溶液稳定性较好,磷酸盐添加法实验结果阴性,HCT 法实验组织状态在 40 min 内未出现凝结。

实验结果表明,磷酸盐添加法与 HCT 方法关联,能够实现快速判定生乳稳定性,实现短时间内发现牛乳本身稳定性的情况,提高检测时效性。

2.3 氯化钙添加法实验结果

2.3.1 氯化钙添加浓度优化实验结果

将 1.3.3 中(1)制备的 a 和 b 样品,分别加入不同体积的 0.09 mol/L 氯化钙溶液混匀,依据 1.3.3 中(2)检测步骤检测,

结果如表 7 所示。由表 7 可知,加入胰蛋白酶后的样品均呈现阳性,生乳样品中加入 0.66 mL 的 0.09 mol/L 氯化钙溶液样品呈现阳性。

实验结果表明,加入胰蛋白酶含量越高,对生乳样品污染程度越高,导致生乳的稳定性越差,感官絮状物越明显;加入氯化钙溶液浓度越大,生乳絮状物差异性越明显。通过氯化钙添加法检测生乳稳定性实验研究,确定加入 0.66 mL 的 0.09 mol/L 氯化钙溶液为最佳浓度,能够导致生乳的稳定性变差,与新鲜生乳感官检测结果有很大的差异。

2.3.2 与 HCT 方法关联实验结果

将 1.3.3 中(1)制备的 a 和 b 样品,依据 1.3.3 中(2)和 1.3.1 中(2)检测步骤和检测,结果如表 8 所示。由表 8 可知,加入胰蛋白酶低温放置 24 h 的样品,加入 0.66 mL 的 0.09 mol/L 氯化钙溶液稳定性最差,氯化钙添加法实验结果为阳性,且有明显絮状物,HCT 法实验组织状态在 20 min 出现凝结;生乳低温放置 24 h 后,加入 0.66 mL 的 0.09 mol/L 氯化钙溶液稳定性变差,氯化钙添加法实验结果为阳性,HCT 法实验组织状态在 40 min 出现凝结;新鲜生乳加入 0.66 mL 的 0.09 mol/L 氯化钙溶液稳定性较好,氯化钙添加法实验结果阴性,HCT 法实验组织状态在 40 min 内未出现凝结。

实验结果表明,氯化钙添加法与 HCT 方法关联,能够实现快速判定生乳稳定性,实现短时间内发现牛乳本身稳定性的情况,提高检测时效性。

2.4 盐酸添加法实验结果

2.4.1 盐酸添加浓度优化实验结果

将 1.3.4 中(1)制备的 a 和 b 样品,分别加入不同体积的 0.1 mol/L 盐酸溶液混匀,依据 1.3.4 中(2)检测步骤检测,结果如表 9 所示。由表 9 可知,加入胰蛋白酶后的样品低温放置 24 h,加入 0.6 mL 和 0.7 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶液样品呈现阳性;生乳低温放置 24 h 后,加入 0.7 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶液样品呈现阳性。通过盐酸添加法检测生乳稳定性实验研究,确定加入 0.7 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶液为最佳浓度,能够导致生乳的稳定性变差,与新鲜生乳感官检测结果有很大的差异。

表 5 磷酸盐添加法实验结果(水浴时间)
Table 5 Experimental results of phosphate addition method (bath time)

样品	样品制备				处理条件				结果	感官
	胰蛋白酶 /g	加入量 /μL	生乳 /mL	时间/h	样品量 /mL	磷酸二氢 钾溶液/mL	无菌水 /mL	水浴时间 /min		
1	0.1003	100	600	24	10	1	0.2	4	+	明显絮状物
								5	+	
								6	+	
								7	+	
2	0.1003	0	600	24	10	1	0.2	4	-	无絮状物
								5	-	
								6	-	
								7	-	

表 6 磷酸盐添加法与 HCT 方法关联实验结果

Table 6 Experimental results were correlated between phosphate addition method and HCT method

样品	样品制备					磷酸盐添加法实验		HCT 法实验组织状态结果	
	胰蛋白酶/g	加入量/μL	时间/h	磷酸二氢钾溶液/mL	无菌水/mL	结果	感官	20 min	40 min
1	0.1003	100	16	1.1	0.1	+	明显絮状物	凝洁	凝洁
2		50				+		凝洁	凝洁
3		0				+	极小絮状物	无变化	凝洁
4	0.1003	0	0	1.1	0.1	-	无絮状物	无变化	无变化

表 7 氯化钙添加法实验结果

Table 7 Experimental results of calcium chloride addition method

样品	样品制备					处理条件		结果	感官
	胰蛋白酶/g	加入量/μL	生乳/mL	时间/h	样品量/mL	氯化钙溶液/mL			
1	0.1002	300	600	24	10	0.48		+	水乳分离, 明显絮状物
						0.54		+	
						0.60		+	
						0.66		+	
						0.72		+	
2	0.1002	200	600	24	10	0.48		+	明显絮状物
						0.54		+	
						0.60		+	
						0.66		+	
						0.72		+	
3	0.1002	100	600	24	10	0.48		+	极小的絮状物
						0.54		+	明显絮状物
						0.60		+	大量絮状物
						0.66		+	
						0.72		+	
4	0.1002	0	600	24	10	0.48		-	无絮状物
						0.54		-	
						0.60		-	极小絮状物
						0.66		+	
						0.72		+	

表 8 氯化钙添加法与 HCT 方法关联实验结果

Table 8 Experimental results of association between calcium chloride addition method and HCT method

样品	样品制备				氯化钙添加法实验		HCT 法实验组织状态结果	
	胰蛋白酶/g	加入量/μL	时间/h	氯化钙溶液/mL	结果	感官	20 min	40 min
1	0.1002	300	24	0.66	+	明显絮状物	凝洁	凝洁
2		200			+		凝洁	凝洁
3		100			+		凝洁	凝洁
4		0			+	极小絮状物	无变化	凝洁
5	0.1002	0	0	0.66	-	无絮状物	无变化	无变化

2.4.2 与 HCT 方法关联实验结果

将 1.3.4 中(1)制备的 a 样品, 依据 1.3.4 中(2)和 1.3.1 中(2)检测步骤和检测, 结果如表 10 所示。由表 10 可知, 加入胰蛋白酶低温放置 24 h 样品, 加入 0.7 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶液稳定性最差, 盐酸添加法实验结果为阳性, 且有明显絮状物, HCT 法实验组织状态在 20 min 出现凝结; 生乳低温放置 24 h 后, 加入 0.7 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶液稳

定性变差, 盐酸添加法实验结果为阳性, HCT 法实验组织状态在 40 min 出现凝结; 新鲜生乳加入 0.7 mL 的 0.1 mol/L 盐酸溶液稳定性较好, 盐酸添加法实验结果阴性, HCT 法实验组织状态在 40 min 内未出现凝结。

实验结果表明, 盐酸添加法与 HCT 方法关联, 能够实现快速判定生乳稳定性, 实现短时间内发现牛乳本身稳定性的情况, 提高检测时效性。

表 9 盐酸添加法实验结果
Table 9 Experimental results of hydrochloric acid addition method

样品	样品制备				处理条件			结果	感官
	胰蛋白酶/g	加入量/ μ L	生乳/mL	时间/h	样品量/mL	盐酸溶液/mL	无菌水/mL		
1	0.1003	100	600	24	10	0.7	0	+	明显絮状物
						0.6	0.1	-	极小絮状物
						0.5	0.2	-	
						0.4	0.3	-	
						0.3	0.4	-	无絮状物
						0.2	0.5	-	
						0.1	0.6	-	
						0	0.7	-	
3	0.1003	0	600	24	10	0.7	0	+	极小絮状物
						0.6	0.1	-	
						0.5	0.2	-	
						0.4	0.3	-	
						0.3	0.4	-	无絮状物
						0.2	0.5	-	
						0.1	0.6	-	
						0	0.7	-	

表 10 盐酸添加法与 HCT 方法关联实验结果
Table 10 Correlation experimental results of hydrochloric acid addition method and HCT method

样品	样品制备				盐酸添加法实验		HCT 法实验组织状态结果	
	胰蛋白酶/g	加入量/ μ L	时间/h	盐酸溶液/mL	结果	感官	20 min	40 min
1	0.1002	100	24	0.7	+	明显絮状物	凝洁	凝洁
2		0			+	极小絮状物	无变化	凝洁
3	0.1002	0	0	0.7	-	无絮状物	无变化	无变化

3 结 论

牛乳稳定性是产品质量和货架期的重要影响因素, 本研究通过对实验用器具及型号、取样量和油浴时间等的实验研究, 建立了一种 HCT 方法用于牛乳稳定性的检测, 同时为了有效规避检测过程牛乳溢出容器和糊管等不良现象, 设计了一种 HCT 法检测装置; 此外本研究确定了磷酸盐添加法、氯化钙添加法, 盐酸添加法检测生乳稳定性实

验最优添加浓度, 与 HCT 方法关联, 建立快速测试生牛乳稳定性方法, 与之前研究相比, 检测结果较准确, 并且能够实现快速判定生乳稳定性, 用于监控生乳质量, 指导乳制品生产企业用奶分配。

参考文献

[1] 华欣春, 曲鹏, 王彩云. 牛乳加工中热稳定性的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2018, 46(10): 27–31.
HUA XC, QU P, WANG CY. Research progress of heat stability of milk

- during processing [J]. *China Dairy Ind*, 2018, 46(10): 27–31.
- [2] 王国娇, 刘振民, 李楠, 等. 牛乳热稳定性影响因素的研究进展[J]. *中国奶牛*, 2022(3): 9–44.
- WANG GJ, LIU ZM, LI N, *et al.* Research progress on influencing factors of milk thermal stability [J]. *Chin Dairy Cattle*, 2022(3): 39–44.
- [3] 岳淑琴, 黄建, 刘文颖, 等. 不同热处理牛奶的动态体外消化研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2024, 36(2): 126–131.
- YUE SQ, HUANG J, LIU WY, *et al.* *In vitro* digestion of heat-treated milk using the dynamic human stomach-intestine [J]. *China J Food Hyg*, 2024, 36(2): 126–131.
- [4] CHEN X, GUAN YM, ZENG MM, *et al.* Effect of whey protein isolate and phenolic copigments in the thermal stability of mulberry anthocyanin extract at an acidic pH [J]. *Food Chem*, 2022, 1: 377.
- [5] 封家旺, 金红岩, 顾庆云, 等. 牛乳成分对乳热稳定性影响的研究概况[J]. *动物医学进展*, 2017, 38(3): 119–121.
- FENG JW, JIN HY, GU QY, *et al.* Progress on milk composition affecting heat stability in yak milk [J]. *Pro Vet Med*, 2017, 38(3): 119–121.
- [6] 王喜波, 张安琪, 王玉莹, 等. 巴氏杀菌和超巴氏杀菌对牛乳清蛋白结构及热稳定性的影响[J]. *农业工程学报*, 2019, 35(6): 307–311.
- WANG XB, ZHANG ANQ, WANG YY, *et al.* Effect of pasteurization and ultra-pasteurization on structure and thermal stability of fresh milk whey protein [J]. *Trans Chin Soc Agric Eng*, 2019, 35(6): 307–311.
- [7] 李永强, 杨士花, 夏晓辉, 等. 矿物质平衡对水牛奶稳定性的影响[J]. *乳品加工*, 2012, 127(7): 72–74.
- LI YQ, YANG SH, XIA XH, *et al.* Effect of mineral balance on stability of buffalo milk [J]. *Dairy Process*, 2012, 127(7): 72–74.
- [8] 栗娜, 高海慧, 贺花, 等. 原料乳掺假检测研究进展[J]. *食品工业*, 2022, 43(6): 250–253.
- LI N, GAO HH, HE H, *et al.* Research progress on adulteration detection of raw milk [J]. *Food Ind*, 2022, 43(6): 250–253.
- [9] 梁俊平, 杨晓光. UHT 高纤牛奶产品稳定性快速判定[J]. *农产品加工*, 2018, 45(8): 55–57.
- LIANG JP, YANG XG. The analysis method of UHT milk stability [J]. *Farm Prod Process*, 2018, 45(8): 55–57.
- [10] 罗永康, 刘娟, 董翠霞, 等. 无机盐对牛乳蛋白质胶体稳定体系影响的研究[J]. *食品科技*, 2003(12): 12–13.
- LUO YK, LIU J, DONG CX, *et al.* Effects of inorganic salts on the heat stability of milk protein system [J]. *Food Sci*, 2003(12): 12–13.
- [11] HUANG W, FAN DS, LI WF, *et al.* Rapid evaluation of milk acidity and identification of milk adulteration by Raman spectroscopy combined with chemometrics analysis [J]. *Vib Spectrosc*, 2022, 123: 103440.
- [12] 吕瑞娜, 王莉君, 邵平平, 等. 超高温灭菌乳货架期品质稳定性变化研究[J]. *农产品加工*, 2011, 259(10): 33–36.
- LV RN, WANG LJ, SHAO PP, *et al.* Quality properties stability change of ultra-high temperature sterilization milk during shelf-life [J]. *Farm Prod Process*, 2011, 259(10): 33–36.
- [13] 逮刚, 钱文涛, 杨晋辉, 等. 牛乳风味物质及其影响因素研究进展[J]. *食品科技*, 2023, 48(12): 48–54.
- LU G, QIAN WT, YANG JH, *et al.* Advances on milk flavor substances and their influencing factors [J]. *Food Sci*, 2023, 48(12): 48–54.
- [14] 岳明星, 李淳, 简伟杰, 等. 乳中盐类平衡对胶体稳定性及加工特性的影响研究进展[J]. *中国乳品工业*, 2020, 48(8): 38–40.
- YUE MX, LI B, JIAN WJ, *et al.* Progress of the salts balance in milk on colloid stability and processing characteristics [J]. *China Dairy Ind*, 2020, 48(8): 38–40.
- [15] BROWN J, GRIMAUD A. Proton-donating and chemistry-dependent buffering capability of amino acids for the hydrogen evolution reaction [J]. *Phys Chem Phys*, 2023, 25(11): 8005–8012.
- [16] AI J, BAO B, BATTINO M, *et al.* Recent advances on bioactive polysaccharides from mulberry [J]. *Food Funct*, 2021, 12(12): 5219–5235.
- [17] COOLBEAR T, JANIN N, TRAILL R, *et al.* Heat-induced changes in the sensory properties of milk [J]. *Int Dairy J*, 2022, 126: 105199.
- [18] 徐广新, 胡潇, 杨仁琴, 等. 提高牛乳热稳定性的研究进展[J]. *中国乳业*, 2022, 22(6): 66–67.
- XU GX, HU X, YANG RQ, *et al.* Research progress on improving the thermal stability of milk [J]. *China Dairy*, 2022, 22(6): 66–67.
- [19] 倡博学, 张养东, 郑楠, 等. 生乳新鲜度评价指标研究进展[J]. *动物营养学报*, 2023, 35(6): 3499–3507.
- SI BX, ZHANG YD, ZHENG N, *et al.* Research progress on freshness evaluation in dices of raw milk [J]. *Chin J Anim Nutr*, 2023, 35(6): 3499–3507.
- [20] 扶晓菲, 游春苹. 牛乳新鲜度评价及其检测方法的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(11): 4319–4325.
- FU XF, YOU CP. Research progress on evaluation and detection methods of milk freshness [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(11): 4319–4325.
- [21] 柴春节, 刘玉茹, 陈晓民, 等. 生乳蛋白质稳定性快速方法研究[J]. *质量安全与检验检测*, 2024, 34(2): 100–103.
- CHAI CJ, LIU YR, CHEN XM, *et al.* Study on rapid testing methods for the stability of raw milk proteins [J]. *Qual Saf Test*, 2024, 34(2): 100–103.
- [22] 董成虎, 夏忠悦, 谭莲英, 等. 生乳蛋白质稳定性评价方案建立及其应用[J]. *中国乳业*, 2023, 255(3): 75–79.
- DONG CH, XIA ZY, TAN LY, *et al.* The establishment and application of raw milk protein stability evaluation program [J]. *China Dairy*, 2023, 255(3): 75–79.
- [23] 王延丽, 贺银凤, 云战友. 牛奶蛋白质酒精试验稳定性方法的研究[J]. *中国乳品工业*, 2008, 36(4): 59–61.
- WANG YL, HE YF, YUN ZY. Study on the method of stability on milk protein alcohol experiment [J]. *China Dairy Ind*, 2008, 36(4): 59–61.
- [24] REN ZY, LI N, ZHAO JX, *et al.* An Illumina MiSeq sequencing-based method using the mreB gene for high-throughput discrimination of *Pseudomonas* species in raw milk [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2022, 163: 113573–113582.
- [25] 孙苗, 绍伟, 刘政宇, 等. 乳与乳制品中嗜冷菌多样性的研究进展[J]. *食品工业*, 2024, 45(1): 201–206.
- SUN M, SHAO W, LIU ZY, *et al.* Research progress on the diversity of psychrophilic bacteria in milk and milk products [J]. *Food Ind*, 2024, 45(1): 201–206.
- [26] LI HX, ZHANG YH, YUAN XH, *et al.* Microbial biodiversity of raw milk

- collected from Yangzhou and the heterogeneous biofilm-forming ability of *Pseudomonas* [J]. *Int J Dairy Technol*, 2023, 76(1): 51–62.
- [27] LIANG LJ, WANG P, ZHAO X, *et al.* Single-molecule real-time sequencing reveals differences in bacterial diversity in raw milk in different regions and seasons in China [J]. *J Dairy Sci*, 2022, 105(7): 5669–5684.
- [28] 赵瑞, 崔进, 梅连瑞, 等. 乳及其制品新鲜度检测方法的研究进展[J]. *食品工业*, 2017, 38(11): 263–268.
- ZHAO R, CUI J, MEI LR, *et al.* Research progress on detection methods of freshness of milk and dairy products [J]. *Food Ind*, 2017, 38(11): 263–268.
- [29] 杜磊, 陈瑞利, 杜杨, 等. 储藏过程中鲜乳中的细菌数、pH、酸度的变化[J]. *河南师范大学学报(自然科学版)*, 2011, 39(5): 145–147.
- DU L, CHEN RL, DU Y, *et al.* Changes on the bacteria, pH, acidity in the fresh milk during the storage [J]. *J Henan Normal Univ (Nat Sci Ed)*, 2011, 39(5): 145–147.
- [30] LOFFI C, CAVANNA D, SAMMARCO G, *et al.* Non-targeted high-resolution mass spectrometry study for evaluation of milk freshness [J]. *J Dairy Sci-Ence*, 2021, 104(12): 12286–12294.
- [31] DIERCK M, VANROMPAY D, DEVRIENDT B, *et al.* Lactoferrin, a versatile natural antimicrobial glycol-protein that modulates the host's innate immunity [J]. *Biochem Cell Biol*, 2021, 99(1): 61–65.
- [32] 郑静铃. 牛乳品质检测方法与牛乳蛋白合成调控研究进展[J]. *湖北农业科学*, 2018, 57(2): 1–5.
- ZHENG JL. Research progress on detection method of milk quality and regulation of milk protein synthesis [J]. *Hubei Agric Sci*, 2018, 57(2): 1–5.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)

作者简介



于 敏, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品检测与安全。
E-mail: yumin1@mengniu.cn



张 琳, 工程师, 主要研究方向为食品安全与质量管理。
E-mail: zhanglin@mengniu.cn