

基于静动高压联合处理法的驴乳加工工艺优化及贮藏期内品质变化

苟小刚^{1,2}, 张明², 周玉贵², 尹庆贺², 王玉涛^{1*}

(1. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆帕米尔高原生物资源与生态重点实验室, 新疆喀什 844000)

(2. 新疆玉昆仑天然食品工程有限公司, 新疆喀什 844000)

摘要: 该研究以鲜驴乳为原料, 采用静态超高压 (High-Pressure Processing, HPP) 联合动态超高压 (Ultra-High Pressure Homogenization, UHPH) 技术对鲜驴乳进行处理, 以杀菌效果及酸度、pH 值等指标为考察因素, 利用单因素试验及正交实验优化驴乳加工工艺, 并对其贮藏期内品质变化进行观察。结果表明, 采用静动高压联合处理 (High-Pressure Processing+, HPP+) 驴乳, 最佳工艺为 HPP 最佳处理压力为 550 MPa, HPP 处理最佳保压时间为 12 min, UHPH 最佳处理压力为 150 MPa, 通过该工艺加工驴乳酸度为 2.67 °T, pH 值为 7.10, 菌落总数为 8 CFU/mL。在 4 °C 冷藏条件下, 以巴氏灭菌 (Pasteurization Treatment, PAST) (72 °C, 15 s) 驴乳为对照, 对 HPP+驴乳进行贮藏期品质变化研究发现, PAST 驴乳贮藏时间到达 14 d 时已不适合饮用与销售, HPP+驴乳贮藏时间到达 21 d 时出现酸败气味, 并于 28 d 出现分层现象, 建议 PAST 驴乳最佳饮用时间为 7 d 内, HPP+驴乳最佳饮用时间为 14 d 内。综上所述, 驴乳经 HPP+技术处理后可有效杀灭其中所含微生物并有效延长驴乳的货架期。该研究可为 HPP+技术在乳品加工行业提供一定的理论基础。

关键词: 驴乳; 静动高压联合处理; 工艺优化; 贮藏期

文章编号: 1673-9078(2023)07-120-129

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.0720

Static-dynamic High Pressure-based Processing Optimization and Storage-induced Quality Changes of Donkey Milk

GOU Xiaogang^{1,2}, ZHANG Ming², ZHOU Yugui², YIN Qinghe², WANG Yutao^{1*}

(1. College of Life and Geographic Sciences, Key Laboratory of Biological Resources and Ecology of Pamirs Plateau in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Kashi University, Kashi 844000, China)

(2. Xinjiang Yukunlun Natural Food Engineering Co. Ltd., Kashi 844000, China)

Abstract: In this study, fresh donkey milk was used as the raw material, and static ultra-high pressure processing (HPP) combined with dynamic ultra-high pressure homogenization (UHPH) technology was used to treat the fresh donkey milk. Taking indices such as the sterilization effect, acidity, and pH value as the test factors, donkey milk processing was optimized by both the single factor and orthogonal experiments, and the quality changes of the treated milk were examined over storage. The results showed that the optimal conditions for processing donkey milk by Static-dynamic High Pressure-based Processing (HPP+) were pressure of 550 MPa and holding time of 12 min for HPP, and 150 MPa for UHPH. Under such optimal processing conditions, the lactic acid level of the donkey milk was 2.67 °T, with its pH value being 7.10 and total number of colonies being 8 CFU/mL. The quality changes of the donkey milk treated by HPP+ were studied over refrigerated storage at 4 °C with the donkey milk subjected to the pasteurization treatment (PAST; 72 °C, 15 s) as the control. It was found that

引文格式:

苟小刚,张明,周玉贵,等.基于静动高压联合处理法的驴乳加工工艺优化及贮藏期内品质变化[J].现代食品科技,2023,39(7):120-129.

GOU Xiaogang, ZHANG Ming, ZHOU Yugui, et al. Optimization of donkey milk processing technology and quality changes during storage based on combined static and dynamic high pressure treatment [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 120-129.

收稿日期: 2022-06-07

基金项目: 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目 (2020B01002-3)

作者简介: 苟小刚 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 动物生物技术与工程, E-mail: Gouxgks@163.com

通讯作者: 王玉涛 (1979-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 动物生态与分子进化, E-mail: Wangyutgs@163.com

the PAST donkey milk was not suitable for drinking and sales after 14 d of storage, whilst rancid odor and stratification were found in the HPP+ donkey milk stored after 21 d and 28 d, respectively. Thus, it is suggested that the best drinking time is within 7 d for the PAST donkey milk and within 14 d for the HPP+ donkey life. This study could provide a theoretical basis for the application of HPP+ technology in dairy processing industry.

Key words: donkey milk; combined static and dynamic high pressure treatment; process optimization; storage period

驴乳营养成分丰富,富含不饱和脂肪酸、维生素、氨基酸、矿物质以及溶菌酶^[1-3]。在东西方文化中,驴乳自古以来都被认为是一种治疗食品^[4]。在国内外历史中,都有利用驴乳来替代药物治疗的记录^[5,6]。有学者提出,就乳糖含量、蛋白质和氨基酸组成而言,与人类母乳最为接近的是驴乳,可作为人类母乳的替代品^[7-10]。

在乳品生产中,通常使用巴氏杀菌与超高温杀菌技术等热处理方式对鲜奶进行灭菌^[11,12],但热处理会导致鲜奶营养成分受到不同程度的损失及破坏并使鲜奶产生“蒸煮味”,因此非热加工技术逐渐引起乳品加工生产行业的关注^[13-16]。在此背景下,非热加工技术中的超高压技术逐渐走进人们的视野。超高压技术分为静态超高压与动态超高压,其中高压技术(High-Pressure Processing, HPP)又称高静水压(High Hydrostatic Pressure, HHP)技术,即在室温条件下用100~1 000 MPa压力处理食品,为静态超高压,作为非热加工技术的一种,能够避免食品的营养成分、风味、色泽等成分遭到破坏^[17-20]。在食品保鲜方面,HPP技术是过去10年间唯一成功商业化的非热加工技术^[21]。作为另一种食品非热加工技术,超高压均质技术(Ultra-High Pressure Homogenization, UHPH)为动态超高压技术,该技术为一个连续的过程,它被广泛应用于液体或胶体食品中,以改善其稳定性和理化性质,并具有连续化生产、耗能低、对食品中热敏性成分影响小等特点^[22-25]。

随着科学技术与社会的发展,人民生活质量的提高,大家开始追求天然且营养价值较高的食品,驴乳因其丰富的营养价值及潜在益生功能逐渐受到人们的广泛关注。新疆驴乳资源丰富,但是驴乳产品单一,多为驴乳粉相关产品,除驴乳粉复原乳外,无法满足消费者对液态鲜驴乳的需求。本研究利用静态超高压联合动态超高压技术对鲜驴乳进行处理,以杀菌效果及酸度、pH值等指标为考察因素,利用单因素试验及正交实验优化驴乳加工工艺,并对其贮藏期间微生物数量、酸度及感官评价进行考察,为驴乳产业新产品的开发及乳品中超高压技术的应用提供理论基础和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 原料

取当日现挤驴乳,低温储藏运输至冷库,由新疆玉昆仑天然食品工程有限公司提供,各项质量指标均符合新疆《食品安全地方标准-生驴乳》(DBS 65/017-2017)的要求;平板计数琼脂培养基,奥博星生物技术有限责任公司;结晶紫中性红胆盐琼脂,奥博星生物技术有限责任公司;酚酞指示剂(分析纯),上海山浦化工有限公司;氢氧化钠(分析纯),天津市致远化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

MJ-HPP60L-600连续脉冲式液态超高压设备,漳州明建机械设备制造有限公司;YP6002电子天平,金诺天平仪器有限公司;SW-CS-2F超净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;LD2X-50KBS立式压力蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;PHS-3C pH计,上海雷磁仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 HPP、UHPH、HPP+三种模式操作方法

(1)静态超高压(HPP)操作方法:

进料→加压→保压→阶段卸压→出料

(2)超高压均质(UHPH)操作方法:

进料→加压→均质→出料

(3)静动高压联合处理(HPP+)操作方法:

进料→加压→保压→阶段卸压至均质压力→均质→出料

1.3.2 单因素实验因素范围的确定

(1)静态超高压(HPP)不同压力与不同保压时间处理驴乳杀菌效果及酸度、pH值变化的研究

利用HPP处理驴乳,采用6个压力梯度(100、200、300、400、500、600 MPa),3个保压时间梯度(5、10、15 min)探究HPP不同压力与不同保压时间处理驴乳对驴乳中大肠菌群与菌落总数的数量及酸度、pH值的影响。

(2)超高压均质(UHPH)不同压力处理驴乳杀

菌效果及酸度、pH 值变化的研究

利用 UHPH 处理驴乳，采用 5 个压力梯度（100、150、200、250、300 MPa）探究 UHPH 不同压力处理驴乳对驴乳中大肠菌群与菌落总数的数量及酸度、pH 值的影响。

1.3.3 单因素实验

考察 HPP+模式 下 HPP 压力（450、475、500、525、550 MPa）、HPP 保压时间（3、6、9、12、15 min）、UHPH 压力（100、125、150、175、200 MPa）对驴乳杀菌效果及酸度、pH 值的影响。

1.3.4 正交试验

表 1 正交试验因素与水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	HPP 压力 A /MPa	HPP 保压时间 B /min	UHPH 压力 C /MPa
1	500	6	125
2	525	9	150
3	550	12	175

在单因素实验的基础上，以杀菌效果为指标，以 A（HPP 压力）、B（HPP 保压时间）、C（UHPH 压力）为考察因素，按照表 1 设计 L₉（3⁴）正交试验。

表 2 HPP 不同压力与不同保压时间处理驴乳后驴乳中微生物数量

Table 2 The number of microorganisms in donkey milk after different HPP pressure and different holding time treatment

压力/MPa	保压时间/min	大肠菌群/(CFU/mL)	致死率/%	菌落总数/(CFU/mL)	致死率/%
未处理驴乳	0	4.8×10 ⁴ ±1 900	-	9.8×10 ⁵ ±13 000	-
100	5	3.1×10 ³ ±160	93.54	7.5×10 ⁴ ±1 800	92.35
	10	2.8×10 ³ ±68	94.17	5.2×10 ⁴ ±620	94.69
	15	2.7×10 ³ ±86	94.38	4.8×10 ⁴ ±950	95.10
200	5	2.2×10 ³ ±65	95.42	3.3×10 ⁴ ±1 000	96.63
	10	1.1×10 ³ ±75	97.71	2.9×10 ⁴ ±600	97.04
	15	530±50	98.90	2.5×10 ⁴ ±330	97.45
300	5	300±21	99.38	1.9×10 ⁴ ±540	98.06
	10	270±8	99.44	1.8×10 ⁴ ±580	98.16
	15	250±8	99.48	1.6×10 ⁴ ±630	98.37
400	5	220±10	99.54	1.8×10 ⁴ ±180	98.16
	10	120±10	99.75	1.6×10 ⁴ ±280	98.37
	15	<1	100	2.9×10 ³ ±110	99.70
500	5	<1	100	2.2×10 ³ ±120	99.78
	10	<1	100	320±10	99.97
	15	<1	100	250±8	99.97
600	5	<1	100	330±10	99.97
	10	<1	100	18±5	99.99
	15	<1	100	13±3	99.99

1.3.5 微生物的测定

驴乳中大肠菌群的测定参照 GB 4789.3-2016，菌落总数的测定参照 GB 4789.2-2016，致死率参照公式

(1) 计算：

$$D = \frac{A - A_1}{A} \times 100\% \tag{1}$$

式中：

D——致死率，%；

A——未处理驴乳微生物数量；

A₁——处理驴乳微生物数量。

1.3.6 理化指标的测定

利用 pH 计在常温下对每组样品进行检测，每组重复测定 3 次，结果取平均值。驴乳酸度的测定参照 GB 5009.239-2016 中第一法进行测定，每组重复测定 3 次，结果取平均值。

1.4 数据分析

使用 SPSS 20 软件对各项检测结果进行统计学分析，结果用平均值±标准偏差表示，每组实验做 3 次重复，用 Origin 9 软件进行制图。

2 结果与分析

2.1 单因素实验因素范围的确定

2.1.1 HPP 不同压力与不同保压时间处理驴乳杀菌效果

有研究表明,压力会导致细胞膜的结构发生改变,进而使得一些生物大分子的高级结构被破坏,比如蛋白质变性,酶活性被抑制或失活,DNA 等遗传物质构象发生改变等,最终导致微生物的死亡^[26,27],达到杀菌的目的。HPP 不同压力与不同保压时间处理驴乳后驴乳中微生物残存数量如表 2 所示,驴乳中残存大肠菌群数量与菌落总数随着 HPP 压力与保压时间的延长呈下降趋势,未处理驴乳菌落总数为 9.8×10^5 CFU/mL,大肠菌群数量为 4.8×10^4 CFU/mL,其中当压力达到 400 MPa、保压时间达到 15 min 及以上时,大肠菌群致死率达到 100%,未在驴乳中检出。当压力升高到 600 MPa、保压时间延长到 15 min 时,驴乳中残存菌落总数仅为 13 CFU/mL,致死率非常接近 100%。当压力相同时,驴乳中微生物数量随着保压时间的延长而减少,但达到一定保压时间时,HPP 对驴乳中微生物的致死率则不再增长。当保压时间相同时,驴乳中微生物数量随着压力的升高而减少。这与刘康玲等^[28]利用超高压处理驼乳的研究结果相似。

2.1.2 HPP 不同压力与不同保压时间处理驴乳酸度与 pH 值变化

鲜奶的酸度与 pH 值可反映鲜奶是否发生酸败,为乳品生产加工企业检验鲜奶品质是否合格的必检指标,可以用来评价鲜奶品质的好坏^[29],表 3 可知,驴乳经 HPP 处理后,当保压时间固定,压力超过 500 MPa (包含 500 MPa) 时与未处理驴乳相比,驴乳酸度显著上升 ($P < 0.05$),可能是由于经超高压处理之后驴乳中含有酸性氨基酸和自由羧基的蛋白质、柠檬酸盐、磷酸盐及二氧化碳等酸性物质的含量发生变化,导致酸度上升^[30]。当压力为 100~500 MPa 之间时,与未处理驴乳相比,酸度无显著性变化 ($P > 0.05$),当压力固定时,随着保压时间的延长,除 300 MPa 处理外,各压力处理驴乳酸度并无显著变化 ($P > 0.05$),300 MPa 压力处理后驴乳随着保压时间的延长酸度显著升高的原因推测可能与滴定酸度所使用的氢氧化钠标准溶液精密度有关,导致误差过大。pH 值的大小反映了乳中处于电离状态的活性氢离子的浓度,由表 3 可知,驴乳经 HPP 处理后,当压力为 600 MPa,保压时间为 15 min 时,驴乳 pH 值与未处理驴乳相比显著下降 ($P < 0.05$),其余各组不同压力与保压时间处理驴乳

pH 值与未处理驴乳相比,虽然有下降的趋势,但是并无统计学差异 ($P > 0.05$)。

表 3 HPP 不同压力与不同保压时间处理驴乳酸度与 pH 值变化

Table 3 The number of microorganisms in donkey milk after different HPP pressure and different holding time treatment

压力/MPa	保压时间/min	酸度/°T	pH 值
未处理驴乳	0	2.13±0.00 ^{cd}	7.20±0.03 ^a
100	5	2.13±0.00 ^{cd}	7.20±0.02 ^a
	10	2.07±0.10 ^{cd}	7.18±0.04 ^a
	15	2.07±0.10 ^{cd}	7.18±0.02 ^a
200	5	2.13±0.00 ^{cd}	7.19±0.02 ^a
	10	1.95±0.31 ^d	7.20±0.02 ^a
	15	2.13±0.00 ^{cd}	7.19±0.02 ^a
300	5	1.95±0.31 ^d	7.19±0.04 ^a
	10	2.13±0.00 ^{cd}	7.19±0.01 ^a
	15	2.31±0.31 ^{bc}	7.19±0.04 ^a
400	5	2.13±0.00 ^{cd}	7.19±0.01 ^a
	10	2.31±0.31 ^{bc}	7.19±0.01 ^a
	15	2.13±0.00 ^{cd}	7.19±0.04 ^a
500	5	2.67±0.00 ^a	7.17±0.01 ^a
	10	2.48±0.31 ^{ab}	7.18±0.01 ^a
	15	2.67±0.00 ^a	7.18±0.01 ^a
600	5	2.48±0.31 ^{ab}	7.18±0.02 ^a
	10	2.67±0.00 ^a	7.16±0.02 ^{ab}
	15	2.67±0.00 ^a	7.13±0.02 ^b

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。下表同。

2.1.3 UHPH 不同压力处理驴乳杀菌效果

在乳制品行业,有害微生物的控制乳品生产加工过程中尤为重要。UHPH 作为一种连续方式运行的高压技术,在运行过程中使流体在 200~600 MPa 的压力下泵入,经过一个“特殊阀门”时,产生抑菌作用。在此过程中,微生物和胶体颗粒受到强烈的剪切力和冲击,不仅对活的微生物造成完全破坏,而且对芽孢也造成破坏^[22,31]。有研究表明,在 UHPH 过程中,所展现的杀菌效果依赖于压力,随着均质压力的增加,对微生物的灭活效果也就越好^[32,33]。驴乳经 UHPH 处理后所展现的杀菌效果见表 4,驴乳中微生物数量随着 UHPH 压力的提升而减少,当压力达到 200 MPa 以上(包含 200 MPa)时,未在驴乳中检出大肠菌群,致死率达到 100%,这与 Pereda 等^[34]利用 UHPH 处理牛奶的研究结果相似。但是当压力达到 250~300 MPa 时,驴乳中菌落总数虽有所减少,但与压力为 100~200 MPa 时所展示的杀菌效果相比并不显著 ($P > 0.05$)。与本研究结果不同的是,Addo 等^[35]利用

UHPH 处理驴乳发现, 压力为 100~300 MPa 时, 驴乳中微生物数量与未处理驴乳相比显著下降, 但各压力处理之间并无显著性差异 ($P>0.05$)。Amador 等^[36]利用 UHPH 处理全脂牛乳以期获得牛乳最优灭菌条件, 研究表明, 当 UHPH 压力为 200 MPa, 进口温度为 55、65、75 °C 条件处理牛乳后, 牛乳中微生物数量大幅度减少, 且当 UHPH 压力达到 300 MPa, 进口温度为 75、85 °C 条件处理牛乳时, 可产生无菌牛乳。在本研究中, UHPH 处理驴乳压力为 300 MPa 时, 虽然未检出大肠菌群, 菌落总数也仅为 200 CFU/mL, 但并不能达到完全无菌的效果。

2.1.4 UHPH 不同压力处理驴乳酸度与 pH 值变化

乳品酸度是判断乳品是否新鲜的一项重要指标, 主要是由于酪蛋白的酸性基团、酸性磷酸盐、碳酸(溶

解在牛奶中的二氧化碳)和其他矿物阴离子、有机酸等因素的不同中和反应产生^[37], 由表 5 可知, 驴乳经 UHPH 处理后, 当处理压力大于 150 MPa (包含 150 MPa) 时, 酸度较未处理驴乳显著上升 ($P<0.05$), 100 MPa 处理驴乳与未处理驴乳相比酸度则无显著性变化 ($P>0.05$), 驴乳酸度上升的原因可能为经 UHPH 处理后, 驴乳中部分脂蛋白脂肪酶失活而导致^[38]。经 UHPH 处理后, 驴乳 pH 值较未处理驴乳显著降低 ($P<0.05$), 且随着处理压力的升高, pH 值逐渐降低, 当处理压力达到 250 MPa 时, 驴乳 pH 值趋于稳定。与本研究结果不同的是, Addo 等^[35]利用 UHPH 处理驴乳研究表明, 不同压力处理下驴乳与未处理驴乳之间 pH 值并无显著性差异 ($P>0.05$), 可能是因为原料所用驴乳以及处理方式和温度的不同, 导致实验所得结论存在一定差异。

表 4 UHPH 不同压力处理驴乳后驴乳中微生物数量

Table 4 The number of microorganisms in donkey milk after UHPH treatment with different pressures

组别	大肠菌群/(CFU/mL)	致死率/%	菌落总数/(CFU/mL)	致死率/%
未处理驴乳	$4.8 \times 10^4 \pm 1900$	-	$9.8 \times 10^5 \pm 13000$	-
100 MPa	$1.3 \times 10^4 \pm 720$	72.71	$2.8 \times 10^5 \pm 7400$	71.43
150 MPa	$7.4 \times 10^3 \pm 460$	84.58	$1.4 \times 10^5 \pm 6300$	85.71
200 MPa	<1	100	$9.7 \times 10^3 \pm 360$	99.01
250 MPa	<1	100	330±15	99.97
300 MPa	<1	100	200±18	99.98

表 5 UHPH 不同压力处理驴乳后酸度与 pH 值变化

Table 5 Changes of acidity and pH value of donkey milk treated with different pressures by UHPH

组别	未处理驴乳	100 MPa	150 MPa	200 MPa	250 MPa	300 MPa
酸度/°T	2.13 ± 0.00^b	2.13 ± 0.00^b	2.48 ± 0.31^a	2.67 ± 0.00^a	2.48 ± 0.31^a	2.67 ± 0.00^a
pH 值	7.20 ± 0.03^a	7.15 ± 0.03^b	7.13 ± 0.02^{bc}	7.12 ± 0.01^{bc}	7.10 ± 0.01^c	7.10 ± 0.01^c

2.2 单因素实验

研究发现, 仅采用 HPP 处理驴乳, 压力达到 400 MPa, 保压时间 15 min 时, 才会对驴乳中大肠菌群达到彻底灭杀的效果, 而需要压力达到 600 MPa、保压时间为 15 min 时, 才会展现出最好的杀菌效果, 使驴乳中菌落总数仅为 13 CFU/mL。仅采用 UHPH 处理驴乳时, 压力 ≥ 200 MPa, 可以对驴乳中大肠菌群达到彻底灭杀的效果, 而压力 ≥ 250 MPa 时, 驴乳中菌落总数为 200~330 CFU/mL, 远远达不到使用 HPP 处理驴乳的效果。且在观察过程中发现, 250 MPa 与 300 MPa 压力处理驴乳后, 在观察期间驴乳产生不同程度的沉淀。在生产过程中, 长时间使超高压设备在过高的压力条件下运行, 无疑会导致设备零部件的磨损程度增大进而缩短设备使用寿命。本研究将 HPP 与 UHPH 相结合, 采用静动高压联合处理 (High-Pressure

Processing+, HPP+) 驴乳, 采用 HPP 压力为 450~550 MPa, 保压时间为 3~15 min, UHPH 压力为 100~200 MPa 进行单因素试验。探究一种不需要 HPP 较高压力与较长保压时间加工驴乳的方式, 并优化相关加工工艺。

2.2.1 HPP+模式 HPP 不同压力处理驴乳杀菌效果

由图 1 可知, 固定 HPP 保压时间 9 min, UHPH 压力 150 MPa, 采用 HPP 不同压力 450、475、500、525、550 MPa 处理驴乳, 随处理压力的增加, 驴乳中菌落总数呈显著下降趋势 ($P<0.05$), 均未检出大肠菌群, 杀菌效果最佳为 525 MPa, 菌落总数达到 22 CFU/mL。当压力大于 525 MPa 时, 杀菌效果已无显著变化 ($P>0.05$), 趋于平缓。驴乳经 HPP+处理, 当压力为 450 MPa 时, 致死率为 99.91%, 这与单纯 HPP 处理驴乳压力为 500 MPa 所表现出的致死率相

近, 当压力达到 525 MPa 时, 致死率已无限接近于 100%, 这说明 HPP+模式下, HPP 压力为 525 MPa, 保压时间为 9 min, UHPH 压力为 150 MPa 时处理驴乳所达到的杀菌效果与单纯 HPP 模式下采用极高的压力与高压时间、单纯 UHPH 模式下采用很高的压力所表现出的杀菌效果相当。

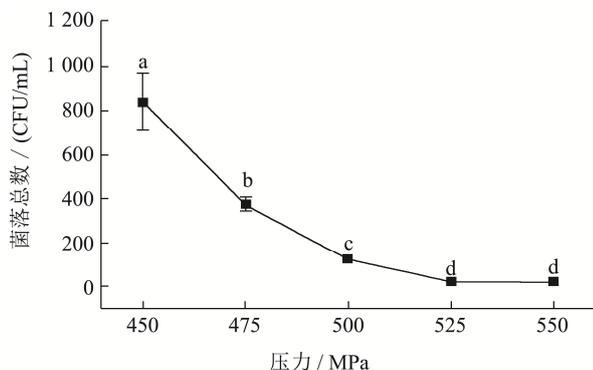


图 1 HPP 不同压力处理驴乳菌落总数

Fig.1 Total number of colonies in donkey milk under different HPP pressures

2.2.2 HPP+模式 HPP 不同压力处理驴乳酸度及 pH 值的变化

固定 HPP 保压时间 9 min, UHPH 压力 150 MPa, 采用 HPP 不同压力 450、475、500、525、550 MPa 处理驴乳酸度与 pH 值变化由表 6 可知, 随着压力的升高, 驴乳酸度呈上升趋势, 但并无显著变化 ($P>0.05$), 推测原因可能为 HPP+模式较 HPP 相比, 驴乳体系更加的均一与稳定, 从而使 450~525 MPa 处理后驴乳酸度与未处理驴乳相比无显著变化。当压力达到 550 MPa 时, 驴乳酸度较未处理驴乳显著上升 ($P<0.05$), 可能是因为随着 HPP 压力的增加导致驴乳中酸性物质 (柠檬酸盐、二氧化碳、酸性氨基酸等物质) 含量的升高, 从而使驴乳酸度升高。驴乳经 HPP+处理后, 随着 HPP 处理压力的升高, 驴乳 pH 值呈现出显著下降的趋势 ($P<0.05$), 这可能是由于驴乳经 HPP 与 UHPH 联合处理后, 使驴乳 pH 值下降的效果叠加所导致。

2.2.3 HPP+模式 HPP 不同保压时间处理驴乳杀菌效果

由图 2 可知, 固定 HPP 压力 525 MPa, UHPH 压力 150 MPa, 采用 HPP 不同保压时间 3、6、9、12、15 min 处理驴乳时, 随着保压时间的增加, 驴乳中菌落总数呈显著下降趋势 ($P<0.05$), 均未检出大肠菌群, 其中杀菌效果最佳为 9 min, 菌落总数为 24 CFU/mL, 致死率已无限接近于 100%。当保压时间为 3 min 时, 致死率已达到 99.98%, 已经超过单纯 HPP 处理驴乳压力为 600 MPa, 保压时间 5 min 所达到的 99.97% 的致死率。但是当保压时间超过 9 min 时, 杀菌效果已不显著 ($P>0.05$)。这与刘康玲^[30]利用超高压处理驼乳, 压力为 400 MPa, 保压时间达到 20 min 时, 所表现出的致死率达到 99.91%, 并且不再上升的结果相似, 不同的是本研究采用 HPP+处理模式, 当 HPP 压力为 525 MPa, 保压时间为 9 min, UHPH 压力为 150 MPa 时, 致死率已无限接近于 100%, 这也比单纯使用 HPP 处理驴乳时所需 600 MPa, 保压时间 15 min, 单纯使用 UHPH 处理驴乳压力为 300 MPa 时所表现出的致死率要高。

15 min 处理驴乳时, 随着保压时间的增加, 驴乳中菌落总数呈显著下降趋势 ($P<0.05$), 均未检出大肠菌群, 其中杀菌效果最佳为 9 min, 菌落总数为 24 CFU/mL, 致死率已无限接近于 100%。当保压时间为 3 min 时, 致死率已达到 99.98%, 已经超过单纯 HPP 处理驴乳压力为 600 MPa, 保压时间 5 min 所达到的 99.97% 的致死率。但是当保压时间超过 9 min 时, 杀菌效果已不显著 ($P>0.05$)。这与刘康玲^[30]利用超高压处理驼乳, 压力为 400 MPa, 保压时间达到 20 min 时, 所表现出的致死率达到 99.91%, 并且不再上升的结果相似, 不同的是本研究采用 HPP+处理模式, 当 HPP 压力为 525 MPa, 保压时间为 9 min, UHPH 压力为 150 MPa 时, 致死率已无限接近于 100%, 这也比单纯使用 HPP 处理驴乳时所需 600 MPa, 保压时间 15 min, 单纯使用 UHPH 处理驴乳压力为 300 MPa 时所表现出的致死率要高。

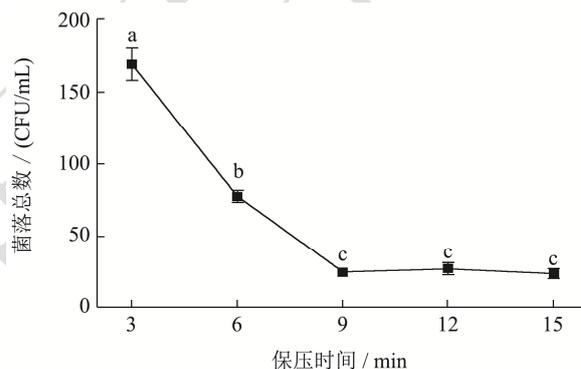


图 2 HPP 不同保压时间处理驴乳菌落总数

Fig.2 Total number of colonies in donkey milk treated with HPP at different holding time

2.2.4 HPP+模式 HPP 不同保压时间处理驴乳酸度及 pH 值的变化

由表 7 可知, 固定 HPP 压力 525 MPa, UHPH 压力 150 MPa, 采用 HPP 不同保压时间 3、6、9、12、15 min 处理驴乳时, 保压时间为 3、6、9、12 min 时, 驴乳酸度较未处理驴乳有略微升高, 但并无显著变化 ($P>0.05$), 当保压时间达到 15 min 时, 驴乳酸度较未处理驴乳显著上升 ($P<0.05$), 但经 HPP+处理后, 驴乳 pH 值随着保压时间的延长呈显著下降趋势 ($P<0.05$), 当保压时间为 9 min 时, 驴乳 pH 值与其它保压时间相比无显著性差异 ($P>0.05$)。

表 6 HPP 不同压力处理驴乳酸度及 pH 值的变化

Table 6 Changes of lactic acid and pH of donkeys treated with HPP under different pressures

组别	未处理驴乳	450 MPa	475 MPa	500 MPa	525 MPa	550 MPa
酸度/°T	2.13±0.00 ^a	2.13±0.00 ^a	2.31±0.31 ^{ab}	2.31±0.31 ^{ab}	2.48±0.31 ^{ab}	2.67±0.00 ^b
pH 值	7.20±0.03 ^a	7.12±0.01 ^b	7.11±0.04 ^b	7.12±0.01 ^b	7.09±0.03 ^b	7.09±0.03 ^b

表 7 HPP 不同保压时间处理驴乳酸度及 pH 值的变化

Table 7 Changes of lactic acid and pH of donkeys treated with HPP with different pressure holding time

组别	未处理驴乳	3 min	6 min	9 min	12 min	15 min
酸度/°T	2.13±0.00 ^a	2.48±0.31 ^{ab}	2.48±0.31 ^{ab}	2.48±0.31 ^{ab}	2.48±0.31 ^{ab}	2.67±0.00 ^b
pH 值	7.20±0.03 ^a	7.14±0.01 ^b	7.13±0.01 ^b	7.11±0.00 ^{bc}	7.09±0.02 ^c	7.09±0.02 ^c

表 8 UHPH 不同压力处理驴乳酸度及 pH 值的变化

Table 8 Changes of lactic acid and pH in donkeys treated with UHPH under different pressures

组别	未处理驴乳	100 MPa	125 MPa	150 MPa	175 MPa	200 MPa
酸度/°T	2.13±0.00 ^a	2.48±0.31 ^{ab}	2.48±0.31 ^{ab}	2.48±0.31 ^{ab}	2.67±0.00 ^b	2.84±0.31 ^b
pH 值	7.20±0.03 ^a	7.15±0.02 ^b	7.14±0.02 ^b	7.09±0.01 ^c	7.09±0.01 ^c	7.08±0.02 ^c

表 9 静动高压联合处理驴乳正交实验结果

Table 9 Orthogonal experiment results of combined static and dynamic high pressure treatment of donkey milk

试验号	HPP 压力 A/MPa	HPP 保压时间 B/min	UHPH 动压压力 C/MPa	菌落总数/(CFU/mL)
1	1(500)	1(6)	1(125)	180±13 ^a
2	1	2(9)	2(150)	130±5 ^b
3	1	3(12)	3(175)	97±8 ^c
4	2(525)	1	2	74±11 ^d
5	2	2	3	24±1 ^e
6	2	3	1	39±4 ^f
7	3(550)	1	3	15±1 ^{ef}
8	3	2	1	25±4 ^f
9	3	3	2	8±1 ^g
K ₁	135.667	89.667	81.333	
K ₂	45.667	59.667	70.667	
K ₃	16.000	48.000	45.333	
R	119.667	41.667	36.333	

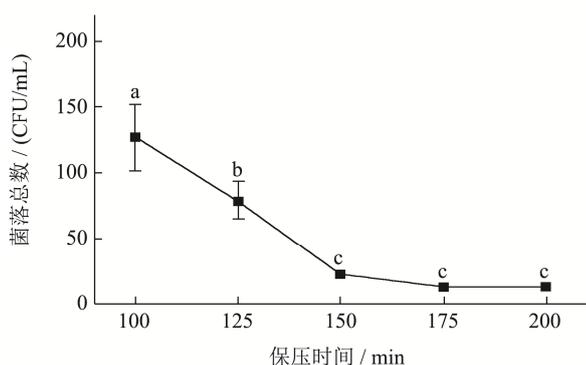


图 3 UHPH 不同压力处理驴乳菌落总数

Fig.3 Total number of colonies in donkey milk treated with UHPH under different pressures

2.2.5 HPP+模式 UHPH 不同压力处理驴乳杀菌效果

由图 3 可知,固定 HPP 压力 525 MPa,保压时间 9 min,采用 UHPH 不同压力 100、125、150、175、200 MPa 处理驴乳,随着 UHPH 压力的升高,驴乳中菌落总数呈显著性下降趋势 ($P < 0.05$),均未检出大肠菌群,当压力为 150 MPa 时杀菌效果最佳,菌落总

数为 23 CFU/mL,致死率无限接近于 100%。当压力 ≥ 175 MPa 时,杀菌效果已无显著变化 ($P > 0.05$)。驴乳经 HPP+模式处理后,固定 HPP 压力 525 MPa,保压时间 9 min, UHPH 压力为 100 MPa 时,致死率为 99.98%,已经可以达到单纯 HPP 处理压力 600 MPa,保压时间 5 min,单纯 UHPH 处理压力为 300 MPa 处理所表现出的致死率,与上述 2.1.1 与 2.1.3 所得到的实验结论相同。

2.2.6 HPP+模式 UHPH 不同压力处理驴乳酸度及 pH 值的变化

由表 8 可知,固定 HPP 压力 525 MPa,保压时间 9 min,采用 UHPH 不同压力 100、125、150、175、200 MPa,处理驴乳,驴乳酸度随着 UHPH 压力的增加呈现上升的趋势,但当压力小于 150 MPa (包含 150 MPa) 时,驴乳酸度虽然有轻微上升,但是与未处理驴乳相比,并无显著变化 ($P > 0.05$),当处理压力达到 175 MPa 以上 (包含 175 MPa) 时, HPP+驴乳较未处理驴乳酸度显著上升 ($P < 0.05$),但与处理压力小于 175 MPa 相比时,驴乳酸度无显著性变化

($P>0.05$)。驴乳经 HPP+模式不同 UHPH 压力处理后,随着压力的上升,驴乳 pH 值呈显著下降趋势($P<0.05$)。

2.3 正交实验

经过单因素试验,筛选出 HPP 最佳处理压力为 525 MPa, HPP 最佳保压时间为 9 min, UHPH 最佳处理压力为 150 MPa,以杀菌效果为指标,在单因素试验的基础上利用静动高压联合处理驴乳,进行三因素三水平正交试验设计,共 9 组实验,设计方案与实验结果见表 9。

由表 9 可知,以 HPP+处理后驴乳菌落总数为评价指标,各因素主次顺序为 HPP 压力>HPP 保压时间>UHPH 压力,即 HPP 处理压力是影响 HPP+驴乳菌落总数的最主要因素,其次是 HPP 处理保压时间,UHPH 处理压力影响最小,由极差分析得出 HPP+处理最优组合为 $A_3B_3C_3$,即 HPP 最佳处理压力为 550 MPa, HPP 处理最佳保压时间为 12 min, UHPH 最佳处理压力为 175 MPa。

对正交实验优化后的驴乳加工工艺进行验证,结果表明,驴乳菌落总数为(9±1) CFU/mL,与正交实验中第 7 组试验 HPP 压力 550 MPa, HPP 保压时间 6 min, UHPH 压力 175 MPa,第 9 组试验 HPP 压力 550 MPa, HPP 保压时间 12 min, UHPH 压力 150 MPa

所得结果无显著性差异($P>0.05$),结合实际生产与设备损耗经验,确定 HPP 压力 550 MPa, HPP 保压时间 12 min, UHPH 压力 150 MPa 为驴乳最佳加工工艺。驴乳经此工艺条件加工处理后,未检出大肠菌群,菌落总数为 8 CFU/mL,酸度为 2.67 °T, pH 值为 7.10,符合《食品安全地方标准-巴氏杀菌驴乳》(DBS 65/018-2017)的要求。

本研究发现驴乳经单独 HPP 与单独 UHPH 处理后,菌落总数均表现为显著降低,但都需要极高的压力或较长的保压时间才能驴乳中菌落总数达到最低,但将 HPP 与 UHPH 处理相结合后发现, HPP 处理压力为 550 MPa,保压时间 12 min, UHPH 处理压力为 150 MPa 处理后驴乳中菌落总数均比单独 HPP 处理压力 600 MPa,保压时间 15 min 与单独 UHPH 处理压力 300 MPa 后驴乳中菌落总数低,这说明, HPP+模式是有效的,并可以使超高压设备不用在最高压力下长时间运行,进而延长超高压设备的使用寿命。

2.4 不同处理驴乳贮藏期品质观察

在 4 °C 条件下,以巴氏灭菌(Pasteurization Treatment, PAST)(72 °C, 15 s)驴乳为对照,对 HPP+驴乳贮藏期间(0、7、14、21、28 d)微生物数量、酸度及感官评价进行考察,如表 10 所示。

表 10 不同方式处理驴乳贮藏期间品质变化

Table 10 Quality changes of donkey milk during storage with different treatments

贮藏时间/d	PAST 驴乳			HPP+驴乳		
	酸度/°T	菌落总数/(CFU/mL)	感官评价	酸度/°T	菌落总数/(CFU/mL)	感官评价
0	2.31±0.31 ^c	80±5 ^c	均匀乳白色, 气味、滋味正常	2.67±0.00 ^d	8±1 ^d	均匀乳白色, 气味、滋味正常
7	3.20±0.00 ^b	160±15 ^b	轻微脂肪上浮, 滋味正常	3.02±0.31 ^d	10±1 ^d	均匀乳白色, 气味、滋味正常
14	3.90±0.29 ^a	310±23 ^a	严重脂肪上浮, 并有絮状沉淀	3.73±0.00 ^c	14±3 ^c	均匀乳白色, 气味、滋味正常
21	-	-	-	4.79±0.00 ^b	21±2 ^b	均匀乳白色, 有轻微酸败气味
28	-	-	-	6.22±0.31 ^a	25±3 ^a	分层, 严重酸败气味

驴乳经 PAST 处理后,未检出大肠菌群,菌落总数为 80 CFU/mL,酸度为 2.31 °T,符合《食品安全地方标准-巴氏杀菌驴乳》(DBS 65/018-2017)的要求。随着贮藏期时间的延长, PAST 驴乳菌落总数与酸度都呈现上升趋势,原因可能是 PAST 处理对驴乳杀菌不彻底,驴乳中微生物随着时间的延长增殖,导致 PAST 驴乳随着时间的增长酸度逐渐升高,于第 14 d 时达到 3.90 °T,虽符合《食品安全地方标准-巴氏杀菌驴乳》(DBS 65/018-2017)的要求(≤6 °T),但在感官上 PAST 驴乳已不适合销售和饮用。并且随着时间的延长, PAST 驴乳逐渐出现脂肪上浮的现象,到

第 14 天时, PAST 乳瓶口已有厚厚的一层脂肪层,并存在一定的分层与沉淀。有研究表明,巴氏杀菌乳贮藏于透明 PET 瓶装包装中脂肪上浮现象要比屋顶盒包装的更显著,原因可能是 PET 瓶装材料的不避光性、以及乳液面的横截面更窄等综合因素导致^[39]。研究表明^[40],由于低温巴氏杀菌乳中大量粒度大小不等的脂肪球上浮形成一层奶油层,导致低温巴氏杀菌乳产生显著的分层现象。

驴乳经 HPP+处理后,未检出大肠菌群,菌落总数为 8 CFU/mL,酸度为 2.67 °T,符合《食品安全地方标准-巴氏杀菌驴乳》(DBS 65/018-2017)的要求,

说明 HPP+处理可以有效的杀灭驴乳中的微生物。随着贮藏时间的延长, HPP+驴乳中菌落总数显著增加, 到 28 d 时仅增长至 25 CFU/mL, 原因可能是由于驴乳经超高压处理后, 杀菌效果较为彻底, 从而抑制了微生物的增殖, 导致菌落总数增长较少。但是 HPP+驴乳随着贮藏时间的延长, 酸度呈现上升的趋势, 当贮藏时间达到第 21 d 时, 驴乳酸度为 4.79 °T, 虽符合食品安全地方标准-巴氏杀菌驴乳》(DBS 65/018-2017) 的要求 (≤ 6 °T), 但是已经有轻微的酸败气味, 已经不适合销售或者饮用, 到第 28 d 时已有严重的酸败气味, 并存在分层现象, 酸度达到 6.22 °T, 已经不符合《食品安全地方标准-巴氏杀菌驴乳》(DBS 65/018-2017) 的要求。分析原因可能是由于随着贮藏时间的延长, 驴乳中各种营养物质的分解, 导致酸性物质的增加和具有酸败气味的风味物质的产生, 导致 HPP+驴乳酸度的升高及酸败气味的出现。

通过对 4 °C 冷藏条件下 PAST 驴乳及 HPP+驴乳贮藏期的观察, 建议 PAST 驴乳于 7 d 内饮用最佳, HPP+驴乳于 14 d 内饮用最佳。

3 结论

采用 HPP-UHPH 联合处理: HPP+模式处理驴乳, 以杀菌效果为指标, 通过单因素实验与正交实验确定 HPP+处理驴乳最佳处理工艺为 HPP 压力 550 MPa, HPP 处理最佳保压时间 12 min, UHPH 最佳处理压力 150 MPa, 影响驴乳杀菌效果主次因素顺序为, HPP 压力>HPP 保压时间>UHPH 压力, 以该工艺条件加工驴乳酸度为 2.67 °T, pH 值为 7.10, 菌落总数为 8 CFU/mL。以 PAST 驴乳为对照, 对 HPP+驴乳在 4 °C 冷藏条件下贮藏期的观察发现, 建议 PAST 驴乳最佳饮用时间为 7 d 内, HPP+驴乳最佳饮用时间为 14 d 内。

参考文献

- [1] Nayak C, Ramachandra C T, Nidoni U, et al. Physico-chemical composition, minerals, vitamins, amino acids, fatty acid profile and sensory evaluation of donkey milk from indian small grey breed [J]. Journal of Food Science and Technology, 2020, 57(8): 2967-2974.
- [2] 周通,李志,尤金花,等. 驴乳营养成分和生物活性研究进展 [J]. 食品与药品, 2012, 14(5): 216-220.
- [3] 张晓莹,赵亮,郑倩,等. 新疆岳驴乳理化及微生物指标分析 [J]. 食品科学, 2008, 29(1): 303-305.
- [4] Adams F. The genuine works of Hippocrates [J]. Academic Medicine, 1939, 14(4): 279.
- [5] Martini M, Altomonte I, Tricò D, et al. Current knowledge on functionality and potential therapeutic uses of donkey milk [J]. Animals, 2021, 11: 1382.
- [6] 陆东林,张丹凤,刘朋龙,等. 驴乳的营养价值和开发利用 [J]. 乳业科学与技术, 2006, 6: 267-268, 75.
- [7] Altomonte I, Salari F, Licitra R, et al. Donkey and human milk: Insights into their compositional similarities [J]. International Dairy Journal, 2018, 89: 111-118.
- [8] Martini M, Altomonte I, Licitra R, et al. Nutritional and nutraceutical quality of donkey milk [J]. Journal of Equine Veterinary Science, 2018, 65: 33-37.
- [9] Martini M, Altomonte I, Salari F. Amiata donkeys: Fat globule characteristics, milk gross composition and fatty acids [J]. Italian Journal of Animal Science, 2014, 13(1): 3118.
- [10] Vincenzetti S, Polidori P, Mariani P, et al. Donkey's milk protein fractions characterization [J]. Food Chemistry, 2008, 106(2): 640-649.
- [11] Savadkoobi S, Bannikova A, Hao T, et al. Inactivation of bacterial proteases and foodborne pathogens in condensed globular proteins following application of high pressure [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 42: 244-250.
- [12] 董鹏,张良,陈芳,等. 食品超高压技术研究进展与应用现状 [J]. 农产品加工, 2013, 6: 28-29.
- [13] Balasubramaniam V M, Martinez-Monteagudo S, Gupta R. Principles and application of high pressure-based technologies in the food industry [J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2015, 6: 435-462.
- [14] Guignon B, Rey-Santos I, Sanz P. Determination, analysis and prediction of the volumetric behavior of milk at high pressure [J]. Food Research International, 2014, 64: 336-347.
- [15] Medina-Meza I G, Barnaba C, Barbosa-Cánovas G V. Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2014, 22: 1-10.
- [16] 胡长利,龄南,龚浩. 超高压加工技术在牛乳加工中的应用研究概述 [J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(12): 4623-4629.
- [17] 张国贤. 超高压加工技术 [J]. 流体传动与控制, 2017, 3: 58-60.
- [18] Nguyen L T, Tay A, Balasubramaniam V M, et al. Evaluating the impact of thermal and pressure treatment in preserving textural quality of selected foods [J]. LWT - Food Science and Technology, 2010, 43: 525-534.
- [19] Dermesonlouoglou E K, Angelikaki F, Giannakourou M C, et al. Minimally processed fresh-cut peach and apricot snacks of extended shelf-life by combined osmotic and high pressure processing [J]. Food and Bioprocess Technology, 2019, 12(3):

- 371-386.
- [20] 张晓,王永涛,李仁杰,等.我国食品超高压技术的研究进展[J].中国食品学报,2015,15:157-165.
- [21] Huang H-W, Hsu C-P, Wang C-Y. Healthy expectations of high hydrostatic pressure treatment in food processing industry [J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2020, 28(1): 1-13.
- [22] Loira I, Morata A, Bañuelos M, et al. Use of ultra-high pressure homogenization processing in winemaking: Control of microbial populations in grape musts and effects in sensory quality [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2018, 50: 50-56.
- [23] Bernat N, Cháfer M, Chiralt A, et al. Development of a non-dairy probiotic fermented product based on almond milk and inulin [J]. *Food Science and Technology International*, 2014, 21(6): 440-453.
- [24] Valencia-Flores D, Hernández-Herrero M, Guamis B, et al. Comparing the effects of ultra-high-pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical, and chemical quality of almond beverages [J]. *Journal of Food Science*, 2013, 78(2): E199-E205.
- [25] 潘见,林春铭,王莉,等.西瓜汁超高压均质的杀菌效果研究[J].食品科学,2010,31(16):93-96.
- [26] 姜英杰,杨振东.超高压处理对食品的影响[J].食品工业, 2011,32(12):75-77.
- [27] Huang H W, Lung H M, Yang B, et al. Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing [J]. *Food Control*, 2014, 40: 250-259.
- [28] 刘康玲,吴楠,王玉荣,等.超高压杀菌处理对鲜驼乳品质的影响[J].食品研究与开发,2020,41(5):158-163.
- [29] 徐艳伟,杜晓旭,齐云霞,等.温度对牛奶pH值影响的研究[J].轻工科技,2013,29(3):21,51.
- [30] 刘康玲.超高压处理对鲜驼乳品质的影响[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2019.
- [31] Amador G, Hernández-Herrero M M, Juan B, et al. Inactivation of bacillus spores inoculated in milk by ultra high pressure homogenization [J]. *Food Microbiology*, 2014, 44: 204-210.
- [32] Hayes M, Fox P, Kelly A. Potential applications of high pressure homogenisation in processing of liquid milk [J]. *The Journal of Dairy Research*, 2005, 72: 25-33.
- [33] Thiebaud M, Dumay E, Picart L, et al. High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation [J]. *International Dairy Journal*, 2003, 13: 427-439.
- [34] Pereda J, Ferragut V, Quevedo J, et al. Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf life of milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90: 1081-1093.
- [35] Addo C, Ferragut V. Evaluating the ultra-high pressure homogenization (uhph) and pasteurization effects on the quality and shelf life of donkey milk [J]. *International Journal of Food Studies*, 2015, 4(1): 104-115.
- [36] Amador G, Suárez-Berencia A, Juan B, et al. Effect of moderate inlet temperatures in ultra-high-pressure homogenization treatments on physicochemical and sensory characteristics of milk [J]. *Journal of Dairy Science*, 2014, 97(2): 659-671.
- [37] Calamari L, Gobbi L, Bani P. Improving the prediction ability of ft-mir spectroscopy to assess titratable acidity in cow's milk [J]. *Food Chemistry*, 2016, 192: 477-484.
- [38] Hayes M, Kelly A. High pressure homogenisation of raw whole bovine milk (a) effects on fat globule size and other properties [J]. *The Journal of Dairy Research*, 2003, 70: 297-305.
- [39] 黄娟,黄燕燕.不同市售低温巴氏杀菌乳的稳定性研究[J].中国乳业,2022,2:75-80.
- [40] 朱彦群.牛奶均质效果与产品货架期研究[J].轻工科技, 2020,36(6):18-19.