

## 新生儿配方液态乳的瓶内灭菌工艺优化

李萌<sup>1,2</sup>, 巨欢欢<sup>1,2</sup>, 廖敏和<sup>1,2</sup>, 康佳欣<sup>1,2</sup>, 魏子凯<sup>1,2</sup>, 宁雪楠<sup>1,2</sup>, 刘宁<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>东北农业大学乳品科学教育部重点实验室 哈尔滨 150030)

(<sup>2</sup>东北农业大学食品学院 哈尔滨 150030)

**摘要** 为优化新生儿配方液态乳的瓶内灭菌工艺(Retort),以黏度为指标,采用单因素实验筛选最佳工艺条件,得到最适均质压力 30 MPa,灭菌温度 115 °C,灭菌时间 10 min。在此基础上,用正交试验进一步优化这 3 个参数,得到最优化参数为均质压力 20 MPa,灭菌温度 115 °C,灭菌时间 8 min。比较用两种工艺参数生产的产品粒径、黏度和色差( $\Delta E$ ),结果表明:用正交试验优化的工艺参数生产的产品稳定性更好。对比正交优化的瓶内灭菌新生儿配方液态乳(Retort 液态乳)与 UHT 新生儿配方液态乳(UHT 液态乳)的安全性,结果表明:Retort 液态乳的菌落总数为 0 CFU/mL,嗜热需氧芽孢数较低。采用扫描电镜(SEM)和激光共聚焦显微镜(CLSM)观察 Retort 液态乳和 UHT 液态乳的蛋白质和脂肪微观结构,发现 Retort 液态乳的蛋白质交联结构更加致密,变性程度较小;脂肪球的数量较多,尺寸较小。结论:Retort 工艺灭菌效果更好,更适于新生儿配方液态乳的灭菌,这将为生产更加安全、营养的母乳替代品提供基础数据。

**关键词** 新生儿配方液态乳; 瓶内灭菌; 正交试验

文章编号 1009-7848(2022)03-0169-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2022.03.020

新生儿(neonate, newborn)是指从出生断脐到生后 28 d 内的婴儿,是胎儿出生后生理功能调节并适应宫外环境的一个特殊阶段,具有生长发育速度快,消化能力弱,免疫力低的特点<sup>[1-4]</sup>。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)报道母乳喂养是新生儿最理想的喂养方式。而当母乳不足或无法进行母乳喂养时,配方食品显得至关重要。

配方液态乳是一种无需冲调、健康卫生、可直接食用的新型配方食品,是新生儿的最佳选择<sup>[5]</sup>。目前,我国配方液态乳处于起步阶段,主要是超高温灭菌(Ultra-high temperature, UHT)的 12~24 个月龄的婴儿配方乳<sup>[6]</sup>。新生儿免疫力较低,对配方食品的安全性要求高,UHT 之后仍有一些热稳定性细菌和酶存活,容易导致配方乳品质劣变,影响新生儿的生长发育<sup>[7]</sup>。瓶内灭菌(Retort),工艺条件一般为 118~122 °C、15~20 min<sup>[8]</sup>,是一种医院用于早产儿配方乳灭菌的方式,在日本已广泛用于生活无法自理的老年人肠内配方液态乳的灭菌。

收稿日期: 2021-03-15

基金项目:“十三五”国家重点研发计划项目

(2018YFC1604304)

作者简介: 李萌(1980—),女,博士,副研究员

通信作者: 刘宁 E-mail: ningliuneau@outlook.com

Retort 是一个比 UHT 更安全的杀菌过程,然而 Retort 较高的温度和较长的时间会导致较多营养物质的损失<sup>[9-10]</sup>。近年来,Hope 等<sup>[11]</sup>用 121 °C、5 min 的 Retort 对捐赠母乳灭菌,与保持巴氏灭菌(holder pasteurization)相比,其宏量营养素的损失小,然而赖氨酸和维生素 B<sub>1</sub> 的含量有所减少。Yasuhiro 等<sup>[12]</sup>将 121 °C、10 min 的 Retort 肠内配方液态乳与 UHT 肠内配方液态乳进行对比,两种肠内配方液态乳对小鼠增重效果相同,说明 Retort 工艺营养物质损失较小。上述两个文献的 Retort 的灭菌时间虽然都低于通常的时间范围,但是均达到货架期内稳定的效果。适当降低 Retort 的灭菌温度,既可减少营养物质损失,又可满足微生物安全的要求,具有实用价值。

本研究在低于一般的 Retort 工艺参数条件下,通过单因素实验和正交试验优化 Retort 工艺,使产品体系更加稳定,在确保新生儿配方液态乳安全性的同时,最大程度地降低营养物质损失。通过体系的优化确定最优的 Retort 工艺,以提升产品稳定性,使其微生物安全性更高,体系微观结构更好。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与试剂

生牛乳,购自东北农业大学附近超市; 脱脂

乳,使用脱脂机制备;乳清蛋白粉,恒天然商贸(上海)有限公司;乳糖,山东萍聚科技有限公司;脱盐乳清粉,法国EUROSERUM公司;低聚果糖,阳湖生物技术有限公司;低聚半乳糖,量子高科集团有限公司;复配植物油,秦皇岛金海特种食用油工业有限公司;DHA和ARA,湖北福星生物科技有限公司;复配维生素和复配矿物质,北京金康普食品科技有限公司;尼罗红,上海源叶生物科技有限公司。

## 1.2 仪器与设备

容量250 mL玻璃瓶,徐州宏华玻璃科技有限公司;菌落总数测试片,广东达元绿洲食品安全科技股份有限公司;Mastersizer 2000激光粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;RST-CC流变仪,美国博勒飞公司;PRODUCT-YS3010色差仪,深圳三恩时科技有限公司;激光扫描共聚焦显微镜,德国Leica公司;EVO MA 25/LS 25扫描电子显微镜,德国卡尔蔡司公司;Scientz-150高压均质机,宁波新芝生物科技股份有限公司;GF54DA高压灭菌器,致微(厦门)仪器有限公司;超高温灭菌设备,上海沃迪科技有限公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 Retort工艺流程** 工艺流程为:生牛乳→过滤净化→与粉状原料(乳糖、浓缩乳清蛋白WPC 80粉)和水溶性配料(食品添加剂)混合→预热溶解(至80~85℃)→加入脂溶性配料(需要先将脂溶性维生素、油和长链多不饱和脂肪酸溶于乳化剂)→充分混合定容→均质(10~50 MPa)→包装(每个玻璃瓶装200 mL配方液态乳)→瓶内灭菌(105~125℃,6~14 min)→冷却→检验→成品。

**1.3.2 单因素实验** Chiewchan等<sup>[13]</sup>研究了均质压力和灭菌条件对高脂椰子奶稳定性的影响,并用黏度来表征高脂椰子奶的稳定性,结果表明高脂椰子奶的黏度越大稳定性越好。因此,本研究以黏度作为Retort液态乳稳定性的指标。

**1.3.2.1 均质压力的选取** 均质压力选取10,20,30,40,50 MPa,灭菌温度110℃,灭菌时间10 min,测定新生儿配方液态乳的黏度,选取单因素最优均质压力。

**1.3.2.2 灭菌温度的选取** 灭菌温度选取105,110,115,120,125℃,均质压力30 MPa,灭菌时间

10 min,测定新生儿配方液态乳的黏度,选取单因素最优灭菌温度。

**1.3.2.3 灭菌时间的选取** 灭菌时间选取6,8,10,12,14 min,均质压力30 MPa,灭菌温度110℃,测定新生儿配方液态乳的黏度,选取单因素最优灭菌时间。

**1.3.3 正交试验** 以均质压力、灭菌温度和灭菌时间为正交试验因素,根据单因素实验,确定因素水平的取值范围。采用三因素三水平正交试验优化Retort工艺。正交试验因素水平见表1。

表1 正交试验因素水平表  
Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

编码	因素		
	A(均质压力/ MPa)	B(灭菌温度/ ℃)	C(灭菌时间/ min)
-1	20	110	8
0	30	115	10
1	40	120	12

**1.3.4 单因素与正交优化工艺生产的配方液态乳稳定性的比较**

**1.3.4.1 黏度** 黏度是牛乳流变特性中最具代表性的指标,与产品稳定性有关,可用来评价产品的品质,黏度越大体系越稳定,黏度越小体系越不稳定。采用RST-CC流变仪,恒温25℃,剪切速率从0/s上升到2 000/s,然后从2 000/s下降到0/s,剪切速率上升和下降所需时间都是3 min(总时间为6 min)。 $\eta a = \tau / \gamma = k \gamma n^{-1}$  其中 $\eta a$ 是表观黏度(Pa·s), $\tau$ 是剪切应力(Pa), $\gamma$ 是剪切速率(s<sup>-1</sup>), $k$ 是稠度系数(Pa·sn), $n$ 是流变指数<sup>[14]</sup>。

**1.3.4.2 粒径** 粒径是评价乳状液最重要的指标之一,产品的稳定性与粒径大小成反比,粒径越小体系越稳定,反之,粒径越大产品稳定性越差。使用Mastersizer 2000激光粒度仪进行样品颗粒的平均粒径测定,参照Nobuhara等<sup>[15]</sup>的方法进行调整,取175 μL的样品用蒸馏水稀释200倍进行测量,所有测量均在25℃下进行3次。样品使用1.450的折射率,蒸馏水使用1.331的折射率。

**1.3.4.3 ΔE** 美拉德反应是热处理过程中最常见的化学反应,影响产品的感官品质与安全性,ΔE是美拉德反应的重要衡量指标,ΔE越大,美拉德

反应越强烈,  $\Delta E$  越小, 美拉德反应越不剧烈。参照宋铮等<sup>[16]</sup>的方法进行  $\Delta E$  测定, 使用色差计在室温下进行  $\Delta E$  测量, 首先将色差计预热 30 min, 打开颜色管理软件, 采用 CIELAB 系统进行颜色校准, 先进行黑板校准, 再进行白板校准。将样品倒入玻璃比色杯中, 把玻璃比色杯插入黑室中并连接至色差计, 确定样品  $\Delta E$  的变化。 $L^*$  值是亮度的度量, 范围从黑度(0)到白度(100);  $a^*$  值的范围从绿色(-60)到红色(+60),  $b^*$  值的范围从蓝色(-60)到黄色(+60)<sup>[17]</sup>。对每个样品一式 3 份进行  $\Delta E$  测量, 并使用平均值。

**1.3.5 生牛乳、UHT 纯牛乳和 Retort 液态乳微生物安全性** 本研究比较了生牛乳、UHT 新生儿配方液态乳和优化后的 Retort 新生儿配方液态乳的菌落总数和嗜热需氧芽孢数, 以对比优化后的瓶内灭菌工艺与 UHT 工艺的微生物安全性。

#### 1.3.5.1 菌落总数

1) 样品处理 取 25 mL 的样品放入 225 mL 的灭菌磷酸缓冲稀释液中, 制成 1:10 的样品稀释液。用无菌吸管吸取 1 mL 的 1:10 样品稀释液, 加入 9 mL 的灭菌磷酸缓冲稀释液中, 制成 1:100 的样品稀释液。再用无菌吸管吸取 1 mL 的 1:100 样品稀释液, 加入 9 mL 的灭菌磷酸缓冲稀释液中, 制成 1:1 000 的样品稀释液。注意每次稀释都需要换一只无菌吸管。

2) 接种 将菌落总数测试片(BB202)置于平坦的试验台面上, 揭开上层膜, 用无菌吸管吸取 1 mL 的样品稀释液缓慢滴加到菌落总数测试片上, 然后再将上层膜缓慢盖下, 静置 10 s。每个稀释度接种两片菌落总数测试片, 同时用磷酸缓冲液做两片空白对照。

3) 培养 将菌落总数测试片堆叠在一起(堆叠片数不超过 12 片)放到自封袋中并封口, 将透明面朝上, 水平放置在恒温培养箱中。培养温度为  $(36\pm1)$  °C, 培养时间为 15~24 h。

4) 计数 若只有一个稀释度的菌落总数在适宜计数范围内, 计算此稀释度的两个菌落总数测试片上菌落数的平均值, 再将平均值乘以相应的稀释倍数, 作为每毫升样品中菌落总数; 若有两个连续稀释度的菌落总数测试片的菌落数在适宜计数范围内, 按(1)计算:

$$N = \Sigma c / (n_1 + 0.1n_2)d \quad (1)$$

式中:  $N$ —样品中菌落数;  $\Sigma c$ —测试片上菌落总数之和;  $n_1$ —第 1 个适宜稀释度测试片数;  $n_2$ —第 2 个适宜稀释度测试片数;  $d$ —稀释因子(第一稀释度)。

**1.3.5.2 嗜热需氧芽孢数** 嗜热需氧芽孢数可以反映乳制品的卫生指标, 大量嗜热需氧芽孢会导致乳产品变质, 影响新生儿的生长发育。根据中华人民共和国农业行业标准 NY/T 1331-2007《乳与乳制品中嗜冷菌、需氧芽孢及嗜热需氧芽孢数的测定》进行嗜热需氧芽孢总数测定。

**1.3.6 生牛乳、Retort 液态乳和 UHT 液态乳的蛋白质和脂肪微观结构** 为了探究 Retort 和 UHT 对新生儿配方液态乳蛋白质和脂肪球的影响, 使用 SEM 和 CLSM 分别观察蛋白质的交联程度和脂肪的数量和尺寸。

**1.3.6.1 蛋白质微观结构** 将 Retort 液态乳冷冻干燥为粉末, 将冻干的乳粉末用金铂碳溅射仪喷金, 使用扫描电镜观察蛋白质微观结构。调节最佳视野, 分别在 200 倍、800 倍、1 500 倍和 3 000 倍数下进行观察<sup>[18]</sup>。

**1.3.6.2 脂肪微观结构** 使用激光扫描共聚焦显微镜观察液态乳的脂肪球, 试验方法参考 Okada 等<sup>[19]</sup>的方法, 取 1 mL 样品加入 40 μL 尼罗红染色液, 混合均匀后染色 30 min, 取 5 μL 染色的乳液样品于载玻片上, 盖上盖玻片并用甘油密封, 在激发光波长 488 nm 处, 放大倍数 400 倍下进行扫描观察。

**1.3.7 统计分析** 每组试验重复 3 次, 采用 SPSS 对试验数据进行方差分析和显著性分析; 采用 Origin 软件制图。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果与分析

**2.1.1 均质压力** 如图 1 所示(图中同曲线上不同字母表示差异显著, 下同), 随着均质压力的增加, 新生儿配方液态乳的黏度先增加后减小, 均质压力在 30 MPa 时, 黏度达到最大为 0.00708 Pa·s。黏度越大, 说明新生儿配方液态乳的体系越稳定。因此, 选取 30 MPa 作为单因素最适均质压力, 选取 20, 30, 40 MPa 作为正交试验因素水平。

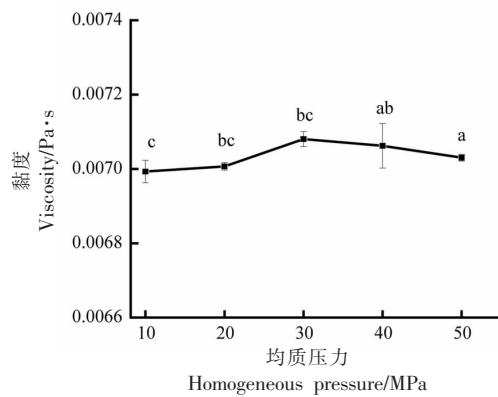


图 1 均质压力对新生儿配方液态乳黏度的影响

Fig.1 Effect of homogeneous pressure on viscosity of liquid newborn formula

2.1.2 灭菌温度 如图 2 所示,随着灭菌温度的升高,新生儿配方液态乳的黏度呈先上升后下降的趋势。灭菌温度从 105 ℃到 115 ℃时,黏度缓慢上升,当灭菌温度在 115 ℃时,黏度达到最大为 0.07101 Pa·s,当灭菌温度达到 120 ℃之后,黏度快速下降。这可能是由于灭菌温度过高,蛋白质变性程度增加,变性的蛋白质吸附在乳脂肪球膜表面,导致脂肪球带电量减小,黏度下降。因此,选取 115 ℃作为单因素最适灭菌温度,选取 110, 115, 120 ℃作为正交试验因素水平。

2.1.3 灭菌时间 如图 3 所示,随着灭菌时间增加,新生儿配方液态乳的黏度呈先上升后减小的趋势。灭菌时间在 6 min 到 8 min 时,黏度缓慢增加,8 min 后黏度显著增加( $P<0.05$ ),当灭菌时间在 10 min 时,黏度最大为 0.00702 Pa·s,灭菌时间在 10 min 后,黏度下降,这可能是由于灭菌时间较长,导致变性的蛋白质吸附到脂肪球膜表面,使表面的电荷量减小,黏度降低。因此,选取 10 min 为单因素最适灭菌时间,选取 8, 10, 12 min 作为

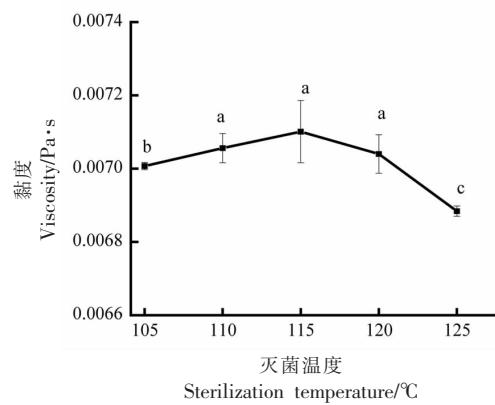


图 2 灭菌温度对新生儿配方液态乳黏度的影响

Fig.2 Effect of sterilization temperature on viscosity of liquid newborn formula

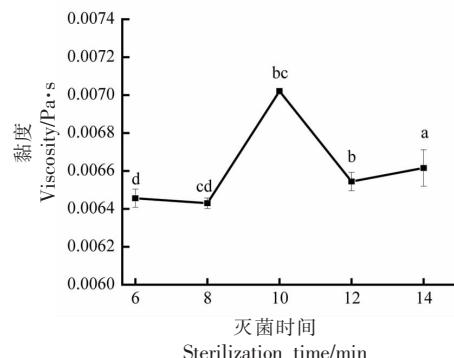


图 3 灭菌时间对新生儿配方液态乳黏度的影响

Fig.3 Effect of sterilization time on viscosity of liquid newborn formula

正交试验因素水平。

## 2.2 正交试验结果与分析

由表 2 可知,影响新生儿配方液态乳黏度的因素主次顺序为  $B>C>A$ ,即灭菌温度>灭菌时间>均质压力。优化后的条件组合为  $A_1B_2C_1$ ,即均质压力为 20 MPa,灭菌温度 115 ℃,灭菌时间 8 min。

表 2 正交试验结果

Table 2 Orthogonal test results

试验号	均质压力 / MPa	灭菌温度 / ℃	灭菌时间 / min	黏度 / Pa·s
1	-1	-1	-1	0.00747
2	-1	0	0	0.00728
3	-1	1	1	0.00698
4	0	-1	0	0.00702
5	0	0	1	0.00720
6	0	1	-1	0.00708

(续表 2)

试验号	均质压力/MPa	灭菌温度/℃	灭菌时间/min	黏度/Pa·s
7	1	-1	1	0.00708
8	1	0	-1	0.00717
9	1	1	0	0.00707
$k_1$	0.00724	0.00721	0.00724	
$k_2$	0.00712	0.00722	0.00714	
$k_3$	0.00711	0.00704	0.00709	
$R$	0.00013	0.00018	0.0015	
因素主次顺序		$B > C > A$		
优组合		$A_1 B_2 C_3$		

### 2.3 单因素与正交优化工艺生产的配方液态乳稳定性比较

表 3 为单因素和正交优化工艺生产的配方液态乳的粒径、 $\Delta E$  和黏度结果。单因素工艺下的配方乳粒径为  $0.731 \mu\text{m}$ ,  $\Delta E$  为 12.65, 黏度为  $0.00716 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 。正交优化工艺条件下的配方乳粒径为  $0.701 \mu\text{m}$ ,  $\Delta E$  为 7.43, 黏度为  $0.00972 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ , 正交优化完成的瓶内灭菌新生儿配方液态乳稳定性更好, 故最优工艺条件为均质压力为 20 MPa, 灭菌温度 115 ℃, 灭菌时间 8 min。

### 2.4 生牛乳、Retort 液态乳和 UHT 液态乳的微生物安全性分析

2.4.1 菌落总数 表 4 为 Retort 液态乳和 UHT 液态乳的菌落总数, 由表 4 可知, Retort 液态乳的菌落总数为  $0 \text{ CFU}/\text{mL}$ , UHT 液态乳的菌落总数为  $0.91 \text{ CFU}/\text{mL}$ 。我国婴幼儿配方食品的菌落总数要小于  $1 000 \text{ CFU}/\text{mL}$ <sup>[20]</sup>, Retort 液态乳和 UHT 液态乳的菌落总数符合此要求, 并且 Retort 液态乳的菌落总数显著小于 UHT 液态乳 ( $P<0.05$ ), 这说明 Retort 液态乳的微生物安全性高于 UHT 液态乳。

2.4.2 嗜热需氧芽孢 表 5 为 Retort 液态乳和 UHT 液态乳的嗜热需氧芽孢数, 由表 5 可知, Retort 液态乳的嗜热需氧芽孢数为  $479.33 \text{ CFU}/\text{mL}$ , UHT 液态乳的嗜热需氧芽孢数为  $713.00 \text{ CFU}/\text{mL}$ 。2013 年美国乳业孢子研讨会提出, UHT 全脂配方乳中嗜热需氧芽孢数要小于  $2 000 \text{ CFU}/\text{g}$ <sup>[21]</sup>, 本研究的 Retort 液态乳和 UHT 液态乳均符合此要求。Retort 液态乳的嗜热需氧芽孢显著少于 UHT 液态乳 ( $P<0.05$ ), 这说明 Retort 液态乳的微生物安全性更高。

表 3 单因素和正交优化的产品稳定性比较

Table 3 Comparison of product stability between single factor and orthogonal optimization

稳定性指标	单因素实验	正交优化试验
脂肪球粒径/ $\mu\text{m}$	0.731	0.701
$\Delta E$	12.65	7.43
黏度/ $\text{Pa}\cdot\text{s}$	0.00716	0.00972

表 4 生牛乳、Retort 液态乳和 UHT 液态乳的菌落总数

Table 4 Aerobic plate count in raw milk, Retort liquid formula and UHT liquid formula

产品	菌落总数/ $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$
生牛乳	$220\ 000.00 \pm 13\ 732^{\text{a}}$
UHT 液态乳	$0.91 \pm 0.41^{\text{b}}$
Retort 液态乳	$0^{\text{c}}$

注: 同一列数据右上标不同字母说明它们之间具有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

表 5 生牛乳、Retort 液态乳和 UHT 液态乳的嗜热需氧芽孢数

Table 5 Thermophilic aerobic bacterial spores in raw milk, Retort liquid formula and UHT liquid formula

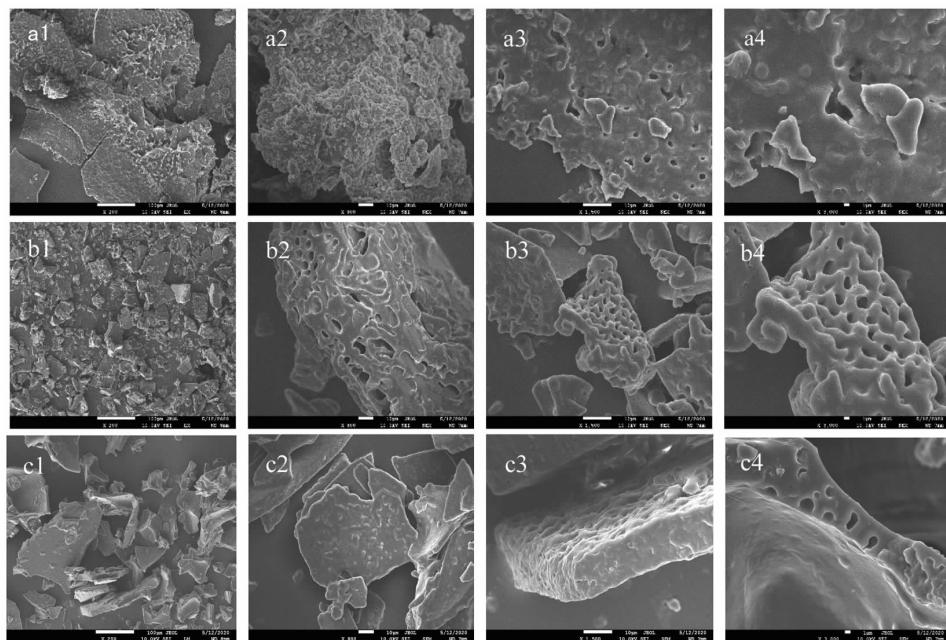
产品	嗜热需氧芽孢数/ $\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$
生牛乳	$2\ 320.00 \pm 83.81^{\text{a}}$
UHT 液态乳	$713.00 \pm 23.00^{\text{b}}$
Retort 液态乳	$479.33 \pm 40.62^{\text{c}}$

注: 同一列数据右上标不同字母说明它们之间具有显著性差异 ( $P<0.05$ )。

## 2.5 生牛乳、Retort 液态乳和 UHT 液态乳的微观结构分析

**2.5.1 蛋白质微观结构分析** 乳蛋白的微观结构如图 4 所示, 图 a1~a4 为生牛乳的蛋白形态扫描电子显微镜结果, 图 a1 和 a2 观察到蛋白表面没有蜂窝状的孔径, 图 a3 和 a4 观察到生牛乳具有少量的蛋白聚集和交联。图 b1~b4 为 Retort 液态乳的蛋白形态扫描电子显微镜结果, 图 b1 观察到蛋白表面具有少量的孔径, 图 b2~b4 观察到蛋白之间发生了聚集, 形成了致密的网状结构。图 c1~c4 为 UHT 液态乳的蛋白形态扫描电子显微镜结果, 图 c1~c4 为 UHT 新生儿配方液态乳的蛋白形态扫描电子显微镜结果, 图 c1 和图 c2 观察蛋白表面具有少量的蜂窝状孔径, 图 c3 和图 c4 观察到蛋白表面具有少量的蜂窝状孔径, 图 c3 和图 c4

观察到蛋白质之间交联没有形成致密的规则结构, 具有大小不一的孔径。这可能是由于灭菌过程中温度上升至 130 ℃时酪蛋白开始变性, 变性的酪蛋白与酪蛋白以及酪蛋白与乳清蛋白之间形成聚合物, 交联程度增加, 孔径大小不一致<sup>[22]</sup>。根据图 a2、b2 和 c2 比较发现 Retort 液态乳的蛋白交联结构与生牛乳更加相似。根据图 b3、b4 与 c3、c4 比较发现 Retort 液态乳的乳蛋白微观结构比 UHT 配方乳蛋白微观结构更加致密, 这可能是 Retort 灭菌温度低于 UHT, 这导致乳清蛋白变性较多, 酪蛋白变性较少, 变性的酪蛋白与乳清蛋白之间通过稳定的二硫键结合形成网状结构, 酪蛋白均匀分布在该网状结构中, 使形成的网状结构更致密, 孔径较小, 结构更稳定<sup>[23~24]</sup>。



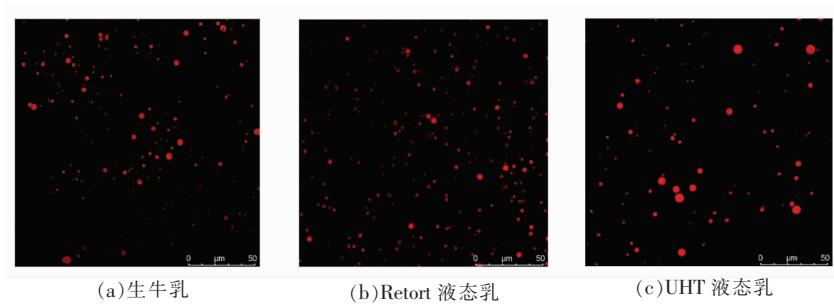
注:a1~a4. 生牛乳;b1~b4. Retort 液态乳;c1~c4. UHT 液态乳;a1~c1 放大倍数为 200 倍;a2~c2 放大倍数为 800 倍;a3~c3 放大倍数为 1 500 倍;a4~c4 放大倍数为 3 000 倍。

图 4 Retort 液态乳和 UHT 纯牛乳的乳蛋白微观结构图

Fig.4 Microstructure of Retort liquid formula and UHT pure milk

**2.5.2 脂肪球微观结构分析** 使用激光扫描共聚焦显微镜进行脂肪球的微观结构分析, 从图 5a 可以看出, 生牛乳中脂肪小球均匀分布并且没有聚集。图 5b 为 Retort 液态乳脂肪球观察结果, 与生牛乳相比, Retort 液态乳出现了较多尺寸较小的脂肪球, 这可能是由于新生儿配方乳中添加了复

配植物油使脂肪球数量增多, 然后经过均质使脂肪球尺寸减小。图 5c 为 UHT 液态乳脂肪球观察结果, 与生牛乳和 Retort 液态乳相比, 脂肪球数量减少, 尺寸增大, 这可能是由于 UHT 灭菌温度较高, 灭菌过程导致脂肪球聚集, 从而导致脂肪球尺寸增加<sup>[25]</sup>。



注:图像为400倍下拍摄。

图5 Retort 液态乳和 UHT 纯牛乳的脂肪球激光共聚焦扫描显微镜图

Fig.5 CLSM images of fat globules Retort liquid formula and UHT pure milk

### 3 结论

对新生儿配方液态乳的 Retort 工艺进行研究,通过单因素实验和正交试验确定最佳 Retort 工艺为:均质压力 20 MPa,灭菌温度 115 ℃,灭菌时间 8 min。优化完成的 Retort 新生儿配方液态乳体系更加稳定,菌落总数为 0 CFU/mL,嗜热需氧芽孢数较低。与 UHT 液态乳相比蛋白质变性程度较小,脂肪球数量较多,尺寸较小。优化完成的瓶内灭菌工艺更适合用于新生儿配方液态乳的灭菌,Retort 液态乳为新生儿提供了营养丰富的母乳替代品。

### 参 考 文 献

- [1] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学:第8版[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015: 422–425.
- [2] 桂永浩,薛辛东. 儿科学:第3版[M]. 北京:人民卫生出版社, 2015: 2–3.
- [3] 李冬. 提高家属护理技能对新生儿健康的意义[J]. 临床合理用药杂志, 2013, 6(18): 145–145.
- [4] LAOURA A. Maternal leukocytes and infant immune programming during breastfeeding[J]. Trends in Immunology, 2020, 41(3): 225–239.
- [5] 高松柏. 婴儿配方乳的发展趋势[J]. 中国乳品工业, 2003, 31(1): 45–49.
- [6] GAO S B. The trend of infant formula process[J]. China Dairy Industry, 2003, 31(1): 45–49.
- [7] 崔东影. 巴氏杀菌婴儿配方乳的研制[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2019: 3–5.
- [8] CUI D Y. Development of pasteurized infant formula milk [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2019: 3–5.
- [9] RICHARDS M, DE KOCK H L, BUYS E M, et al. Multivariate accelerated shelf-life test of low fat UHT milk[J]. International Dairy Journal, 2014, 36 (1): 38–45.
- [10] MONTAGNE D H, DAEL P V, SKANDERBY M, et al. Dairy Powders and Concentrated Products: Chapter 9: Infant Formulae – Powders and Liquids [M]. West Sussex: Blackwell Publishing Ltd. 2009, 294–332.
- [11] JELEN P. Advanced dairy chemistry[J]. International Dairy Journal, 2005, 15(2): 189.
- [12] JUKKOLA A, ROJAS O J. Milk fat globules and associated membranes: Colloidal properties and processing effects[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2017, 245: 92–101.
- [13] HOPE L, KENNETH V, MONTNAN W G, et al. Nutritional comparison of raw, holder pasteurized and shelf-stable human milk products[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2018, 67 (5): 649–653.
- [14] YASUHIRO, TAKEDA, MASAYUKI, et al. Effects of sterilization process on the physicochemical and nutritional properties of liquid enteral formula [J]. Food Science and Technology Research, 2015, 21

- (4): 573–581.
- [13] CHIEWCHAN N, PHUNGAMNGOEN C, SIRIWAT-TANAYOTHIN S. Effect of homogenizing pressure and sterilizing condition on quality of canned high fat coconut milk[J]. Journal of Food Engineering, 2006, 73(1): 38–44.
- [14] ADAMS M C, HURT E E, BARBANO D M. Effect of ceramic membrane channel geometry and uniform transmembrane pressure on limiting flux and serum protein removal during skim milk microfiltration[J]. Journal of Dairy Science, 2015, 98(11): 7527–7543.
- [15] NOBUHARA T, MATSUMIYA K, NAMBU Y, et al. Stabilization of milk protein dispersion by soybean soluble polysaccharide under acidic pH conditions[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 34(1): 39–45.
- [16] 宋铮, 迟雪露, 潘明慧, 等. 巴氏杀菌乳在保质期内感官品质的稳定性分析[J]. 中国乳品工业, 2019, 47(3): 8–12.
- SONG Z, CHI X L, PAN M H, et al. Stability analysis of sensory quality of pasteurized milk during shelf life[J]. China Dairy Industry, 2019, 47(3): 8–12.
- [17] KARLSSON M A, 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.
- [18] JEAN K, RENAN M, FAMELART M H, et al. Structure and surface properties of the serum heat-induced protein aggregates isolated from heated skim milk[J]. International Dairy Journal, 2006, 16(4): 303–315.
- [19] OKADA Y, HAYASHI S. Ultrafast superresolution fluorescence imaging with spinning disk confocal microscope optics[J]. Molecular Biology of the Cell, 2015, 26(9): 1743–1751.
- [20] 刘晓毅. 国内外乳品微生物控制要求[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(4): 39–41, 44.
- LIU X Y. Microbiological criteria of dairy in domestic and international[J]. China Dairy Industry, 2012, 40(4): 39–41, 44.
- [21] WATTERSON M J, KENT D J, BOOR K J, et al. Evaluation of dairy powder products implicates thermophilic sporeformers as the primary organisms of interest[J]. Journal of Dairy Science, 2014, 97(4): 2487–2497.
- [22] WANG T T, GUO Z W, LIU Z P, et al. The aggregation behavior and interactions of yak milk protein under thermal treatment[J]. Journal of Dairy Science, 2016, 99(8): 6137–6143.
- [23] 蒋姗姗, 程建军, 李东飞, 等. 聚合乳清浓缩蛋白对凝固型酸奶品质特性的影响[J]. 中国乳品工业, 2017, 45(6): 15–18.
- JIANG S S, CHENG J J, LI D F, et al. Effect of polymerized whey protein concentrate on quality of set yogurt[J]. China Dairy Industry, 2017, 45(6): 15–18.
- [24] 周志伟, 许永红, FAERGEMAND M, 等. 脱脂乳的不同热处理对其酸奶凝胶流变学性质的影响[J]. 中国乳品工业, 2000, 28(5): 6–9.
- ZHOU Z W, XU Y H, FAERGEMAND M, et al. Effect of forewarming on rheological properties of acid skim milk gel[J]. China Dairy Industry, 2000, 28(5): 6–9.
- [25] 杨楠, 梁琪, 杨敏, 等. 不同加热温度对牦牛乳酪蛋白的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(19): 14–18.
- YANG N, LIANG Q, YANG M, et al. Effect of heating temperature on casein in yak milk[J]. Food Science, 2013, 34(19): 14–18.

## Optimization of Retort Process for Liquid Newborn Formula

Li Meng<sup>1,2</sup>, Ju Huanhuan<sup>1,2</sup>, Liao Minhe<sup>1,2</sup>, Kang Jiaxin<sup>1,2</sup>, Wei Zikai<sup>1,2</sup>, Ning Xuenan<sup>1,2</sup>, Liu Ning<sup>1,2\*</sup>

(\*Key Laboratory of Dairy Science, Ministry of Education, Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

<sup>2</sup>College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

**Abstract** In order to optimize Retort process for liquid newborn formula, a single factor experiment was used to screen the optimum process conditions with viscosity as the index. The optimal homogeneous pressure was 30 MPa, sterilization temperature was 115 °C, and sterilization time was 10 min. On this basis, orthogonal experiments were used to further optimize three parameters, and the optimum process parameters were obtained as homogeneous pressure 20 MPa, steril-

ization temperature 115 °C, and sterilization time 8 min, the particle size, viscosity and color difference ( $\Delta E$ ) of the products produced by the two process parameters are compared, the results show that the product produced by the process parameters optimized by the orthogonal experiment has better stability. By comparing the safety of the orthogonal optimized Retort liquid newborn formula with UHT liquid newborn formula, the results showed that the aerobic plate count of Retort product was 0 CFU/mL, and the number of thermophilic aerobic spores was lower. Scanning electron microscope (SEM) and laser confocal microscope (CLSM) were used to compare the microstructures of protein and fat between Retort liquid formula and UHT liquid newborn formula. Retort liquid formula protein had a denser network structure and less denaturation; the number of fat globules was more and the size was smaller. Therefore, Retort process has a better sterilization effect and is more suitable for the sterilization of liquid newborn formula, which will lay the foundation for providing safer and more nutritious breast milk substitute for newborn infants.

**Keywords** liquid newborn formula; in-bottle sterilization; orthogonal experiment