

毛细管电泳法测定不同体细胞数的原料乳的蛋白组成及含量

张明¹ 任发政^{2,3} 方冰^{2,3} 张昊^{3,4} 郭慧媛^{3,4}

(1.北京工商大学食品学院,北京 100048;

2.中国农业大学北京食品营养与人类健康高精尖创新中心,北京 100083;

3.中国农业大学,食品科学与营养工程学院,教育部北京市共建功能乳品重点实验室,北京 100083;

4.河北省畜产食品工程技术中心,河北三河 065200)

摘要:为明确不同体细胞数(Somatic Cell Count, SCC)数量的原料乳蛋白质组成的变化规律。本研究首先建立了乳蛋白的毛细管电泳分析方法,并采集了不同 SCC 数量原料乳,分析其乳蛋白成分及含量的差异。结果表明,随着 SCC 数量的增加,原料乳中酪蛋白的占比显著降低($p < 0.05$),乳清蛋白比率相对增加;酪蛋白中 β -酪蛋白 B 和 β A1-酪蛋白的含量显著下降($p < 0.05$),水解为新的小片段。毛细管电泳技术能够更准确的分析原料乳蛋白质的组成及变化规律,有利于乳品企业在原料乳收购时进行更深一层的品质分析。

关键词:毛细管区带电泳,体细胞,原料乳检测

Analysis of the protein composition of raw milk with different somatic cell counts by capillary zone electrophoresis

ZHANG Ming¹ REN Fa-zheng^{2,3} FANG Bing^{2,3} ZHANG Hao^{3,4} GUO Hui-yuan^{3,4}

(1.School of Food and Chemical Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2.Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health,

China Agricultural University, Beijing 100083, China;

3.Key Laboratory of Functional Dairy, Beijing Laboratory for Food Quality and Safety, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

4.Hebei Engineering Research Center of Animal Product, Sanhe 065200, China)

Abstract: To study the rules of different somatic cell count (SCC) acting on protein composition of raw milk. In this study, raw milk with different ranges of SSC were collected and the protein composition were measured by capillary zone electrophoresis. It was suggested that the proportion of casein decreased as the increasing of SSC ($p < 0.05$), the content of whey protein increased relatively. Meanwhile, as SSC increased, the contents of β A1-casein and β -casein B decreased significantly ($p < 0.05$). The study provided a method for protein analysis during raw milk purchase, which laid a theoretical basis for the later milk processing.

Key words: capillary zone electrophoresis; somatic cell; analysis of raw milk

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2018)07-0232-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2018.07.041

引文格式: 张明,任发政,方冰,等.毛细管电泳法测定不同体细胞数的原料乳的蛋白组成及含量[J].食品工业科技, 2018, 39(7): 232-236

原料乳中含有少量体细胞,包括巨噬细胞(35%~79%)、淋巴细胞(16%~28%)、多形核中性白细胞(3%~26%)和乳腺组织脱落的上皮细胞(2%~15%)^[1-2]。体细胞数即每毫升乳中所含的体细胞总数,是衡量奶牛乳房健康状况和原料乳品质的一项重要指标。

体细胞数量(Somatic Cell Count, SCC)的高低对原料乳蛋白质组成和含量有明显影响。由于来自血

液中的白细胞中包含了多种蛋白水解酶,如组织蛋白酶 B、C、D 及 L 等^[3],直接导致乳中乳清蛋白和酪蛋白含量的剧烈变化。而蛋白质组分的变化也直接影响到原料乳的加工特性。研究表明,原料乳中 SSC 的增加会导致干酪产量的降低,延长凝乳时间,降低凝乳稳定性;原料乳的 SSC 的增加引发的酪蛋白水解反应会使得液态奶产生苦味^[1]。因此,明确原料乳 SCC 数量与蛋白质含量组成之间的相互关系,对指

收稿日期: 2017-06-01

作者简介: 张明(1983-)男,博士,副教授,研究方向:乳制品加工, E-mail: zhangming@th.btbu.edu.cn。

基金项目: 国家自然科学基金(31601443)。

导企业原料乳的收购至关重要^[4-5]。然而,电泳法、高效液相色谱法等传统蛋白分析方法普遍存在,但存在分离效率差、分辨率低等问题,无法对原料乳主要的蛋白质进行有效的分离和定量测定。

毛细管电泳是一类以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力的新型液相分离技术。牛乳中主要的蛋白组成^[6],甚至乳清蛋白、乳球蛋白、酪蛋白及其重要降解产物 para- κ -酪蛋白^[7-9]均可经由毛细管区带电泳方法鉴别。本研究首先建立了乳蛋白的毛细管电泳分析方法;并采集了不同 SCC 数量原料乳,分析不同 SCC 数量的原料乳蛋白质含量、组成的变化规律。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

原料乳 来自北京三元集团绿荷渠头牧场的 32 头荷斯坦乳牛; α -乳白蛋白(α -La)、 β -乳球蛋白(β -Lg)、 α -酪蛋白(α -CN)、 β -酪蛋白(β -CN)和 κ -酪蛋白(κ -CN) 标准品及二硫苏糖醇 美国 Sigma 公司; 尿素 纯度大于 99.5% 美国 Amresco 公司; 大豆分离蛋白(纯度大于 90%) 河南正兴食品添加剂有限公司; 水解胶原蛋白(纯度大于 95%) 郑州蓝天生物科技有限公司。

FossMatic 5000 体细胞分析测定仪 丹麦 Foss 公司; P/ACE MDQ 毛细管电泳仪及未涂层毛细管柱 美国 Beckman 公司; 低温离心机 美国 Thermo Scientific 公司; 超纯水仪 ELGA Lab Water 公司; KH5200DB 型超声波清洗器 昆山禾创超声仪器有限公司; 精密酸度计 北京哈纳科仪科技有限公司。

样品缓冲液: 40 mmol/L 磷酸二氢钠, 0.1% DTT, 6 mol/L 尿素, 用 NaOH 溶液调节 pH 至 8.0, 定容。用 0.45 μ m 水系滤膜对配制好的溶液进行过滤, 20 kHz 超声 10 min, 备用。

电泳缓冲液: 20 mmol/L 磷酸二氢钠, 0.05% 羟丙基甲基纤维素, 6 mol/L 尿素, 用磷酸溶液调节 pH 至 2.75, 定容。用 0.45 μ m 水系滤膜对配制好的溶液进行过滤, 20 kHz 超声 10 min, 备用。

1.2 实验方法

1.2.1 原料乳样品的采集及制备 将待测牛乳样品在 4 $^{\circ}$ C 条件下 4000 r/min 离心 20 min 除去脂肪, 取一定体积的下层脱脂乳, 与样品缓冲液按体积比 1:4 混合, 室温放置 1 h 后用 0.45 μ m 的水系滤膜过滤, 备用。

1.2.2 原料乳的分类 利用体细胞分析测定仪测定每头牛所产牛乳的体细胞数。根据测定结果, 将原料乳按照体细胞数含量分为四组: 小于 3 万个/mL、20~25 万个/mL、55~60 万个/mL 及 100~130 万个/mL。

1.2.3 毛细管区带电泳分离条件 参照文献 [10], 非涂层毛细管(60 cm \times 50 μ m, 有效长度: 50 cm) 羟丙基甲基纤维素为添加物, 设置柱温为 35 $^{\circ}$ C, 紫外检测波长为 214 nm, 选择 pH2.75 的磷酸盐缓冲液为样品缓冲液及上样缓冲液, 压力进样方式为 1.0 psi、10 s, 分离电压设为 25 kV。

1.2.4 牛乳样品及标准品的毛细管电泳测定 取处

理好的牛乳样品 1 mL 于进样瓶中, 按照优化好的电泳条件进行测定, 每个样品重复测定两次。毛细管使用前的活化以及实验过程中毛细管的清洗程序如下^[8]。

毛细管使用前的活化程序: 调节压力至 20 psi, 先后用 0.1 mol/L NaOH 溶液、0.1 mol/L HCl 溶液和超纯水冲洗 10、5 和 2 min。

样品测定开始前, 毛细管的冲洗程序为: 调节压力至 70 psi, 先后用超纯水、0.1 mol/L NaOH 溶液、超纯水、电泳缓冲液分别冲洗 1、2、2 和 5 min。

样品测定结束后, 毛细管的冲洗程序: 调节压力至 70 psi, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液冲洗 10 min, 再调节压力至 50 psi, 先后用 0.1 mol/L HCl 溶液和超纯水冲洗 10 和 2 min。

1.2.5 牛乳蛋白毛细管区带电泳图谱的建立 将实验样品按照优化好的电泳条件进行测定, 得到各自的电泳图谱, 并按以下步骤对电泳图谱进行处理: 对获得的一系列电泳图谱进行评价并得到牛乳蛋白毛细管区带电泳对照图谱; 选择各谱图中峰共有率不低于 70% 的作为确定指纹峰的依据; 采用牛乳蛋白标准品对电泳图谱中的主要乳清蛋白(α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白) 和酪蛋白(α -、 β -和 κ -酪蛋白) 进行标定; 并结合已有的文献报道^[1,8], 确定出这几种蛋白峰之外的电泳峰所代表的乳蛋白种类。

2 结果与讨论

2.1 牛乳蛋白标准曲线及方法评价

各牛乳蛋白标准品的毛细管电泳图谱如图 1 所示, 五种牛乳的主要蛋白组分中, α -La、 β -Lg 和 κ -CN 纯度较高, 呈现单一主峰; 而 α -CN 主要包含三个组分 α_2 -CN、 α_{s1} -CN 及 α_{s0} -CN, 根据产品标准品说明书及三种蛋白的性质分析, 确定迁移时间 15.6 min 的成分为 α_2 -CN、迁移时间 16.8 min 的成分为 α_{s1} -CN, 迁移时间 17.5 min 的成分为 α_{s0} -CN; β -CN 主要包含三个组分 β -CN B、 β A1-CN 和 β A2-CN, 根据产品标准品说明书及三种蛋白的性质分析, 确定迁移时间 18.5 min 的成分为 β -CN、迁移时间 19.3 min 的成分为 β A1-CN, 迁移时间 20.3 min 的成分为 β A2-CN。随后, 原料乳的检测也能够清晰分辨以上 9 个主要的蛋白组分(图 1)。

将不同浓度的乳蛋白标准品建立特征峰面积与浓度间的回归方程, 并进行重现性和回收率实验, 结果见表 1。五种牛乳中主要蛋白组分的相对迁移时间及峰面积的相对标准偏差均小于 5%, 加标回收率均在 88%~102% 之间, 表明方法的精密度和准确度较好。

2.2 不同 SSC 原料乳的蛋白组成分析

2.2.1 不同 SSC 数量的原料乳的毛细管电泳分析 采集得到的不同 SSC 数量的原料乳的毛细管电泳图谱见图 2。从图 2 中可以看出, 随着 SSC 数量的增加, 1~9 号样品峰的大小有不同程度的变化, 尤其是 β -CN(7 号峰) 和 β A1-CN(8 号峰) 出现了显著的下降; 而且随着 SCC 的提升, 也有新电泳峰的出现, 主要集中在 3 个迁移时间, 分别为 10~12 min(组分 A)、15~16 min(组分 B) 和 23~27 min(组分 C) 这

表1 各蛋白标准品的回归方程、相关系数、线性范围及对应的重复性和回收率

Table 1 The regression equation correlation coefficient linear range repeatability and recovery of each protein standard

蛋白种类	回归方程 (mg/mL)	相关系数 R^2	线性范围 (mg/mL)	检测限 (S/N=3)	重复性(n=6)		加标回收率 (% n=3)
					迁移时间(%)	峰面积(%)	
α -La	$y = 29557x + 1659.1$	0.9982	0.03~3.00	0.011	1.59	3.03	91.66
β -Lg	$y = 88448x + 234.81$	0.9986	0.06~6.00	0.022	1.68	2.38	101.33
α -CN	$y = 51874x + 87927$	0.9980	0.30~14.00	0.025	2.01	2.10	100.67
κ -CN	$y = 108195x - 70701$	0.9991	0.10~5.00	0.018	2.18	1.46	88.07
β -CN	$y = 28735x - 2402.3$	0.9988	0.10~12.00	0.020	2.26	1.83	102.00

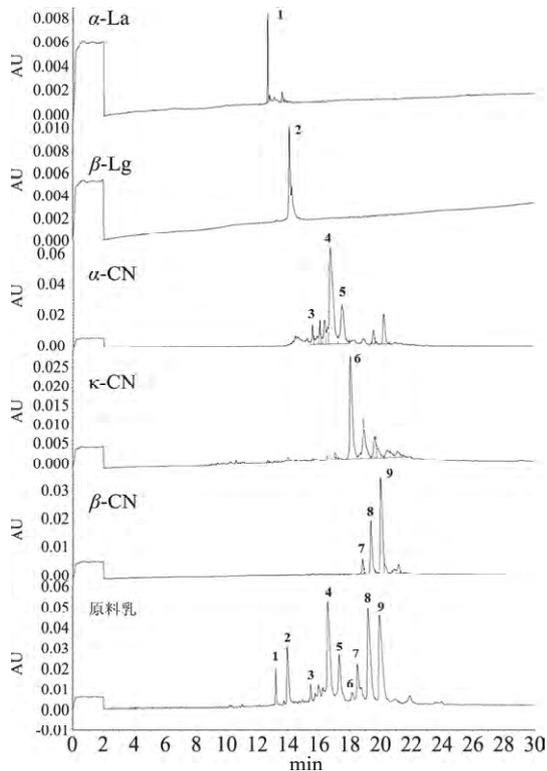


图1 牛乳蛋白标准品与原料乳的电泳图谱

Fig.1 Electrophoretograms of bovine protein standards and raw milk

注: 1: α -La; 2: β -Lg; 3: α_{2} -CN; 4: α_{s1} -CN; 5: α_{s0} -CN;
6: κ -CN; 7: β -CN B; 8: β A1-CN; 9: β A2-CN 图2同。

些组分可能是由 SSC 所携带的 plasmin 等蛋白酶的水解作用生成^[11]。

2.2.2 不同 SSC 数量的原料乳总蛋白含量变化 不同 SSC 的原料乳中总蛋白含量变化如图 3 所示, 分别用 Foss 乳成分及体细胞分析仪和毛细管区带电泳谱图中的峰面积来表征。常用的 Foss 乳成分及体细胞分析仪测定得到的总蛋白含量结果表明, 不同 SSC 的原料乳间总蛋白含量并无显著变化($p > 0.05$)。然而, 用本文建立的毛细管区带电泳法的结果表明, 乳中总蛋白含量随着 SSC 的增加有上升趋势, 当 SSC 增加到 100 万个/mL 以上时, 开始有显著性差异($p < 0.05$)。这一结果与 Santos 等^[1]的报道一致。

2.2.3 不同 SSC 数量的原料乳蛋白组成变化 不同 SSC 的原料乳的毛细管电泳谱图中各特征峰对应的峰面积变化如表 2 所示。结合表 2 可知, 随着体细胞数的增加 β -CN B 和 β A1-CN 两种蛋白的相对含

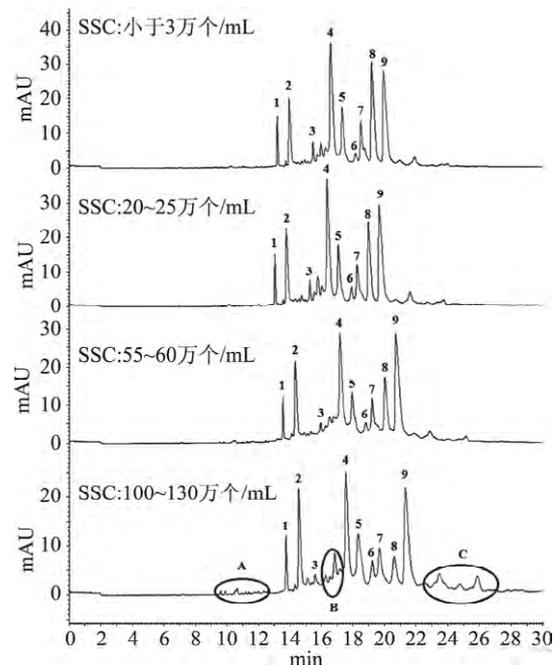


图2 不同体细胞数原料乳样品的电泳图

Fig.2 Electrophoretograms of raw milk with different somatic cell count

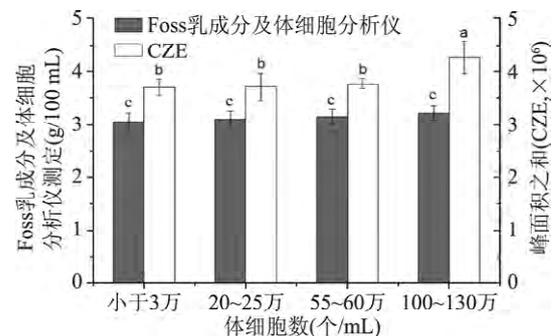


图3 不同体细胞数的原料乳中总蛋白含量

Fig.3 Total protein contents of raw milk with different somatic cell count

量显著降低($p < 0.05$); α -La、 α_{2} -CN 和 β A2-CN 的相对含量没有显著性变化($p > 0.05$); β -Lg、 α_{s1} -CN、 α_{s0} -CN、 κ -CN 的相对含量显著增加($p < 0.05$)。

2.2.4 不同 SSC 数量的原料乳乳清蛋白和酪蛋白的比例的变化 乳清蛋白和酪蛋白的比例是决定原料乳加工方式的重要依据。根据图 2 中各个蛋白组分的含量结果, 分析了不同 SSC 数量的原料乳中乳清蛋白和酪蛋白的变化规律, 结果如表 3 所示。随着

表2 电泳图中各组分峰占总峰面积的比例

Table 2 The peak area proportions of each component in electrophoregrams

峰编号	乳蛋白组分	占总峰面积的比例(%)			
		SCC 低于3万个/mL	SCC 20~25万个/mL	SCC 55~60万个/mL	SCC 100~130万个/mL
1	α -La	2.18 ± 0.19 ^a	2.16 ± 0.15 ^a	2.16 ± 0.30 ^a	2.42 ± 0.14 ^a
2	β -Lg	7.24 ± 0.55 ^a	7.83 ± 0.45 ^a	8.69 ± 0.69 ^b	8.78 ± 0.76 ^b
3	α_{2} -CN	2.18 ± 0.25 ^a	2.40 ± 0.26 ^a	2.33 ± 0.17 ^a	2.41 ± 0.09 ^a
4	α_{s1} -CN	7.24 ± 0.43 ^a	7.83 ± 0.76 ^a	8.79 ± 0.53 ^b	7.84 ± 2.02 ^a
5	α_{s0} -CN	10.83 ± 0.36 ^a	10.53 ± 0.41 ^a	10.74 ± 0.49 ^a	11.30 ± 0.19 ^b
6	κ -CN	1.80 ± 0.10 ^a	2.94 ± 0.34 ^b	3.16 ± 0.45 ^b	3.27 ± 0.78 ^b
7	β -CN B	10.10 ± 1.97 ^a	8.64 ± 1.20 ^{ab}	8.07 ± 0.46 ^b	7.91 ± 1.54 ^b
8	β A1-CN	12.85 ± 1.21 ^a	13.81 ± 1.78 ^a	0.72 ± 2.26 ^b	0.69 ± 1.81 ^b
9	β A2-CN	23.88 ± 4.35 ^a	19.50 ± 1.68 ^a	21.02 ± 3.66 ^a	23.91 ± 3.80 ^a

注: 同行内不同字母代表具有差异显著($p < 0.05$)。

表3 主要乳清蛋白和总酪蛋白占总蛋白的比例

Table 3 The proportions of the main whey protein and casein

体细胞数组别	主要乳清蛋白/总蛋白(%)	酪蛋白/总蛋白(%)	总酪蛋白/乳清蛋白
低于3万个/mL	9.43 ± 0.41 ^c	79.97 ± 0.63 ^a	8.52 ± 0.66 ^a
20~25万个/mL	9.78 ± 0.52 ^{bc}	75.73 ± 0.47 ^b	7.59 ± 0.35 ^b
55~60万个/mL	10.95 ± 0.61 ^a	72.06 ± 0.22 ^c	6.61 ± 0.57 ^c
100~130万个/mL	10.26 ± 0.42 ^{ab}	72.14 ± 0.43 ^c	7.08 ± 0.79 ^{bc}

注: 同列内不同字母代表具有差异显著($p < 0.05$)。

SSC的增加,主要乳清蛋白的含量呈上升趋势,这与已有研究结果一致^[3]。同时,酪蛋白占总蛋白的比例随牛乳体细胞数的增加显著降低,这是因为在高体细胞数牛乳中存在相应的蛋白水解酶,能将酪蛋白水解^[1]。酪蛋白的水解及乳清蛋白的增加导致总酪蛋白与乳清蛋白的比例逐渐降低(表3)这一比值的改变不仅影响乳蛋白的结构,还会影响乳制品的宏观物性如酸奶的凝胶质量等。研究指出,随着酪蛋白与乳清蛋白比例的升高,酸奶凝胶的硬度和黏度均有所降低,酸奶的颗粒变粗糙。相同固形物含量的酸奶,随着酪蛋白与乳清蛋白比例的降低,酸奶的硬度和持水力均有所增加^[12]。

3 结论

本文利用毛细管电泳法测定了不同SSC的原料乳的蛋白组成及含量,结果表明:当SSC增加到100万个/mL以上时,总蛋白的含量才会显著增加($p < 0.05$),但不同体细胞数的原料乳中,蛋白组分及含量均不同。随着SSC的增加, α -乳白蛋白、 α_{2} -酪蛋白和 β A2-酪蛋白的含量无显著差异($p > 0.05$) β -CN B和 β A1-CN两种蛋白的相对含量显著降低($p < 0.05$), β -乳球蛋白、 α_{s1} -酪蛋白、 α_{s0} -酪蛋白、 κ -酪蛋白含量均显著增加($p < 0.05$)。鉴于蛋白质种类及含量的变化均会引起后续加工环节的品质差异,本文建立的毛细管区带电泳方法可以作为牛乳蛋白品质测定的一种快速、可靠的检测方法,为后续加工环节的原料选择提供依据。

参考文献

[1] Santos MV, Ma Y, Barbano DM. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life

storage[J]. Journal of Dairy Science 2003 86(8): 2491-2503.

[2] Yamasaki A, Yoshimura Y, Isobe N. Changes in the concentrations of somatic cell counts, lingual antimicrobial peptide and lactoperoxidase activity in milk at periovulatory period in dairy cows[J]. Animal Science Journal 2017 88(3): 484-488.

[3] Le Roux Y, Laurent F, Moussaoui F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change[J]. Veterinary Research 2003 34(5): 629-645.

[4] Rauh VM, Sundgren A, Bakman M, et al. Plasmin activity as a possible cause for age gelation in UHT milk produced by direct steam infusion[J]. International Dairy Journal, 2014, 38(2): 199-207.

[5] 杨永新, 王加启, 卜登攀, 等. 不同体细胞数牛乳中乳蛋白的比较蛋白质组学研究[J]. 中国农业科学, 2011, 44(12): 2545-2552.

[6] Ding XJ, Yang YY, Zhao S, et al. Analysis of alpha-lactalbumin, beta-lactoglobulin A and B in whey protein powder, colostrum, rawmilk and infant formula by CE and LC[J]. Dairy Science & Technology 2011 91(2): 213-225.

[7] Rauh VM, Sundgren A, Bakman M, et al. Plasmin activity as a possible cause for age gelation in UHT milk produced by direct steam infusion[J]. International Dairy Journal, 2014, 38(2): 199-207.

[8] Thiagode OM, Brenda LSPorto, Maria JVB, et al. Capillary zone electrophoresis for fatty acids with chemometrics for the determination of milk adulteration by whey addition[J]. Food Chemistry 2016 213(15): 647-653.

[9] Hutterer K, Dolník V. Capillary electrophoresis of proteins 2001-2003[J]. Electrophoresis 2003 24(22-23): 3998-4012.

[10] Czerwenka C, Müller L, Lindner W. Detection of the

adulteration of water buffalo milk and mozzarella with cow's milk by liquid chromatography - mass spectrometry analysis of β -lactoglobulin variants [J]. Food Chemistry, 2010, 122 (3): 901-908.

[11] Hamed H, Trujillo AJ, Juan B, et al. Interrelationships between somatic cell counts, lactation stage and lactation number

(上接第 201 页)

observational follow up of the trials of hypertension prevention [J]. Bmj British Medical Journal 2007, 334(7599): 885-893.

[8] Ruusunen M, Puolanne E. Reducing sodium intake from meat products [J]. Meat Science 2005, 70(3): 531-541.

[9] Aliño M, Grau R, Toldrà F, et al. Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin [J]. Meat Science 2009, 83(3): 423-430.

[10] Mónica Armenterosa, María - Concepción Aristoya, José Manuel Barat, et al. Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts [J]. Meat Science 2012, 90: 361-367.

[11] Barata J M, Baigtsa D, Aliño M, et al. Kinetics studies during NaCl and KCl pork meat brining [J]. Journal of Food Engineering 2011, 106: 102-110.

[12] Aliño M, Grau R, Toldrà F, et al. Physicochemical changes in dry-cured hams salted with potassium calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride [J]. Meat Science 2010, 86: 331-336.

[13] 张文敏, 董庆利, 宋筱瑜, 等. 乳酸钠对肉及肉制品防腐保鲜作用的研究进展 [J]. 食品科学 2016(1): 235-240.

[14] 陆振鑫, Frank Systemans. 乳酸盐在肉制品中延长货架期和抑制致病菌的作用 [J]. 中国食品添加剂 2000(2): 22-25.

[15] Fulladosa E, Serra X, Gou P, et al. Effects of potassium lactate and high pressure on transglutaminase restructured dry-cured hams with reduced salt content [J]. Meat Science 2009, 82(2): 213-218.

[16] Choi Y M, Jung K C, Jo H M, et al. Combined effects of potassium lactate and calcium ascorbate as sodium chloride substitutes on the physicochemical and sensory characteristics of low-sodium frankfurter sausage [J]. Meat Science 2013, 96(1):

and their influence on plasmin activity and protein fraction distribution in dromedary (*Camelus dromedaries*) and cow milks [J]. Small Ruminant Res 2012, 105(1-3): 300-307.

[12] 孙颖. 酪蛋白与乳清蛋白比例对乳蛋白结构的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学 2009.

21-25.

[17] Mukhopadhyay S, Majumdar G C, Goswami T K, et al. Fuzzy logic (similarity analysis) approach for sensory evaluation of chhana podo [J]. LWT - Food Science and Technology 2013, 53(1): 204-210.

[18] 王琼, 徐宝才, 于海, 等. 电子鼻和电子舌结合模糊数学感官评价优化培根烟熏工艺 [J]. 中国农业科学 2017(1): 161-170.

[19] 张露, 雅玮, 惠腾, 等. 低钠干腌肉制品研究进展 [J]. 肉类研究 2013(11): 45-49.

[20] 中国商业联合会商业标准中心. GB 5009.3-2016 食品中水分的测定 [S]. 北京: 中国中华人民共和国卫生部 2016.

[21] 郝红涛, 赵改名, 柳艳霞, 等. 肉类制品的质构特性及其研究进展 [J]. 食品与机械 2009(3): 125-128.

[22] 李亚苹. 风鹅低钠腌制风干工艺及贮藏性研究 [D]. 无锡: 江南大学 2017.

[23] 北京国农工贸发展中心. GBT 22210-2008 肉与肉制品感官评定规范 [S]. 北京: 中国中华人民共和国卫生部 2008.

[24] 潘志民, 邹文中, 邹艾一, 等. 模糊数学感官评价法优化培根加工工艺 [J]. 食品与机械 2014(2): 201-205.

[25] 李慧文. 猪肉制品 589 例 [M]. 北京: 科学技术文献出版社 2002.

[26] Guardia M D, Guerrero L, Gelabert J, et al. Sensory characterisation and consumer acceptability of small calibre fermented sausages with 50% substitution of NaCl by mixtures of KCl and potassium lactate [J]. Meat Science, 2008, 80(4): 1225-1230.

[27] 杨应笑, 任发政. 氯化钾作为腊肉腌制剂中氯化钠替代物的研究 [J]. 肉类研究 2005(9): 44-47.

欢迎订阅《食品工业科技》