牦牛乳脂肪球膜组成分析及蛋白热稳定性

何胜华，马 莺，崔艳华，李海梅，董爱军

（哈尔滨工业大学 食品科学与工程学院，150090 哈尔滨）

摘 要：为分析牦牛奶脂肪球膜（MFGM）的组成及探讨其蛋白的热稳定性，采用物理方法从牦牛奶脂肪中提取分离 MFGM. 结果发现在分离过程中 KCl 溶液洗涤次数较关键，洗涤 3 次较适宜. 牦牛 MFGM 主要由蛋白质（26.93%）和脂类（70.34%）两大物质组成，还含有少量的己糖、唾液酸和灰分. 牦牛 MFGM 蛋白的主要氨基酸是谷氨酸、亮氨酸、丝氨酸和赖氨酸，其中必需氨基酸占整个氨基酸的 49.48%. 当加热温度达60 ℃时，MFGM 蛋白特别是黄嘌呤氧化酶（XO）、过碘酸稀夫 6（PAS6）和过碘酸稀夫 7（PAS7）损失较大. 而 β－乳球蛋白和 α－乳白蛋白在此温度下与牦牛 MFGM 开始发生结合，MFGM 蛋白属于热不稳定蛋白.

关键词：牦牛奶；脂肪球膜；蛋白热稳定性；氨基酸

中图分类号：TS252.1 **文献标志码**：A **文章编号**：0367－6234(2012)10－0104－05

Component analysis and protein heat stability of yak milk fat globule membrane

HE Sheng-hua, MA Ying, CUI Yan-hua, LI Hai-mei, DONG Ai-jun

(School of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, 150090 Harbin, China)

Abstract: To analyze the component and protein heat stability of yak milk fat globule membrane (MFGM), physical method was used to extract and separate MFGM from yak milk fat. The results show that the wash times to separate MFGM is very critical, and the optimum wash time is three. The yak MFGM mainly contains protein (26.93%) and lipids (70.34%), and there are other minor components in MFGM such as hexane, sialic acid and ash. The predominant amino acids in yak MFGM are Glu, Leu, Ser, Lys and Vla, and among these amino acids, the essential amino acids account 49.48% of total amino acids. When heated to 60 ℃ the MFGM protein, especially for xanthine oxidase (XO) and Periodic acid Schiff 6/7 (PAS6/7), lose markedly. However, the SDS-PAGE under reducing conditions shows that the β-lactoglobulin and α-lactalbumin begin to associate with the MFGM at 60 ℃ the MFGM protein is heat unstable protein.

Key words: yak milk; milk fat globule membrane; thermal stability of protein; amino acid

乳脂肪球（MFG）以一种微小的球状物存在于奶中，直径约0.2～15.0 μm[1]，外面被一层很薄的膜包围，这层膜称为乳脂肪球膜（MFGM）[2]. MFGM中含有 25%～60% 的蛋白质，这些蛋白质在其他奶相中含量很少，MFGM 中蛋白质占奶中总蛋白的 1%～2%[3]. 通过聚丙烯凝胶电泳（SDS－PAGE）分离牛奶 MFGM 中蛋白质，会出现 7～8 条主要的蛋白带[4]，如黏蛋白（MUC1）、黄嘌呤脱氢酶/氧化酶（XDH/XO）、过碘酸稀夫Ⅲ（PAS Ⅲ）、过碘酸稀夫Ⅳ（PAS Ⅳ）、嗜乳脂蛋白（BTN）、过碘酸稀夫 6/7（PAS6/7）和 GTP 结合蛋白（GTPrS）. 近几年，MFGM 原料作为一种有价值的成分应用于食品加工新技术中，MFGM 蛋白的功能特性引起广泛兴趣，特别是有报道称 MFGM 蛋白有抗癌、防止幽门螺杆菌的感染和对脑脊髓炎的自身免疫作用[5－8]. 但是奶加工的一些过程，如常见的冷却、加热和均质都会很大程度地破坏 MFGM 蛋白的稳定性，其中加热是奶加工的一个

收稿日期：2011－08－01.
基金项目：国家自然科学基金资助项目（30871953）.
作者简介：何胜华（1974—），男，博士研究生，讲师；
马 莺（1961—），女，教授，博士生导师.
通信作者：马 莺，maying@hit.edu.cn.

关键过程，因此，研究热处理对 MFGM 蛋白的稳定性尤其重要. 我国在 MFGM 方面的研究还处在初级阶段，对奶 MFGM 的分离和组成及 MFGM 蛋白的热稳定性几乎没有报道.

牦牛乳含有较高的脂肪(5% ~8%)，而且脂肪球粒径较大(4.39 μm)，很适合分离奶油及 MFGM. 本文主要从牦牛乳脂肪中提取分离 MFGM，通过十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium Dodecylsulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis，SDS-PAGE)确定牦牛 MFGM 中的主要蛋白、组成及其热稳定性，并对牦牛 MFGM 蛋白的氨基酸组成进行分析.

1　实　验

1.1　实验材料

麦洼牦牛奶：采自四川红原县；邻苯二胺(OPD)：北京索莱宝科技有限公司；唾液酸(N－乙酰神经氨酸)标准品(购自 sigma).

1.2　实验设备

Agilent 1100 型高效液相色谱仪，配备四元梯度泵，100 位自动进样器，二极管阵列检测器(DAD)，化学工作站，离心机. 日立 835－50 型氨基酸分析仪. 电泳仪：DYY－8C，北京六一仪器厂.

1.3　实验方法

1.3.1　牦牛奶 MFGM 的分离提取

取新鲜牦牛乳，向每 100 mL 牦牛乳中加入蔗糖 5 g，于 42 ℃用小型乳脂分离机分离出奶油，将分离出的奶油不经洗涤和用 1.5 g·L^{-1}的 KCl 于小型乳脂分离机中洗涤 3 次并收集奶油，洗涤的目的是去除附着于脂肪上的酪蛋白和乳清蛋白，洗后和未洗的奶油于 4 ℃冷藏 12 h 后于 42 ℃溶解，溶解后的奶油用搅拌器搅乳 10 min，加少量去离子水，分离出黄油和酪乳. 分离出的黄油于 60 ℃加热融化，然后加入等体积的去离子水，形成的浆液在 4 kr/min 离心 15 min，收集上清液并与酪乳混合，用 0.01 mol/L 的 HCl 将上述合并液调至 pH4.8 于室温(25 ℃)净置 30 min 使 MFGM蛋白沉淀，于 4 kr/min 离心 15 min 收集沉淀物和悬浮的 MFGM 小体，向收集物中加蒸馏水并用 0.01 mol/L 的 NaOH 调至 pH6.8. 纯化后的 MFGM 储存于－20 ℃，待分析.

1.3.2　牦牛 MFGM 透射电镜

将分离提纯的 MFGM 用戊二醛在 4 ℃固定在 2.5 h 以上，然后用 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液(PBS)pH7.2 清洗 3 次，每次 15 min，洗涤后用 1% 锇酸固定 1.5 h，接着用 0.1 mol/L PBS pH7.2 再清洗 3 次，每次 15 min，洗涤后分别用体积分数为 50%、70%、90% 的乙醇梯度脱水 15 min，最后用 100% 乙醇脱水两次，每次 10 min. 用 100% 乙醇与 100% 丙酮(体积比为 1∶1)继续脱水 10 min 后，再用 100% 丙酮脱水 10 min，接着用 100% 丙酮与 812 树脂(体积比为 1∶1)包埋 30 min，再用 100% 丙酮与 812 树脂(体积比为 1∶2)包埋 2 h，梯度聚合 3 d 后，修块、切成厚度为 60 nm的小块，电镜双重染色后进行观察.

1.3.3　牦牛 MFGM 的成分分析

牦牛 MFGM 的蛋白质含量分析采用凯氏定氮法(AOAC，1974). 总脂质含量分析采用文献[9]方法. 已糖含量采用苯酚－硫酸法，参照文献[10]. 唾液酸含量采用高效液相色谱法，色谱条件为：色谱柱，Agilent TC－C18 柱(4.6 mm × 250 mm，5 μm)；柱温，35 ℃；流动相，1.0% 四氢呋喃水溶液(含 0.2% 磷酸)－乙腈(体积比为 92∶8)；检测波长，230 nm；流速，1.0 mL/min；进样体积，10 μL.

样品处理：准确称取 1 g 牦牛奶 MFGM，用浓度为 0.1 mol/L 的硫酸溶液 8 mL 水解，在水浴锅中 80 ℃条件下水解 2 h，取出后冷却，于 4 kr/min离心 15 min，取上清液调 pH 值至 4 ~6，将滤液定容至 10 mL，用移液管准确移取 2 mL 滤液，加入 10 g/L 邻苯二氨盐酸盐溶液(用 0.2 mol/L 硫酸氢钠溶液溶解)1 mL，再置于 80 ℃水浴锅中加热 30 min，取出后冷却，经 0.45 μm 膜过滤后精密吸取上述溶液 10 μL 注入液相色谱仪，记录峰面积. 以唾液酸标准品作标准曲线，计算出唾液酸的含量；牦牛 MFGM 灰分含量的测定通过用马福炉于 550 ℃灼烧完全后质量的变化来计算.

1.3.4　牦牛 MFGM 蛋白的 SDS－PAGE 分析

将分离的牦牛 MFGM 用上样液稀释后，取 10 μL上样于 15% 的 SDS-PAGE，电泳槽开始电压稳定在 85 V，进入分离胶后电压稳定在 120 V，分离的蛋白用考马斯亮兰染色 1 h，然后用脱色液(V(冰乙酸)∶V(无水乙醇)∶V(水) = 100∶50∶850)进行脱色，最后经凝胶成像获得 MFGM 蛋白分离图.

1.3.5　牦牛 MFGM 蛋白的热稳定性

新鲜的牦牛奶脂肪经 KCl 洗涤 1 次后分别在 40、50、60、70 和 80 ℃加热 15 min，冷却至室温后按照 1.3.1 的方法提取分离牦牛 MFGM，在提取过程中不再需要用 KCl 洗涤脂肪，目的是观察牦

牛 MFGM 蛋白和牦牛乳中酪蛋白和乳清蛋白的相互作用. 以不加热为对照组. 分离的 MFGM 蛋白进行 SDS – PAGE(质量分数分别为 15% 的浓缩胶和 5% 的分离胶)分析.

1.3.6 牦牛乳 MFGM 的氨基酸分析

应用日立 835 – 50 型氨基酸分析仪附可见光检测器进行氨基酸的测定. 色谱条件:分析柱为 150 mm,Φ4.0 不锈钢柱(2169#树脂);去氨柱,120 mm,Φ4.0 不锈钢柱(2150#树脂). 泵 1 流速为 0.55 mL/min(压力为 90 ~ 140 kg/cm^2);柱温 58 ℃,反应盘温度 100 ℃. 采用外标法进行定量. 样品制备采取蛋白质保护性氧化酸水解法.

2 结果与讨论

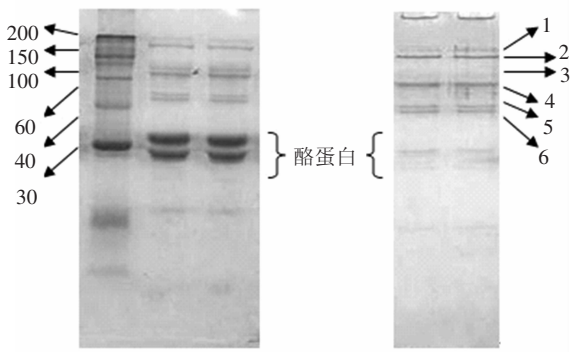
2.1 牦牛 MFGM 的分离及透射电镜

MFGM 的分离主要有物理和化学分离两种方法,物理方法主要是分离的乳脂肪经过 KCl 洗涤后,通过反复的冷冻和溶解,最后通过搅打使 MFGM从 MFG 上脱落并释放出来进入水相,再通过沉淀和高速离心收集 MFGM. 化学方法是通过利用极性对质子惰性溶剂、胆汁盐或非离子型洗涤剂使 MFGM 直接释放出来. 但是直接提取可导致 MFGM 得率偏低,另外应用化学物质的浓度、提取的时间和温度也可以造成 MFGM 组分在一定程度上发生变化.

图 1 是牦牛乳脂肪洗涤前和洗涤后分离的 MFGM 蛋白的 SDS-PAGE 图. 可以看出,牦牛 MFGM蛋白主要由一些分子质量较大的蛋白(47.8 ~ 225.6 ku)组成,主要有 5 种:黏蛋白(MUC1),分子质量为 225.6 ku,该蛋白的分子质量在牛奶、羊奶和牦牛奶中存在一些差别,不同品种的奶 MFGM,该蛋白的分子质量可能不一样,但其范围在 170 ~ 225 ku;黄嘌呤脱氢酶(XO),分子质量为 157.4 ku,该物质有较强的抑菌作用;过碘酸稀夫 III/IV 的分子质量为 78 ~ 98 ku,模糊的 PAS III/IV 蛋白条带显示了较低的浓度,主要是 PAS III/IV 蛋白与 MFGM 结合较松,而且是 MFGM的外围蛋白,很容易被 KCl 溶液洗涤下来而损失掉;嗜乳脂蛋白(BUT),分子质量为 67.5 ku、类似的蛋白在母乳中也被分离和发现,分子质量在 67 ~ 70 ku. 过碘酸稀夫 6(PAS6)和过碘酸稀夫 7(PAS7),分子质量分别为 50.2 ku 和47.8 ku.

本实验对牦牛 MFGM 的分离采用物理分离法,图 1(a),(b)是 MFGM 在分离之前未经过 KCl 洗涤脂肪和经过 KCl 洗涤脂肪 3 次后的 MFGM 蛋白的 SDS-PAGE 图. 可以看出,未经过 KCl 洗涤脂肪分离的 MFGM 含有大量的酪蛋白,而经过 KCl 洗涤 3 次后的 MFGM 的酪蛋白含量明显减少. 但是与 MFGM 结合较松的过碘酸稀夫Ⅲ(PASⅢ)和过碘酸稀夫Ⅳ(PASⅣ)经过 KCl 洗涤后含量有所下降. 因此,KCl 溶液洗涤 3 次比较合适.

图 2 是牦牛 MFGM 的透射电镜图(TEM),可以看出,MFGM 片段是折叠的和无规则的,在 MFGM上还是结合了一部分酪蛋白胶束,虽然这种结合看起来是简单的物理结合,但酪蛋白也有可能与 MFGM 通过化学方法相互结合在一起.



(a)洗涤前 (b)洗涤后

分离胶质量分数 15%,浓缩胶质量分数 5%,MFGM 蛋白分子质量根据蛋白标准品 Marker 确定,根据 Mather (2000)报道的 MFGM蛋白名称来命名. 1. 黏蛋白;2. 黄嘌呤脱氢酶;3. 过碘酸稀夫Ⅲ/Ⅳ; 4. 嗜乳脂蛋白;5. 过碘酸稀夫 6;6. 过碘酸稀夫 7.

图 1 牦牛乳脂肪洗涤前后分离的 MFGM 聚丙烯酰胺凝胶电泳图

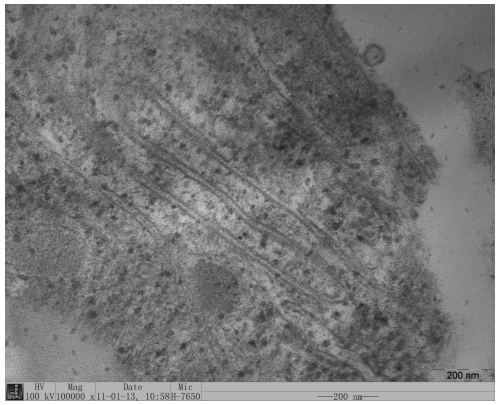


图 2 牦牛 MFGM 的透射电镜

2.2 牦牛乳 MFGM 的基本组成

牦牛 MFGM 的基本化学组成见表 1,主要由蛋白质和脂类两大物质组成,其 MFGM(干基)蛋白质质量分数为(0.27 ±0.01)g/g,脂质为(0.70 ±0.05)g/g,这两种物质占 MFGM 总质量分数的 97.27%,这一结果与 Kanno 和 Kim 报道的牛奶 MFGM 中的蛋白(28%)和脂质(64%)的质量分

数基本一致[11]. 另外，牦牛奶 MFGM（干基）还含有（0.10 ± 0.03）mg/g 的己糖、（0.005 ± 0.010）g/g 的唾液酸和（0.006 ± 0.010）g/g 的灰分，其中唾液酸是一族神经氨酸（neuraminic acid）的衍生物，在脑的发育和维护细胞膜、膜受体以及亚细胞器的正常生理功能中起到重要作用[12]. 它参与细胞表面的多种生理功能，促进婴儿的记忆力和智力发育. 大量的唾液酸存在于脑神经节苷酯中，也有一些存在于外神经系组织和体液中. 记忆形成研究表明脑神经节苷酯中的唾液酸在信息的传递和储藏方面起着关键的作用[13]. 另外，唾液酸是构成细胞膜黏液素、糖蛋白和糖脂的主要成分.

表 1　牦牛 MFGM 的基本化学组成

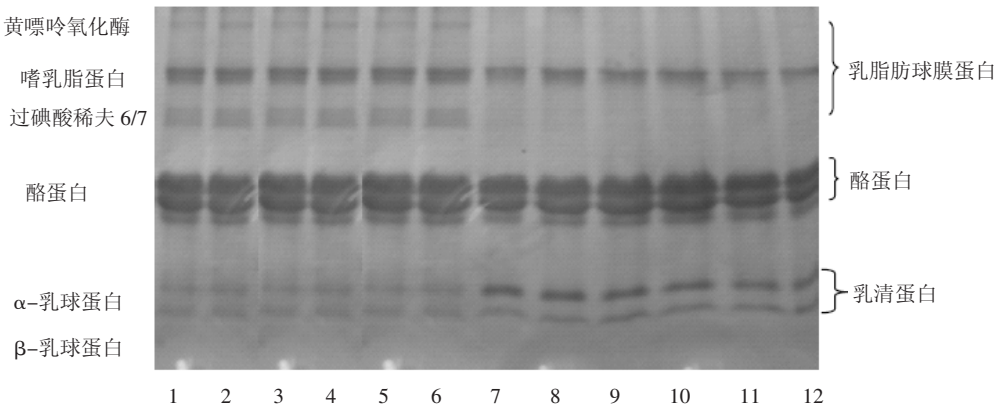
蛋白质 $g \cdot g^{-1}$	脂类 $g \cdot g^{-1}$	己糖 $mg \cdot g^{-1}$	唾液酸 $g \cdot g^{-1}$	灰分 $g \cdot g^{-1}$
0.27 ± 0.01	0.70 ± 0.05	0.10 ± 0.03	0.005 ± 0.010	0.006 ± 0.010

2.3　牦牛 MFGM 蛋白的热稳定性

加热是奶加工过程中的一个很重要的环节，有必要研究热对牦牛 MFGM 蛋白稳定性的影响. 牦牛奶脂肪经 KCl 洗涤 1 次后经不同温度加热后分离的 MFGM 蛋白的 SDS - PAGE 见图 3. 可以看出，当加热温度达 60 ℃时，MFGM 蛋白特别是黄嘌呤氧化酶（XO）、过碘酸稀夫 6（PAS6）和过碘酸稀夫 7（PAS7）损失较大. 过碘酸稀夫 6（PAS6）和过碘酸稀夫 7（PAS7）似乎迁移进入乳清中，但这种迁移机制至今不很清楚. 可能是 β - 乳球蛋白和牦牛 MFGM 的复杂性改变了膜的结构和环境，导致 PAS6 和 PAS7 的迁移和损失[14]. 这种相对较温和的温度导致牦牛 MFGM 蛋白的损失还有待研究，然而，这种作用在 40 ℃就能发生，原因可能是脂质相的熔点在大于 40 ℃后导致脂肪球表面结构发生变化，使得 MFGM 蛋白损失[15].

从图 3 还可以看出，β - 乳球蛋白在 60 ℃没有损失，浓度反而有所增加，这主要是 β-乳球蛋白与 MFGM 发生了结合. 该结合温度低于 β - 乳球蛋白的解链温度（78 ℃），β - 乳球蛋白与牦牛奶 MFGM 结合的机制还不很清楚，但这里似乎存在一些可能的途径. 据牛奶 β - 乳球蛋白与 MFGM结合的文献可以推断出牦牛奶 β - 乳球蛋白与牦牛 MFGM 的结合可能通过巯基与二硫键的相互结合，或许是通过直接竞争或 MFGM 在加热过程中被破坏，留下了空隙使乳清蛋白吸附到新暴露的脂肪球表面而使得 β - 乳球蛋白的浓度不断增加[16-17].

同样，图 3 也显示了 α - 乳白蛋白在 60 ℃也与牦牛 MFGM 发生了结合. 也有一些关于牛奶中 α - 乳白蛋白与 MFGM 结合的报道，这种结合的发生同样可以用来推断牦牛奶 α - 乳白蛋白与牦牛 MFGM 的结合也可能是通过巯基二硫键的相互作用，该结合方式与 β - 乳球蛋白相似，但是牦牛奶中的酪蛋白在整个加热过程中几乎没有发生变化[18].



道 1，2：对照组（未加热）；道 3，4：加热温度 40 ℃；道 5，6：加热温度 50 ℃；道 7，8：加热温度 60 ℃；道 9，10：加热温度 70 ℃；道 11，12：加热温度 80 ℃.

图 3　牦牛奶脂肪在不同加热温度下分离的 MFGM 的 SDS-PAGE 图

2.4　牦牛 MFGM 的氨基酸组成

牦牛 MFGM 的氨基酸组成见表 2，列出了牦牛 MFGM 的 15 种氨基酸质量分数. 其中蛋白质量分数最高的氨基酸是谷氨酸（200.1 mg/g），其次是亮氨酸（110.8 mg/g），紧接着是丝氨酸（96.7 mg/g）、赖氨酸（82.6 mg/g）等，牦牛 MFGM 中的必需氨基酸占整个氨基酸的 49.48%. 非必需氨基酸占 50.52%，两者之比接近于 1.0，说明牦牛乳 MFGM 蛋白氨基酸组成比例较合理.

表 2 牦牛 MFGM 蛋白的氨基酸组成

氨基酸	w/(mg·g^{-1})
Thr	66.2
Ser	96.7
Glu	200.1
Gly	62.7
Ala	65.1
Cys	6.3
Val	71.0
Ile	50.5
Leu	110.8
Tyr	38.9
Phe	44.2
Lys	82.6
His	27.4
Arg	41.0
Met	30.6

3 结 论

1)采用物理方法对牦牛 MFGM 进行分离,KCl 溶液洗涤 3 次效果较好. 透射电镜(TEM)分析表明,MFGM 片段是折叠的和无规则的,在MFGM上还是结合了一部分的酪蛋白胶束.

2)牦牛奶 MFGM 主要由蛋白质和脂类物质组成,其 MFGM 蛋白质质量分数为(0.27 ±0.01)g/g,脂质为(0.70 ±0.04)g/g,另外,牦牛 MFGM 还含有(0.09 ±0.02)mg/g 的己糖、(0.005 ±0.010)g/g 的唾液酸和 0.006 ±0.010 g/g 的灰分.

3)牦牛 MFGM 蛋白中的黄嘌呤氧化酶(XO)、过碘酸稀夫 6(PAS6)和过碘酸稀夫 7(PAS7)加热到 60 ℃损失较大. 另外,β-乳球蛋白和 α-乳白蛋白在 60 ℃开始与牦牛 MFGM 结合,随着温度升高,结合量不断增加.

4)牦牛奶中主要的氨基酸是谷氨酸、亮氨酸、丝氨酸、赖氨酸等,其中必需氨基酸占整个氨基酸的 49.48%.

参考文献:

[1] MARIE-CAROLINE M, MICHEL O. Native fat globules of different sizes selected from raw milk: thermal and structural behavior [J]. Chemistry and Physics of Lipids, 2004, 132:247 - 261.

[2] KOEN D, ROELAND R, NATACHA T, *et al.* Nutritional and technological aspects of milk fat globule membrane material [J]. International Dairy Journal, 2008, 18: 436 - 457.

[3] BERTRAM Y F, CARMEN S N, ALASTAIR K H, *et al.* Protein and lipid composition of bovine mmilk-fat-globule membrane [J]. International Dairy Journal, 2006, 17:275 - 288.

[4] HARJINDER S. The milk fat globule membrane-A biophysical system for food applications [J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2006, 11:154 - 163.

[5] SPITSBERG V L, GOREWIT R C. Isolation, purification and characterization of fatty-acid-binding protein from milk fat globule membrane: effect of bovine growth hormone treatment [J]. Pak J Nutr, 2002(1):43 - 48.

[6] ITO O, KAMATA S, HAYASHI M, *et al.* Inhibitory effect of cream and milk fat globule membrane on hypercholesterolemia in the rat [J]. Anim Sci Technol, Japan, 1992, 63:1022 - 1027.

[7] SPITSBERG V L, GOREWIT R C. Anti-cancer proteins found in milk cals news [J]. J Dairy Sci, 1997, 3(5): 80 - 87.

[8] WANG X, HIRMO S, MILLENR, *et al.* Inhibition of helicobacter pylori infection by bovine milk glycoconjugates in a BALB/cA mouse model [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2001, 20:275 - 281.

[9] VANIERM T, HOLM M, OHMAN R, *et al.* Developmental profiles of gangliosides in human and rat brain [J]. Journal of Neurochemistry, 1971, 18:581 - 592.

[10] DUBOIS K A, GILLES J K, HAMILTON P A, *et al.* Colorlmetric method for determination of sugars and related substances[J]. Anal Chem, 1956, 28:350.

[11] KANNO C, KIM D H. A simple procedure for the preparation of bovine milk fat globule membrane and a comparison of its composition, enzymatic activities, and electrophoretic properties with those prepared by other methods[J]. Agric Biol Chem, 1990, 54:2845 - 2854.

[12] FERRARI G, BATISTATOU A, GREENCE L A, *et al.* Gangliosides rescue neural cells from death after trophic factor deprivation [J]. Neurosci, 1993, 13: 1879 - 1887.

[13] KARIM M, WANG Bing. Is sialic acid in milk food for the brain [J]. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 2006 (1): 1 - 11.

[14] HE Shenghua, MA Yang, WANG Jiaqi, *et al.* Characterization of fat globules and milk fat globule membrane proteins in milk of different yak breeds[J]. Dairy Science and Technology, 2010, 90 (5):601 - 609.

[15] KEENA T W, DYLEWSKI D P. Intracellular origin of milk lipid globules and the nature of structure of milk fat globule membrane, advanced dairy chemistry, lipids Vol.2[M]. London: Chapman & Hall, 1995.

[16] MATHER I H. A review and proposed nomenclature for major proteins of the milk-fat globule membrane[J]. Journal of Dairy Science, 2000, 83:203 - 247.

[17] DALGLEISH D G, BANKS J M. The formation of complexes between serum proteins and fat globules during heating of whole milk[J]. Milchwissenschaft, 1991, 46:75 - 78.

[18] YE A, SINGH H, TAYLOR M W, *et al.* Interactions of whey proteins with milk fat globule membrane proteins during heat treatment of whole milk[J]. Lait, 2004, 84:269 - 283.

(编辑 刘 彤)