

含醇发酵乳的研制

贾梦凡^{1,2}, 吕欣^{*1}

(1. 西北农林科技大学 食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西师范大学 食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710119)

摘要: 从新疆酸马奶中分离筛选乳酸菌和酵母菌用于脱脂牛乳的混合发酵, 以期获得新的含醇发酵乳产品。通过单因素及正交试验优选出最优菌株及最优工艺参数, 并测定了该条件下发酵所得含醇发酵乳的理化指标。优选出的乳酸菌经分子鉴定结果为 *Lactobacillus crustorum*, 酵母菌为 *Trichosporon asahii*; 优化发酵工艺参数为: 发酵温度 37 °C, 发酵时间 14 h, 接种体积分数 4%, 接种比例 (乳酸菌/酵母菌) 2:3; 含醇发酵乳成品 pH (5.54±0.035), 滴定酸度为 (40.9±0.608) °T, 酒精度为 (0.266±0.047) %, 总酸质量浓度为 (3.274±0.197) g/L, 氨基酸态氮质量浓度 (0.372±0.0285) g/L, 持水力为 (31.28±0.0187) %, 还原糖质量浓度为 (76.93±3.07) mg/mL。

关键词: 乳酸菌; 酵母菌; 发酵乳

中图分类号: TS 252.54 文献标志码: A 文章编号: 1673-1689(2018)03-0268-06

Research on the Fermented Milk with Low Alcohol

JIA Mengfan^{1,2}, LU Xin^{*1}

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract: This study was to develop fermented milk with low alcohol by selecting the strain of lactic acid bacteria and yeasts from koumiss of Xinjiang Autonomous Region. The fermentation of skim milk by lactic acid bacteria and yeasts was investigated. Mixed fermentation conditions were optimized by the single-factor test and orthogonal experiment, after which the physicochemical properties of the fermented milk were assayed. Conclusions are as follows: the selected lactic acid bacterium was *Lactobacillus crustorum* and the yeast was *Trichosporon asahii*. The process parameters are as follows: fermentation temperature was 37 °C, fermentation time was 14 h, inoculation amount was 4%, lactic acid bacteria:yeast = 2:3. The physicochemical properties of the fermented milk with low alcohol product were: pH (5.54±0.035), titration acidity (40.9±0.608) °T, ethanol (0.266±0.047) %, total acid (3.274±0.197) g/L, amino acid nitrogen (0.372±0.0285) g/L, retention ability (31.28±0.0187) %, reducing sugar (76.93±3.07) mg/mL.

Keywords: lactic acid bacteria, yeast, fermented milk

收稿日期: 2015-10-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31000819)。

* 通信作者: 吕欣(1975—), 男, 上海人, 工学博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品生物技术方面的研究。

E-mail: xinlu@nwsuaf.edu.cn

引用本文: 贾梦凡, 吕欣. 含醇发酵乳的研制[J]. 食品与生物技术学报, 2018, 37(03): 268-273.

目前发酵乳多由嗜热链球菌与保加利亚乳杆菌等乳酸菌发酵而成。近年来,随着人民生活水平的提高,人们对发酵乳的风味质地、新奇口感以及营养强化等方面有了更高的追求^[1]。其中,开菲尔、酸马奶酒等引起了广泛关注^[2]。酸马奶酒是一种以新鲜马乳为原料,自然发酵而成的具有一定保健功效,呈乳白色、均匀的含醇发酵乳饮料,其对心血管疾病、神经性疾病、消化系统疾病、糖尿病、肺结核及肺气肿等都具有一定治疗作用,并对某些癌症有防治作用^[3-5]。但是马奶的季节性、来源少及低产量限制了酸马奶酒的产业化发展^[6]。

作者以牛乳为原料,利用从新疆酸马奶中分离得到的乳酸菌及酵母菌混合发酵生产含醇发酵乳,优选乳酸菌和酵母菌并进行分子鉴定,进一步研究发酵温度、发酵时间、接种体积分数及接种比例等对发酵乳的影响,建立以牛乳为原料生产含醇发酵乳的最优工艺。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

乳酸菌培养基(MRS)^[7];酵母浸出粉胨葡萄糖培养基(YPD)^[8];脱脂牛乳:将脱脂牛乳粉溶于蒸馏水(1:9)中搅拌均匀,加入5%白砂糖,在114℃条件下灭菌10 min后,迅速冷却待用。乳酸菌及酵母菌:分离自新疆酸马奶酒;白砂糖:市售一级;细菌基因组DNA提取试剂盒:OMEGA公司;酵母菌基因组DNA提取试剂盒:上海生物工程有限公司;SanPrep柱式DNA胶回收试剂盒:上海生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

722s可见分光光度计:上海精密科学仪器有限公司制造;Thermo Fisher高速冷冻离心机:美国热电公司;3420A气相色谱仪:北京北分瑞利分析仪器(集团)有限责任公司;PHS-3C精密pH计:上海日岛科学仪器有限公司;MJ Mini梯度PCR仪:伯乐生命医学产品(上海)有限公司;JY04S-3C凝胶成像系统:北京君意东方电泳设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 乳酸菌的筛选 将从酸马奶中分离出的9株乳酸菌冻干菌种分别接种于MRS液体培养基中,活化两代后保存于4℃ MRS斜面待用。并取30 mL菌液于8 000 r/min离心3 min,倒去悬浮液,给沉在离心管底部的菌体加入20 mL生理盐水,悬

浮,再离心2 min后,将沉淀菌体接种于灭菌脱脂乳中。于37℃发酵至凝乳,再接种至100 mL灭菌脱脂乳中,通过感官评定筛选乳酸菌菌株进行后续乳酸菌与酵母菌混合发酵试验研究。

1.3.2 酵母菌的筛选 将从酸马奶中分离出的14株酵母菌冻干菌种分别接种于YPD液体培养基中,活化两代后保存于4℃ YPD斜面待用。并取30 mL菌液于8 000 r/min离心3 min,倒去悬浮液,给沉在离心管底部的菌体加入20 mL生理盐水,悬浮,再离心2 min后,将沉淀菌体接种于灭菌脱脂乳中。于28℃发酵至产生大量气泡,再接种至100 mL灭菌脱脂乳中,通过感官评定筛选酵母菌菌株用于后续乳酸菌与酵母菌混合发酵试验的研究。

1.3.3 菌株DNA的提取、扩增及分子鉴定 乳酸菌的提取按照OMEGA细菌基因组DNA提取试剂盒操作,扩增参照文献[9]操作;酵母菌的提取按照酵母菌基因组DNA提取试剂盒操作,扩增参照文献[10-11]操作。

将电泳回收产物用冰袋保存寄到生工生物工程(上海)股份有限公司测序,测得乳酸菌菌株16S rDNA序列及酵母菌菌株26S rDNA序列后,在NCBI上进行BLAST比对。利用MEGA6.0软件绘制系统发育树。

1.3.4 单因素和正交试验 分别选取乳酸菌与酵母菌混合发酵温度为26、28、30、32、34、36、38℃,混合发酵时间为8、10、12、14、16、18、20 h,接种比例(乳酸菌/酵母菌)为2:8、3:7、4:6、5:5、6:4、7:3、8:2,接种体积分数为2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%;进行单因素发酵试验,选出对试验结果影响较大的指标参数进行正交试验,从而优化工艺参数,得到较优产品。

根据单因素试验结果设计因素水平表,做正交表进行正交试验,优化含醇发酵乳的工艺参数。试验因素与水平见表1。

表1 因素水平表

Table 1 Factors and levels in orthogonal design

水平	发酵温度/℃	发酵时间/h	接种体积分数/%	接种比例 (乳酸菌/酵母菌)
1	30	14	4	1:1
2	33.5	16	6	3:2
3	37	18	8	2:3

1.3.5 分析方法 理化指标:pH用PHS-3C精密pH计测定^[12];滴定酸度用酸碱滴定法测定^[13];酒精

度用气相色谱法测定^[14];总酸及氨基酸态氮按照奶酒国标 GB/T 23546-2009 方法测定^[15];持水力按照文献[16]的方法测定;还原糖质量浓度参照文献[17]的方法测定。

感官指标:本产品感官评定方法采用综合评分法,略有改动^[18]。在有明亮的自然光、温度为 25℃ 的房间内依据产品特点进行感官评定,感官评分标准(满分 100 分)见表 2。

表 2 含醇发酵乳感官评分表
Table 2 Sensory evaluation of the fermented milk with low alcohol

项目	评分标准	评分
外观 (20 分)	呈乳黄色,乳体均匀一致,无乳析出和沉淀物	10~20
	呈白色或其他,有少量蛋白沉淀	0~10
香气和滋味 (60 分)	乳香纯正,酒香柔和,刹口感适宜,酸甜协调	40~60
	乳香良好,淡淡酒香,刹口感不适,较酸涩	20~40
	乳香一般,非常酸涩,刹口感不适或无,有异味	0~20
风格 (20 分)	具有奶酒典型风格	10~20
	奶酒典型风格不明显	0~10

2 结果与分析

2.1 菌株的筛选

2.1.1 乳酸菌 取活化两代后的 9 株乳酸菌 MRS 菌液 30 mL,于 8 000 r/min 离心 3 min,除去悬浮液后,给沉在离心管底部的菌体都加入 20 mL 生理盐水,再离心 2 min,将 9 种菌体分别接种于灭菌脱脂乳中,再将脱脂乳放置于 37℃ 发酵 24 h 后,进行感官评定,见表 3。选择 6 号乳酸菌菌株进行后续试验。

表 3 乳酸菌发酵性能试验结果
Table 3 Results of lactic acid bacteria fermentation performance test

乳酸菌菌号	感官评分
1	61
2	45
3	47
4	59
5	63
6	69
7	50
8	62
9	51
空白对照	50

2.1.2 酵母菌 取活化两代后的 14 株酵母 YPD 菌液 30 mL,于 8 000 r/min 离心 3 min,除去悬浮液后,给沉在离心管底部的菌体都加入 20 mL 生理盐水,再离心 2 min,将 14 种菌体分别接种于灭菌脱脂乳中,再将脱脂乳放置于 28℃ 发酵 24 h 后,进行感官评定,见表 4。

表 4 酵母菌发酵性能试验结果(脱脂乳中不含蔗糖)
Table 4 Results of yeast fermentation performance test (no sucrose in the skim milk)

酵母菌菌号	感官评分
1	60
2	52
3	61
4	50
5	51
6	53
7	68
8	50
9	69
10	51
11	52
12	65
13	54
14	52
空白对照	50

7 号、9 号、12 号气泡产生量适中,刹口感适中且品尝时具有发酵产生的特殊风味,选择 7、9 及 12 号酵母菌菌株进行下一步试验。

对选出的酵母菌再进行试验,观察它们在含 5% 蔗糖脱脂乳中的发酵情况并进行品尝和记录,见表 5。

表 5 酵母菌发酵性能试验结果(脱脂乳中含 5% 蔗糖)
Table 5 Results of yeast fermentation performance test (5% sucrose in the skim milk)

酵母菌菌号	感官评分
7	69
9	45
12	47
空白对照	50

7 号气泡产生量适中,有轻微刹口感且发酵风味浓郁,而 9 号、12 号产生大量气泡且有凝乳现象,摇动产生渣状沉淀,刹口感过于强烈,使人有不适感,故选择 7 号酵母菌菌株进行后续试验。

2.1.3 菌株分子鉴定结果 优选出的乳酸菌分子鉴定结果为 *Lactobacillus crustorum*, 酵母菌为 *Trichosporon asahii*。

对于面包乳杆菌(*Lactobacillus crustorum*)及阿氏丝孢酵母(*Trichosporon asahii*),目前多数研究报道只是将其从一些原料中分离鉴定出来,如面包乳杆菌(*Lactobacillus crustorum*)曾在酸面团中分离得到^[19-20];席琳乔等^[21]发现青贮复合系主要由4种微生物组成,其中包括*Lactobacillus crustorum*;董小婉^[22]等在新疆哈萨克族酸奶中也分离得到过*Lactobacillus crustorum*;王薇等^[23]首次从清香型白酒酿造过程中分离获得*Trichosporon asahii*,是对中国清香型白酒酿造酵母资源的补充;苏俊等^[24]从山西偏关县的酸性稷米汁中分离出*Trichosporon asahii*,发现其有广阔的pH耐受性。但是,关于菌株发酵条件等的研究报道很少,我们将*Lactobacillus crustorum*与*Trichosporon asahii*在牛乳中共发酵得到优化的含醇发酵乳,对菌种的发酵条件等作了初步探究,见图1-2。

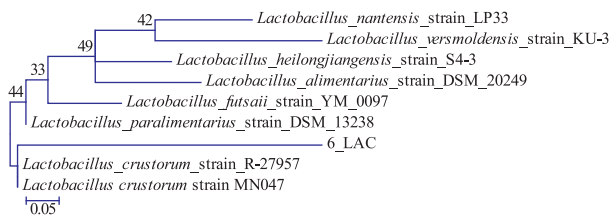


图1 乳酸菌基于16S rDNA的系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree of the lactic acid bacterium according to 16S rDNA sequences

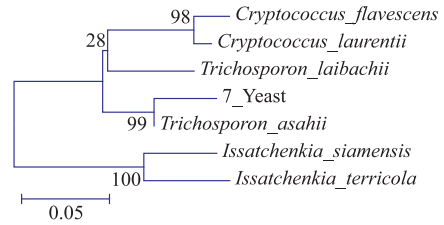


图2 酵母菌基于26S rDNA的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the yeast according to 26S rDNA sequences

2.2 正交试验结果与讨论

在单因素试验的基础上,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验确定含醇发酵乳最佳生产工艺,优化发酵条件,结果见表6。

由表6可知,影响含醇发酵乳质量的因素主次顺序为 $D > B > A > C$,即接种比例>发酵时间>发酵温度>接种体积分数。因此本试验条件下确定的含醇发酵乳的最佳发酵条件组合为 $A_3B_1C_1D_3$,即发酵温度为37℃,发酵时间为14h,接种体积分数为4%,接种比例(乳酸菌/酵母菌)为2:3。闫彬等^[25]研究初步确定了双菌混合发酵的最佳培养条件,但其采用两阶段发酵,发酵工艺较为复杂,我们尝试在发酵过程中同时加入乳酸菌与酵母菌静置培养,使其自然发酵,所得优化工艺参数与马荣山等^[26]的研究结果相近。

表6 含醇发酵乳发酵工艺 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 6 Results of orthogonal experiments about optimization fermentation conditions of the fermented milk with low alcohol

处理号	A 发酵温度/℃	B 发酵时间/h	C 接种体积分数/%	D 接种比例	试验指标		
					持水力(30%)	感官评分(70%)	综合评分
1	1(30)	1(14)	1(4%)	1(1:1)	27.1	70	57.13
2	1	2(16)	2(6%)	2(3:2)	27.31	69	56.49
3	1	3(18)	3(8%)	3(2:3)	26.02	71	57.51
4	2(33.5)	1	2	3	27.9	75	60.87
5	2	2	3	1	28.73	64	53.42
6	2	3	1	2	31.27	61	52.08
7	3(37)	1	3	2	29.72	74	60.72
8	3	2	1	3	31.57	84	68.27
9	3	3	2	1	30.14	59	50.34
K_1	171.13	178.72	177.48	160.89			
K_2	166.37	178.18	167.7	169.29			
K_3	179.33	159.93	171.65	186.65			
k_1	57.04	59.57	59.16	53.63			
k_2	55.46	59.39	55.9	56.43			
k_3	59.78	53.31	57.22	62.22			
极差 R	4.32	6.26	3.26	8.59			

2.3 含醇发酵乳产品理化指标

按照最优工艺参数进行发酵,所得含醇发酵乳的理化指标见表7。

与马荣山^[26]等比较,总酸质量浓度相近,酒精度较低,与黄翠姬^[27]等比较,滴定酸度及酒精度偏低,与张和平^[28]等比较,酒精度相近,氨基酸态氮质量浓度高。由于试验方法及所用菌种的不同,所得产品理化指标的测定结果存在差异。

表7 含醇发酵乳理化指标测定结果

Table 7 Results of physical and chemical indexes

项目	数值
pH 值	5.54±0.035
酒精体积分数/%	0.266±0.047
滴定酸度/°T	40.9±0.608
持水力/%	31.28±0.0187
还原糖质量浓度/(mg/mL)	76.93±3.07
总酸质量浓度/(g/L)	3.274±0.197
氨基酸态氮质量浓度/(g/L)	0.372±0.0285

参考文献:

- [1] GAO Songbo. Resent progress of fermented milk[J]. **China Dairy Industry**, 2004(8):46-49.(in Chinese)
- [2] LIU Zhenmin, LUO Chengxiang. The method of fermented milk with low alcohol[J]. **Food Industry**, 2000(1):21-23.(in Chinese)
- [3] AO Daofu, BU Rie. The study progress on Koumiss[J]. **Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities**, 2008(4):65-67.(in Chinese)
- [4] YU Lei. Study on low-alcohol beverage fermented milk[J]. **China Brewing**, 2009(3):176-177+184.(in Chinese)
- [5] LI Xingke, LI Kaixiong, ZOU Shengdong. Koumiss[J]. **China Dairy**, 2006(7):58-60.(in Chinese)
- [6] MU Zhisen, BAI Ying. Koumiss[J]. **Journal of Inner Mongolia Agricultural University**, 2003(1):116-120.(in Chinese)
- [7] WANG Ji, ZHANG Xue, LI Da, et al. Technological properties of *Lactobacillus plantarum* K25[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2012(5):518-524.(in Chinese)
- [8] HE Dongdong, ZHANG Kunsheng. Candida utilis growth optimization [J]. **Food Science and Technology**, 2010 (2):14-17.(in Chinese)
- [9] ZHANG Jie, XU Guihua, YOU Liqin. Identification of lactic acid bacteria by 16S rDNA sequencing[J]. **Innovational Edition of Farm Products Processing**, 2009(4):47-49, 69.(in Chinese)
- [10] ZHAO Lili, CHEN Cunshe, GUO Fenglian. Identification of yeast by 26S rDNA sequencing[J]. **China Brewing**, 2008, 15:49-51.(in Chinese)
- [11] LI Juan, BAI Fengyan. Rapid identification of clinical yeast species by single-strand conformation polymorphism analysis of 26S rDNA D1/ D2 domain[J]. **Acta Microbiologica Sinica**, 2009(8):1011-1017.(in Chinese)
- [12] LIU Hui, HU Yanying, ZHOU Yu, et al. Functional Kefir bovine lactic Koumiss optimum fermentation conditions[J]. **Food Industry**, 2004(1):35-37.(in Chinese)
- [13] WANG Hui, JIA Jianbo. Research on the production of solidified fermented milk with low alcohol[J]. **Guangzhou Food Science and Technology**, 2004(3):83-85, 114.(in Chinese)
- [14] XIE Yong, LIU Xiaoyu. Determination of ethanol in drink by gas chromatography[J]. **Analysis and Testing Technology and Instruments**, 2002, 8(1):56-58.(in Chinese)
- [15] 全国酿酒标准化技术委员会. GB/T 23546-2009 奶酒[S]. 北京:中国标准出版社, 2009.
- [16] YANG Tongxiang, LI Quanyang. Effect of fermentation temperature on the rheological properties of yogurt[J]. **China Dairy**

3 结语

作者以牛乳为原料,利用分离自新疆酸马奶中的乳酸菌及酵母菌,从中优选出一株乳酸菌及一株酵母菌并进行分子鉴定,乳酸菌为 *Lactobacillus crustorum*,酵母菌为 *Trichosporon asahii*,通过单因素及正交试验优化含醇发酵乳的生产工艺,优化的工艺参数为:发酵温度 37 ℃,发酵时间 14 h,接种体积分数 4%,接种比例(乳酸菌/酵母菌)2:3,在该条件下测定了含醇发酵乳成品的理化指标。本研究所用菌株均分离自新疆酸马奶,并将乳酸菌与酵母菌同时发酵,产品风味独特,与酸马奶接近,且生产工艺较简单,易于工业化生产,具实用性。因此,本研究为含醇发酵乳的开发及产业化提供了一定理论依据。

- Industry**, 2011(11):4-6, 15. (in Chinese)
- [17] HAN Dequan, ZHANG Jiajia. Application of DNS method to the determination of polysaccharide content in Pullulan fermentation broth[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2008(2):285-286, 290. (in Chinese)
- [18] WANG Lu, LI Xiaoxi, GU Linazi, et al. Optimization of fermentation process for koumiss by response surface methodology[J]. **China Brewing**, 2014(2):66-70. (in Chinese)
- [19] ZHANG Guohua, HE Guoqing. Diversity of lactic acid bacteria in traditional fermented foods and its functional properties[J]. **Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology**, 2013(9):174-181. (in Chinese)
- [20] LIU Tongjie, LI Yun, WU Shirong, et al. Isolation and identification of bacteria and yeast from Chinese traditional sourdough[J]. **Modern Food Science and Technology**, 2014(9):114-120, 148. (in Chinese)
- [21] XI Linqiao, WU Shuqi, MA Chunhui. Analysis of stabilization of silage microbial flora by DGGE in southern Xinjiang[J]. **Xinjiang Agricultural Sciences**, 2013(9):1730-1737. (in Chinese)
- [22] DONG Xiaowan, LI Baokun, LI Kaixiong, et al. Diversified comparison of lactic acid bacteria from traditional dairy products in Mongolian and Kazakh in Xinjiang[J]. **Science and Technology of Food Industry**, 2013(21):162-166. (in Chinese)
- [23] WANG Wei, WU Qun, XU Yan. Identification and analysis of yeast community structure in Chinese light-style liquor brewing process[J]. **Microbiology China**, 2012(9):1272-1279. (in Chinese)
- [24] SU Jun, FENG Xinzong, Gulsimay abaydulla, et al. Examination of pH tolerance test of two alkalitolerant yeasts [J]. **Microbiology China**, 2007(6):1114-1117. (in Chinese)
- [25] YAN Bin, HE Yinfeng. Symbiotic fermentation characteristics of lactic acid bacteria and yeast isolated from koumiss in Inner Mongolia[J]. **Food Science**, 2012(7):131-137. (in Chinese)
- [26] MA Rongshan, HUANG Jing. Study on fermentation technology of milk koumiss[J]. **China Brewing**, 2008(19):96-99. (in Chinese)
- [27] HUANG Cuiji, LIU Zhaoming, ZHANG Shuzhi. Study on the fermented milk with alcohol[J]. **Sichuan Food and Fermentation**, 2007(5):47-51. (in Chinese)
- [28] ZHANG Heping, SUN Tiansong, HAO Linke, et al. A study of using Kefir culture for cow's koumiss preparation[J]. **China Dairy Industry**, 1996(4):16-20. (in Chinese)

科技信息

印度全面禁止在食品中使用溴酸钾

2018年2月12日,印度食品安全标准局(FSSI)依据其食品安全和标准法案(2006)中第16(5)章的有关规定,FSSAI发布了一项关于食品添加使用要求的指令,旨在申明全面禁止将溴酸钾作为食品添加剂使用在任何食品中,有关要求即刻生效。

[信息来源]厦门WTO工作站. 印度全面禁止在食品中使用溴酸钾 [EB/OL]. (2018-2-14). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=56573>

欧盟对用正己烷萃取法和鱼油替代法去除鱼粉中二恶英和多氯联苯的去污方法进行评估

2018年2月12日,欧盟发布10.2903/j.efsa.2018.5174号文件。根据欧盟委员会的要求,EFSA食品链污染物小组(CONTAM)就鱼粉净化过程的评估提供了科学意见。

该去污过程需要使用溶剂(己烷)从鱼粉中提取鱼油以去除二恶英(多氯二苯并对二恶英(PCDD)和多氯二苯并呋喃(PCDF))以及二恶英样(DL-)和非二恶英样(NDL-)多氯联苯(PCBs),随后更换干净的鱼油。根据所提供的数据显示,该过程可以有效去除约70%的PCDD/F和DL-PCB,60%的NDL-PCB。数据显示,只要未处理鱼粉的污染水平在测试批次范围内,就可以符合目前欧盟对这些污染物的要求。有害物质(如己烷)不太可能留在最终产品中。

小组最终得出结论认为,通过溶剂提取和鱼油替代,去除鱼粉中二恶英(PCDD/Fs)和多氯联苯的净化方法,符合欧盟委员会于2015年5月19日提出的法规(EU)2015/786中所规定的可接受标准。

[信息来源]厦门WTO工作站. 欧盟对用正己烷萃取法和鱼油替代法去除鱼粉中二恶英和多氯联苯的去污方法进行评估[EB/OL]. (2018-2-14). <http://www.xmtbt-sps.gov.cn/detail.asp?id=56567>