
附件 4

含乳饮料及其乳原料中酪蛋白含量的测定

BJs 201915

1 范围

本方法规定了含乳饮料及其原料中酪蛋白四种亚型 α_{S1} -酪蛋白、 α_{S2} -酪蛋白、 β -酪蛋白、 κ -酪蛋白含量测定的方法。

本标准适用于含乳饮料及其原料中酪蛋白总含量的测定，不适用于发酵法、酶解法、水解法等工艺对蛋白质改性的样品。

2 原理

试样溶液中的酪蛋白采用等电点沉淀后复溶，用胰蛋白酶进行酶解，同时加入同位素内标， C_{18} 水相柱分离，采用液相色谱-串联质谱仪检测，内标法定量。

3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 浓盐酸 (HCl)。

3.1.2 甲酸 (CH_2O_2): 质谱级。

3.1.3 醋酸 (CH_3COOH): 色谱级。

3.1.4 氯化钠 (NaCl)。

3.1.5 乙腈 (CH₃CN): 质谱级。

3.1.6 三羟甲基氨基甲烷 (Tris, C₄H₁₁NO₃)。

3.1.7 聚乙二醇辛基苯基醚 (Triton X-100, C₃₄H₆₂O₁₁)。

3.1.8 胰蛋白酶 (Trypsin, C₆H₁₅O₁₂P₃): 质谱级, 猪源、牛源、基因工程来源均可; 建议采用基因工程级的胰蛋白酶以降低杂酶的影响。

3.2 试剂配制

3.2.1 盐酸溶液 (6 mol/L): 吸取 25 mL 浓盐酸, 用水稀释并定容至 50 mL。

3.2.2 甲酸溶液 (10% V/V): 吸取 1 mL 甲酸, 用水稀释并定容至 10 mL。

3.2.3 醋酸溶液 (0.3% V/V): 吸取 0.3 mL 醋酸, 用水稀释并定容至 100 mL。

3.2.4 氯化钠溶液 (0.5 mol/L, 含 0.2% Triton-X 100): 称取 14.625 g, 加 200 mL 水溶解后, 加入 1 mL Triton X-100 (3.1.7), 混匀溶解后, 用水定容至 500 mL。

3.2.5 Tris-HCl 溶液 (50 mmol/L): 称取 6.057 g Tris, 加 900 mL 水溶解, 用 6 mol/L 盐酸溶液 (3.2.1) 调 pH 至 8.5 后, 用水定容至 1000 mL, 经 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 备用。

3.2.6 胰蛋白酶液: 用醋酸溶液 (3.2.3) 将胰蛋白酶粉末溶解至 1 mg/mL 后, 按照单次使用量进行稀释分装, 如每瓶 50 μL 或 100 μL 的 0.2 mg/mL 胰蛋白酶, -80°C 冷冻保存, 避免反复冻融。

3.2.7 蛋白质浓度测定试剂盒 (基于考马斯亮蓝-Bradford 测定法或 BCA 蛋白质测定法均可)。

3.2.8 甲酸水溶液 (0.1% V/V): 吸取 0.5 mL 甲酸, 用水稀释并定容至 500 mL。

3.3 标准品

3.3.1 α_1 -酪蛋白特征肽标准品：YLGYLEQLLR，纯度须准确标定，或经国家认证的标准物质。

3.3.2 α_2 -酪蛋白特征肽标准品：FALPQYLK，纯度须准确标定，或经国家认证的标准物质。

3.3.3 β -酪蛋白特征肽标准品：VLPVPQK，纯度须准确标定，或经国家认证的标准物质。

3.3.4 κ -酪蛋白特征肽标准品：YIPIQYVLSR，纯度须准确标定，或经国家认证的标准物质。

3.3.5 α_1 -酪蛋白特征肽内标标准品：PSERYLGYL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) EQLRLKKY，HPLC 级纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.6 α_2 -酪蛋白特征肽内标标准品：RYQKFALPOYL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) KTVYQ，HPLC 级纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.7 β -酪蛋白特征肽内标标准品：SQSKVL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) PVPQKAVPY，HPLC 级纯度 $\geq 98\%$ 。

3.3.8 κ -酪蛋白特征肽内标标准品：KIAKYIPIQYVL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) SRYPY，HPLC 级纯度 $\geq 98\%$ 。

L* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) 同位素标记亮氨酸，以上标准品的相对分子量见附录 A 表 A1。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备溶液 (400 $\mu\text{mol/L}$)：根据标准品纯度及肽段标准品相对分子量计算不同酪蛋白亚型 (3.3.1-3.3.4) 称样量，精确称取适量 (精确至 0.01 mg) 标准品后，用 Tris-HCl 溶液 (3.2.5) 溶解，定容于 10 mL 容量瓶中，各酪蛋白亚型特征肽 (3.3.1-3.3.4) 浓度均为 400 $\mu\text{mol/L}$ ，此溶液密封后 -20 $^\circ\text{C}$ 冷冻保存，有效期 3 个月。

3.4.2 混合标准溶液：准确吸取各酪蛋白亚型特征肽标准储备液 (3.4.1) 1 mL 至 100 mL 容量瓶中，加入 Tris-HCl 溶液 (3.2.5) 稀释至刻度，得到各酪蛋白亚型特征肽浓度为 4 $\mu\text{mol/L}$ 的混合标准溶液，此溶液密封后 -20 $^\circ\text{C}$ 冷冻保存，有效期 1 个月。

3.4.3 混合标准工作溶液：准确吸取混合标准溶液（3.4.2），用纯水稀释，配制成浓度依次为 0.02 $\mu\text{mol/L}$ 、0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、0.2 $\mu\text{mol/L}$ 、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 、2 $\mu\text{mol/L}$ 的系列混合标准工作液， -20°C 冷冻保存，有效期 1 周。

3.4.4 内标标准储备溶液（10 $\mu\text{mol/L}$ ）：根据标准品纯度及肽段标准品相对分子量计算不同酪蛋白亚型（3.3.5-3.3.8）称样量，精确称取适量（精确至 0.01 mg）内标标准品后，用 Tris-HCl 溶液（3.2.5）溶解，配制成各酪蛋白亚型特征肽（3.3.5-3.3.8）浓度均为 10 $\mu\text{mol/L}$ 的内标标准储备溶液，此溶液密封后 -20°C 冷冻保存，有效期 3 个月。

3.4.5 内标混合标准溶液：准确分别吸取 0.25 mL 各酪蛋白亚型特征肽内标标准储备溶液（3.4.4）混合，配制成浓度为 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 内标混合标准溶液 1 mL， -20°C 冷冻保存，有效期 1 个月。

3.4.6 混合标准品酶解溶液：分别准确吸取 500 μL 各系列混合标准工作溶液（3.4.3）到 2 mL 低吸附聚丙烯（PP）离心管中，向每个浓度中加入 40 μL 内标混合标准溶液（3.4.5），再加入 5 μL 的 0.2 mg/mL 的胰蛋白酶液（3.2.6）（含 1 μg 胰蛋白酶），用纯水定容至 1 mL 后充分涡旋，在 1000 r/min， 4°C 条件下，离心 1 min。盖紧瓶盖，在 37°C 水浴或者恒温箱内孵育 15-16 h 后，取出加入 20 μL 10% 的甲酸溶液（3.2.2）终止酶解反应。混匀后，在 10 000 r/min， 4°C 条件下离心 10 min，静置，取上清液备用。上清液在 -20°C 冷冻保存放置 4-5 天内稳定。

3.5 材料

3.5.1 低吸附型 2 mL、15 mL、50 mL 聚丙烯（PP）离心管。

3.5.2 低吸附型聚丙烯（PP）枪头。

3.5.3 低吸附型聚苯乙烯（PS）96 孔板（用于总蛋白含量测定）。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。

4.2 酶标仪。

4.3 分析天平：感量分别为 0.001 g、0.000 1 g 和 0.000 01 g。

4.4 低温离心机：转速 $\geq 6\ 000$ r/min。

4.5 恒温水浴锅或可控温培养箱。

4.6 pH 计。

4.7 涡旋振荡器。

5 分析步骤

5.1 试样蛋白提取

含乳饮料固体试样（若含乳包装为独立包装，应与其他调味粉末混合后取样，例如：咖啡、奶茶等饮品）：试样称取 1 g~5 g (精确至 0.001 g) 于锥形瓶中；若为乳饮料液体试样：精密量取试样 10 mL 于锥形瓶中，加入 30 mL 预温（40℃）的 Tris-HCl 溶液（3.2.5），混匀后，放入 60℃水浴恒温振荡 1 h，取出冷却后用 Tris-HCl 溶液（3.2.5）转移定容至 50 mL 容量瓶（ $V_{\text{溶解体积}}$ ）。

乳粉原料粉试样：称取试样 0.5 g~1 g (精确至 0.001 g) 于锥形瓶中；若为液体乳试样：精密量取试样 1~2 mL 于锥形瓶中，加入 30 mL 预温（40℃）的 Tris-HCl 溶液（3.2.5），混匀后，放入 60℃水浴恒温振荡 1 h，取出冷却后用 Tris-HCl 溶液（3.2.5）转移定容至 50 mL 容量瓶（ $V_{\text{溶解体积}}$ ）。

精密量取 10 mL（ $V_{\text{沉淀体积}}$ ）上述完全溶解的试样溶液（视检无明显结块），按体积比（ $v/v=1:1$ ）加入 10 mL 氯化钠溶液（3.2.4），涡旋振荡。混匀后，用 10% 甲酸溶液（3.2.2）调节试样的 pH 值到 4.6~4.8 之间，2-8℃条件下静置过夜，待所有蛋白沉淀析出。已析出的沉淀试样在 10000 r/min，

4°C条件下离心 15 min，弃去上清液，沉淀以备复溶。

5.2 试样复溶

向上述沉淀试样（5.1）中加入 5 mL Tris-HCl 溶液（3.2.5），涡旋振荡 5~10 min，使溶液充分溶解，放入 60°C水浴恒温振荡 30 min，取出后继续混匀（视检无明显结块）。试样溶液在 10 000 r/min，4°C条件下离心 15 min，弃去沉淀，留取上清液。上述步骤重复 1 次，合并两次复溶的上清液后，可用 Tris-HCl 溶液（3.2.5）定容至 10 mL（ $V_{\text{复溶体积}}$ ）。

5.3 试样总蛋白的含量测定

按照 Bradford 或 BCA 法试剂盒所述方法测定复溶试样溶液（5.2）中总蛋白质的含量（单位：mg/mL）。

5.4 试样的稀释

为保证该实验在最佳的酶解效率下进行，需根据试样中总蛋白的含量测定结果（5.3），用 Tris-HCl 溶液（3.2.5）对复溶后的试样溶液进行稀释（ f_3 稀释倍数），使试样稀释液中的总蛋白含量保持在 0.2 mg/mL~0.7 mg/mL 之间。

5.5 试样的酶解

该实验的最佳酶解效率为：酶的质量/总蛋白质量（ w/w ）=1:20，根据此原则推算，若试样稀释液中总蛋白含量在 0.2 mg/mL~0.7 mg/mL 之间，按取样量 200 μ L 进行酶解（ $V_{\text{酶解体积}}$ ），则其对应的总蛋白质质量范围在 40 μ g~140 μ g 之间，加入胰蛋白酶的量则在 2 μ g~7 μ g 范围内。

取 200 μ L（ $V_{\text{酶解体积}}$ ）稀释后的试样（5.4），按照上述计算依据，加入适量胰蛋白酶液（3.2.6），向试样中加入 40 μ L 内标混合标准溶液（3.4.5），用纯水定容至 1 mL（ $V_{\text{定容体积}}$ ）后充分涡旋，在

1000 r/min, 4°C条件下, 离心 1 min。盖紧瓶盖, 在 37°C水浴或者恒温箱内孵育 15-16 h 后, 取出加入 20 μL 10% 的甲酸溶液(3.2.2)终止酶解反应。混匀后, 在 10000 r/min, 4°C条件下离心 10 min, 静置, 上清液以备分析。

注: 当回收率达不到本标准要求时, 应考虑对蛋白酶活力进行评价。可以选用市售标准蛋白质质控样品(标明准确蛋白含量且已知目标肽段分子量的产品) 随行酶解步骤, 检测评估及控制。

5.6 仪器参考条件

5.6.1 液相色谱参考条件

a) 色谱柱: C₁₈ 亲水柱 (T3), 柱长 100 mm, 内径 2.1 mm, 粒径 1.8 μm, 填料孔径 ≥ 100Å 或性能相当者;

b) 流动相: 流动相 A 为 0.1%甲酸-水溶液 (3.2.8), 流动相 B 为乙腈 (3.1.5), 参考梯度洗脱程序见表 1;

c) 流速: 0.3 mL/min;

d) 柱温: 30°C;

e) 进样量: 5 μL;

表 1 参考梯度洗脱程序

时间(min)	A: 0.1%甲酸-水溶液 (%)	B: 乙腈 (%)
0	95	5
0.5	95	5
4.5	50	50
4.6	35	65
6.6	35	65
6.7	95	5
9.0	95	5

5.6.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源；
- b) 扫描方式：正离子扫描；
- c) 监测方式：多反应监测模式,酪蛋白母离子、子离子和碰撞能量见表 2。
- d) 毛细管电压：3 500V；
- e) 锥孔电压：10 V；
- f) 离子源温度：150 °C；
- g) 偏转电压：50 V；
- h) 锥孔气流量：150 L/h；
- i) 脱溶剂气温度：500 °C；
- j) 脱溶剂气流速：800 L/h；

表 2 酪蛋白各亚型特征肽的主要质谱参数

序号	化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)
1	α_{S1} -酪蛋白特征肽	634.5	991*	45	21
			249	45	28
2	α_{S1} -酪蛋白特征肽 (内标)	638	998*	45	21
			249	45	28
3	α_{S2} -酪蛋白特征肽	490.5	648*	40	15
			226	40	30
4	α_{S2} -酪蛋白特征肽 (内标)	494	655*	40	15
			219	40	18
5	β -酪蛋白特征肽	391	568*	30	11
			213	30	9
6	β -酪蛋白特征肽	394.5	568*	30	11

	(内标)		285	30	12
7	κ-酪蛋白特征肽	626.5	975*	40	22
			249	40	24
8	κ-酪蛋白特征肽 (内标)	630	492*	45	18
			249	45	22

*为定量离子。

5.7 定性判定

按照上述条件测定待测液和混合标准工作液，如果试样待测液中色谱峰的保留时间与混合标准使用液中某一组分保留时间一致（变化范围在±2.5%之内），试样待测液中色谱峰定性离子对的相对丰度与浓度相当的混合标准使用液相对丰度一致，相对丰度（k）偏差不超过表3规定的范围，则可判定为试样中存在该成分。

表3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 (%)	k>50%	50%≥k>20%	20%≥k>10%	k≤10%
允许的最大偏差 (%)	± 20%	± 25%	± 30%	± 50%

6 分析结果的表述

6.1 试样溶液中各酪蛋白亚型的浓度计算

溶解的试样中各酪蛋白亚型的浓度按式（1）计算：

$$C_{\text{溶解酪蛋白}} = C_{\text{测定浓度}} \times f1 \times f2 \times f3 \dots\dots\dots(1)$$

$$f1 = \frac{V_{\text{定容体积}}}{V_{\text{溶解体积}}}$$

$$f2 = \frac{V_{\text{复溶体积}}}{V_{\text{沉淀体积}}}$$

$$f3 = \text{稀释倍数}$$

式中：

$C_{\text{溶解酪蛋白}}$ —（步骤 5.1 中）50 mL 试样溶解液中各酪蛋白亚型的蛋白浓度 α S1-、 α S2-、 β -、 κ -，单位为 $\mu\text{mol/L}$ ；

$C_{\text{测定浓度}}$ — 经标准曲线计算后各酪蛋白亚型的肽段浓度，即代表各酪蛋白亚型蛋白浓度，单位为 $\mu\text{mol/L}$ ；

$V_{\text{定容体积}}$ —（步骤 5.5 中）试样酶解后的定容体积，单位为 mL（1 mL）；

$V_{\text{酶解体积}}$ —（步骤 5.5 中）试样稀释液的酶解体积，单位为 mL（0.2 mL）；

$V_{\text{复溶体积}}$ —（步骤 5.2 中）复溶试样中沉淀蛋白的溶液体积，单位为 mL（10 mL）；

$V_{\text{沉淀体积}}$ —（步骤 5.1 中）从溶解的试样中抽取用于沉淀蛋白的溶解液体积，单位为 mL（10 mL）；

f_3 —（步骤 5.3 中）Bradford 或 BCA 法测定后，稀释复溶蛋白溶液的稀释因子。

6.2 试样溶液中各酪蛋白亚型的含量计算

试样中各酪蛋白亚型的含量按式（2）计算：

$$X_i = \frac{C_{\text{溶解酪蛋白}} \times M \times V_{\text{酶解体积}}}{m} \times 10^{-7} \dots\dots\dots(2)$$

式中：

X_i — 试样中各酪蛋白亚型的含量 α S1-、 α S2-、 β -、 κ -，单位为 g/100g 或 g/100mL；

$C_{\text{溶解酪蛋白}}$ —（公式 1 中）试样溶解液中的各酪蛋白亚型浓度 α S1-、 α S2-、 β -、 κ -，单位为 $\mu\text{mol/L}$ ；

M — α S1-、 α S2-、 β -、 κ -酪蛋白的相对分子量（附录 A 表 A.2），单位为 g/mol；

$V_{\text{溶解体积}}$ — 溶解样品的溶液体积，单位为 mL（50mL）；

m — 试样质量或体积，单位为 g 或者 mL。

注：试样中各酪蛋白亚型的含量需按照附录 A 表 A.2 中的蛋白分子量计算。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留两位有效数字。

6.3 总酪蛋白含量计算

试样中酪蛋白总含量按式（3）计算：

$$A = X_{\alpha S1} + X_{\alpha S2} + X_{\beta} + X_{\kappa} \dots \dots \dots (3)$$

A — 试样中各种酪蛋白亚型含量的总和，即试样中酪蛋白的总含量，单位为 g/100g 或 g/100mL；

$X_{\alpha S1}$ — 试样中 $\alpha S1$ -型酪蛋白的含量，单位为 g/100g 或 g/100mL；

$X_{\alpha S2}$ — 试样中 $\alpha S2$ -型酪蛋白的含量，单位为 g/100g 或 g/100mL；

X_{β} — 试样中 β -型酪蛋白的含量，单位为 g/100g 或 g/100mL；

X_{κ} — 试样中 κ -型酪蛋白的含量，单位为 g/100g 或 g/100mL。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

8 其他

本方法的特征肽段、粉状及液体含乳饮料、粉状及液体乳原料的检出限与定量限如下表 4 所示：

表 4 仪器、方法检出限及定量限

特征肽段仪器 LOD/LOQ				
	α_{S1} -型酪蛋白 nmol/L	α_{S2} -型酪蛋白 nmol/L	β -型酪蛋白 nmol/L	κ -型酪蛋白 nmol/L
检出限 LOD	1	1	1	1
定量限 LOQ	3	3	3	3
粉末状含乳饮料方法 LOD/LOQ (以 5g 试样称取, 50mL 溶液定容计算)				
	α_{S1} -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$	α_{S2} -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$	β -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$	κ -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$
检出限 LOD	0.25	0.26	0.25	0.21
定量限 LOQ	0.74	0.78	0.75	0.64
液体状含乳饮料方法 LOD/LOQ (以 10mL 试样量取, 50mL 溶液定容计算)				
	α_{S1} -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$	α_{S2} -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$	β -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$	κ -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$
检出限 LOD	0.12	0.13	0.13	0.11
定量限 LOQ	0.37	0.39	0.38	0.32
粉末状乳原料方法 LOD/LOQ (以 1g 试样称取, 50mL 溶液定容计算)				
	α_{S1} -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$	α_{S2} -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$	β -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$	κ -型酪蛋白 $\mu\text{g/g}$
检出限 LOD	1.2	1.3	1.3	1.1

定量限 LOQ	3.7	3.9	3.8	3.2
液体乳原料方法 LOD/LOQ (以 2mL 试样量取, 50mL 溶液定容计算)				
	α_{S1} -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$	α_{S2} -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$	β -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$	κ -型酪蛋白 $\mu\text{g/mL}$
检出限 LOD	0.61	0.65	0.63	0.53
定量限 LOQ	1.8	2.0	1.9	1.6

本方法的准确度如下表 5 所示:

酪蛋白加标水平 ($\mu\text{mol/L}$)	回收率 (%)	精密度 (%)
0.01	71.0	7.7
0.05	71.6	5.5
0.1	64.3	4.5
0.5	70.7	5.2
2	64.7	5.9
5	56.6	5.8

附录 A

表 A.1 酪蛋白肽段标准品信息

序号	名称	肽段序列	相对分子量 Mw (g/mol)
1	α_{S1} -酪蛋白	YLGYLEQLLR	1267.5
2	α_{S1} -酪蛋白(内标)	PSERYLGYL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) EQLRLKKY	2276.6
3	α_{S2} -酪蛋白	FALPQYLK	979.2
4	α_{S2} -酪蛋白(内标)	RYQKFALPQYL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) KTVYQ	2053.3
5	β -酪蛋白	VLPVPQK	780.0
6	β -酪蛋白(内标)	SQSKVL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) PVPQKAVPY	1648.0
7	κ -酪蛋白	YIPIQYVLSR	1251.5
8	κ -酪蛋白(内标)	KIAKYIPIQYVL* ($^{13}\text{C}_6$, ^{15}N) SRYPY	2209.6

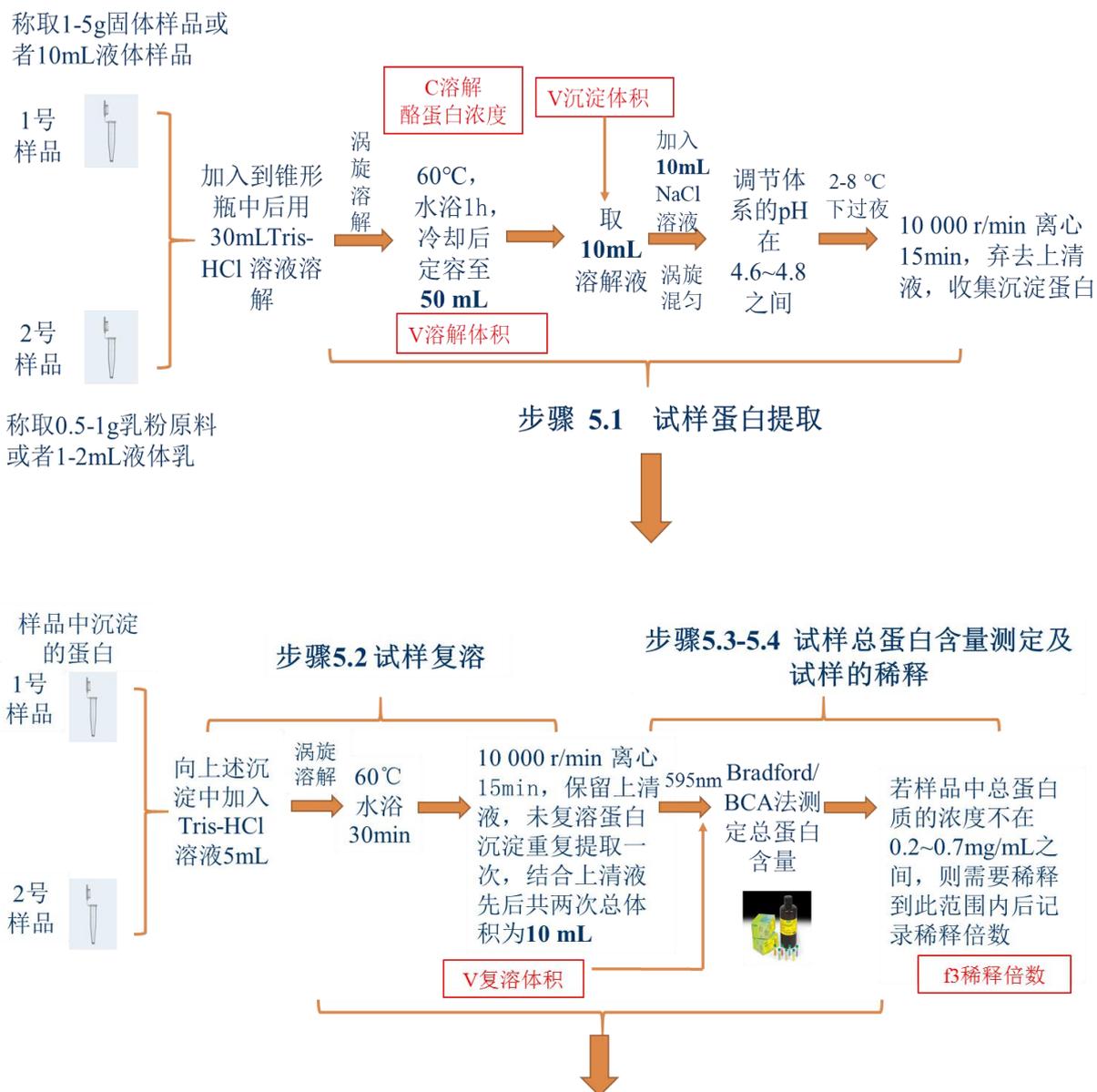
表 A.2 酪蛋白各亚型蛋白相关信息表

亚型	Uniprot 代码	氨基酸数目	相对分子量 Mw (Dalton 即 g/mol)
α_{S1} 酪蛋白	P02662 (CASA1_BOVIN)	214	24529
α_{S2} 酪蛋白	P02663 (CASA2_BOVIN)	222	26019
β 酪蛋白	P02666 (CASB_BOVIN)	224	25107
κ 酪蛋白	P02668 (CASK_BOVIN)	190	21269

注：以上酪蛋白各亚型的分子量来源于 UniProt 数据库 (<http://www.uniprot.org/>)，可通过蛋白质数据库代码在网站上查询酪蛋白相关参数。

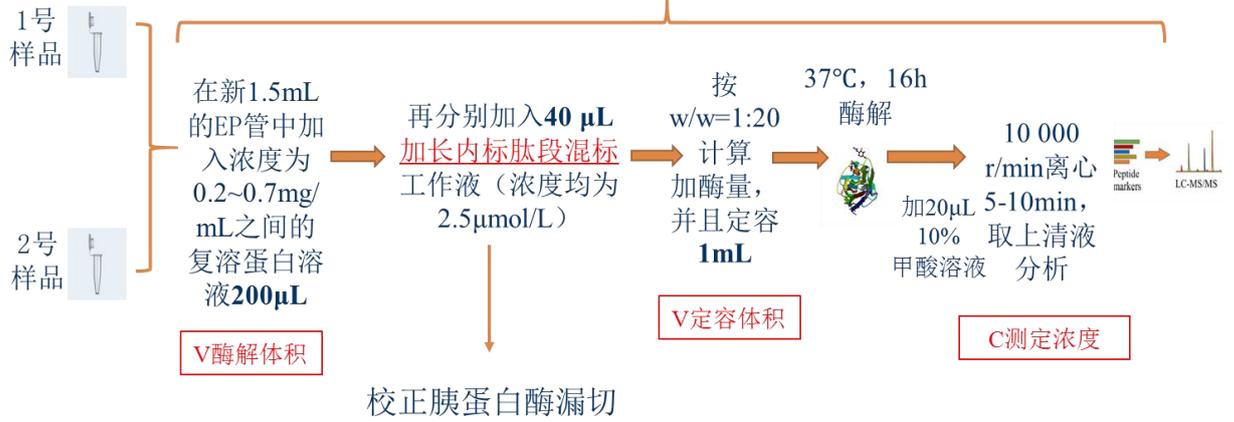
附录 B

酪蛋白检测流程示意图



复溶的蛋白稀释液
(已知总蛋白浓度)

步骤5.5 试样的酶解



附录 C

酪蛋白标准溶液的多反应监测色谱图

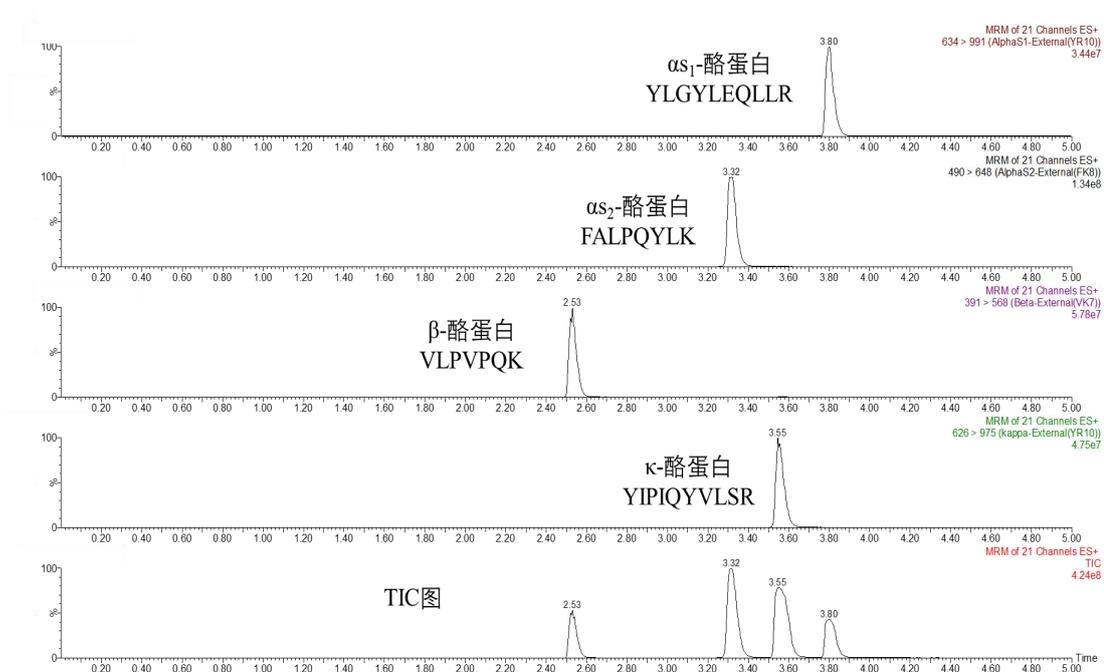


图 D.1 酪蛋白标准溶液 (5 μmol/L) 的多反应监测色谱图

本方法负责起草单位：中国食品药品检定研究院。

验证单位：浙江省食品药品检验研究院、上海市食品药品检验所、绿城农科检测技术有限公司、大连出入境检验检疫局检验检疫技术中心、酒泉市食品检验检测中心

主要起草人：孙姗姗、刘柱、李晓雯、郝星凯、张晓林、李婷婷