

羊骨脂质的组成分析

吕爽¹, 刘倩¹, 李红波¹, 张小勇², 徐丹¹, 苏从毅², 胡梁斌¹, 莫海珍¹

(1. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 西安 710021; 2. 中粮工科(西安)国际工程有限公司, 西安 710082)

摘要:为了实现羊骨副产物的有效利用和为羊骨油高值化产品开发提供基础数据,以羊腿骨为原料,提取其中的油脂,分别采用高效液相色谱法(HPLC)、多维质谱鸟枪法(MDMS-SL)、气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对羊骨油的甘油酯组成、脂质组学、脂肪酸组成进行分析。结果表明:羊骨油中甘油三酯含量达到96.76%,还有少量的甘油二酯(1.41%),而甘油一酯未检出;羊骨油中共鉴定出19种酰基肉碱、17种鞘磷脂、37种磷脂酰胆碱、39种甘油三酯,总含量分别为5.76、96.58、85.18 nmol/g和15.76 μ mol/g;羊骨油中共鉴定出11种脂肪酸,其中饱和脂肪酸含量为11.51%,单不饱和脂肪酸含量为72.34%,多不饱和脂肪酸含量为7.56%。

关键词:羊腿骨;羊骨油;酰基肉碱;鞘磷脂;磷脂酰胆碱;甘油酯;脂肪酸;多维质谱鸟枪法;气相色谱-质谱联用法

中图分类号:TS225.2;TQ646 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)01-0032-05

Lipid composition of sheep bones

LYU Shuang¹, LIU Qian¹, LI Hongbo¹, ZHANG Xiaoyong², XU Dan¹,
SU Congyi², HU Liangbin¹, MO Haizhen¹

(1. School of Food and Bioengineering, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China;
2. COFCO ET (Xi'an) International Engineering Co., Ltd., Xi'an 710082, China)

Abstract: In order to realize the effective utilization of by-products sheep bones and provide basic data for the development of high-value sheep bone oil products, sheep leg bones were used as raw materials to extract oil, and the glyceride composition, lipidomics and fatty acid composition of sheep bone oil were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), multidimensional mass spectrometry shotgun method (MDMS-SL) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) respectively. The results showed that the content of triglycerides in sheep bone oil reached 96.76%, and a small amount of diglycerides (1.41%) was identified, while no monoglycerides was detected. A total of 19 acylcarnitines, 17 sphingomyelins, 37 phosphatidylcholines and 39 triglycerides were identified in sheep bone oil, with total contents of 5.76, 96.58, 85.18 nmol/g and 15.76 μ mol/g, respectively. 11 kinds of fatty acids including 11.51% saturated fatty acids, 72.34% monounsaturated fatty acids and 7.56% polyunsaturated fatty acids were detected in sheep bone oil.

Key words: sheep leg bone; sheep bone oil; acylcarnitine; sphingomyelin; phosphatidylcholine; glyceride; fatty acid; multidimensional mass spectrometry shotgun method; gas chromatography-mass spectrometry

收稿日期:2021-10-03;修回日期:2022-07-26

基金项目:国家自然科学基金(31901795);陕西省重点研发计划(2021NY-157,2021NY-185);陕西省大学生创新创业训练计划项目(S202110708120)

作者简介:吕爽(1999),女,硕士研究生,研究方向为食源性活性物质开发(E-mail)lvshuang0225@163.com。

通信作者:李红波,副教授(E-mail) hongbo715@163.com;莫海珍,教授(E-mail) mohz@sust.edu.cn。

我国是羊肉生产与消费大国,羊肉生产总量约占全球的1/3^[1]。研究表明,畜禽骨骼占动物体质量的20%~30%^[2-3],因此在羊肉加工消费的过程中必然会产生大量的副产物羊骨。畜禽鲜骨含有蛋白质、脂肪、矿物质(钙、磷、铁等)、碳水化合物和维

生素等人体维持健康所必需的且具有多种生物功能的营养物质^[4],营养价值非常高,营养成分种类和含量接近于甲鱼^[5],一些营养成分的含量甚至高于肉类^[6]。目前,我国对畜禽骨的利用率已达到90%^[5],随着我国对畜禽骨的深入研究,各种高附加值的产品被开发,例如硫酸软骨素、骨肽、氨基葡萄糖等^[7]。但是羊骨油在羊骨副产品的加工中常被脱除丢弃,未得到有效利用。

羊骨中油脂一般占5%~15%,主要由油酸、棕榈酸、亚油酸和亚麻酸等脂肪酸组成^[8]。与一般的植物油相比,羊骨油具有不可替代的特殊香味,可作为多种羊肉味产品的增香剂,丰富产品风味,提高产品品质。羊骨油还可用于制造肥皂、润滑油和甘油,是珍贵的化工原料。目前国内外仅有少数文献报道了羊骨油的脂肪酸组成及挥发性风味物质^[8],而关于羊骨油的甘油酯组成以及脂质组成更是鲜有研究。

本文以羊腿骨为原料提取羊骨油,分别采用高效液相色谱法(HPLC)、多维质谱鸟枪法(MDMS-SL)以及气相色谱-质谱联用法(GC-MS)测定羊骨油中甘油酯、部分脂质和脂肪酸组分,以期对羊骨油高值化产品的开发提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

鲜羊腿骨,从淘宝农家乐土特产生鲜店购得,经高速粉碎机粉碎、冷冻干燥18 h后置于冰箱保存,备用。

氯仿、浓硫酸、氯化钠、2,6-二叔丁基对甲酚(BHT),均为分析纯,购自上海麦克林生化科技有限公司;正己烷、甲醇,均为色谱纯,购自天津科密欧化学试剂厂。

FW-100D高速万能粉碎机,天津鑫博得仪器有限公司;KQ5200DE数控超声波清洗机,昆山市超声仪器有限公司;RE100-Pro数控旋转蒸发仪,四环福瑞科仪科技发展有限公司;LGJ-10C冷冻干燥机,北京四环福瑞有限公司;HH-S6L电热恒温水箱,北京科伟永兴有限公司;MD200-1氮吹仪,杭州奥盛仪器有限公司;SHB-III循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;7000D安捷伦三重四极杆GC/MS仪,安捷伦科技有限公司;TSQ Quantiva赛默飞三重四极杆质谱仪、UltiMate 3000 HPLC高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 羊骨油的提取

按照Folch^[9]的方法并稍作修改提取羊骨油。取一定量的羊骨于烧杯中,按照料溶比1:15向其中加入有机溶剂氯仿-甲醇-水(体积比8:4:3),加入羊骨质量0.005%的BHT抗氧化。将烧杯放入数控超声波清洗机中,在100 W、40 kHz、30℃下超声波辅助提取20 min,静置分层,真空抽滤,收集滤液,滤渣再重复提取2次,所得滤液合并后经旋转蒸发去除有机溶剂,再用氮吹仪除去残存的有机溶剂,得到羊骨油,装瓶后低温保存备用。

1.2.2 羊骨油的甘油酯组成分析

采用HPLC对羊骨油的甘油酯组成进行分析,以峰面积归一化法进行定量。HPLC分析条件:示差折光检测器;Phenomenex Luna硅胶色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm);流动相为正己烷-异丙醇-甲酸(体积比21:1:0.003);流速1 mL/min;柱温30℃;进样量10 μL;检测时间45 min。

1.2.3 羊骨油的脂质组学分析

使用Bligh等^[10]的改进方案从羊腿骨中提取油脂,保存在-20℃下,之后进行质谱分析。本实验采用配备自动纳米喷雾离子源的TSQ Quantiva三重四级杆质谱仪进行分析,在Xcalibur系统软件下分析结果,具体分析参数见文献[11]。根据脂质的峰强度及内标物的含量和峰强度对脂质进行定量。

1.2.4 羊骨油的脂肪酸组成分析

取20 μL羊骨油至具塞试管中,加入1.5 mL体积分数1%的硫酸甲醇溶液,在80℃恒温水浴中反应1 h,并且不时摇晃,待冷却至室温后依次向试管中加入1 mL饱和NaCl溶液、1 mL去离子水和2 mL色谱纯正己烷,摇匀,静置分层后将上层有机相转移至进样瓶待GC-MS分析。

GC-MS分析条件:Agilent DB-23色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序为初始温度130℃持续1 min,然后以5℃/min升至230℃,持续5 min,总运行时间26 min;分流比1:20;自动进样,进样量1 μL;离子源温度230℃,四级杆温度150℃,电离电压70 eV,扫描范围(*m/z*)50~500。采用峰面积归一化法进行定量。

2 结果与讨论

2.1 羊骨油的甘油酯组成

采用HPLC测定羊骨油的甘油酯组成,结果见表1。

表1 羊骨油的甘油酯组成 %

TAG	FFA	DAG		MAG	
		1,3-DAG	1,2-DAG	1-MAG	2-MAG
96.76	1.83	0.24	1.17	ND	ND

注:TAG. 甘油三酯; FFA. 游离脂肪酸; DAG. 甘油二酯; MAG. 甘油一酯; ND. 未检出

由表1可见,羊骨油中含有丰富的甘油三酯(TAG),含量达到96.76%,并且有少量的甘油二酯(DAG)和游离脂肪酸(FFA),但未检测到甘油一酯(MAG)。DAG是公认安全的食品成分,长期食用具有减少脂肪堆积、降低血脂等作用^[12]。

2.2 羊骨油的脂质组成

2.2.1 酰基肉碱(ACar)

ACar是存在于人体内的一种自然物质,在肌肉、大脑中含量丰富,参与人体的一系列重要代谢过程,能够从细胞中带走乙酰基并协助能量的转移。羊骨油中ACar种类及含量见表2。

表2 羊骨油中ACar的种类及含量

种类	质荷比 (<i>m/z</i>)	含量/ (nmol/g)	种类	质荷比 (<i>m/z</i>)	含量/ (nmol/g)
14:2	368.280	0.01	18:1-OH	442.353	0.05
14:1	370.296	0.02	20:2	452.374	0.03
14:0	372.311	0.05	20:1	454.390	0.34
14:1-OH	386.291	0.12	20:0	456.405	0.15
16:1	398.327	0.07	20:2-OH	468.369	0.07
16:0	400.343	1.37	20:0-OH/22:6	472.400	0.02
16:1-OH	414.322	0.23	22:1	482.421	0.13
18:2	424.343	0.07	22:2-OH	496.400	0.03
18:1	426.358	1.32	24:0	512.468	0.01
18:0	428.374	1.66	合计		5.76

由表2可见,羊骨油中共鉴定出19种ACar,总含量为5.76 nmol/g。其中18:0、16:0、18:1的含量较高,分别为1.66、1.37、1.32 nmol/g,而14:2、14:1、20:0-OH/22:6、24:0的含量均小于0.03 nmol/g。

2.2.2 鞘磷脂(SM)

SM是细胞膜的主要成分,其代谢产物具有生物活性,作为信号分子调控细胞的增殖与凋亡等生命活动^[13]。SM具有降低血脂、保护皮肤、促进婴儿神经元发育的生物功效^[14]。羊骨油中SM种类及含量见表3。

由表3可见,羊骨油中共检出17种SM,总含量为96.58 nmol/g,其中16:0含量最高,为49.49 nmol/g,其次为24:1、18:0,含量分别为10.51 nmol/g和10.39 nmol/g,20:1、21:0的含量最低,分别为0.17 nmol/g和0.46 nmol/g。

表3 羊骨油中SM的种类及含量

种类	质荷比 (<i>m/z</i>)	含量/ (nmol/g)	种类	质荷比 (<i>m/z</i>)	含量/ (nmol/g)
14:0	681.552	1.33	21:0	779.662	0.46
15:0	695.568	3.64	22:1	791.662	0.66
16:0	709.584	49.49	22:0	793.677	3.37
17:0	723.599	3.34	23:1	805.677	0.86
18:1	735.599	1.73	23:0	807.693	1.86
18:0	737.615	10.39	24:2	817.677	3.25
19:0	751.631	1.06	24:1	819.693	10.51
20:1	763.631	0.17	24:0	821.709	3.79
20:0	765.646	0.66	合计		96.58

2.2.3 磷脂酰胆碱(PC)

PC广泛存在于动植物组织内,能为人体提供大量外源性胆碱,对血清脂质具有调节作用,随着卵磷脂在疾病干预方面研究的深入,PC有望在医药及功能性食品方面进一步发展应用^[15]。PC含有两条脂肪酸链,包括酯键型PC(DPC)、烯醚键型PC(PPC)、醚键型PC(APC)3种类型。羊骨油中PC种类及含量见表4。

表4 羊骨油中PC的种类及含量

种类	质荷比 (<i>m/z</i>)	含量/ (nmol/g)	种类	质荷比 (<i>m/z</i>)	含量/ (nmol/g)
D14:1-16:1	708.516	0.03	D18:0-18:2	792.609	2.59
D14:0-16:1	710.531	0.13	D18:0-18:1	794.625	2.97
D14:0-16:0	712.547	2.19	D18:0-18:0	796.641	0.43
P16:0-16:0	724.583	6.43	P18:0-20:4	800.615	0.08
A16:0-16:0	726.599	2.69	P18:2-20:1	802.630	0.40
D16:1-16:1	736.547	0.12	D16:0-22:6	812.578	0.37
D16:1-16:0	738.563	2.60	D18:1-20:4	814.594	1.69
D16:0-16:0	740.578	19.95	D18:2-20:2	816.609	3.17
P16:0-18:1	750.599	1.78	D18:0-20:3	818.625	0.23
P16:0-18:0	752.615	1.06	D18:0-20:2	820.641	0.44
A16:0-18:0	754.630	1.31	A18:0-22:6	826.630	0.08
D16:0-18:2	764.578	2.54	P18:1-22:1	832.677	0.01
D16:0-18:1	766.594	17.38	P18:0-22:1	834.693	0.01
D16:0-18:0	768.609	6.23	D18:2-22:6	836.578	0.05
P18:0-18:1	778.630	1.17	D18:1-22:6	838.594	0.09
A18:0-18:1	780.646	1.72	D18:0-22:6	840.609	0.24
A16:0-20:0	782.661	0.52	D18:0-22:5	842.625	0.08
D18:2-18:2	788.578	2.59	D18:0-22:4	844.641	0.14
D18:1-18:2	790.594	1.70	合计		85.18

注:种类中D表示酯键型PC,P表示烯醚键型PC,A表示醚键型PC

由表4可见,羊骨油中PC种类丰富,共鉴定出37种PC,总含量达到85.18 nmol/g,其中D16:0-16:0、D16:0-18:1含量较高,分别为19.95、

17.38 nmol/g,两者共占 PC 总量的 43.82%, P18:1-22:1、P18:0-22:1 含量最低,均仅为 0.01 nmol/g。

2.2.4 甘油三酯 (TAG)

TAG 是羊骨油中含量最高的脂质,是人体供给及储存能量的重要来源,具有保护和固定内脏的作用,参与脂质的代谢并发挥关键作用。羊骨油中 TAG 种类及含量分析结果见表 5。

表 5 羊骨油中 TAG 的种类及含量

种类	质荷比 (<i>m/z</i>)	含量/ ($\mu\text{mol/g}$)	占比/%
C48:3	807.71	0.06	0.36
C48:2/C49:9	809.72	0.22	1.40
C48:1/C49:8	811.74	0.23	1.46
C48:0/C49:7	813.75	0.04	0.27
C49:2/C50:9	823.74	0.06	0.38
C49:1/C50:8	825.75	0.07	0.46
C50:4	833.72	0.06	0.40
C50:3/C51:10	835.74	0.41	2.62
C50:2/C51:9	837.75	1.02	6.50
C50:1/C51:8	839.77	0.51	3.21
C50:0/C51:7	841.78	0.04	0.26
C51:2/C52:9	851.77	0.26	1.66
C51:1/C52:8	853.69	0.10	0.63
C52:5	859.74	0.05	0.34
C52:4/C53:11	861.75	0.45	2.85
C52:3/C53:10	863.77	1.98	12.54
C52:2/C53:9	865.78	3.16	20.03
C52:1/C53:8	867.80	0.42	2.66
C52:0/C53:7	869.81	0.03	0.17
C53:3/C54:10	877.78	0.27	1.74
C53:2/C54:9	879.71	0.26	1.63
C53:1/C54:8	881.72	0.18	1.17
C53:0/C54:7	883.74	0.03	0.16
C54:6	885.75	0.03	0.18
C54:5/C55:12	887.77	0.22	1.42
C54:4/C55:11	889.78	1.14	7.25
C54:3/C55:10	891.80	2.75	17.48
C54:2/C55:9	893.81	1.10	7.00
C54:1/C55:8	895.83	0.14	0.91
C54:0/C55:7	897.85	0.02	0.11
C55:4/C56:11	903.80	0.04	0.22
C55:3/C56:10	905.72	0.09	0.57
C55:2/C56:9	907.74	0.16	1.00
C55:1/C56:8	909.75	0.06	0.35
C55:0/C56:7	911.77	0.01	0.07
C56:6	913.78	0.01	0.08
C56:5/C57:12	915.80	0.02	0.12
C56:4/C57:11	917.81	0.02	0.13
C56:3/C57:10	919.83	0.03	0.21
合计		15.76	100

由表 5 可见,羊骨油中共鉴定出 39 种 TAG,总含量为 15.76 $\mu\text{mol/g}$ 。其中 C52:2/C53:9、C54:3/C55:10 含量较高,分别为 3.16、2.75 $\mu\text{mol/g}$,合计占 TAG 总含量的 37.51%, C55:0/C56:7 和 C56:6 含量最低,均仅为 0.01 $\mu\text{mol/g}$ 。

2.3 羊骨油脂肪酸组成

采用 GC-MS 测定羊骨油的脂肪酸组成,结果见表 6。

表 6 羊骨油中脂肪酸组成及含量

脂肪酸	相对含量/%
月桂酸	0.06
肉豆蔻酸	1.90
正十五酸	0.29
棕榈酸	1.97
十七烷酸	0.54
硬脂酸	6.75
(<i>Z</i>)-9-十四碳烯酸	0.24
棕榈油酸	6.07
(<i>Z</i>)-10-十七碳烯酸	1.42
油酸	64.60
亚油酸	7.56
其他	8.59
SFA	11.51
MUFA	72.34
PUFA	7.56

注:其他脂肪酸有 9 种,结构未确定;SFA. 饱和脂肪酸; MUFA. 单不饱和脂肪酸; PUFA. 多不饱和脂肪酸

由表 6 可见,羊骨油中共检出 20 种脂肪酸,共鉴定出 11 种,包括 6 种 SFA、4 种 MUFA、1 种 PUFA。羊骨油的 SFA 含量为 11.51%,其中硬脂酸含量最为丰富,达到 6.75%;羊骨油的不饱和脂肪酸含量为 79.90%,其中 72.34% 为 MUFA,主要以油酸为主,含量达到 64.60%,同时含有 6.07% 的棕榈油酸;羊骨油中仅鉴定出亚油酸一种 PUFA,含量为 7.56%。羊骨油中脂肪酸以不饱和脂肪酸为主,不饱和脂肪酸具有调节血脂、防止动脉粥样硬化、降低血液胆固醇水平等作用^[16]。油酸作为单不饱和脂肪酸,长期食用在降低心血管疾病发病率方面有积极作用^[17]。亚油酸是人体不能合成、需要从外界摄入的必需脂肪酸,在脂质代谢中占据核心位置,具有改善骨质密度、促进脂质氧化分解及提高机体免疫功能等生理功能^[18]。

3 结论

羊骨油中含有丰富的 TAG (96.76%) 及少量的 DAG (1.41%),未检出 MAG。羊骨油中共鉴定出酰基肉碱、鞘磷脂、磷脂酰胆碱和甘油三酯 4 种脂

质,其中含量最多的是甘油三酯(15.76 $\mu\text{mol/g}$),种类高达39种,鞘磷脂次之,含量为96.58 nmol/g 。羊骨油中共检出20种脂肪酸,鉴定出11种,其中:MUFA含量达到72.34%,以油酸(64.60%)为主;SFA含量为11.51%,以硬脂酸(6.75%)为主;仅检测到亚油酸一种PUFA,含量为7.56%。

参考文献:

- [1] 熊学振,杨春. 2020年牛羊产业发展状况、未来趋势及对策建议[J]. 产业透视,2021,57(4):232-236,240.
- [2] 杨巍,成晓瑜,陈文华,等. 畜禽骨深加工技术与应用现状[J]. 肉类研究,2009(11):75-79.
- [3] 李桂星. 羊骨素及其衍生化产品提取制备工艺研究[D]. 北京:北京林业大学,2012.
- [4] 帕尔哈提·柔孜,杨晓君,木合布力·阿布力孜,等. 4种动物骨骼的化学成分与生物活性研究进展[J]. 现代食品科技,2020,36(5):337-346.
- [5] 范丽森,孙亚军,赵伟. 畜禽骨加工及其余料利用工艺的研究进展[J]. 工艺技术,2019(20):110-112.
- [6] 徐锡春. 畜骨在食品开发中的发展前景[J]. 肉类研究,1999(2):50-51.
- [7] 李婉君. 畜禽骨副产物高值化加工关键技术与装备:中国农业科学院农产品加工所张春晖研究员专访[J]. 肉类研究,2018,32(4):12-18.
- [8] 刘金凯,高远,王振宇,等. 氧化羊骨油脂脂肪酸组成及挥发性风味物质分析[J]. 现代食品科技,2014,30(11):240-245,169.
- [9] FOLCH J. A simple method for the isolation and purification

of total lipides from animal tissues[J]. J Bid Chem,1957,226(1):497-509.

- [10] BLIGH E G, DYER W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37(8):917-938.
- [11] YANG K, CHENG H, GROSS R W, et al. Automated lipid identification and quantification by multidimensional mass spectrometry - based shotgun lipidomics[J]. Anal Chem, 2009, 81(11):4356-4368.
- [12] DEVI B P, GANGADHAR K N, PRASAD R, et al. Nutritionally enriched 1,3 - diacylglycerol - rich oil: low calorie fat with hypolipidemic effects in rats[J]. Food Chem, 2018, 248: 210-216.
- [13] 吕冰洁,杨阳,张建初. 鞘磷脂代谢物与肺癌关系的研究进展[J]. 华中科技大学学报(医学版),2014,43(5):603-605.
- [14] 罗鑫,孙万成,罗毅皓. 食品中鞘磷脂的检测及功能研究进展[J]. 食品研究与开发,2020,41(15):211-218.
- [15] 黄瑾,王鑫,吴海虹,等. 卵磷脂的提取、鉴定与应用的研究进展[J]. 食品工业科技,2020,41(24):338-343,353.
- [16] 吴洪号,张慧,贾佳,等. 功能性多不饱和脂肪酸的生理功能及应用研究进展[J]. 中国食品添加剂,2021,32(8):134-140.
- [17] 王子豪,孟鑫. 沙棘果油中油酸的富集及对高脂小鼠的代谢影响[J]. 食品科技,2021,46(9):161-168.
- [18] 刘丽娜,缪锦来,郑洲. 共轭亚油酸的生理功能综述[J]. 食品安全质量检测学报,2020,11(8):2552-2557.

(上接第25页)

- [12] CHIANG C J, CHEN H C, KUO H F, et al. A simple and effective method to prepare immobilized enzymes using artificial oil bodies[J]. Enzyme Microb Tech, 2006, 39(5):1152-1158.
- [13] 武艺. 油茶种子油体及油体蛋白加工稳定性的研究[D]. 武汉:武汉轻工大学,2020.
- [14] 蒋圣娟,周正义,孙玉军,等. 花生致敏蛋白 Ara h 1、2、3的研究进展[J]. 生物医学工程学杂志,2010(6):211-215.
- [15] 王烁,孙晓东,钮冰,等. 不同加工方式对花生致敏性的影响[J]. 食品科技,2020,45(4):49-55.
- [16] 张英. 热加工鲜花生的蛋白致敏性变化评估研究[D]. 南昌:南昌大学,2019.
- [17] 周红菲,吴志华,张英,等. 质谱法分析烘焙对花生过敏原 Ara h 1 潜在致敏性的影响[J]. 食品科学,2021,42(3):1-6.
- [18] YU J, MIKISHVILI N. Effectiveness of different proteases in reducing allergen content and IgE - binding of raw peanuts [J/OL]. Food Chem, 2019, 307:125565 [2021-08-26].

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125565>.

- [19] WILSON K A, TAN - WILSON A. Proteolysis of the peanut allergen Ara h 1 by an endogenous aspartic protease[J]. Plant Physiol Bioch,2015,96:301-310.
- [20] 张宏声. 花生内源性蛋白酶系的鉴定、水解条件及其在蛋白加工方面的应用[D]. 江苏 无锡:江南大学,2020.
- [21] PHILLIPS K M, TARRAGO - TRANI M T, GROVE T M, et al. Simplified gravimetric determination of total fat in food composites after chloroform - methanol extraction [J]. J Am Oil Chem Soc,1997,74(2):137-142.
- [22] SCHAGGER H. Tricine - SDS - PAGE[J]. Nat Protoc, 2006,1:16-22.
- [23] 裴昊铭. 核桃内源性蛋白酶的组成、水解蛋白条件及其在核桃加工中的运用[D]. 江苏 无锡:江南大学,2021.
- [24] 杜寅. 花生蛋白主要组分的制备及凝胶特性研究[D]. 北京:中国农业科学院,2012.
- [25] SHOKARII E H, ESEN A, MOZINGO R W. Immunological characterization of a 36 kD polypeptide in peanuts (*Arachis hypogaea* L.) [J]. Peanut Sci,1991,18(1):11-15.