

核桃虾青素复合油体外抗氧化活性研究

邢海亮¹, 余旭亚¹, 耿树香², 宁德鲁², 马婷², 韩本勇¹

(1. 昆明理工大学 生命科学与技术学院, 昆明 650500; 2. 云南省林业和草原科学院, 昆明 650204)

摘要:以特丁基对苯二酚(TBHQ)为阳性对照,通过测定核桃虾青素复合油(纯核桃油+2%虾青素油)对DPPH自由基(DPPH·)、羟自由基(·OH)、超氧自由基(O₂⁻·)清除能力和还原能力以及Fe²⁺螯合能力,探讨复合油的体外抗氧化活性。结果表明:核桃虾青素复合油对DPPH·、O₂⁻·、·OH的清除能力,还原能力和Fe²⁺螯合能力随着核桃虾青素复合油质量浓度的增加而升高,且对DPPH·、O₂⁻·、·OH的清除能力均强于纯核桃油,对DPPH·、O₂⁻·、·OH的半抑制质量浓度(IC₅₀)分别为8.25、0.81、1.30 mg/mL;还原能力方面表现为添加TBHQ的核桃油>核桃虾青素复合油>纯核桃油;核桃虾青素复合油的Fe²⁺螯合能力明显强于纯核桃油和添加TBHQ的核桃油。研究表明核桃虾青素复合油较纯核桃油的体外抗氧化活性有所增强。

关键词:虾青素油;核桃油;核桃虾青素复合油;抗氧化活性

中图分类号:TS225.19;TS221 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)05-0048-05

In vitro antioxidant activity of walnut astaxanthin oil blend

XING Hailiang¹, YU Xuya¹, GENG Shuxiang², NING Delu²,
MA Ting², HAN Benyong¹

(1. Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China; 2. Yunnan Academy of Forestry and Grassland Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: The in vitro antioxidant activity of walnut astaxanthin oil blend (walnut oil + 2% astaxanthin oil) was studied by determining the scavenging capacity of DPPH·, hydroxyl radical (·OH) and superoxide anion radical (O₂⁻·), reducing capacity and Fe²⁺ chelating capacity of walnut astaxanthin oil blend with *tert*-butylhydroquinone (TBHQ) as positive control. The results showed that scavenging capacity of walnut astaxanthin oil blend on DPPH·, O₂⁻· and ·OH, reducing capacity and Fe²⁺ chelating capacity increased with the increase of walnut astaxanthin oil blend mass concentration, and its scavenging capacity on DPPH·, O₂⁻·, ·OH were superior to the pure walnut oil. The half inhibitory mass concentration of walnut astaxanthin oil blend on DPPH·, O₂⁻·, and ·OH were 8.25, 0.81, 1.30 mg/mL, respectively. The reducing capacity of walnut oil + TBHQ was the strongest, followed by walnut astaxanthin oil blend and pure walnut oil. The walnut astaxanthin oil blend showed the strongest Fe²⁺ chelating capacity, followed by pure walnut oil and walnut oil + TBHQ. The results indicated that the antioxidant activity of walnut astaxanthin oil blend was higher than that of pure walnut oil in vitro.

Key words: astaxanthin oil; walnut oil; walnut astaxanthin oil blend; antioxidant activity

收稿日期:2020-07-05;修回日期:2021-01-04

基金项目:云南省重大科技专项计划(2018ZG003);国家自然科学基金(21766012)

作者简介:邢海亮(1995),男,硕士研究生,研究方向为海藻资源开发(E-mail)450442132@qq.com。

通信作者:韩本勇,副教授,博士(E-mail)xmxc668@126.com。

核桃(*Juglans regia* L.)作为我国重要的经济树种之一,在我国种植广泛,其果实是一种营养丰富的坚果。核桃仁中油脂含量高达60%以上,其中不饱和脂肪酸含量超过90%,特别是 α -亚麻酸含量高于大多数植物油,能为人体提供必需的 ω -3脂肪酸^[1-2]。此外,核桃油含有多种天然活性物质,如多

酚、维生素 E 等,具有提高人体免疫能力、延缓衰老、清除自由基、预防心脑血管疾病的功效^[3-4]。核桃油中不饱和脂肪酸含量高,易氧化酸败,添加抗氧化剂是提高核桃油氧化稳定性的有效手段。但是化学合成抗氧化剂往往都有一定的使用剂量限制且没有天然抗氧化剂安全,因此无毒、高效的天然抗氧化剂成为食用油脂抗氧化研究的新趋势^[5]。

虾青素属于酮式类胡萝卜素,其结构中的共轭双键链及共轭双键链末端的不饱和酮基和羟基,能吸引自由基未配对电子或向自由基提供电子,从而清除自由基,起到抗氧化作用^[6]。2010年,虾青素被我国卫生部批准为新资源食品。虾青素被誉为“超级抗氧化剂”,其抗氧化活性是维生素 E 的 1 000 倍。研究表明,从虾壳中提取的虾青素对 ABTS 自由基的清除具有浓度依赖性,其 EC₅₀ 值为 (7.7 ± 0.6) μg/mL,显著高于抗坏血酸和 BHT^[7]。Dong 等^[8]采用盐酸预处理雨生红球藻后,再经丙酮萃取获得的虾青素 DPPH 自由基清除率为 (73.2 ± 1.0)%;刘晓星^[9]以纯度为 10% 的虾青素对 DPPH 自由基清除实验的结果显示,质量浓度为 20 μg/mL 时,其 DPPH 自由基清除率可达 80% 以上,对 DPPH 自由基的清除能力强于 β-胡萝卜素和 V_E。

本课题组的前期研究表明,在核桃油中添加虾青素油,能有效增强核桃油的氧化稳定性,当虾青素油添加量为 2% 时,效果最为明显^[10]。本研究进一步考察核桃虾青素复合油(核桃油 + 2% 虾青素油)的体外抗氧化活性,以油脂和富油食品中常用的合成酚类抗氧化剂特丁基对苯二酚(TBHQ)为阳性对照,测定不同条件下核桃虾青素复合油对 DPPH 自由基、羟自由基、超氧自由基清除能力和还原能力以及 Fe²⁺ 螯合能力,对核桃虾青素复合油的体外抗氧化活性进行探索,以期对核桃油的深度开发利用提供一定的基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

核桃油,迪庆香格里拉舒达有机食品有限公司;虾青素油,AstaMAZ NZ 有限公司(10.2% 虾青素);核桃虾青素复合油是在纯核桃油中添加核桃油质量的 2% 虾青素油后获得的复合油。

氯化铁、无水乙醇、磷酸二氢钠、氢氧化钠、硫酸亚铁、三氯乙酸、铁氰化钾、30% 过氧化氢、水杨酸等均为分析纯,北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;菲啰嗪、1,1-二苯基-2-苦基肼(DPPH),上海蓝

季科技发展有限公司;盐酸(分析纯),重庆川东化工有限公司;氯化亚铁、TBHQ,上海麦克林生化科技有限公司;实验用水为去离子水。

1.1.2 仪器与设备

FA2004N 分析天平,上海菁海仪器有限公司;Ultrospec 2100pro 紫外可见分光光度计,Amersham Biosciences;5804R 高速低温离心机,德国 Eppendorf 公司;DS.85 10DTH 超声波微波组合体系,上海生析超声仪器有限公司;灭菌锅;HHw-D6 水浴锅,金坛双捷实验仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 DPPH 自由基(DPPH·)清除能力测定

参照文献[11]并略有改动,用无水乙醇将油样配制成质量浓度分别为 1、2、3、4、5、6 mg/mL 的溶液,以无水乙醇作为调零参数,在 517 nm 处测定吸光度。按式(1)计算 DPPH 自由基清除率(Y)。

$$Y = [1 - (A_i - A_j) / A_c] \times 100\% \quad (1)$$

式中:A_c为不加待测液,只加 DPPH 溶液的吸光度;A_i为加待测液反应后的吸光度;A_j为不加 DPPH 时待测液的吸光度。

1.2.2 羟自由基(·OH)清除能力测定

参照唐玉莲等^[12]的方法并略有改动,用无水乙醇将油样配制成质量浓度分别为 1.0、1.2、1.4、1.6、1.8、2.0 mg/mL 的样品溶液,测试时各溶液加入量如表 1 所示。按式(2)计算羟自由基清除率(Y)。

$$Y = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 \times 100\% \quad (2)$$

表 1 羟自由基清除能力实验各溶液加入量

吸光度	加入量/mL				
	6 mmol/L FeSO ₄ 溶液	6 mmol/L 水杨酸乙醇溶液	6 mmol/L H ₂ O ₂ 溶液	样品	蒸馏水
A ₀	2	2	2	0	2
A ₁	2	2	2	2	0
A ₂	2	0	2	2	2
调零参比	2	2	0	0	4

1.2.3 超氧自由基(O₂⁻·)清除能力测定

将样品用无水乙醇稀释至质量浓度分别为 1、2、3、4、5、6、7 mg/mL 的溶液,再参照文献[13]采用邻苯三酚自氧化法测定超氧自由基清除能力。按式(3)计算超氧自由基清除率(Y)。

$$Y = (1 - A_0 / A_1) \times 100\% \quad (3)$$

式中:A₀为空白对照液吸光度;A₁为样品溶液吸光度。

1.2.4 还原能力测定

样品由无水乙醇配制成质量浓度分别为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mg/mL 的溶液,参照文

献[14]采用三氯乙酸法测定还原能力。

1.2.5 Fe²⁺螯合能力测定

参照王寒等^[13]的方法并略有改动,样品用无水乙醇稀释至质量浓度分别为1、2、3、4、5、6、7 mg/mL的溶液,按式(4)计算Fe²⁺螯合能力(Y)。

$$Y = [1 - (A_1 - A_2) / A_3] \times 100\% \quad (4)$$

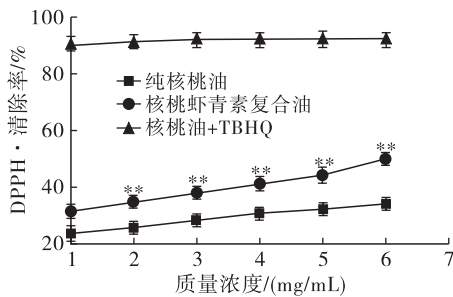
式中:A₁为1 mL样品溶液+3.7 mL蒸馏水+0.1 mL FeCl₂溶液+0.2 mL菲啰啉溶液的吸光度;A₂为1 mL样品溶液+3.7 mL蒸馏水+0.1 mL蒸馏水+0.2 mL菲啰啉溶液的吸光度;A₃为1 mL无水乙醇+3.7 mL蒸馏水+0.1 mL FeCl₂溶液+0.2 mL菲啰啉溶液的吸光度。

1.2.6 数据处理

全部实验均设置3组平行,利用ANOVA (SPSS19.0)一步法分析实验数据,图表绘制采用Origin8.0软件。

2 结果与讨论

2.1 核桃虾青素复合油对DPPH·的清除能力(见图1)



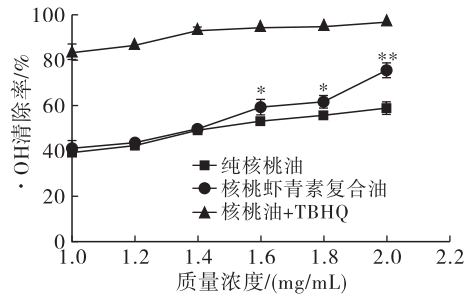
注: **表示与纯核桃油比较差异极显著($P < 0.01$); TBHQ添加量为核桃油质量的0.02%。下同

图1 核桃虾青素复合油对DPPH·的清除能力

由图1可知,所有实验组DPPH·清除率随着油样质量浓度的增加而逐渐增高,其中添加TBHQ的核桃油对DPPH·的清除能力远强于其他两组,在质量浓度为1 mg/mL时,其DPPH·清除率就可达到约90%。纯核桃油对DPPH·的清除能力一般,在质量浓度为1~6 mg/mL范围时,其DPPH·清除率只由23.61%提升到34.19%,对DPPH·清除能力的半抑制质量浓度(IC₅₀)为62.21 mg/mL;与纯核桃油相比,核桃虾青素复合油的DPPH·清除率显著提高,在质量浓度为6 mg/mL时,DPPH·清除率可达49.78%,IC₅₀为8.25 mg/mL。DPPH·是以氮为中心稳定的自由基,DPPH·清除率越高,该物质的抗氧化活性就越高^[14]。袁磊等^[15]在研究不同类胡萝卜素清除自由基能力时发现,4种不同结构的类胡萝卜素都具有较强的DPPH·清除能

力,且其清除能力的强弱依次是虾青素、叶黄素、β-胡萝卜素和番茄红素。本研究中,核桃虾青素复合油中虾青素含量与纯核桃油组相比有所增加,推测是虾青素增强了核桃虾青素复合油对DPPH·的清除能力。

2.2 核桃虾青素复合油对·OH的清除能力(见图2)



注: *、**分别表示与纯核桃油相比差异显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$)。下同

图2 核桃虾青素复合油对·OH的清除能力

由图2可知,不同实验组对·OH清除能力随着油样质量浓度的增加而升高,且具有良好的量效关系。其中添加TBHQ的核桃油对·OH清除效果最佳,最高清除率达90%以上,显著优于其他两组;核桃虾青素复合油与纯核桃油相比,对·OH的清除能力在质量浓度大于1.6 mg/mL时有所增强,当质量浓度为2 mg/mL时,·OH清除率为76.58%,极显著高于纯核桃油的52.73% ($P < 0.01$)。·OH对细胞的破坏能力极强,且反应速度快,能与活细胞中多种分子反应,引发细胞病变、衰老,从而导致多种疾病的发生^[16-17]。虾青素的酮基能激活羟基并促进氢向过氧化物自由基上转移,从而使虾青素具有较强的自由基清除能力^[18]。本实验中纯核桃油具有一定的·OH清除能力,而添加虾青素油后·OH清除能力进一步提高。实验结果显示,纯核桃油清除·OH的IC₅₀为1.47 mg/mL,核桃虾青素复合油清除·OH的IC₅₀减少至1.30 mg/mL,表明添加虾青素油可使核桃油对·OH的清除能力增强。

2.3 核桃虾青素复合油对O₂⁻·的清除能力(见图3)

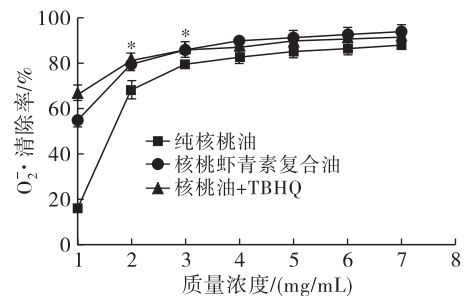


图3 核桃虾青素复合油对O₂⁻·的清除能力

由图3可知,随着不同实验组油样质量浓度的增加,对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力也不断提高,核桃虾青素复合油与添加TBHQ的核桃油相比, $O_2^- \cdot$ 清除率较为相近,二者的 $O_2^- \cdot$ 清除率在质量浓度为1~2 mg/mL范围内快速增高,之后缓慢增加,最后稳定在90%左右(5~7 mg/mL)。纯核桃油在质量浓度为1~2 mg/mL范围内, $O_2^- \cdot$ 清除率同样迅速增高,2~5 mg/mL范围内增加缓慢,之后趋于平稳,最大值约为82%(5~7 mg/mL)。本实验结果显示,纯核桃油对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力要弱于核桃虾青素复合油和添加TBHQ的核桃油。虾青素不仅是一种强抗氧化剂,而且添加虾青素油后核桃油中维生素E、多酚等抗氧化物质含量有所提高^[10]。研究表明多酚物质可以提高菜籽油对 $O_2^- \cdot$ 的清除作用^[19],此外维生素E以及虾青素等物质对 $O_2^- \cdot$ 也有较强的清除效果^[15,20]。本实验中纯核桃油清除 $O_2^- \cdot$ 的 IC_{50} 为1.75 mg/mL,核桃虾青素复合油清除 $O_2^- \cdot$ 的 IC_{50} 降为0.81 mg/mL,其原因可能在于添加2%虾青素油增加了纯核桃油中多酚、维生素E和虾青素等抗氧化物质的含量,协同或单独增强了核桃油对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力。

2.4 核桃虾青素复合油的还原能力(见图4)

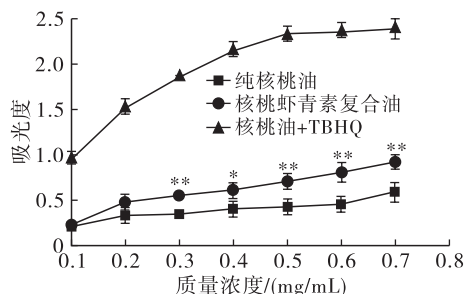


图4 核桃虾青素复合油的还原能力

通常而言一种物质的还原能力与抗氧化能力呈正相关性,油脂还原能力的强弱由吸光度表示,还原能力越强,对应的吸光度就越大。由图4可知,核桃虾青素复合油在一定质量浓度范围内具有良好的还原能力,随着油样质量浓度的增高,还原能力也逐渐增强。此外,在相同质量浓度下,核桃虾青素复合油的还原能力与纯核桃油相比,增加了约55%。其原因可能是在核桃虾青素复合油中,由于添加了2%虾青素油,核桃油中的维生素E和多酚等抗氧化物质含量提高,提高了其抗氧化活性,抗氧化能力越强,则还原能力就越强,从而使得核桃虾青素复合油还原能力提高^[19,21]。此外,虾青素作为一种强抗氧化剂,本身具有超强还原能力,与纯核桃油中的微量成分可能存在一定的协同效应。但与阳性对照添加

TBHQ的核桃油相比,核桃虾青素复合油的还原能力还有所不足。

2.5 核桃虾青素复合油的 Fe^{2+} 螯合能力(见图5)

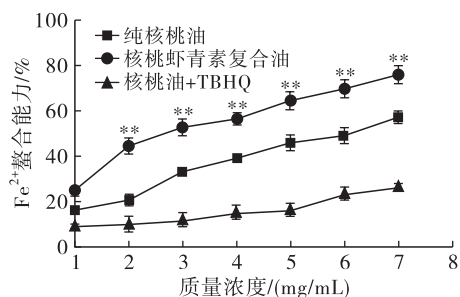


图5 核桃虾青素复合油的 Fe^{2+} 螯合能力

由图5可知,所有实验组的 Fe^{2+} 螯合能力随着油样质量浓度的增加呈增长趋势,存在量效关系。3种油样 Fe^{2+} 螯合能力强弱依次为核桃虾青素复合油>纯核桃油>添加TBHQ核桃油,3种油样 Fe^{2+} 螯合能力的 IC_{50} 值依次为2.73、5.94、15.94 mg/mL。过多的金属离子可以通过Fenton类型反应引起脂质过氧化从而可诱导产生自由基,过多的自由基可引起细胞损伤甚至死亡^[22]。与纯核桃油相比,核桃虾青素复合油中酚类物质含量有所提高,酚类物质对金属离子螯合能力很强^[23],从而引起核桃虾青素复合油 Fe^{2+} 螯合能力的增强。

3 结论

通过体外抗氧化实验,探明了核桃虾青素复合油的体外抗氧化活性的变化。相较纯核桃油而言,核桃虾青素复合油的体外抗氧化活性有一定提高,具体表现在对DPPH \cdot 、 \cdot OH、 $O_2^- \cdot$ 清除能力和还原能力以及 Fe^{2+} 螯合能力都有所增强。纯核桃油对DPPH \cdot 、 \cdot OH、 $O_2^- \cdot$ 清除能力的 IC_{50} 分别为62.21、1.47、1.75 mg/mL,而核桃虾青素复合油对DPPH \cdot 、 \cdot OH、 $O_2^- \cdot$ 清除能力的 IC_{50} 分别为8.25、1.30、0.81 mg/mL;对于 Fe^{2+} 螯合能力的 IC_{50} ,纯核桃油为5.94 mg/mL,而核桃虾青素复合油降至2.73 mg/mL。本研究结果表明核桃虾青素复合油的体外抗氧化性能优于纯核桃油,但在DPPH \cdot 、 \cdot OH清除能力以及还原能力都远低于添加TBHQ的核桃油。核桃虾青素复合油抗氧化能力优于纯核桃油的原因可能在于,在纯核桃油中添加2%虾青素油后,复合油中的维生素E、多酚、类胡萝卜素等微量成分的含量增加,使得核桃虾青素复合油的体外抗氧化活性有一定增强。

参考文献:

- [1] 裴东,鲁新政.中国核桃种质资源[M].北京:中国林业出版社,2011.

- [2] 王翔宇, 罗珍岑, 李键, 等. 超声波辅助溶剂浸出法提取巴塘核桃油工艺优化及脂肪酸组分分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(11):173-176.
- [3] 赵声兰, 李涛, 蔡绍芬, 等. 核桃油自氧化及其抗氧化实验研究[J]. 食品工业科技, 2001(2):27-29.
- [4] 赵声兰, 陈朝银, 葛锋, 等. 核桃油功效成分研究进展[J]. 云南中医学院学报, 2010, 33(6):71-74.
- [5] 曾英男, 顾宇航, 刘佳, 等. 天然抗氧化剂在油脂中的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2019, 25(Z1):21-23.
- [6] 凌关庭. 虾青素及其抗氧化能力[M]. 北京:化学工业出版社, 2004:79.
- [7] CHINTONG S, PHATVEJ W, RERK - AM U, et al. In vitro antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste [J/OL]. Antioxidants, 2019, 8(5):128[2020-07-05]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31085994>.
- [8] DONG S Z, HUANG Y, ZHANG R, et al. Four different methods comparison for extraction of astaxanthin from green alga *Haematococcus pluvialis* [J/OL]. Sci World J, 2014, 2014(9):694035 [2020-07-05]. <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/694035>.
- [9] 刘晓星. 虾青素与5种天然抗氧化剂的抗氧化活性比较研究[D]. 河北邯郸:河北工程大学, 2018.
- [10] 邢海亮, 余旭亚, 耿树香, 等. 虾青素油对核桃油抗氧化性及货架期的影响[J]. 中国油脂, 2020, 45(5):105-109.
- [11] LEE J, CHUNG H H, CHANG P, et al. Development of a method predicting the oxidative stability of edible oils using 2, 2 - diphenyl - 1 - picrylhydrazyl (DPPH) [J]. Food Chem, 2007, 103(2):662-669.
- [12] 唐玉莲, 陈迪钊, 肖小丽, 等. 金刚藤白藜芦醇的纯化及抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(6):86-88.
- [13] 王寒, 罗庆华, 魏梦雅, 等. 大鲵油体外抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(9):149-153.
- [14] 汤杰, 赵力超, 陈洪璋, 等. 桉叶提取物与常用抗氧化剂活性比较研究[J]. 食品科技, 2013, 38(8):247-251.
- [15] 袁磊, 刘晓庚, 唐瑜. 不同类胡萝卜素清除自由基能力的比较[J]. 包装与食品机械, 2015, 33(2):7-11.
- [16] 肖军霞, 黄国清, 仇宏伟, 等. 红树莓花色苷的提取及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2011(8):23-26.
- [17] 余凡, 杨恒拓, 葛亚龙, 等. 紫薯色素的微波提取及其稳定性和抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(4):322-326.
- [18] BRITTON G. Structure and properties of carotenoids in relation to function[J]. FASEB J, 1995, 9(15):1551.
- [19] 阮征, 邓泽元, 严奉伟, 等. 莱籽多酚和V_C在化学模拟体系中清除超氧阴离子和羟自由基的能力[J]. 核农学报, 2007(6):602-605.
- [20] 孙登文, 雷炳福, 刘福祯. 维生素E抗油脂氧化的功能探讨[J]. 中国油脂, 1996, 21(3):23-27.
- [21] 赵贵兴. 天然维生素E对食用油氧化稳定性的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2001(5):12-13.
- [22] 李加兴, 余娇, 黄诚, 等. 猕猴桃籽油的体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2012, 33(23):51-54.
- [23] GHASEMI K, GHASEMI Y, EBRAHIMZADEH M A. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissue [J]. Pak J Pharm Sci, 2009, 22(3):277-281.
-
- (上接第38页)
- [41] 张珍明, 黄文静, 吴言, 等. 微波提取蜂巢中高级脂肪醇[J]. 兰州理工大学学报, 2018, 44(6):74-78.
- [42] 黄水成, 郑辉东, 杨炜炜, 等. 由直链不饱和脂肪酸异构制备支链脂肪酸的研究进展[J]. 化工进展, 2012, 31(11):2454-2459.
- [43] SCHIESSLER R W, FLITTER D. Urea and thiourea adduction of C5 - C42 - hydrocarbons [J]. J Am Oil Chem Soc, 1952, 74(7):1720-1723.
- [44] 慕鸿雁. DPA的富集分离及体外抗炎活性研究[D]. 江苏无锡:江南大学, 2016.
- [45] 林文, 田龙, 王志祥, 等. 尿素包合法联合分子蒸馏技术提纯乙酯化鱼油中EPA及DHA的工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(12):84-92.
- [46] 张培培. 异硬脂酸及其甘油酯的制备和性能[D]. 南京:南京工业大学, 2008.
- [47] 曲晓宇, 张四喜, 周利婷, 等. 尿素包合法纯化东北柞蚕蛹油中不饱和脂肪酸的工艺研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 1(8):167-169.
- [48] NGO H L, NUNEZ A, LIN W, et al. Zeolite - catalyzed isomerization of oleic acid to branched - chain isomers [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2007, 109(3):214-224.
- [49] 王永福, 周荣琪, 段占庭. 脂肪酸分离研究进展[J]. 中国油脂, 2001, 26(5):77-79.
- [50] YAN Y, WANG X, LIU Y, et al. Combined urea - thin layer chromatography and silver nitrate - thin layer chromatography for micro separation and determination of hard - to - detect branched chain fatty acids in natural lipids [J]. J Chromatogr A, 2015, 1425(12):293-301.