

油脂化学

胎脂和羊毛脂中支链脂肪酸组成的研究

揭良¹, 齐策¹, 余仁强², 项静英², 孙进¹, 金青哲¹, 王兴国¹

(1. 江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 食品安全与营养协同创新中心, 江苏无锡214122; 2. 无锡市妇幼保健院, 江苏无锡214002)

摘要:支链脂肪酸(BCFA)是胎脂的重要成分, 胎儿吞食羊水可获取胎脂中的BCFA, 从而参与发挥肠道的防御作用。早产儿吞食胎脂不足, 肠道缺乏BCFA, 需要外源补充, 羊毛脂是潜在的BCFA的天然来源。对胎脂和羊毛脂的BCFA组成进行分析。结果表明: 胎脂含有复杂的脂质种类, 主要是非极性脂质; 胎脂总脂质和胎脂甘油三酯中的BCFA含量都比较高, 依次为17.16%、16.12%; 胎脂中共检测到11种BCFA, 其中异构C12:0、异构C14:0、异构C16:0、反异构C15:0的含量较高; 羊毛脂的脂肪酸中含有约48.53%的BCFA, 包括了胎脂中大部分可测得的BCFA, 因此羊毛脂可以模拟胎脂中的BCFA, 具有在早产儿配方食品中应用的价值。

关键词:BCFA; 胎脂; 羊毛脂; 早产儿

中图分类号: TS225.2; TQ646 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)07-0027-05

Branched chain fatty acid compositions of vernix caseosa and lanolinJIE Liang¹, QI Ce¹, YU Renqiang², XIANG Jingying²,
SUN Jin¹, JIN Qingzhe¹, WANG Xingguo¹

(1. Collaborative Innovationcenter of Food Safety and Quality Control in Jiangsu Province, State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 2. Wuxi Maternal and Child Health Hospital, Wuxi 214002, Jiangsu, China)

Abstract: Branched chain fatty acids (BCFA) are prominent components of vernix caseosa. They are obtained by fetus through the ingestion of amniotic fluid to participate in the role of intestinal tract defense. Preterm infant swallows less amount of vernix caseosa, which makes them be lack of BCFA in intestinal tract, so they need external supplement of BCFA. Lanolin is a potential natural source of BCFA. The BCFA compositions of vernix caseosa and lanolin were analyzed. The results showed that vernix caseosa contained complex lipid species, mainly non-polar lipids. The BCFA contents in total lipids and triglycerides in vernix caseosa were 17.16% and 16.12%, respectively. There were eleven kinds of BCFA detected in vernix caseosa, in which the contents of isoC12:0, isoC14:0, isoC16:0 and anteisoC15:0 were higher. The fatty acid in lanolin contained about 48.53% BCFA, including most BCFA that detected in vernix caseosa, so lanolin could mimic BCFA in vernix caseosa and had the value to be used in formula food of preterm infants.

Key words: BCFA; vernix caseosa; lanolin; preterm infant

收稿日期: 2017-09-11; 修回日期: 2018-03-17

基金项目: 国家重点研发计划重点专项(2017YFD0400600); 合生元营养与护理研究院母婴营养与护理研究基金项目(2017BINCMCF34); 2016年度无锡市科技发展指导性计划(医疗卫生)(CSZ0N1614)

作者简介: 揭良(1990), 男, 在读硕士, 主要从事人乳脂营养研究 (E-mail) jieliangjl@163.com。

通信作者: 齐策, 博士后 (E-mail) qice@jiangnan.edu.cn。

支链脂肪酸(Branched chain fatty acid, BCFA)是一类碳骨架上带有一个或多个支链(主要是甲基)的脂肪酸, 通常是饱和脂肪酸。BCFA分为单支链和多支链, 单支链有两种主要的构型, 一种是分支在脂肪

酸分子碳链骨架倒数第 2 个碳原子上,称为异构型(iso);另外一种是在脂肪酸分子碳链骨架倒数第 3 个碳原子上,称为反异构型(anteiso)。胎脂脂质中含有 10%~20% 的 BCFA,于妊娠期第 24 周开始产生,是人类所特有的,胎脂中的 BCFA 乳化进入羊水,在胎儿吞食羊水时进入胎儿的消化道,胎儿肠道中的 BCFA 含量在第 28 周达到峰值^[1]。这些 BCFA 在胎儿发育后期起到保护肠道的重要作用,早产儿尤其是早于 28 周出生的婴儿没有或较少地吞食胎脂,出生后又排出一部分,导致 BCFA 缺乏。母乳中的 BCFA 含量最高可达 1.5%,婴儿配方奶粉中不含或者含有微量的 BCFA^[2-3]。因此,早产儿无法从食物中摄入等同于胎儿晚期从羊水中摄入的 BCFA,增加了早产儿肠道感染的危险性。Ran 等^[4]发现 BCFA 可显著改变肠道菌群以及降低早产小鼠坏死性小肠结肠炎(NEC)的发病率。说明,通过外源补充 BCFA 可能预防早产儿肠道感染。但是 BCFA 的天然来源相关研究鲜有报道。

BCFA 的天然来源有黄油、牛羊肉、鱼、牛羊乳制品等,但含量低,占总脂肪酸含量的 1%~1.6%^[5-6]。在人体中 BCFA 多存在于皮肤及其分泌物中,如胎脂,孕育后期会溶解于羊水中被胎儿吞食^[7-8]。Yao 等^[9]研究发现羊毛脂中含有 BCFA,但是否可以用于模拟胎脂的 BCFA 还有待研究。羊毛脂是传统的中药成分,具有药用辅料、软膏基质的药理作用^[10]。本研究对比分析了胎脂和羊毛脂的 BCFA 组成,为寻找天然来源的 BCFA 提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

胎脂样本均由无锡市妇幼保健院提供,样本取样经家属同意。胎脂取自足月儿,产妇及婴儿均健康,婴儿在出生后一年内未发生肠道感染疾病。所有和人有关的实验都经过江南大学伦理委员会审查批准。使用人作为研究对象的研究都遵守 1975 年《赫尔辛基宣言》中规定的伦理标准。羊毛脂为药用级,市售。

乙醚、氯仿、乙醇、甲醇、苯、甲苯均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;正己烷为色谱纯,美国 Fisher 公司;2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)、氢氧化钾、浓硫酸和乙酰氯。硅胶板(10 cm×20 cm 或者 20 cm×20 cm)、硅胶小柱, Sigma-Aldrich (USA)。

1.1.2 仪器与设备

EL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)

有限公司),电动搅拌器(金坛市医疗仪器厂),超声仪(昆山禾创超声仪器有限公司),1000B GC/MS 双重四级杆气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司),R-501 低压旋转蒸发器(上海申顺生物科技有限公司),HH-4 数显恒温水浴锅(江苏省金坛市荣华仪器制造公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 胎脂总脂质的提取

将含有胎脂样品的纱布悬浮于 50 mL 含有 0.05% BHT 的氯仿-甲醇(体积比 2:1)中。超声 40 min,经硅胶柱(60~120 mm,约 0.2 g)过滤,滤去悬浮液中的上清细胞。加入无水 Na₂SO₄(约 5 g)以吸收水,并将悬浮液再次过滤。用旋转蒸发法(35℃,17 kPa)和氮吹法除去溶剂。将提取得到的脂质储存在玻璃小瓶中^[11]。

1.2.2 胎脂总脂质和羊毛脂 TLC 分离

将提取的胎脂总脂质和羊毛脂进行特定脂质的 TLC 分离。使用己烷-乙醚(体积比 93:7)作为流动相,在 10 cm×20 cm TLC 板上分离脂质(约 100 mg)。每个板展开两次,第一次展开到 3/4 的高度,取出,静置空气干燥后,进行第二次展开到顶端。经二氢二氯荧光素(0.05%乙醇)显色后,紫外光下观察。脂质种类与标品参考相关文献^[11]进行对比(依次为角鲨烯(R_f 0.89~0.94),蜡酯+胆固醇酯(R_f 0.66~0.74),二醇二酯(R_f 0.46~0.52),甘油三酯(R_f 0.19~0.27),游离脂肪酸(R_f 0.10~0.13),醇(R_f 0.06~0.08),高度极性的脂质(R_f 0.0~0.01))来确定特定脂质部分的区域。

1.2.3 脂肪酸组成分析

胎脂:胎脂总脂质使用 Stransky 等^[12]的方法进行甲酯化。将玻璃小瓶中的脂质溶解在甲苯-甲醇(体积比 2:3)中。后加入乙酰氯,密封并置于 70℃ 的水浴中。60 min 后,打开玻璃小瓶,反应混合物用碳酸钠中和,吸取上清液,氮吹,得胎脂脂肪酸甲酯(FAME)。用色谱纯正己烷重新溶解,加入无水 Na₂SO₄,振荡脱水。静置,吸取上清液,过膜后进 GC-MS 分析。

羊毛脂:羊毛脂的皂化遵循 Barnes 等^[13]的方法。在 70℃ 下用庚烷进行多次萃取除去不皂化物;将提取的水层相中钠皂用 Downing 等^[14]的方法转化为钙皂,将钙盐干燥、粉碎,与硫酸、甲醇和苯(体积比 1:50:50)回流转化成 FAME, FAME 溶液用水洗涤,蒸发溶剂,得羊毛脂 FAME,用色谱纯正己烷重新溶解,加入无水 Na₂SO₄振荡脱水。静置,吸取上清液,过膜后进 GC-MS 分析。

仪器条件:HP-5MS 色谱柱(60 m × 0.25 mm × 0.25 μm);升温程序为柱初温 150 °C,保持 5 min,以 3 °C/min 升至 170 °C,保持 5 min,再以 3 °C/min 升至 210 °C,保持 2 min,最后以 10 °C/min 升至 260 °C,保持 5 min;进样口温度 280 °C;分流比 100:1;进样量 1 μL;载气为高纯 He(99.999%);流量 1.2 mL/min;电子电离源;电子能量 70 eV;离子源温度 230 °C;传输线温度 250 °C;全扫描;质量扫描范围(*m/z*)45 ~ 650;溶剂延迟 5 min。

1.2.4 数据处理

运用 IBM SPSS Statistics 19 软件进行数据分析,用方差分析法(ANOVA)中 *t* 检验法进行显著性分析($P < 0.05$),采用 OriginPro8.6 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 胎脂和羊毛脂中脂质种类

从胎脂中提取脂质部分,通过薄层色谱(TLC)分离,提取的脂质部分含量占胎脂总质量的 11.2%,结果见图 1a。如图 1a 所示,胎脂中含有比较丰富的脂质种类,主要由角鲨烯、蜡酯(胆固醇酯)以及甘油三酯等非极性脂质组成,含量依次约为 16%、38%、26%。此外,还含有少量的极性脂质如醇类和游离脂肪酸,约占 10%。图 1b 显示的是羊毛脂的脂质种类。如图 1b 所示,羊毛脂脂质主要由高级醇和脂肪酸、高级醇和脂肪酸形成的蜡酯组成,其含量比较均匀。此外也含有少量的甘油三酯,含量为 5%。张珏等^[15]也发现羊毛脂中主要是由甾醇、长碳链脂肪醇和脂肪酸形成的酯组成。

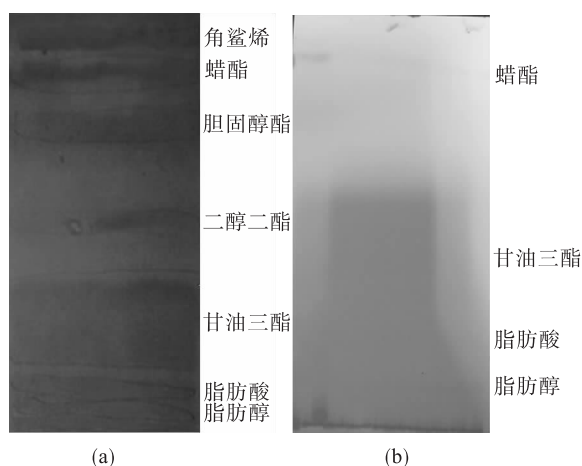


图 1 胎脂(a)和羊毛脂(b)脂质 TLC 图

2.2 胎脂总脂质和胎脂甘油三酯的脂肪酸组成

胎儿通过吞食胎脂获得 BCFA,人体易消化吸收甘油三酯,因而对胎脂总脂质以及从上述胎脂跑薄层板制得的甘油三酯脂肪酸组成进行分析,结果见表 1。由表 1 可知,胎脂总脂质及胎脂中甘油三

酯中 BCFA 分别占总脂肪酸的 $17.16\% \pm 1.01\%$ 和 $16.12\% \pm 0.13\%$,低于 Rissmann 等^[16]测得的胎脂甘油三酯中 BCFA 的含量(19.8%),这可能和国外膳食中摄入更多的牛羊肉及其乳制品有关。胎脂总脂质中 BCFA 碳链长度范围为 C12 ~ C26,胎脂甘油三酯 BCFA 碳链长度为 C12 ~ C22,其中主要 BCFA 都是 anteiso-BCFA 和 iso-BCFA。胎脂丰富的 BCFA 可被足月儿在妊娠后期通过吞食羊水获取,参与建立肠道早期的先天防御系统^[3,17]。而早产儿出生前没有摄取 BCFA,肠道防御机能较低,容易感染^[4]。有研究发现,母乳喂养能使婴儿 BCFA 得到一定的补充,能减少婴儿 NEC 的发病率,这可能和母乳中 BCFA 的存在有关。

表 1 胎脂总脂质和胎脂甘油三酯的脂肪酸组成($n=3$)

脂肪酸	脂肪酸含量/%	
	胎脂总脂质	胎脂甘油三酯
iso-C12:0	0.70 ± 0.06	2.62 ± 0.15
C12:0	0.76 ± 0.06	0.43 ± 0.06
iso-C13:0	0.37 ± 0.10	0.54 ± 0.02
anteiso-C13:0	0.31 ± 0.07	0.37 ± 0.01
C13:0	0.43 ± 0.13	0.62 ± 0.03
iso-C14:0	3.67 ± 0.24	5.05 ± 0.08
C14:1	2.17 ± 0.31	2.33 ± 0.08
C14:0	6.23 ± 0.30	15.29 ± 1.03
iso-C15:0	1.11 ± 0.13	0.3 ± 0.04
anteiso-C15:0	1.95 ± 0.13	1.94 ± 0.13
C15:0	5.93 ± 0.21	7.99 ± 0.18
C16:1 _{n-7}	3.24 ± 0.09	1.40 ± 0.11
iso-C16:0	3.61 ± 0.08	3.45 ± 0.10
C16:1 _{n-9}	20.70 ± 0.32	18.63 ± 0.62
C16:0	28.13 ± 0.24	27.18 ± 0.33
anteiso-C17:0	0.44 ± 0.06	0.70 ± 0.03
C17:0	0.70 ± 0.12	0.44 ± 0.05
iso-C18:0	0.75 ± 0.06	0.25 ± 0.00
C18:2	0.12 ± 0.03	0.34 ± 0.13
C18:1 _{n-6}	7.33 ± 0.71	7.68 ± 0.39
C18:1 _{n-9}	1.14 ± 0.18	3.32 ± 0.03
C18:0	2.99 ± 0.37	0.57 ± 0.02
iso-C20:0	0.96 ± 0.06	0.37 ± 0.06
C22:0	0.58 ± 0.04	0.03 ± 0.01
C24:0	2.30 ± 0.14	ND
4me-C25:0	0.72 ± 0.11	ND
17me-C25:0	0.76 ± 0.16	ND
iso-C26:0	1.84 ± 0.21	ND
Σ BCFA	17.16 ± 1.01	16.12 ± 0.13
Σ iso-BCFA	13.01 ± 0.69	12.58 ± 0.14
Σ anteiso-BCFA	2.70 ± 0.26	3.01 ± 0.15

注:结果为“平均值 ± 标准偏差”;iso-BCFA 为异构支链脂肪酸;anteiso-BCFA 为反异构支链脂肪酸;ND 为未检出。下同。

在胎脂总脂质和胎脂甘油三酯中 iso - C12:0、iso - C14:0、iso - C16:0、iso - C15:0 和 anteiso - C15:0 的含量较高,这些也是人乳和牛羊乳中的常见 BCFA。研究显示,这些 BCFA 具有特殊功能,如 Yang 等^[18]从大豆中提取的 iso - C15:0 能快速诱导人类各种癌细胞程序性凋亡,其活性显著高于共轭亚油酸。Yan 等^[6]发现这些常见的 BCFA 都具有显著的体外抗炎效果。

2.3 羊毛脂脂肪酸组成及与胎脂 BCFA 的对比

羊毛脂是羊皮脂腺的油状分泌物,一般附着于羊毛。对羊毛脂的应用至今已有几百年的历史,国外近年来不断探索羊毛脂应用的途径。通过纯化、改性,目前已开发出的羊毛脂衍生物有几十种,在羊毛脂的众多衍生物中,羊毛酸是最重要的产品之一,其不仅自身可以被直接应用为表面活性剂,而且是合成各种羊毛脂衍生物的主要原料。研究发现^[9],BCFA 是羊毛酸的主要组成成分,因此本实验对羊毛脂 BCFA 进行了检测分析,结果如表 2 所示。

表 2 羊毛脂的脂肪酸组成

脂肪酸	含量/%
C9:0	3.16 ± 0.19
iso - C10:0	0.46 ± 0.06
C10:0	0.70 ± 0.08
anteiso - C11:0	2.80 ± 0.08
iso - C12:0	1.54 ± 0.08
C12:0	0.78 ± 0.08
anteiso - C13:0	0.87 ± 0.13
C13:0	0.78 ± 0.08
iso - C14:0	2.99 ± 0.20
C14:0	3.31 ± 0.32
iso - C15:0	1.02 ± 0.21
anteiso - C15:0	4.41 ± 0.38
C15:0	3.72 ± 0.07
iso - C16:0	4.48 ± 0.22
C16:0	6.68 ± 0.77
iso - C17:0	1.97 ± 0.35
anteiso - C17:0	3.18 ± 0.40
C17:0	0.44 ± 0.11
iso - C18:0	2.42 ± 0.24
C18:0	2.10 ± 0.13
C18:1	9.88 ± 0.99
C19:0	3.61 ± 0.22
iso - C20:0	3.54 ± 0.56
C20:0	0.89 ± 0.08
anteiso - C21:0	3.81 ± 0.59
C22:0	2.42 ± 0.11
ND	1.66 ± 0.35
ND	2.09 ± 0.41

续表 2

脂肪酸	含量/%
anteiso - C23:0	4.68 ± 0.41
iso - C24:0	2.08 ± 0.06
C24:0	4.59 ± 0.66
anteiso - C25:0	2.97 ± 0.35
C25:0	2.93 ± 0.35
iso - C26:0	2.39 ± 0.25
C26:0	3.80 ± 0.46
Σ BCFA	48.53 ± 1.00
Σ iso - BCFA	22.89 ± 1.24
Σ anteiso - BCFA	22.72 ± 1.61

由表 2 可知,羊毛脂中的脂肪酸主要是饱和脂肪酸,且近 50% 是 BCFA,主要是 anteiso - BCFA 和 iso - BCFA,共检测到 17 种 BCFA,碳链长度为 C10 ~ C26。与胎脂 BCFA 对比发现,羊毛脂 BCFA 包含了胎脂中除 iso - C13:0 之外可检测到的全部 BCFA。因此,羊毛脂适合作为 BCFA 的天然来源。羊毛脂中的非胎脂 BCFA 含量约 39.54%,这部分可进一步通过分子蒸馏工艺去除,这部分内容需进一步研究。

3 结论

本研究通过对胎脂脂质和羊毛脂的分析检测,分别在胎脂总脂质和胎脂甘油三酯中鉴定出 11 种和 10 种 BCFA。其中主要的是 iso - BCFA (13.01%, 12.58%) 和 anteiso - BCFA (2.70%, 3.01%),因此胎脂特别是胎脂甘油三酯是胎儿 BCFA 的主要来源。羊毛脂中鉴定出 17 种 BCFA,含量达到了羊毛脂脂肪酸的 48.53%,包含了胎脂中大部分 BCFA 的种类,适合作为 BCFA 的原料来源。我国羊毛脂资源丰富,年产量约 3 万 t,这为工业化生产食品级 BCFA 提供了可能。

参考文献:

- [1] MOORE C, DEMPSEY D, DEITERMANN D, et al. Fetal cocaine exposure: analysis of vernix caseosa [J]. *J Anal Toxicol*, 1996, 20(6): 509 - 511.
- [2] EGGE H, MURAWSKI U, RYHAGE R, et al. Minor constituents of human milk IV: analysis of the branched chain fatty acids [J]. *Chem Phys Lipids*, 1972, 8(1): 42 - 55.
- [3] RAN R R, LAWRENCE P P, LAWRENCE, et al. Branched chain fatty acids are constituents of the normal healthy newborn gastrointestinal tract [J]. *Pediatr Res*, 2008, 64: 605.
- [4] RAN R R, KHAILOVA L, ARGANBRIGHT K M, et al. Branched chain fatty acids reduce the incidence of necrotizing enterocolitis and alter gastrointestinal microbial ecology in a neonatal rat model [J]. *PLoS One*, 2011, 6(12):

- 1 - 10.
- [5] 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: 293 - 301.
- [6] YAN Y, WANG Z, GREENWALD J, et al. BCFA suppresses LPS induced IL - 8 mRNA expression in human intestinal epithelial cells[J]. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids*, 2017, 116: 27 - 31.
- [7] YOSHIO H, TOLLIN M, GUDMUNDSSON G H, et al. Antimicrobial polypeptides of human vernix caseosa and amniotic fluid: implications for newborn innate defense[J]. *Pediatr Res*, 2003, 53(2): 211 - 216.
- [8] RAN R R, GLAHN R P, BAE S E, et al. Branched - chain fatty acids in the neonatal gut and estimated dietary intake in infancy and adulthood[J]. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 2013, 77: 133 - 143.
- [9] YAO L, HAMMOND E G. Isolation and melting properties of branched - chain esters from lanolin[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2006, 83: 547 - 552.
- [10] 国家药典委员会. 中国药典: 二部[J]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [11] MIKOA R, VRKOSLAV V, HANUS R, et al. Newborn boys and girls differ in the lipid composition of vernix caseosa[J]. *PloS One*, 2014, 9(6): e99173.
- [12] STRANSKY K, JURSIK T. Simple quantitative transesterification of lipids 1. Introduction[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 1996, 98(2): 65 - 71.
- [13] BARNES C S, CURTIS R G, HATT H H. The saponification of wool wax and the recovery of the wax alcohols. Study in waxes. Part IV[J]. *J Appl Sci*, 1952, 3: 88 - 99.
- [14] DOWNING D T, KRANZ Z H, MURRAY K E. Studies in waxes. XIV. An investigation of the aliphatic constituents of hydrolysed wool wax by gas chromatography[J]. *Aust J Chem*, 1960, 13(1): 80 - 94.
- [15] 张珏, 华聘聘. 羊毛酸的提取[J]. *中国油脂*, 2000, 25(3): 56 - 58.
- [16] RISSMANN R, GROENINK H W W, WEERHEIM A M, et al. New insights into ultrastructure, lipid composition and organization of vernix caseosa[J]. *J Invest Dermatol*, 2006, 126(8): 1823 - 1833.
- [17] NARENDEN V, WICKETT R R, PICKENS W L, et al. Interaction between pulmonary surfactant and vernix: a potential mechanism for induction of amniotic fluid turbidity[J]. *Pediatr Res*, 2000, 48(1): 120 - 124.
- [18] YANG Z H, LIU S P, CHEN X D, et al. Induction of apoptotic cell death and in vivo growth inhibition of human cancer cells by a saturated branched - chain fatty acid, 13 - methyltetradecanoic acid[J]. *Adv Cancer Res*, 2000, 60: 505 - 509.
-
- (上接第 26 页)
- [7] 吕小义, 尹佳, 付杰, 等. 裂壶藻营养特性及其积累 DHA 的研究[J]. *食品工业*, 2016, 37(1): 222 - 225.
- [8] 武琼. 裂壶藻蛋白源抗氧化肽的制备分离及稳定性研究[D]. 山东 青岛: 中国海洋大学, 2016.
- [9] KOLETZKO B. N - 3 fatty acids and pregnancy outcomes[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metabolic Care*, 2005, 8(2): 161 - 166.
- [10] SMIT E N, OELEN E A, SEERAT E, et al. Breast milk docosahexaenoic acid (DHA) correlates with DHA status of malnourished infants[J]. *Arch Dis Child*, 2000, 82(6): 493 - 494.
- [11] OKEZIE I. Aroma assessment of potential prooxidant and antioxidant actions[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1996, 73(12): 1617 - 1625.
- [12] WHYSNER J, WANG C X, ZANG E, et al. Dose response of promotion by butylated hydroxyanisole in chemically initiated tumours of the rat forestomach[J]. *Food Chem Toxicol*, 1994, 32(3): 215 - 222.
- [13] 高原菊. 天然抗氧化剂对牡丹籽油氧化稳定性的影响[J]. *食品与机械*, 2014, 32(6): 153 - 155.
- [14] 李杰, 赵声兰, 陈朝银. 食用油天然抗氧化剂的研究与开发[J]. *食品工业科技*, 2015, 36(2): 373 - 378.
- [15] 黄克, 崔春, 赵谋明, 等. 天然抗氧化剂的增效作用及其对花生油抗氧化效果研究[J]. *现代食品科技*, 2012, 28(9): 1139 - 1141.
- [16] 翟柱成, 吴克刚, 柴向华, 等. 天然抗氧化剂对葵花籽油抗氧化作用的研究[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(3): 148 - 150.
- [17] 周旭. 几种油溶性天然抗氧化剂在核桃油、葡萄籽油中的应用研究[J]. *中国油脂*, 2017, 42(3): 64 - 68.
- [18] 张桂雨. 裂殖壶菌 *Schizochytrium limacinum* 单细胞油脂的氧化稳定性及分离纯化[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2013.
- [19] 韩淑琴, 杜玉兰, 李志锐. 天然抗氧化剂在食用油中的应用与研究[J]. *保鲜与加工*, 2016, 16(3): 71 - 74.
- [20] 王茜茜, 袁建, 王立峰, 等. 三种天然抗氧化剂对菜籽油储藏稳定性影响的研究[J]. *中国油脂*, 2013, 38(1): 60 - 63.
- [21] 盛雪飞, 彭燕, 陈健初. 天然抗氧化剂之间的协同作用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2010, 31(7): 414 - 421.