

三疣梭子蟹脂肪提取工艺及其组成分析

卜俊芝, 徐 迅, 严利强

(浙江旅游职业学院, 浙江杭州 311231)

摘要: 为了提升螃蟹产品精深加工产业, 尤其是螃蟹脂肪的加工应用, 本文对三疣梭子蟹的脂肪提取工艺及其组成进行了研究。本文比较了4种常用的脂肪提取方法(索氏法、Bligh-Dyer法、超声法和微波萃取法)和5种甲酯化方法(酸法、室温碱法、酸碱结合法、常规三氟化硼法和一步三氟化硼法), 得到较优的蟹肉脂肪分析方法, 并分析三疣梭子蟹肉脂肪组成特征。结果表明, 最佳方法为Bligh-Dyer提取和常规三氟化硼甲酯化方法。采用此方法进行测定, 得出三疣梭子蟹肉含20种脂肪酸, 其中包括9种饱和脂肪酸、4种单不饱和脂肪酸和7种多不饱和脂肪酸, 各占总脂肪酸含量的39.43%、16.92%和43.65%, 各类特征脂肪酸分别为 $C_{16:0}$ (棕榈酸)、 $C_{18:1}$ (油酸)和 $C_{22:6n3}$ (DHA), 其中n-3系/n-6系多不饱和脂肪酸比值为5.27, 说明蟹肉富含n-3系多不饱和脂肪酸。本文说明螃蟹脂肪具有进一步开发利用的前景, 为螃蟹的综合利用提供了参考, 也为螃蟹脂肪的提取加工及工业应用提供依据。

关键词: 三疣梭子蟹, 脂肪酸, 提取, 甲酯化

Extraction Process and Composition Profiles of Fat from *Portunus trituberculatus*

BU Jun-zhi, XU Xun, YAN Li-qiang

(Tourism College of Zhejiang, Hangzhou 311231, China)

Abstract: In order to promote the deep processing of crab products, extraction and composition profiles of fat from *Portunus trituberculatus* were studied. In this study, four kinds of extraction method (Soxhlet extraction, Bligh - Dyer extraction, ultrasonication extraction, and microwave extraction) and five kinds of methyl ester method (acid catalyst method, alkali catalyst method under room temperature, method of combination with acid and alkali, conventional three fluoride boron method, and one step method of three fluoride boron) were compared, and the optimum analysis method was obtained, through which the fatty acid composition of *Portunus trituberculatus* was analyzed. The result suggested that the best method was the application of Bligh - Dyer extraction and conventional three fluoride boron method. The results showed that twenty components fatty acids were detected by GC-MS, 9 components SFA, 4 components MUFA and 7 componets PUFA, with their percentages 42.57%, 14.91% and 42.52%, respectively. The dominated fatty acid in each category was $C_{16:0}$ (palmitic acid), $C_{18:1}$ (oleic acid) and $C_{22:6n3}$ (DHA). The ratio of n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) was 5.27, indicating that this was a n-3 PUFA-rich food. This paper showed that there was the prospect of further development and utilization of crab fat. The research might provide reference for comprehensive utilization with crab fat, and theory base for process and its industrial application.

Key words: *Portunus trituberculatus*; fatty acid; extraction; esterification

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)13-0072-08

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.13.012

引文格式: 卜俊芝, 徐迅, 严利强. 三疣梭子蟹脂肪提取工艺及其组成分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13): 72-78, 84.

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)是一种重要的海洋经济动物, 由于其个体大、生长快、风味鲜美、营养丰富等特点, 已经在我国海洋捕捞和海水养殖中占有极其重要的地位。其蟹肉的脂肪富含不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acids, UFA), 含量高达40%, 尤其是 $C_{20:5n3}$ (EPA)和 $C_{22:6n3}$ (DHA)^[1]。有研究表

明饱和脂肪酸(saturated fatty acids, SFA)会引起血清总胆固醇升高, 单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acids, MUFA)却具有保护心脏、降血糖、调节血脂、降低胆固醇和防止记忆下降等诸多作用^[2], 同时多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFA)有降血脂防动脉硬化、提高人体免疫机能等重要功

收稿日期: 2019-09-04

作者简介: 卜俊芝(1986-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 烹饪科学, E-mail: bujunzhi1124@126.com。

基金项目: 2018 浙江省水产品加工技术联合重点实验室开放基金项目(201803); 2018 四川省川菜发展研究中心课题(CC18Z06)。

能^[3]。可是,我国相关梭子蟹产品主要是新鲜梭子蟹和剥制的蟹肉,对梭子蟹的加工还处于简单的初级阶段,对蟹肉脂肪还没有进一步的精深加工。随着我国人民生活水平的提高,市场对蟹产品的多样化提出了更高要求。

目前,有关三疣梭子蟹的研究大多集中于养殖技术^[4-7]和基础的营养及风味研究^[1,8-10]。进一步针对三疣梭子蟹脂肪的研究极少^[1,10]。脂肪分析方法常用索氏提取、氯仿甲醇法、稀碱水解法、酶法等^[11-16]脂肪提取方法和脂肪酸的酸碱酯化法^[17-20]。由于实验条件的限制,不同实验室采取的提取和甲酯化方法各异,使用的溶剂亦种类繁多,这对脂肪酸测定结果造成的影响千差万别,很难实现脂肪酸的准确测定。螃蟹脂肪酸分析方法的标准化,有利于不同海域螃蟹脂肪酸的对比研究以及促进螃蟹的精深加工。

因此,针对三疣梭子蟹肥美的脂肪,本文将常用的4种脂肪提取方法及5种常见甲酯化方法进行了系统的比较,找出最适合螃蟹脂肪的提取及分析方法,从而获得三疣梭子蟹的蟹肉脂肪酸组成特征,期望为三疣梭子蟹的营养研究提供理论数据,也为水产品脂肪精深加工提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

新鲜的雄性三疣梭子蟹 捕捞于浙江舟山海域,选取大小均匀,体重均200 g。

石油醚(沸程:60~90 ℃)、丙酮、氯仿、甲醇(提取脂肪) 分析纯,成都市科龙化工试剂有限公司;三氟化硼(脂肪酸甲酯化,分析纯)、正己烷(提取甲酯化的脂肪,色谱纯) 国药集团化学试剂有限公司;37种脂肪酸甲酯标准品 色谱纯,上海Sigma-aldrich公司。

Agilent GC-7890A 气相色谱仪 美国安捷伦科技有限公司;离心机 美国赛默飞世尔公司;XH-MC-1 实验室微波合成仪 上海祥鸽智能科技有限公司;IKA® T18 均质机 上海楚柏实验室设备有限公司;N-EVAP111 氮吹仪 北京康林科技有限公司;JB-3 型定时恒温磁力搅拌器 上海雷磁新泾仪器有限公司;RE-52 AAA 旋转蒸发器 上海嘉鹏科技有限公司;PTS-300 超声发生器 广州东方超声设备厂。

1.2 实验方法

1.2.1 脂肪酸甲酯标准溶液的配制 37种脂肪酸甲酯标准品用色谱纯正己烷稀释5倍,过0.45 μm 有机滤膜后进气相色谱分析。

1.2.2 三疣梭子蟹样品的前处理 三疣梭子蟹冰浴条件下运到实验室,立即清洗干净后,蒸20 min,去除鳃、胃、心、肠、性腺,剪开步足和头胸甲底部内骨骼,刮出肌肉作为蟹肉,并在冰浴的条件下均质,真空包装。样品置于冰箱冷冻室中(-20 ℃)保存。

1.2.3 三疣梭子蟹脂肪提取方法 梭子蟹的脂肪提取参照如下不同的提取方法提取,得到的粗脂肪测定脂肪得率。利用常规三氟化硼-甲醇甲酯化后,气

相色谱进行分析,得到饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸相对百分含量。

1.2.3.1 索氏提取法 参照王洪英等^[11]的方法,具体方法如下。新鲜蟹肉去水处理,取蟹肉(干样)10 g,滤纸封好放于索氏提取器中,提取溶剂为丙酮-石油醚溶液(1:1, v/v),料液比为1:6 g/mL,于75 ℃恒温水浴回流8 h,真空旋转蒸发去除有机溶剂,得到粗脂肪,测定其脂肪提取率。充氮气密封4 ℃保存。甲酯化方法采用一步BF₃法处理。

1.2.3.2 Bligh-Dyer 提取法 参照刁全平等^[12]的方法,具体方法如下。称取蟹肉(湿样)20 g于500 mL锥形瓶中,加入100 mL 甲醇、50 mL 氯仿、40 mL 蒸馏水,均质后,磁力搅拌器搅拌20 h,加入50 mL 氯仿,50 mL 蒸馏水,真空抽滤,取下层有机相,旋转蒸发去除氯仿,得到粗脂肪,测定其脂肪提取率。充氮气密封4 ℃保存。甲酯化方法采用一步BF₃法处理。

1.2.3.3 超声提取法 参照汪学荣等^[13]的方法,具体方法如下。称取蟹肉(湿样)20 g于500 mL锥形瓶中,以甲醇-氯仿-水(1:1:0.9, v/v/v)作为溶剂,固液比1:5 g/mL,均质后静置20 h,以超声功率400 W、超声时间25 min,重复超声3次,混合提取液,5000 r/min离心5 min,取下清液,旋转蒸发去除氯仿,得到粗脂肪,测定其脂肪提取率。充氮气密封4 ℃保存。甲酯化方法采用一步BF₃法处理。

1.2.3.4 微波萃取法 参照李朝阳等^[14]的方法,具体方法如下。称取蟹肉20 g(湿样)于250 mL锥形瓶中,提取溶剂用无水乙醇-石油醚(4:1, v/v),料液比为1:5 g/mL,微波辐射功率640 W,设定温度为40 ℃,辐射时间60 s,萃取后磁力搅拌40 min,真空抽滤,取上层有机相,旋转蒸发去石油醚,得到粗脂肪,测定其脂肪提取率。充氮气密封4 ℃保存。甲酯化方法采用一步BF₃法处理。

1.2.4 三疣梭子蟹脂肪酸甲酯化处理 粗脂肪均由同样的Bligh-Dyer方法抽提得到,分别用经优化后的5种甲酯化方法进行甲酯化,然后进气相色谱进行分析,得到各类脂肪酸的相对百分含量。

1.2.4.1 酸法甲酯化 参照傅向乾等^[17]的方法,具体方法如下。取蟹油粗品20 mg,加入1%硫酸-甲醇(V/V)2 mL,70 ℃水浴加热60 min,加2 mL 正己烷,混匀,静置分层,收集上清液,加适量无水硫酸干燥,经氮吹浓缩后进气相分析得到脂肪酸组成结果。

1.2.4.2 室温碱法甲酯化 参照傅向乾等^[17]的方法,具体方法如下。取蟹油粗品20 mg,加入石油醚-苯混合溶剂(1:1, v/v)2 mL 溶解脂肪,加2 mL 0.5 mol/L氢氧化钾-甲醇溶液,超声频率30 kHz,反应时间10 min,室温静置30 min,加蒸馏水1 mL,振荡,静置分层后取上层,加适量无水硫酸钠干燥后,经氮吹浓缩后进气相分析得到脂肪酸组成结果。

1.2.4.3 酸碱酯化法 参照张述琼等^[19]的方法,具体方法如下。取蟹油粗品20 mg,加入0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液4 mL,于60 ℃水浴中皂化至无油滴(约20 min)。冷却到室温,滴加50%硫酸调节溶液

呈中性,加入 8 mL 1% 硫酸-甲醇溶液酯化反应 30 min,取出冷却至室温,加入 5 mL 正己烷,加入 2 mL 饱和 NaCl,振荡,静置分层取上层,用无水硫酸钠干燥后,经氮吹浓缩后进气相分析得到脂肪酸组成结果。

1.2.4.4 常规三氟化硼(BF₃)-甲醇法 参照符贵红等^[18]的方法,具体方法如下。取蟹油粗品 20 mg,加入 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 3 mL,充氮气混匀,65 °C 水浴中皂化 20 min,冷却至室温,加 4 mL BF₃-甲醇(14%, w/v)混合溶液,60 °C 水浴反应 5 min,取出冷却至室温,超声功率 300 W,超声频率 30 kHz,超声 10 min,各加 2 mL 饱和氯化钠溶液和正己烷,振荡 5 s,静置分层取上层,用无水硫酸钠干燥,经氮吹浓缩后进气相分析得到脂肪酸组成结果。

1.2.4.5 一步 BF₃ 法 参照 Pedro 等^[20]的方法,具体方法如下。取蟹油粗品 20 mg,加入 2 mL BF₃-甲醇溶液(14%, w/v),充氮气密封,在 100 °C 恒温水浴 1 h。冷却后加 1 mL 正己烷,2 mL 蒸馏水后,振荡 15 s,3000 r/min 离心 5 min,收集上层。下层加 1 mL 正己烷重新提取两次,合并上层,经氮吹浓缩后进气相分析得到脂肪酸组成结果。

1.2.5 测定方法

1.2.5.1 气相色谱测定条件 色谱柱:HP-INNOWAX 毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.15 μm);程序升温条件:初温 50 °C,保持 2 min,以 4 °C/min 升至 220 °C,保持 15 min;进样口温度 250 °C,分流比为 200:1;进样量为 1 μL;载气:高纯 N₂;恒流:0.65 mL/min。

1.2.5.2 脂肪酸定性和定量分析 采用 37 种脂肪酸甲酯标准品的保留时间与试样组分峰的保留时间进行对照,确定脂肪酸总离子流图中各色谱峰归属,然后采用峰面积归一化法进行定量分析,求得各个脂肪酸在总脂肪酸中的相对百分含量。

1.2.5.3 脂肪得率的测定

$$W(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m_0} \times 100$$

式中:W 表示脂肪得率,% ;m₀ 为蟹肉的湿重,g ;m₁ 为提取锥形瓶的质量,g ;m₂ 为提取锥形瓶和脂肪的总质量,g。

1.2.6 三疣梭子蟹肉脂肪酸的组成特征和营养评价

采用脂肪得率及脂肪酸总数为指标,确定最佳脂肪提取方法及酯化方法,采用最佳条件处理蟹肉脂肪,进气相分析得到脂肪酸组成结果。组成脂肪的脂肪酸种类很多,但大致分为饱和脂肪酸(SFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)和多不饱和脂肪酸(PUFA)这三大类。饱和脂肪酸会引起血清总胆固醇升高,单不饱和脂肪酸却具有保护心脏、降血糖、调节血脂、降低胆固醇和防止记忆下降等诸多作用,同时多不饱和脂肪酸有降血脂防动脉硬化、提高人体免疫功能等重要功能^[21]。因此本文参考文献[21-22]计算三疣梭子蟹脂肪酸致血栓形成指数(thrombogenic index, TI)和动脉粥样硬化指数(atherogenic index, AI)来评估三疣梭子蟹饱和脂肪酸对人类心血管病患病的影响,同时以不饱和脂肪酸含量,以及 n-3/n-6 系不饱和脂肪酸的比值来评估三疣梭子蟹不饱

和脂肪酸对人体健康的影响。

$$AI = \frac{C_{12:0} + 4 \times C_{14:0} + C_{16:0}}{\sum MUFA + \sum PUFA_{n-6} + \sum PUFA_{n-3}}$$

$$TI = (C_{14:0} + C_{16:0} + C_{18:0}) / (0.5 \times \sum MUFA + 0.5 \times \sum PUFA_{n-6} + 3 \times \sum PUFA_{n-3} + \frac{\sum PUFA_{n-3}}{\sum PUFA_{n-6}})$$

式中:AI 表示动脉粥样硬化指数;C_{12:0} 表示 C_{12:0} 的相对含量,% ;C_{14:0} 表示 C_{14:0} 的相对含量,% ;C_{16:0} 表示 C_{16:0} 的相对含量,% ;C_{18:0} 表示 C_{18:0} 的相对含量,% ;PUFA_{n-3} 表示 n-3 系多不饱和脂肪酸的相对含量,% ;PUFA_{n-6} 表示 n-6 系多不饱和脂肪酸的相对含量,%。

1.3 数据分析

样品重复测定三次,所获结果用 SPSS 17 处理,以平均值 ± 标准偏差(Mean ± SD)表示;采用 Duncan 多重比较进行差异显著性分析,以 P < 0.05 作为差异显著性判断标准;采用 Origin 10.5 软件作图。

2 结果与分析

2.1 蟹肉脂肪提取方法

采用 37 种脂肪酸甲酯标准品总离子流图中各色谱峰归属,见图 1。

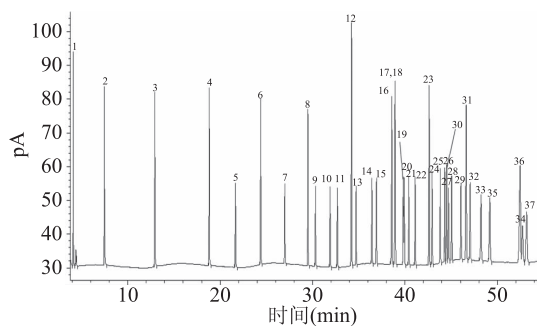


图 1 37 种脂肪酸标准品的总离子流图谱

Fig.1 Total ion chromatogram of 37 fatty acid standards

注:1:C_{4:0};2:C_{6:0};3:C_{8:0};4:C_{10:0};5:C_{11:0};6:C_{12:0};7:C_{13:0};8:C_{14:0};9:C_{14:1};10:C_{15:0};11:C_{15:1};12:C_{16:0};13:C_{16:1};14:C_{17:0};15:C_{17:1};16:C_{18:0};17,18:C_{18:1n9/e/18:1n9i};19:C_{18:2n6e};20:C_{18:2n6};21:C_{18:3n6};22:C_{18:3n3};23:C_{20:0};24:C_{20:1n9};25:C_{20:2};26:C_{20:3n6};30:C_{21:0};27:C_{20:3n3};28:C_{20:4n6};29:C_{20:5n3};31:C_{22:0};32:C_{22:1n9};33:C_{22:2};35:C_{23:0};36:C_{24:0};34:C_{22:6n3};37:C_{24:1n9}。

四种脂肪提取方法得到的三疣梭子蟹脂肪酸相对百分含量见表 1。四种提取方法的得率及获得的各类脂肪酸数量见表 2。由表 1 和表 2 可知,四种提取方法所得油脂成分及相对含量有所差异。Bligh-Dyer 提取方法在得率和脂肪酸总个数方面有明显的优势,而且二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)的含量远远高于其他三种提取方法(P < 0.05)。超声提取方法的脂肪酸组成种类和 Bligh-Dyer 提取方法相差不大,但是 DHA 的含量较低,而且提取率也较低。索氏提取方法获得的脂肪酸种类最少,饱和脂肪酸含量最高(P < 0.05),而且没有检测到 EPA 和亚麻酸。微波提取方法获得的脂肪酸中不饱和脂肪酸的比例最高(P < 0.05),其中的油酸、亚油酸和亚麻酸含量较高,但是 EPA 和 DHA 含量较

表1 四种提取方法的三疣梭子蟹肉脂肪酸组成及相对含量

Table 1 Fatty acid composition and relative content of *Portunus trituberculatus* extracted by four methods

脂肪酸组成	相对百分含量(%)			
	索氏提取	Bligh-Dyer 提取	超声提取	微波提取
C _{14:0}	/	0.321 ± 0.057 ^b	0.794 ± 0.067 ^a	0.594 ± 0.101 ^a
C _{15:0}	/	0.413 ± 0.074 ^c	0.718 ± 0.051 ^b	1.080 ± 0.159 ^a
C _{16:0}	14.989 ± 0.412 ^a	9.461 ± 0.084 ^b	15.986 ± 0.349 ^a	16.866 ± 0.390 ^a
C _{17:0}	1.791 ± 0.098 ^a	1.160 ± 0.047 ^b	1.558 ± 0.307 ^{ab}	/
C _{18:0}	12.796 ± 0.742 ^a	8.208 ± 0.177 ^b	10.777 ± 0.248 ^{ab}	5.376 ± 0.169 ^c
C _{20:0}	2.874 ± 0.287 ^a	1.577 ± 0.074 ^b	2.279 ± 0.088 ^a	2.971 ± 0.174 ^a
C _{21:0}	14.715 ± 0.399 ^a	14.258 ± 0.111 ^a	11.994 ± 0.312 ^b	2.134 ± 0.169 ^c
C _{22:0}	/	0.480 ± 0.028 ^a	0.595 ± 0.047 ^a	0.608 ± 0.047 ^a
C _{23:0}	7.082 ± 0.139 ^a	4.367 ± 0.021 ^b	4.374 ± 0.066 ^b	/
∑SFA	54.246 ± 0.538 ^a	40.243 ± 0.040 ^b	49.075 ± 0.231 ^a	29.628 ± 0.858 ^c
C _{16:1n-7}	4.163 ± 0.412 ^{ab}	2.840 ± 0.056 ^b	3.928 ± 0.080 ^b	5.441 ± 0.357 ^a
C _{17:1n-7}	/	0.734 ± 0.021 ^a	0.794 ± 0.089 ^a	/
C _{18:1}	15.893 ± 0.076 ^b	13.248 ± 0.107 ^b	14.719 ± 0.099 ^b	30.114 ± 0.198 ^a
C _{20:1}	2.753 ± 0.088 ^a	1.235 ± 0.019 ^b	1.822 ± 0.120 ^{ab}	1.160 ± 0.192 ^b
∑MUFA	22.809 ± 0.450 ^b	18.057 ± 0.102 ^c	21.263 ± 0.324 ^b	36.716 ± 0.555 ^a
C _{18:2n-6}	1.102 ± 0.156 ^b	1.022 ± 0.020 ^b	1.028 ± 0.009 ^b	18.519 ± 0.606 ^a
C _{18:3n-6}	/	0.346 ± 0.016 ^c	0.695 ± 0.101 ^b	0.945 ± 0.078 ^a
C _{20:2n-7}	1.821 ± 0.024 ^a	1.322 ± 0.032 ^a	1.251 ± 0.044 ^a	1.095 ± 0.102 ^a
C _{20:3n-3}	/	0.279 ± 0.023 ^b	/	0.586 ± 0.049 ^a
C _{20:4n6}	/	0.256 ± 0.039 ^b	/	0.532 ± 0.067 ^a
C _{20:5n-3}	/	15.126 ± 0.221 ^a	11.279 ± 0.371 ^b	7.347 ± 0.191 ^c
C _{22:6n-3}	20.022 ± 0.381 ^a	23.347 ± 0.186 ^a	15.409 ± 0.516 ^{ab}	4.633 ± 0.663 ^c
∑PUFA	22.945 ± 0.207 ^c	41.699 ± 0.143 ^a	29.662 ± 0.353 ^b	33.657 ± 1.207 ^b
∑UFA	45.754 ± 0.538 ^b	59.755 ± 0.041 ^b	50.925 ± 0.231 ^b	70.372 ± 0.858 ^a

注:同行数值后不同的上标字母代表差异显著($P < 0.05$);表2~表3同。

表2 四种提取方法效果综合比较

Table 2 The comprehensive comparison of the four extraction methods

项目	索氏提取	Bligh-Dyer 提取	超声提取	微波提取
得率(%)	0.475 ± 0.367 ^b	1.465 ± 0.285 ^a	0.768 ± 0.768 ^b	0.254 ± 0.386 ^b
TFA(个)	12	20	18	17
SFA(个)	6	9	9	7
UFA(个)	6	11	9	10

低($P < 0.05$)。

索氏抽提脂肪得率低,这可能与其方法使用的溶剂丙酮极性低于其他方法所用的甲醇、乙醇有关,因为溶剂极性大小与物料脂肪的极性大小相一致,得率才会高^[23]。索氏抽提获得的饱和脂肪酸含量最高,不饱和脂肪酸含量显著($P < 0.05$)降低,这实验结果与金春爱等^[24]研究结果一致,这和索氏提取经高温回流,可能会造成多不饱和脂肪酸在提取过程中变性而减少有关。因而脂肪酸的提取方法是影响脂肪酸检测结果的一个重要因素。Bligh-Dyer 法的得率约是超声的 2 倍,还保留了更多的多不饱和脂肪酸,这说明超声波对提取蟹肉脂肪的贡献不是非常大。这和汪学荣等^[13]、赵丽华等^[25]报道一致,对得率的影响最大的是料液比和提取温度,而超声功率与超声时间影响较小。微波提取方法的得率较低,可能提取操作方法需要进一步优化。

综合提取率、提取温度、提取时间、所用原料的前处理方便性,以及提取获得的多不饱和脂肪酸含量等指标考虑,得出 Bligh-Dyer 是最适蟹肉脂肪的提取方法。

2.2 蟹肉脂肪酸甲酯化方法比较

5 种甲酯化方法获得的三疣梭子蟹肉脂肪酸组成见表 3。5 种甲酯化方法检测到的脂肪酸数量见表 4。常见的甲酯化方法分为酸催化、碱催化、酸碱结合甲酯化和 BF₃ 甲酯化法^[26]。由表 3 和表 4 可知,酸法和常规 BF₃ 得到的脂肪酸个数较多,均为 20 个,而且不饱和脂肪酸含量均高于碱催化甲酯化方法,而且在碱法和酸碱法催化甲酯化方法得到的结果中未发现 EPA。常规 BF₃ 和酸法甲酯化比较,其 EPA 和 DHA 含量均较高,而且总不饱和脂肪酸含量显著高于其他四种方法($P < 0.05$)。一步 BF₃ 得到的脂肪酸总个数最多,但是其 UFA 含量显著低于其

表3 五种甲酯方法的三疣梭子蟹肉脂肪酸组成及相对含量

Table 3 Fatty acid composition and relative content of *Portunus trituberculatus* used by five methods of methyl esterification

脂肪酸组成	相对百分含量(%)				
	酸法	室温碱法	酸碱法	常规 BF ₃	一步法 BF ₃
C _{14:0}	0.355 ± 0.016 ^b	0.248 ± 0.015 ^c	0.420 ± 0.025 ^b	0.319 ± 0.081 ^b	0.616 ± 0.036 ^a
C _{15:0}	0.522 ± 0.047	0.452 ± 0.093	0.457 ± 0.024	0.464 ± 0.068	0.681 ± 0.032
C _{16:0}	12.114 ± 0.213 ^b	11.028 ± 0.084 ^b	11.742 ± 0.147 ^b	12.944 ± 0.113 ^b	18.549 ± 0.291 ^a
C _{17:0}	1.456 ± 0.050 ^b	1.560 ± 0.053 ^b	1.411 ± 0.033 ^b	1.082 ± 0.032 ^b	2.107 ± 0.042 ^a
C _{18:0}	10.408 ± 0.303 ^b	10.818 ± 0.196 ^b	10.430 ± 0.031 ^b	8.268 ± 0.124 ^c	16.533 ± 0.117 ^a
C _{20:0}	1.650 ± 0.066 ^a	1.790 ± 0.066 ^a	1.805 ± 0.034 ^a	1.515 ± 0.061 ^a	1.367 ± 0.051 ^a
C _{21:0}	14.451 ± 0.078 ^b	18.912 ± 0.031 ^a	14.120 ± 0.027 ^b	11.178 ± 0.191 ^c	11.338 ± 0.164 ^c
C _{22:0}	/	0.399 ± 0.069 ^b	0.394 ± 0.023 ^b	0.363 ± 0.035 ^b	0.886 ± 0.040 ^a
C _{23:0}	3.608 ± 0.242 ^a	4.307 ± 0.051 ^a	4.424 ± 0.090 ^a	4.008 ± 0.296 ^a	/
Σ SFA	44.564 ± 0.592 ^{ab}	49.509 ± 0.247 ^a	45.203 ± 0.142 ^{ab}	40.141 ± 0.376 ^b	52.078 ± 0.436 ^a
C _{16:1n7}	3.162 ± 0.030 ^{ab}	3.568 ± 0.327 ^a	3.770 ± 0.099 ^a	2.890 ± 0.009 ^b	3.744 ± 0.131 ^a
C _{17:1n7}	0.852 ± 0.024 ^a	0.779 ± 0.027 ^a	0.892 ± 0.028 ^a	0.687 ± 0.044 ^a	0.711 ± 0.032 ^a
C _{18:1}	14.689 ± 0.173 ^a	17.611 ± 0.199 ^a	16.758 ± 0.042 ^{ab}	13.233 ± 0.029 ^b	18.062 ± 0.876 ^a
C _{20:1}	1.351 ± 0.093 ^b	1.214 ± 0.225 ^b	1.307 ± 0.036 ^b	1.133 ± 0.028 ^b	8.397 ± 0.245 ^a
C _{24:1n9}	/	/	/	/	0.627 ± 0.071
Σ MUFA	20.053 ± 0.213 ^b	22.964 ± 0.222 ^b	22.727 ± 0.101 ^b	17.943 ± 0.077 ^c	31.541 ± 0.621 ^a
C _{18:2n6}	1.108 ± 0.009 ^a	0.283 ± 0.050 ^b	0.114 ± 0.008 ^b	1.082 ± 0.084 ^a	0.164 ± 0.010 ^b
C _{18:3n3}	/	/	/	/	0.376 ± 0.024
C _{18:3n6}	0.479 ± 0.092 ^{ab}	0.469 ± 0.085 ^{ab}	0.405 ± 0.025 ^{ab}	0.337 ± 0.027 ^b	0.639 ± 0.061 ^a
C _{20:2n7}	0.384 ± 0.026 ^b	1.577 ± 0.065 ^a	0.415 ± 0.031 ^b	1.084 ± 0.066 ^a	1.215 ± 0.025 ^a
C _{20:3n3}	0.268 ± 0.018 ^{ab}	0.460 ± 0.099 ^a	0.321 ± 0.031 ^a	0.234 ± 0.018 ^{ab}	0.135 ± 0.008 ^b
C _{20:3n6}	0.538 ± 0.024 ^b	/	4.100 ± 0.043 ^a	/	0.446 ± 0.047 ^b
C _{20:4n6}	0.369 ± 0.014 ^b	/	/	0.815 ± 0.039 ^a	0.287 ± 0.030 ^b
C _{20:5n3}	14.536 ± 0.169 ^a	/	/	15.017 ± 0.229 ^a	/
C _{22:2n6}	/	0.257 ± 0.052 ^a	0.265 ± 0.016 ^a	/	/
C _{22:6n3}	17.672 ± 0.292 ^{ab}	24.482 ± 0.436 ^a	26.451 ± 0.151 ^a	23.383 ± 0.260 ^a	13.119 ± 0.290 ^b
Σ PUFA	35.383 ± 0.386 ^{ab}	27.527 ± 0.119 ^c	32.071 ± 0.051 ^b	41.952 ± 0.398 ^a	16.437 ± 0.283 ^d
Σ UFA	55.435 ± 0.591 ^{ab}	50.491 ± 0.247 ^b	54.798 ± 0.141 ^{ab}	64.679 ± 0.376 ^a	47.922 ± 0.436 ^c

表4 五种甲酯方法的综合效果比较

Table 4 Comprehensive comparison of the methyl esterification methods

	酸法	室温碱法	酸碱法	常规 BF ₃	一步 BF ₃
TFA(个)	20	19	20	20	21
SFA(个)	8	9	9	9	8
UFA(个)	12	10	11	11	13

他四种方法($P < 0.05$)。

不同的甲酯化方法各有其优缺点,适用对象和测定的结果也各不相同。氢氧化钾甲醇碱催化与硫酸甲醇酸催化过程中,游离脂肪酸与甲醇反应均会生成水,水会导致氢氧根自由基的生成,这些氢氧根自由基会样品中的酯和新生成的脂肪酸甲酯发生水解反应,从而削弱碱酯化效果^[27]。本实验结果也表明酸甲酯化和碱甲酯化获得的脂肪酸个数、不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量均比常规 BF₃ 低。酸催化甲酯化方法和碱催化甲酯化方法相比较,前者的效果优于后两者,可能是酸催化甲酯化环境要求较温和^[28],说明相对于碱性催化法来说酸性催化法能提供更加稳定的反应条件^[29]。而室温碱法和酸碱法甲酯化效果相比较,后者优于前者,这说明甲酯化

前的碱皂化有利于酸甲酯化。一步 BF₃ 法虽然得到的脂肪酸个数最多,同时不饱和脂肪酸的个数也最多,但 PUFA 含量最低, SFA 含量最高,可能是加热温度过高(100 °C),时间过长(1 h)导致多不饱和脂肪酸分解造成的。而常规 BF₃ 获得的脂肪酸种类最丰富的,不饱和脂肪酸含量高,这可能与其反应机理密切相关,盐酸的酸化调节可使反应溶液始终处于酸性条件,有利于脂肪酯化,另外 BF₃ 作为酸性催化剂,能够消耗反应体系中存在的水并形成硼酸,有利于促进甲酯化反应的正向进行,且不会破坏不饱和脂肪酸^[30]。

综上所述,从实验条件要求、甲酯化效率、脂肪酸种类丰富性及不饱和脂肪酸的含量等方面考虑,常规 BF₃ 是最适蟹肉脂肪酸甲酯化方法。

表5 三疣梭子蟹肉脂肪酸组成
Table 5 Fatty acid composition of *Portunus trituberculatus*

序号	脂肪酸	俗名	各脂肪酸的相对百分含量(%)
1	C _{14:0}	肉豆蔻酸	0.339 ± 0.079
2	C _{15:0}	十五烷酸	0.413 ± 0.103
3	C _{16:0}	棕榈酸	12.050 ± 0.278
4	C _{17:0}	十七烷酸	1.093 ± 0.109
5	C _{18:0}	硬脂酸	8.920 ± 0.179
6	C _{20:0}	花生酸	1.288 ± 0.203
7	C _{21:0}	二十一烷酸	10.952 ± 0.176
8	C _{22:0}	榆树酸	0.383 ± 0.023
9	C _{23:0}	二十三烷酸	3.991 ± 0.078
ΣSFA			39.429 ± 0.138
10	C _{16:1n7}	棕榈烯酸	2.268 ± 0.106
11	C _{17:1n7}	顺-10-十七碳烯酸	0.619 ± 0.037
12	C _{18:1}	油酸	13.074 ± 0.162
13	C _{20:1}	顺-11-二十碳烯酸	0.958 ± 0.036
ΣMUFA			16.919 ± 0.208
14	C _{18:2n6}	亚油酸	1.024 ± 0.079
15	C _{18:3n6}	亚麻酸	0.354 ± 0.035
16	C _{20:2n7}	顺-11,14-二十碳二烯酸	1.156 ± 0.105
17	C _{20:3n6}	顺-8,11,14-二十碳二烯酸	0.468 ± 0.068
18	C _{20:4n6}	花生四烯酸	4.927 ± 0.073
19	C _{20:5n3}	二十碳五烯酸(EPA)	15.486 ± 0.165
20	C _{22:6n3}	二十二碳六烯酸(DHA)	20.237 ± 0.268
ΣPUFA			43.652 ± 0.217

2.3 三疣梭子蟹肉脂肪酸的组成特征和营养价值评价

利用 Bligh-Dyer 提取方法和常规 BF₃ 甲酯化方法分析三疣梭子蟹肉脂肪酸组成,总离子流图见图2,各脂肪酸组成见表5,脂肪酸的营养价值评价见表6。

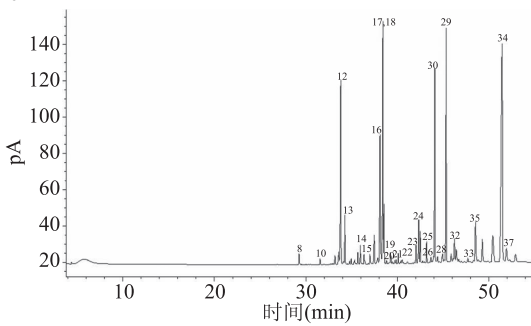


图2 三疣梭子蟹脂肪酸的总离子流图谱
Fig.2 Total ion chromatogram of fatty acid in *Portunus trituberculatus*

结果显示共检测出20种脂肪酸,碳链长度在14~23之间,C_{22:6n3}(DHA)、C_{20:5n3}(EPA)、C_{18:1}(油酸)和C_{16:0}(棕榈酸)是三疣梭子蟹蟹肉的主要脂肪酸。其中饱和脂肪酸占总脂肪酸的39.43%,单不饱和脂肪酸为16.92%,多不饱和脂肪酸为43.65%。饱和脂肪酸中含量最高的脂肪酸是C_{16:0}(棕榈酸,12.05%),单不饱和脂肪酸中含量最高的是C_{18:1}(油酸,13.07%),接着是C_{16:1n7}(棕榈烯酸,2.27%),多不饱和脂肪酸中

含量最高的是C_{22:6n3}(DHA,20.24%),接着是C_{20:5n3}(EPA,15.49%)。各类中的特征脂肪酸和徐善良等^[31]使用Bligh-Dyer提取、KOH-甲醇酯化的三疣梭子蟹肉脂肪结果相似,而且EPA和DHA在总脂肪中的比例也相近。但是总脂肪酸中含量最高的脂肪酸不同,其检测结果是C_{18:1}(油酸),本文为C_{22:6n3}(DHA),这可能是性别、摄食、生长环境和捕获季节不同有关。这结果也和Celik等^[32]提出的油酸是海水蟹肉中主要单不饱和脂肪酸这一实验结果相符合。

表6 三疣梭子蟹脂肪酸的营养价值评价
Table 6 Nutritional value assessment of fatty acids in *Portunus trituberculatus*

项目	含量(%)	项目	比值
PUFAn-3	35.73	AI	0.22
PUFAn-6	5.27	TI	0.17
EPA + DHA	35.73	n-3/n-6	5.27

综上所述,脂肪酸的营养价值主要指标是其中的不饱和脂肪酸的比例以及n-3系和n-6系等重要不饱和脂肪酸的含量,特别是EPA和DHA。本实验得到的三疣梭子蟹肉脂肪酸组成中不饱和脂肪酸占60.57%,尤其EPA和DHA含量高达35.71%,远高于中华绒螯蟹的5.02%^[33-34]、锯缘青蟹的16.53%^[35],也高于海水养殖的鲈鱼的17.1%和大黄鱼的17.1%^[36]。这说明海蟹中PUFAs是主要的脂肪酸,约占总脂肪酸的50%,其中EPA和DHA含量尤其

丰富,这和 Celik 等^[32]的研究结果一致。而且三疣梭子蟹肉中 n-3 系不饱和脂肪酸含量高达 35.72%, n-3/n-6 的比值 5.27,均远远高于上述几类水产品,也远高于国际粮农组织 (FAO) 和世界卫生组织 (WHO) 推荐的 PUFAn-3/PUFn-6 日常膳食比(0.1~0.2)^[31],较高的 PUFAn-3/PUFn-6 能有效降低血脂,抑制血小板凝集,降低心血管疾病的发病率^[37]。此外,三疣梭子蟹的脂肪酸致动脉粥样硬化指数 (AI) 和血栓形成指数 (TI) 分别为 0.22 和 0.17,远远低于羊肉、牛肉和猪肉 (AI 分别是 1.00、0.72、0.60; TI 分别为 1.58、1.06、1.37)^[21],表明三疣梭子蟹的脂肪酸不饱和度高,具有降血脂、软化血管、抑制冠心病和血栓形成等功能。

3 结论

采用索氏法、Bligh-Dyer 法、超声法和微波萃取法提取三疣梭子蟹脂肪酸,进而利用酸法、室温碱法、酸碱结合法、常规 BF₃ 和一步 BF₃ 方法分别甲酯化,比较各提取方法和甲酯化方法效果,结果表明 Bligh-Dyer 提取方法操作简便、脂肪得率最高,同时此提取方法和常规 BF₃-甲酯化方法在不饱和脂肪酸的种类和含量方面均显示出明显的优势。因此,Bligh-Dyer 提取方法和常规 BF₃ 甲酯化方法是蟹肉脂肪酸分析的最适方法。采用此最适方法分析三疣梭子蟹脂肪酸组成,结果共检测出 20 种脂肪酸,其中饱和脂肪酸占总脂肪酸的 39.43%,单不饱和脂肪酸为 16.92%,多不饱和脂肪酸为 43.65%,n-3/n-6 比值为 5.27,说明三疣梭子蟹肉富含 n-3 系不饱和脂肪酸。后续工作中将继续优化脂肪分析条件以提高三疣梭子蟹脂肪的提取率,期望能推动蟹油进一步的加工应用。

参考文献

- [1] 汪倩,吴旭干,楼宝,等.三疣梭子蟹不同部位肌肉主要营养成分分析[J].营养学报,2013,35(3):310-312.
- [2] 张伟敏,钟耕,王炜.单不饱和脂肪酸营养及其生理功能研究概况[J].粮食与油脂,2005(3):13-15.
- [3] 张道雷,陈瑶,周广田,等.浅议 DHA、EPA 及其应用[J].中国调味品,2007(10):30-33.
- [4] 郑宽宽,何杰,许文军.海捕三疣梭子蟹的捕捞生产和研究现状[J].浙江海洋大学学报:自然科学版,2019(2):161-167.
- [5] 黄经献,赵炳然,孙祥山,等.不同来源三疣梭子蟹池塘养殖的生长比较[J].水产科学,2017(1):66-71.
- [6] 王小刚,王迎宾,叶婷,等.三疣梭子蟹生长特性的初步分析[J].海洋湖沼通报,2018(2):131-136.
- [7] 俞存根,宋海棠,姚光展,等.东海大陆架海域经济蟹类种类组成和数量分布[J].海洋与湖沼,2006,37(1):53-60.
- [8] 郭亚男,韩刚,杨臻,等.三疣梭子蟹营养和风味品质比较分析[J].中国渔业质量与标准,2019,9(3):26-33.
- [9] 裴峰,母昌考,王春琳,等.冷藏过程中三疣梭子蟹的营养物质变化[J].食品科学,2018,39(16):256-264.
- [10] 刘磊,王春琳,母昌考,等.野生、养殖和“科甬1号”群体三疣梭子蟹营养和风味品质比较分析[J].食品科学,2017,38(2):55-62.
- [11] 王洪英,马娜娜,李梦鑫,等.正交试验设计优化马粪海胆生殖腺粗脂肪提取工艺研究[J].安徽农业科学,2013,41(27):11064-11065.
- [12] 刁全平,侯冬岩,回瑞华,等.不同方法提取黄花鱼中脂肪酸的研究[J].鞍山师范学院学报,2009,11(6):32-34.
- [13] 汪学荣,周玲,吴青.三文鱼油超声波辅助提取工艺及脂肪酸组成分析[J].中国油脂,2019,44(2):23-26.
- [14] 李朝阳,李良玉,贾鹏禹,等.鹅脂肪提取工艺研究及其组成分析[J].中国食品添加剂,2017,4(11):71-77.
- [15] 李雪,曹君,白新鹏,等.水合法提取罗非鱼鱼油及其脂肪酸组成分析[J].中国油脂,2017,42(10):5-11.
- [16] 赵保堂,牛源,刘倩霞,等.虹鳟鱼油的酶法提取工艺及其脂肪酸组成分析[J].中国油脂,2019,44(4):1-5.
- [17] 傅向乾,薛峰.脂肪酸分析方法的优化研究[J].中国调味品,2017,42(5):141-148.
- [18] 符贵红,褚武英,成嘉,等.鲢肌肉脂肪酸分离方法效果比较及组成特征分析[J].淡水渔业,2008,38(3):13-17.
- [19] 张述琼,孙毅毅,赵燕.亚麻种子油提取工艺及脂肪酸组成的 GC-MS 分析[J].药学服务与研究,2009,9(2):134-136.
- [20] Pedro A, Thu-Thao N, Livar F, et al. Evaluation of a rapid method for the quantitative analysis of fatty acids in various matrices[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1212:106-113.
- [21] Ulbricht T L, Southgate D A. Coronary heart disease: Seven dietary factors[J]. Lancet, 1991, 338(8773):985-992.
- [22] Santos-Silva J, Bessa R J B, Santos-Silva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs: II. Fatty acid composition of meat [J]. Livestock Production Science, 2002, 77(2):187-194.
- [23] 周莉,丛宝磊,侯双,等.4种虾脂肪的提取及其脂肪酸组成的气相色谱分析[J].食品科学,2015,36(20):152-156.
- [24] 金春爱,崔松焕,王玉方,等.不同提取方式和烘干对鹿肉脂肪酸的影响[J].肉类研究,2016,30(10):13-17.
- [25] 赵丽华,郑毅,刁毅,等.正交法优化牛油果种子粗脂肪提取工艺[J].食品工业,2019,40(3):118-122.
- [26] 黄峥,盛灵慧,马康,等.5种脂肪酸甲酯化方法的酯化效率研究[J].中国油脂,2013,38(9):86-88.
- [27] Ofallon J V, Busboom J R, Nelson M L, et al. A direct method for fatty acid methyl ester (FAME) synthesis: Application to wet meat tissues, oils and feedstuffs [J]. Journal of Animal Science, 2007, 85:1511-1521.
- [28] 范亚苇,邓泽元,余永红,等.不同脂肪酸甲酯化方法对共轭亚油酸分析的影响[J].中国油脂,2007,32(1):52-55.
- [29] Christie W W. A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters [J]. Journal of Lipid Research, 1982, 23:1072-1075.
- [30] 柏国清,路强强,陈智坤,等.不同甲酯化方法对开口箭地上部位脂肪酸分析的影响[J].西北林学院学报,2018,33(1):202-206.
- [31] 徐善良,张薇,严小军,等.野生与养殖三疣梭子蟹营养成分分析及比较[J].动物营养学报,2009,21(5):695-702.
- [32] Celik M, Tureil C, Celik M, et al. Fatty acid composition of

(下转第 84 页)

Food Science, 2010, 56(5): 1130-1135.

[16] Palka K, Daun H. Changes in texture, cooking losses, and myofibrillar structure of bovine *M.semitendinosus* during heating [J]. Meat Science, 1999, 51(3): 237-243.

[17] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会、国家食品药品监督管理总局. GB5009.91-2017 食品中钾、钠的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[18] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会、国家食品药品监督管理总局. GB5009.241-2017 食品中镁的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[19] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.92-2016 食品中钙的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[20] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.90-2016 食品中铁的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会、国家食品药品监督管理总局. GB5009.14-2017 食品中锌的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会、国家食品药品监督管理总局. GB5009.13-2017 食品中铜的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.87-2016 食品中磷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[24] Lombardi-Boccia G, Lanzi S, Aguzzi A. Aspects of meat quality: Trace elements and B vitamins in raw and cooked meats [J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2005, 18(1): 39-46.

[25] Speckhahn A, Szrednicki G, Desai D K. Drying of beef in superheated steam [J]. Drying Technology, 2010, 28(9): 1072-1082.

[26] 侯成立, 赵梦雅, 吴立国, 等. 过热蒸汽对调理羊肉减菌效果的影响[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(4): 76-81.

[27] Fox J B. Chemistry of meat pigments [J]. J. Agric. Food Chem, 1966, 14(3): 207-210.

[28] Sosa-Morales M E, Orzuna-Espíritu R, Vélez-Ruiz J F. Mass, thermal and quality aspects of deep-fat frying of pork meat [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 77(3): 731-738.

[29] Uengkimbuan N, Soponronnarit S, Prachayawarakorn S, et al. A comparative study of pork drying using superheated steam and hot air [J]. Drying Technology, 2006, 24(12): 1665-1672.

(上接第78页)

the blue crab (*Callinectes sapidus* Rathbun, 1896) in the north eastern Mediterranean [J]. Food Chemistry, 2004, 88: 271-273.

[33] Nikolay A L, Sergey P K, Vladimir I K. Lipids and of fatty acids of edible crabs of the north-western Pacific [J]. Food Chemistry, 2009, 116: 657-661.

[34] 王帅, 吴旭干, 陶宁萍, 等. 中华绒螯蟹六月黄营养及风味品质研究[J]. 中国食品学报, 2017, 17(4): 219-227.

[35] 王雪锋, 顾鸿鑫, 郭倩琳, 等. 海水和淡水养殖锯缘青蟹

[30] Martens H, Stabursvik E, Martens M. Texture and color changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle proteins [J]. Journal of Texture Studies, 2010, 13(3): 291-309.

[31] Uengkimbuan N, Soponronnarit S, Prachayawarakorn S, et al. A comparative study of pork drying using superheated steam and hot air [J]. Drying Technology, 2006, 24(12): 1665-1672.

[32] 黄明, 黄峰, 张首玉, 等. 热处理对猪肉食用品质的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(23): 189-192.

[33] Vaudagna S R, Sánchez G, Neira M S, et al. Sous vide cooked beef muscles: Effects of low temperature-long time (LT-LT) treatments on their quality characteristics and storage stability [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 37(4): 425-441.

[34] Wattanachant S, Benjakul S, Ledward D A. Effect of heat treatment on changes in texture, structure and properties of thai indigenous chicken muscle [J]. Food Chemistry, 2005, 93(2): 337-348.

[35] Pulgar J S D, Gázquez A, Ruiz-Carrascal J. Physico-chemical, textural and structural characteristics of sous-vide cooked pork cheeks as affected by vacuum, cooking temperature, and cooking time [J]. Meat Science, 2012, 90(3): 828-835.

[36] Gerber N, Scheeder M R L, Wenk C. The influence of cooking and fat trimming on the actual nutrient intake from meat [J]. Meat Science, 2009, 81(1): 148-154.

[37] Heymann H, Hedrick H B, Karrasch M A, et al. Sensory and chemical characteristics of fresh pork roasts cooked to different endpoint temperatures [J]. Journal of Food Science, 2010, 55(3): 613-617.

[38] 谢小雷, 李侠, 张春晖, 等. 不同干燥方式对牛肉干物性特性的影响[J]. 农业工程学报, 2015, 31(Z1): 346-354.

[39] Lopes A F, Alfaia C M M, Partidário A M C P C, et al. Influence of household cooking methods on amino acids and minerals of Barrosã-PDO veal [J]. Meat Science, 2015, 99: 38-43.

[40] 郑渝川, 唐善虎, 王柳, 等. 不同加热方法对牦牛肉中矿物质和维生素含量的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(9): 78-83.

[41] Oz F, Aksu M I, Turan M. The effects of different cooking methods on some quality criteria and mineral composition of beef steaks [J]. Journal of Food Processing & Preservation, 2016, 41(4): 1-10.

的营养成分分析[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 386-390.

[36] 林利民, 陈武. 5种海水养殖鱼类肌肉脂肪酸组成分析及营养评价[J]. 福建农业学报, 2005(20): 67-69.

[37] Holman R T. X-3 and x-6 essential fatty acid status in human health and disease in S. Yehuda and D. I. Mostofsky, Handbook of essential fatty acid biology: Biochemistry, physiology and behavioral neurobiology [M]. USA: Human Press, 1997: 139-182.