

非衍生化-气相色谱法测定羊奶中短中链游离脂肪酸

晏慧莉¹, 张富新^{1,*}, 李延华², 贾润芳¹, 李龙柱¹, 艾 对¹, 杨吉妮¹

(1. 陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西 西安 710062;

2. 富平县畜牧技术推广中心, 陕西 富平 711700)

摘 要: 建立羊奶中短中链游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA) 的非衍生化-气相色谱分析方法。其测定过程包括羊奶中脂肪的提取、FFA的分离和气相色谱测定3个部分。首先用乙醇-乙醚-正庚烷将羊奶中脂质进行提取, 然后采用氨基固相萃取柱将FFA进行分离, 最后用气相色谱法测定FFA含量。采用外标法测定羊奶中FFA的回收率, 以此作为FFA的校正系数。结果表明, 羊奶中长链FFA的回收率较高, 而短链FFA的回收率较低, 尤其是C_{2:0}和C_{4:0}回收率仅为23.9%和78.5%, 但其回收率相对稳定, 相对标准偏差小于0.04%, 可校对测定过程中FFA的损失。

关键词: 羊奶; 气相色谱; 固相萃取; 游离脂肪酸

Determination of Free Fatty Acids in Goat Milk by Gas Chromatography without Derivatization

YAN Hui-li¹, ZHANG Fu-xin^{1,*}, LI Yan-hua², JIA Run-fang¹, LI Long-zhu¹, AI Dui¹, YANG Ji-ni¹

(1. College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;

2. Husbandry Technology Promotion Center of Fuping County, Fuping 711700, China)

Abstract: A method was developed for the determination of free fatty acids (FFAs) in goat milk by gas chromatography (GC) without derivatization. The process includes three parts: the extraction of goat milk lipids, the separation of FFAs and the determination by gas chromatography. Firstly, the milk lipids were extracted with ethanol/ether/*n*-heptane, and then FFAs were isolated on an aminopropyl column. Finally, the FFAs were identified and determined by gas chromatography. The external standard method was applied to determine the recoveries of FFAs in the goat milk, which acted as the calibration coefficients of FFAs. The results showed that the recoveries of long chain FFAs were higher than those of short chain FFAs, especially for C_{2:0} and C_{4:0} with values of 23.9% and 78.5%, respectively. The recoveries were stable with relative standard deviations blew 0.04%.

Key words: goat milk; gas chromatography; solid phase extraction; free fatty acids

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 16-0138-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201416027

羊奶营养价值很高, 易被人体消化吸收, 其营养价值组成接近母乳, 是婴幼儿及老年人理想的营养佳品。但羊奶具有膻味, 影响产品的消费。目前人们认为, 羊奶的膻味主要由奶中的短中链脂肪酸引起的, 尤其是奶中的游离脂肪酸^[1-5]。大量研究表明, 羊奶中的短中链脂肪酸含量较高, 其含量约高出牛奶一倍, 其中辛酸和癸酸含量是牛奶的3~5倍^[6]。羊奶中的脂肪酸由两部分组成, 一部分是与甘油结合的脂肪酸, 另一部分是游离脂肪酸 (free fatty acids, FFA), 而FFA含量及种类与羊奶

的膻味密切相关^[7-9]。目前测定奶中脂肪酸的方法较多, 主要有气相色谱法^[10]、高效液相色谱法^[11]、气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 法^[5]和红外光谱分析法^[12]等, 其中气相色谱法应用最为广泛。用气相色谱法测定奶中脂肪酸时, 通常采用衍生化方法, 先将脂肪提出, 再用三氟化硼等试剂对脂肪酸甲酯化^[11-14], 然后用气相色谱仪分析。衍生化方法对测量奶中总脂肪酸十分有效, 但在测定奶中FFA时, 由于其含量较低, 且一些短中链脂肪酸具有挥发性或半挥发性, 在衍生化

收稿日期: 2013-11-22

基金项目: “十二五”农村领域国家科技项目 (2013BAD18B00); 公益性行业 (农业) 科研专项 (201103038);

陕西省农业攻关项目 (2014K01-17-05)

作者简介: 晏慧莉 (1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为畜产品加工。E-mail: 395460304@qq.com

*通信作者: 张富新 (1962—), 男, 教授, 博士, 研究方向为乳品科学。E-mail: fuxinzh@snnu.edu.cn

时易挥发损失从而影响测定结果^[15-16]。de Jong^[17]应用有机溶剂将奶中的脂类物质提取后,再将中性脂肪与游离脂肪酸分离,不经过衍生化,直接应用气相色谱法进行测定,从而减少FFA在测定过程中的损失,但应用有机溶剂提取法将中性脂肪与FFA分离时也会存在一些FFA的损失,尤其是短链脂肪酸。本研究在de Jong^[17]方法的基础上,应用外标法在羊奶中加入C_{2:0}~C_{16:0}的FFA标准品,应用非衍生化-气相色谱法,对羊奶中FFA的回收率进行测定,以确定FFA的校正系数,实现FFA的精确定量分析。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

萨能羊混合奶样(在-40℃冰箱中冷冻保存,测定前在25℃水浴锅中解冻) 陕西富平县某奶品企业。

FFA标品: C_{2:0}(乙酸)、C_{4:0}(丁酸)、C_{6:0}(己酸)、C_{8:0}(辛酸)、C_{10:0}(癸酸)、C_{12:0}(月桂酸)、C_{14:0}(肉豆蔻酸)和C_{16:0}(棕榈酸)(纯度>99%) 美国Nu-Chekprep公司; 甲酸、无水乙醇、正庚烷、异丙醇(均为色谱纯) 天津市科密欧化学试剂有限公司; 无水乙醚、氯仿、无水硫酸钠(均为分析纯) 天津市天力化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

Trace2000气相色谱仪(检测器为氢火焰离子检测器FID) 美国热电公司; HP-INNOWAX石英毛细管色谱柱、氨丙基固相萃取柱: 500 mg、6 mL, SampliQ Amino(NH₂) 美国Agilent公司; 涡旋混合器 江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司; SHZ-D(III)型循环水式真空泵 巩义市予华仪器有限责任公司; 微孔过滤器(0.45 μm) 西安森博试剂公司。

1.3 方法

羊奶中的FFA的测定由脂肪的提取, FFA的分离和气相色谱仪测定3个部分组成。

1.3.1 脂肪的提取

采用de Jong^[17]的方法, 并进行了改进。精确吸取10 mL奶样, 移入50 mL离心管, 依次加入10 mL无水乙醇、1 mL硫酸(2.5 mol/L)、15 mL乙醚-正庚烷混合溶液(1:1, V/V), 振荡20 min后, 2 500 r/min离心15 min, 然后将含有脂肪的上层液移入150 mL的锥形瓶中(含有1 g无水硫酸钠)。再用10 mL乙醚-正庚烷(1:1, V/V)溶液对离心管的下层溶液重复提取2次, 将提取的含脂肪的上层液全部收集于锥形瓶中。

1.3.2 FFA的分离

采用Kaluzny等^[18]的方法将提取脂肪中的FFA与中性脂肪分离。首先向氨丙基固相萃取柱中加入10 mL正庚烷, 使其活化。将1.3.1节提取的脂肪缓慢加入柱中, 使

其中的FFA吸附在柱内; 然后向柱中加入10 mL氯仿-异丙醇溶液(2:1, V/V)洗脱中性脂肪, 弃去滤液; 再将吸附FFA的氨丙基固相萃取柱用真空泵抽滤1 min, 直到氨丙基固相萃取柱中不再有液滴流出; 最后用5 mL乙醚溶液(含体积分数2%的甲酸)对氨丙基固相萃取柱内的FFA进行洗脱, 用5 mL的容量瓶收集滤液, 定容至5 mL。

1.3.3 气相色谱测定

色谱条件: 石英毛细管色谱柱(60 m×0.32 mm, 0.25 μm), 进样口温度240℃; 检测器温度260℃; 载气N₂; 流速40 mL/min; H₂流速30 mL/min; 空气流速300 mL/min; 分流比30:1; 升温程序: 初始温度130℃, 保持2 min, 以4℃/min升至230℃, 保持22 min; 恒压分流模式进样。

进样前, 样品用一次性针筒式微孔过滤器(0.45 μm)过滤, 进样量1 μL。

1.3.4 标准曲线的建立

用含有体积分数2%甲酸的乙醚溶液将标准品C_{2:0}(乙酸)、C_{4:0}(丁酸)、C_{6:0}(己酸)、C_{8:0}(辛酸)、C_{10:0}(癸酸)、C_{12:0}(月桂酸)、C_{14:0}(肉豆蔻酸)和C_{16:0}(棕榈酸)配制成不同质量浓度的标准溶液。按照1.3.3节检测方法, 得到8种标准溶液的气相色谱图, 根据出峰时间确定FFA的分离效果。在此基础上, 配制FFA标准品混合溶液(C_{2:0}(乙酸)、C_{4:0}(丁酸)、C_{6:0}(己酸)、C_{8:0}(辛酸)、C_{10:0}(癸酸)、C_{12:0}(月桂酸)、C_{14:0}(肉豆蔻酸)和C_{16:0}(棕榈酸)在混合溶液中质量浓度分别为2.10、0.96、0.93、0.91、0.26、2.55、2.48、3.18 mg/mL)。根据测得的峰面积Y与其对应的质量浓度X(mg/mL)进行线性回归, 对不同FFA进行定量测定。

1.3.5 加标回收率的测定

为了确定样品在脂肪的提取和FFA的分离过程中FFA的损失, 采用外标法对加标样品进行回收率测定, 分别测定样品加标前与加标后FFA含量, 用公式(1)计算回收率。

$$\text{回收率}/\% = \frac{\text{加标后样品中FFA测定值} - \text{加标前样品中FFA测定值}}{\text{标品在样品中的实际含量}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.6 样品中FFA的计算

样品中实际FFA的含量按公式(2)计算。

$$\text{FFA含量}/(\text{mg/mL}) = \frac{\text{样品测定FFA含量}}{\text{回收率}} \quad (2)$$

1.4 数据分析

所有实验数据采用SPSS 11.0软件统计分析。

2 结果与分析

2.1 FFA的定量检测

将FFA标准品的混合溶液用含有体积分数2%甲酸的

乙醚溶液配制成5个不同梯度的溶液,按照1.3.3节条件进行气相色谱分析,结果见表1和图1。

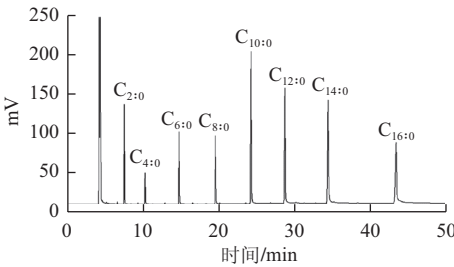


图1 8种FFA标准品色谱图

Fig.1 GC Chromatograph of FFA standards

表1 8种FFA标准品的线性方程、保留时间、相关系数和检出限
Table 1 Linear regression equations, retention time, correlation coefficients and LODs of 8 FFA standards

游离脂肪酸	线性方程	保留时间/min	相关系数	线性范围/(mg/mL)	检出限/(μg/mL)
C _{2:0} (乙酸)	$Y=7\times10^4X+9\ 057.2$	7.27	0.995	0.007~0.050	1.963
C _{4:0} (丁酸)	$Y=2\times10^4X-15\ 913$	9.99	0.998	0.006~0.480	1.748
C _{6:0} (己酸)	$Y=2\times10^4X-23\ 134$	14.38	0.997	0.006~0.465	1.907
C _{8:0} (辛酸)	$Y=3\times10^4X-39\ 570$	19.08	0.997	0.006~0.455	1.943
C _{10:0} (癸酸)	$Y=2\times10^4X-2\ 828.3$	23.70	0.995	0.008~0.546	2.400
C _{12:0} (月桂酸)	$Y=3\times10^4X-141\ 820$	28.09	0.990	0.011~1.275	3.272
C _{14:0} (肉豆蔻酸)	$Y=3\times10^4X-132\ 367$	33.70	0.994	0.014~1.239	4.139
C _{16:0} (棕榈酸)	$Y=1\times10^4X-40\ 887$	42.50	0.991	0.011~1.595	3.304

由图1可以看出,在给定仪器的条件下,8种FFA标准品能在43 min内很好的分离,峰形尖锐,对称性好,出峰时间稳定,且无杂质峰干扰,是较为理想的气相色谱检测条件。由表2可以看出,8种FFA标准品的质量浓度与峰面积均呈良好的线性关系,相关系数在0.991~0.998之间,以基线噪音的3倍峰高($R_{SN}=3$)作为检出限,其值在1.748~4.139 μg/mL之间。由此可见,根据FFA标准品的出峰时间和峰面积即可对样品中脂肪酸进行定性定量的分析,具有较高的精确性和高效性。

2.2 FFA加标回收率

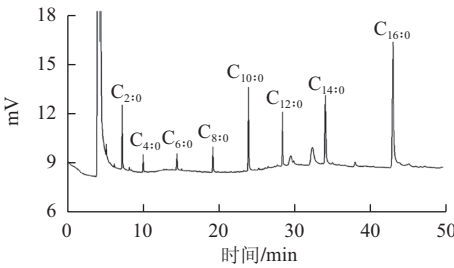


图2 羊奶样品的FFA色谱图(加FFA标准品前)

Fig.2 GC chromatograph of goat milk sample without the addition of FFA standards

向羊奶样品中分别加入3个水平的混合FFA标准品(100、250 μL和500 μL),每个水平测定9次,然后按

照脂肪酸提取、FFA的分离方法处理后,用气相色谱仪进行分析,结果见图2、3和表2。

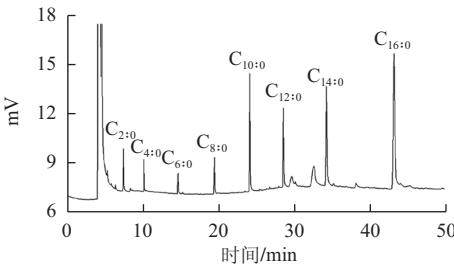


图3 羊奶样品的FFA色谱图(加入100 μL FFA标准品)

Fig.3 GC chromatograph of goat milk sample spiked with 100 μL of FFA standards

表2 方法的准确度与精密度评价(n=9)
Table 2 Accuracy and precision (RSD) of the proposed GC method (n=9)

游离脂肪酸	添加FFA标准品在奶样中的水平/(mg/mL)	加标前样品中FFA测定值/(mg/mL)	加标后样品中FFA测定值/(mg/mL)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
C _{2:0} (乙酸)	0.042		0.208±0.031	24.0±0.045		
	0.105	0.198±0.004	0.223±0.004	23.5±0.038	23.9	0.040
	0.210		0.249±0.003	24.2±0.015		
C _{4:0} (丁酸)	0.019		0.037±0.008	78.0±0.052		
	0.048	0.022±0.006	0.060±0.004	79.0±0.032	78.5	0.013
	0.096		0.097±0.006	78.5±0.060		
C _{6:0} (己酸)	0.019		0.053±0.004	106.0±0.021		
	0.048	0.033±0.002	0.084±0.003	107.0±0.015	107.2	0.009
	0.096		0.137±0.023	108.7±0.023		
C _{8:0} (辛酸)	0.018		0.053±0.006	99.8±0.047		
	0.046	0.035±0.002	0.081±0.005	100.0±0.067	99.9	0.010
	0.091		0.126±0.006	100.0±0.055		
C _{10:0} (癸酸)	0.005		0.012±0.025	99.7±0.072		
	0.013	0.007±0.006	0.020±0.011	99.8±0.085	99.8	0.010
	0.026		0.033±0.016	100.0±0.067		
C _{12:0} (月桂酸)	0.051		0.153±0.050	104.0±0.040		
	0.128	0.100±0.024	0.234±0.027	105.0±0.030	104.7	0.010
	0.255		0.368±0.027	105.0±0.075		
C _{14:0} (肉豆蔻酸)	0.050		0.198±0.042	100.0±0.107		
	0.124	0.148±0.015	0.273±0.020	101.0±0.152	100.3	0.010
	0.248		0.396±0.059	100.0±0.101		
C _{16:0} (棕榈酸)	0.064		1.050±0.054	99.0±0.083		
	0.159	0.987±0.001	1.144±0.119	99.0±0.093	99.3	0.010
	0.318		1.305±0.057	100.0±0.107		

由表2可以看出,在测定羊奶样品中FFA时,长链脂肪酸回收率较高,而短链脂肪酸的回收率较低,尤其是乙酸(C_{2:0})和丁酸(C_{4:0})的回收率仅为23.9%和78.5%。但从FFA的回收率来看,无论是添加高、中、低3个水平FFA标准品溶液,其回收率均相对稳定,相对标准误差小于0.04%。因此在实际测定时可用回收率作为校对系数对FFA进行校对,以补偿脂肪提取和FFA在分离过程中损失,来定量测定奶中的实际FFA的含量。

2.3 羊奶中FFA含量的测定

为了验证非衍生化-气相色谱法测定羊奶中FFA的稳定性,取不同来源的羊奶样品6份,应用上述方法对其FFA含量进行测定,结果见表3。

表3 羊奶中FFA含量的测定结果
Table 3 Determination of FFA in goat milk

游离脂肪酸	测定含量/(mg/mL)	校对系数	实际含量/(mg/mL)	RSD/%
C _{2:0} (乙酸)	0.198	23.9	0.828	4.81
C _{4:0} (丁酸)	0.022	78.5	0.028	1.78
C _{6:0} (己酸)	0.033	107.2	0.030	1.67
C _{8:0} (辛酸)	0.035	99.9	0.035	2.87
C _{10:0} (癸酸)	0.111	99.8	0.111	1.52
C _{12:0} (月桂酸)	0.100	104.7	0.096	1.34
C _{14:0} (肉豆蔻酸)	0.148	100.3	0.148	2.21
C _{16:0} (棕榈酸)	0.987	99.3	0.987	1.13

注:校对系数为单个FFA的回收率测定值6次的平均值。

由表3可以看出,应用建立的FFA测定方法,可以对羊奶样品中C_{2:0}~C_{16:0}中短链FFA进行测定,应用回收率对单个FFA进行校对,其测定结果RSD值均在5%以内,表明应用该方法稳定性较高,可在实际中应用。

3 讨论与结论

目前国内外测定奶中脂肪酸大多采用衍生化方法,脂肪酸衍生化后,其沸点降低,更易在气相色谱仪中被气化和检测。但这种方法对高含量的脂肪酸较为适用,对低含量的脂肪酸则损失较为严重。同时,这些检测方法大多是检测奶中总脂肪酸(包括与甘油三酯结合的脂肪酸和FFA),对奶中FFA的检测报道较少。由于羊奶中的FFA含量较低,衍生化方法其误差较大,通常采用非衍生化方法测定,其测定过程主要包括脂质的提取和FFA的分离2个重要步骤。

提取奶中的脂质时,常用的试剂是能够与脂质物质相溶的乙醚、乙醇等有机溶剂。而奶中FFA在脂质相与乳清相之间存在一个平衡,尤其是短链脂肪酸,有一定的水溶性,在有机溶剂提取时,其有一定的损失。通常认为FFA的碳链越短,其在提取过程中损失越大,de Jong^[17]用乙醇-乙醚-正庚烷混合提取时,可较大程度地提取奶中的FFA,因此本实验采用此方法提取羊奶中的FFA。

在对提取的脂质中FFA进行分离时,常用的方法有强阴离子交换法^[19]和碱性氧化铝萃取法^[17]。这些方法利用FFA具有一定的极性,可与柱中的物质进行吸附,从而使中性脂肪与FFA进行分离。de Jong^[17]应用强阴离子交换法和碱性氧化铝分离奶中FFA时发现,应用强阴离子交换法分离FFA效果较好,可有效降低FFA分离过程中FFA的损失。本实验采用氨基基固相萃取小柱具有较强的离子交换作用,属于阴离子交换柱,用该柱分离羊奶

中的FFA,虽然不能完全分离,但可最大限度降低FFA分离过程中的损失。

总之,应用非衍生化测定奶中FFA时,短中链FFA的损失是测定过程中普遍存在的问题,谭力等^[20]利用非衍生化-气相色谱法测定人血清游离脂肪酸时,C_{2:0}的回收率仅为18.84%,C_{4:0}的回收率为81.08%。Chen等^[21]在测定奶中FFA时,C_{4:0}的回收率为1.86%,C_{6:0}的回收率为6.75%,C_{8:0}的回收率为10.6%。本实验对羊奶中FFA进行加标回收率测定,同样出现短中链脂肪酸存在回收率较低的现象。原因可能是在有机溶剂的提取中还是存在一定程度损失。此外,实验最后对FFA洗脱时采用抽真空减压的方法,可能对氨基基固相萃取柱上富集的短链易挥发游离脂肪酸产生了影响,关于这一操作还有待改进,以提高短链游离脂肪酸的回收率。但按照该系统的测定程序,其回收率相对稳定,可用其校对测定过程中FFA的损失,以获得较为客观的测定效果。

本实验建立了一种非衍生化-气相色谱法测定羊奶中短中链FFA的方法。应用FFA的回收率校对测定过程中FFA的损失,解决了传统测定方法中短链脂肪酸易于损失的问题。经方法学验证,FFA线性关系良好、检出限低、加标回收率稳定,是一种测定羊奶中短中链FFA的有效方法,具有操作简便、快速和准确的优点,可以在测定羊奶及羊奶制品游离脂肪酸中应用。

参考文献:

- [1] SILANIKOVE N, LEITNER G, MERINC U. Recent advances in exploiting goats milk: quality, safety and production aspects[J]. Small Ruminant Research, 2010, 89(2/3): 110-124.
- [2] HA J K, LINDSAY R C. Release of volatile branched-chain and other fatty acids from ruminant milk fats by various lipases[J]. Journal of Dairy Science, 1993, 76(3): 677-690.
- [3] ALONSO L, FONTECHA J, LONZADA L. Fatty acid composition of caprine milk: major branched chain and trans fatty acids[J]. Journal of Dairy Science, 1999, 82(5): 878-884.
- [4] EKNAS M, HAVREVOLL O, VILDEN H. Fat content fatty acid profile and off-flavours in goat milk-effects of feed concentrates with different fat sources during the grazing season[J]. Animal Feed Science and Technology, 2009, 152(1/2): 112-122.
- [5] FOX P F, WALLACE J M. Formation of flavour compounds in cheese[J]. Advances in Applied Microbiology, 1997, 45: 17-85.
- [6] 刘荫武, 曹斌云. 应用奶山羊生产学[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1990: 388-420.
- [7] SORYAL K A, ZENG S S, MIN B R. Effect of feeding treatments and lactation on composition and organoleptic quality of goat milk Domiati cheese[J]. Small Ruminant Search, 2004, 52(1/2): 109-116.
- [8] CHILLIARD Y, FERLAY A, ROUEL J. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(5): 1751-1770.
- [9] 赵有璋. 羊生产学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 132.
- [10] BOUTOIAL K, ALCÁNTARA Y. Influence of ripening on proteolysis and lipolysis of Murcia al Vino cheese[J]. International Journal of Dairy Technology, 2013, 66: 1-7.

- [11] 林观平, 伍金华, 江黎明. 湖光牛奶脂肪酸的气相色谱-质谱联用分析[J]. 现代预防医学, 2007, 34(19): 3619-3624.
- [12] CHRISTY A A, EGEBERG P K. Quantitative determination of saturated and unsaturated fatty acids in edible oils by infrared spectroscopy and chemometrics[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2006, 82(1/2): 130-136.
- [13] LUNA P, JUÁREZ M, de la FUNTE M A. Validation of a rapid milk fat separation method to determine the fatty acid profile by gas chromatography[J]. Journal of Dairy Science, 2005, 88(10): 3377-3381.
- [14] FENG S, LOCK A L, GARNSWORTHY P C. Technical note: a rapid lipid separation method for determining fatty acid composition of milk[J]. Journal of Dairy Science, 2004, 87(11): 3785-3788.
- [15] FULK W K, SHORB M S. Production of an artifact during methanolysis of lipids by boron trifluoride-methanol[J]. Journal of Lipid Research, 1970, 11(3): 276-277.
- [16] KOWALSKI R. GC analysis of changes in the fatty acid composition of sunflower and olive oils heated with quercetin caffeic acid, protocatechuic acid, and butylated hydroxyanisole[J]. Acta Chromatographica, 2007, 18: 15-23.
- [17] de JONG C, BADINGS H T. Determination of free fatty acids in milk and cheese. Procedures for extraction, clean up, and capillary gas chromatographic analysis[J]. Journal of High Resolution Chromatography, 1990, 13: 94-98.
- [18] KALUZNY M A, DUNCAN L A, MERRITT M V, et al. Rapid separation of lipid classes in, high yield and purity using bonded phase columns[J]. Journal of Lipid Research, 1985, 26: 135-140.
- [19] DEETH H C, FITZ-GERALD C H, SNOW A J. A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products[J]. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology, 1983, 18: 13-20.
- [20] 谭力, 落楠. 非衍生化-气相色谱法测定人血清游离脂肪酸谱[J]. 肠外与肠内营养, 2003, 10(4): 238-238.
- [21] CHEN L, BOYLE-RODEN E, RANKIN S A. Volatilities of short-chain fatty acids in a fermented milk model system as affected by stabilizers[J]. Journal of Food Science, 1999, 64(3): 390-392.