

大鲵油的水酶法提取及精制过程中脂肪酸组成的变化

李 招^{1,2}, 王建文², 王建辉^{1,2}*, 王发祥¹, 李向红¹, 刘永乐¹, 宁静恒¹, 高慧峰¹

¹长沙理工大学化学与食品工程学院, 长沙 410114;

²张家界金鲵生物工程股份有限公司, 湖南 张家界 427000

摘要:为研究大鲵油脂肪酸的营养价值,通过水酶法提取大鲵油,采用气相色谱-质谱法(GC-MS)分析粗大鲵油及其精制(脱胶、脱酸、脱臭)过程中脂肪酸组成的变化以及精制草鱼油中脂肪酸组成的差异。研究表明:水酶法提取大鲵油的最佳条件为酶解温度 60 ℃, pH6.5, 酶添加量 0.75%, 酶解时间 90 min。所得粗大鲵油达到 SC/T 3502-2016 粗鱼油二级标准。研究发现,在粗大鲵油中共检出脂肪酸 20 种,精制过程中脂肪酸组成基本不变,精制后大鲵油中不饱和脂肪酸和必需脂肪酸的相对含量分别达 74.76% 和 25.17%,均高于精制草鱼油中不饱和脂肪酸(61.08%)与必需脂肪酸(18.90%)的相对含量,由此可知,当前方法对大鲵油的提取较为有效,且大鲵油营养价值较草鱼油高。

关键词:大鲵油;提取;水酶法;精制;脂肪酸组成

中图分类号:TS224.6;TQ646

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2019)11-1975-07

DOI:10.16333/j.1001-6880.2019.11.018

Aqueous enzymatic extraction of *Andrias davidianus* oil and their composition variation during refining process

LI Zhao^{1,2}, WANG Jian-wen², WANG Jian-hui^{1,2}*,

WANG Fa-xiang¹, LI Xiang-hong¹, LIU Yong-le¹, NING Jing-heng¹, GAO Hui-feng¹

¹School of Chemistry and Food Engineering, Changsha University of Science and Technology, Changsha 410114, China;

²Zhangjiajie Jinni Bioengineering Co., Ltd., Zhangjiajie 427000, China

Abstract: In order to study the nutritive value of fatty acid in giant salamander oil, the oil was extracted by enzymatic hydrolysis. The gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the changes of fatty acid composition in the crude giant salamander oil and its refining (degumming, deacidification and deodorization) and the difference in fatty acid composition from refined grass carp fish oil. The results showed that the optimum hydrolysis conditions were enzymatic hydrolysis temperature of 60 ℃, pH6.5, enzyme dosage of 0.75% and enzymatic hydrolysis time of 90 min. The obtained crude giant salamander oil meets the secondary standard of crude fish oil as detained in the SC/T 3502-2016. The results showed that 20 kinds of fatty acids were detected, and the compositions of fatty acids in the crude oil during refining process were basically unchanged. The relative contents of unsaturated fatty acids and essential fatty acids in the refined oil were 74.76% and 25.17%, higher than those of the refined grass carp fish oil (61.08% and 18.90%, separately). It can be seen that the current method is more effective for the extraction of 1 giant salamander oil, and the nutritional value of giant salamander oil is higher than that of grass carp oil.

Key words: *Andrias davidianus* oil; extraction aqueous enzymatic hydrolysis; refining; fatty acid

中国大鲵(*Andrias davidianus*), 隶属两栖纲、有尾目、隐鳃鲵科, 又名“娃娃鱼”。大鲵具有“水中活

人参”的美誉, 且氨基酸及蛋白质组成与人体所需模式符合程度较高。目前, 国内外对大鲵的研究主要集中于人工繁殖、养殖、资源状况等方面^[1], 对其资源综合利用研究甚少。Li 等^[2]发现大鲵油脂中富含多种不饱和脂肪酸(UFA), 且 UFA 对抗衰老^[3]、治疗心律不齐^[4]、动脉粥样硬化^[5]、烫伤、烧

收稿日期:2019-06-03 接受日期:2019-09-10

基金项目:湖南省科技人才托举工程项目中青年学者培养计划(2019TJ-Q01)

* 通信作者 E-mail:wangjh0909@163.com

伤等作用显著^[6],潜在利用价值较高。Luo 等^[7]通过气相色谱法确定出精制大鲵油中含有 25 种脂肪酸,Liu 等^[8]通过气相色谱-质谱法发现了草鱼肌肉中 UFA 含量较高,且 MUFA 和 PUFA 含量丰富。由此可知,大鲵油及草鱼油均具有丰富的脂肪酸,但至今对两者尚无系统比较研究。

水酶法提油是一种绿色健康的油脂提取技术,其具有操作简单,条件温和等优点。该法使用蛋白酶借助其良好的破乳效果,能促使与脂质相关的蛋白裂解,促进油滴的聚结和絮凝^[9],在油脂工业中具有较广的应用前景^[10]。Li 等^[11]以提油率为评价指标,分别利用五种蛋白酶提取三文鱼鱼皮油,试验结果表明木瓜蛋白酶提油率最佳。故本实验采用工艺条件温和的水酶法,采用木瓜蛋白酶提取大鲵油,通过正交试验确定水酶法的最优工艺,并比较研究大鲵油精制过程中脂肪酸的组成变化及其与精制草鱼油的差异,以期为大鲵油的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

大鲵尾部组织由张家界金鲵生物工程股份有限公司提供,均是取自人工饲养大鲵,共 3 尾,体重为 1.8~2.9 kg/尾;草鱼,市购,2.0 ± 0.5 kg/尾;木瓜蛋白酶(来源番木瓜):酶活为 800 U/mg, Kayon 酶制剂公司。

1.2 主要仪器设备

DS-1 高速组织捣碎机,上海圣科仪器设备有限公司;PHS-3C 型 pH 计,上海雷磁仪器厂;LG10-2.4A 型高速离心机,北京京立离心机有限公司;YRE-2000B 型旋转蒸发仪,巩义市予华仪器有限责任公司;Scion TQ GC-MS,美国布鲁克道尔顿公司,DK-98-II A 电热恒温水浴锅,天津市泰斯特仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 大鲵尾部脂肪组织粗脂肪含量的测定

粗脂肪含量测定:索氏提取法,参照 GB/T5009.6-016。

1.3.2 大鲵油与草鱼油的提取

(1)大鲵油提取参考 Bai 等^[12]方法,并稍作修改。具体方法如下:

将大鲵尾部组织清洗、绞碎,按料液比 1:10 加入蒸馏水、匀浆、调节 pH、加入一定酶,在适当的温度下酶解一定时间,灭酶,冷却、离心,分离,提取称

重 Q2,计算提取率 $W(W = Q2/Q1 \times 100\%)$,Q1 为原料中大鲵粗脂肪的质量)。

(2)草鱼油提取工艺:参考 Wang 等^[13]试验方法。

1.3.3 单因素试验

酶解 pH:在物料比为 1:10,酶添加量 0.75%,酶解温度 55 °C,酶解时间 90 min 的条件下,考察不同 pH(5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0)对粗大鲵油提取率的影响。

酶解温度:在物料比为 1:10,酶添加量 0.75%,pH6.5,酶解时间 90 min,考察不同温度(40、45、50、55、60、65 °C)对粗大鲵油提取率的影响。

酶添加量:在物料比为 1:10,pH6.5,酶解温度 55 °C,酶解时间 90 min,考察不同酶添加量(0、0.25、0.50、0.75、1.00、1.25%)对粗大鲵油提取率的影响。

酶解时间:在物料比为 1:10,酶解温度 55 °C,pH6.5,酶添加量 0.75%,考察不同酶解时间(30、60、90、120、150、180 min)对粗大鲵油提取率的影响。

1.3.4 正交试验

在单因素实验的基础上,选择酶解温度、pH、酶添加量、酶解时间 4 个因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计,以大鲵油提取率为指标,确定大鲵油提取的最佳工艺条件。

1.3.5 粗大鲵油理化指标的测定

酸值:热乙醇测定法,参照 GB/5009.229-2016;
过氧化值:硫代硫酸钠滴定法,参照 GB/T5009.227-2016;

碘值:硫代硫酸钠滴定法,参照 GB/T5532-2008;

水分及挥发物含量:直接干燥法,参照 GB/T5009.236-2016;

不溶性杂质:坩埚式过滤器法,参照 GB/T15688-2008。

1.3.6 粗大鲵油/草鱼油的精制

参考 Luo 等^[7]试验方法,并稍作修改,具体方法如下:

1.3.6.1 脱胶:称取一定量的粗大鲵油/草鱼油于锥形瓶中,在水浴中将油加热搅拌至 70 °C,然后按油量的 1% 缓慢加入浓度为 40% 的磷酸,70 °C 下均匀搅拌 1 min,再以 5 000 rpm 离心 25 min,分离出上层油样即为脱胶油。

1.3.6.2 脱酸:称取一定量的脱胶油,再按油量的0.07%加入浓度为200 g/L的氢氧化钠溶液,在水浴中加热搅拌至65 ℃,30 min后以5 000 rpm离心15 min,分离上层油样后再加入1 mL热的去离子水,洗去残留皂,反复3次,5 000 rpm离心15 min,分离上层油样即得脱酸油。

1.3.6.3 脱臭:在55 ℃水浴中,利用旋转蒸发器对大鲵油/草鱼油旋蒸10 min,即得脱臭油。

1.3.7 GC-MS 检测

1.3.7.1 甲酯化条件

大鲵油:取油样0.6 mL于离心试管中,加入5 mL正己烷,摇匀,再加入2 mol/L氢氧化钾-甲醇溶液0.25 mL,充分振摇30 s,放入离心机内离心1 min后,取上层液体,进行GC-MS色谱脂肪酸成分含量测定。

草鱼油:参考Wang等^[13]试验方法。

1.3.7.2 GC-MS 测定条件

色谱柱:Rxi-5ms毛细管柱(30 m×0.25 μm×0.25 mm);柱初温:50 ℃,保持5 min,以10 ℃/min升至160 ℃,保持2 min,以5 ℃/min升至200 ℃,保持5 min,以2 ℃/min升至260 ℃,保持10 min,以5 ℃/min升至300 ℃,保持10 min;进样口温度:280 ℃,载气(He)流量:1.0 mL/min,采用分流模式进行,分流比为5:1。离子源温度(EI):200 ℃,接口温度:200 ℃,扫描质量数范围:22.00~500.00 u;进样量:1 μL。

1.3.8 脂肪酸营养价值评价

大鲵油脂肪酸以及草鱼油脂肪酸致动脉粥样硬化指数(atherogenic index, AI)和血栓形成指数(thrombogenic index, TI)的评价方法参考Zhang^[14]的方法。

参考文献^[14]大鲵油脂肪酸以及草鱼油脂肪酸致动脉粥样硬化指(atherogenic index AI)和血栓形成指数(thrombogenic index, TI),来评价两种油对人类心血管疾病发生的影响。其中:

$$AI = \frac{C12:0 + 4 \times C14:0 + C16:0}{\sum MUFA + \sum PUFAn-6 + \sum PUFAn-6}$$

$$TI = \frac{C14:0 + C16:0 + C18:0}{0.5 \times \sum MUFA + 0.5 \times \sum PUFAn-6 + 3 \times \sum PUFAn-3 + \sum PUFAn-6}$$

2 结果与分析

2.1 粗脂肪含量

经实验测定,大鲵尾部中粗脂肪含量为78.89%±0.24%,表明大鲵尾部粗脂肪含量较高,

故可作为大鲵油提取的良好原料。

2.2 单因素试验

2.2.1 pH 对大鲵油提取率的影响

pH对粗大鲵油提取率的影响如图2所示。随着pH增大,大鲵油提取率先升高后下降,pH在5.5~6.5时,提取率随着pH增大而增大,当pH为6.5时达86.69%;pH在6.5~8.0时提取率不断下降。木瓜蛋白酶pH为6~7,随着pH增大,会影响酶活性中心的构象,从而改变木瓜蛋白酶离子基团的离解状态,阻碍酶解反应的进行,导致提取率下降^[15]。

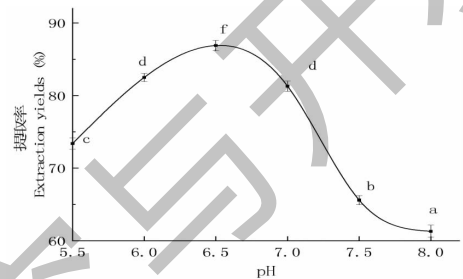


图1 pH对大鲵油提取率的影响

Fig. 1 Effect of different enzyme pH on extraction yield of *Andrias davidianus* oil

注:不同字母表示差异显著($P < 0.05$),下同。Note: Different letters means significant difference ($P < 0.05$), the same below.

2.2.2 酶解温度对提取率的影响

温度对粗大鲵油提取率的影响如图2所示。随着酶解温度增大,大鲵油的提取率呈先上升后下降的趋势。当温度在44~55 ℃时,提取率随温度升高不断增大,达86.83%,而随酶解温度进一步上升,提取率呈下降趋势。究其原因可能是随初始温度升高酶解反应趋完全,但温度过高,会改变酶蛋白的结构,引起酶的失活,从而降低酶解效率,使提取率下降^[16]。

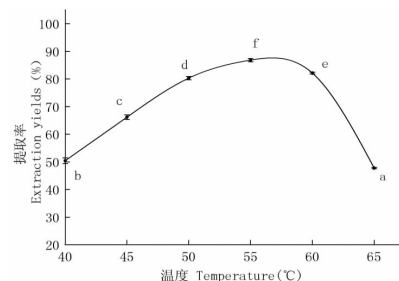


图2 酶解温度对大鲵油提取率的影响

Fig. 2 Effect of different enzyme temperatures on extraction yield of *Andrias davidianus* oil

2.2.3 酶添加量对提取率的影响

酶添加量对粗大鲵油提取率影响如图3所示。

大鲵油提取率随着酶添加量的增加不断升高后趋于平稳。当酶添加量为 0.75% 时,提取率为 85.56%,与未添加酶组相比(20.03%),增加了 65%;当加酶量为 1.00% 时,提取率为 85.93%,增长较为缓慢,酶添加量为 1.25% 时,提取率为 84.20%。这是因为在底物未达到饱和时,酶量增加可促进蛋白质水解,提取率不断增大,当达到饱和后,由于酶自身的水解或者抑制作用,酶解程度降低^[17],另外,过量的酶会与底物结合形成络合物对酶形成了反馈抑制,造成反应速率下降。

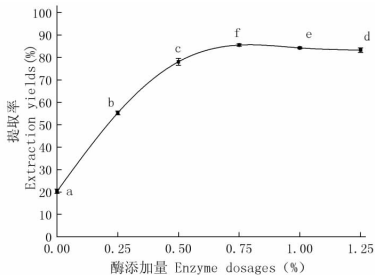


图3 不同酶添加量对大鲵油提取率的影响

Fig. 3 Effect of different enzyme dosages on extraction yield of *Andrias davidianus* oil

2.2.4 酶解时间对提取率的影响

酶解时间对粗大鲵油提取率的影响如图 4 所

示。大鲵油的提取率随酶解时间的增加先升高后下降。酶解时间在 30 ~ 120 min 时,提取率随着时间的延长而增大,在 120 min 时,达 86.69%;酶解时间在 120 ~ 180 min 时提取率不断下降。究其原因,随酶解时间的延长酶与底物间的反应越充分,从而释放出脂肪分子。随着酶解时间进一步延长,由于大鲵油中不饱和脂肪酸发生氧化,不利于营养物质的保持^[18]。

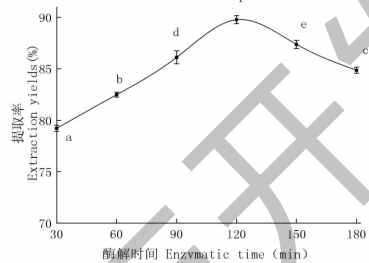


图4 酶解时间对大鲵油提取率的影响

Fig. 4 Effects of enzyme time on extraction yield of *Andrias davidianus* oil

2.3 正交试验

从表 1 可知, C (酶添加量)、A (酶解温度)、D (酶解时间)、B (pH) 对大鲵油提取率的影响依次减小,正交试验的最佳组合为 $A_3B_2C_1D_1$, 即酶解温度 60 °C, pH 6.5, 酶添加量 0.75%, 酶解时间 90 min。

表 1 正交试验设计及结果

Table 1 Design and results of orthogonal test

试验号 Code	A 温度 Temperature (°C)	B pH	C 酶添加量 Enzyme dosages (%)	D 酶解时间 Enzyme time (min)	提取率 Extraction yield (%)
1	1(50)	1(6.0)	1(0.75)	1(90)	86.34
2	1	2(6.5)	2(1.00)	2(120)	83.58
3	1	3(7.0)	3(1.25)	3(150)	80.73
4	2(55)	1	2	3	81.24
5	2	2	3	1	84.97
6	2	3	1	2	82.82
7	3(60)	1	3	2	82.76
8	3	2	1	3	88.61
9	3	3	2	1	85.77
K1	83.55	83.44	85.92	85.69	
K2	83.01	85.72	83.53	83.05	
K3	85.71	83.11	82.82	83.53	
R	2.7	2.61	3.1	2.64	

2.4 优化反应条件的结果验证

按以上优化的提取条件(温度 60 °C, pH6.5, 酶添加量 0.75%, 酶解时间 90 min)进行三组平行试验验证,大鲵油提取率为 89.34% ± 1.00%,表明试验优化的工艺条件可行。

2.5 大鲵油理化特性

所得粗大鲵油的感官指标及理化指标结果如表 2 所示,符合水产行业标准 SC/T3502-2016 所规定的粗鱼油二级标准。

表 2 粗大鲵的油的感官与理化指标

Table 2 Sensory and physicochemical indices of crude *Andrias davidianus* oil

感官与理化性质 Sensory and physical propertie	粗大鲵油 Crude oil	一级标准 Primary standard	二级标准 Secondary standard
外观 Appearance		浅黄色或红棕色,稍有混浊或分层 Pale yellow or reddish brown, with slightly turbid or stratified phenomenon	
气味 Odor		具有鱼油的腥味,稍有鱼油酸败味 Fishy smell with a slight rancidity	
酸值 Acid value(mgKOH/g)	0.57	≤8.0	≤15.0
过氧化值 Peroxide value(mmol/kg)	5.73	≤12.0	≤20.0
碘值 Iodine value(gI ₂ /100g)	126.35	≥120	≥120
水分及挥发物 Moisture and volatile matter(%)	0.39	≤0.3	≤0.5
不溶性杂质 Insoluble impurity(%)	0.45	≤0.5	≤0.5

2.6 脂肪酸组成分析

2.6.1 粗大鲵油精制过程中的脂肪酸组成分析

粗大鲵油在精制(脱胶、脱酸、脱臭)过程中脂肪酸组成及其相对含量变化如表 3 所示。粗大鲵油与精制过程中大鲵油脂肪酸组成基本相似,由此表明各项精制工艺对大鲵油脂肪酸组成影响较小。精制大鲵油中 SFA 含量为 23.14%,以 C16:0 为主(14.06%);MUFA 含量为 37.98%,以 C18:1(油酸)为主(30.52%);PUFA 含量为 36.78%,以 C18:2(亚油酸)为主(21.34%),其中 EPA 和 DHA 含量分别达 3.57% 和 4.76%。

精制大鲵油中 UFA 含量(74.76%)比草鱼油(61.08%)多 13.68%, PUFA 含量(36.78%)比草鱼油(25.29%)多 11.49%。精制大鲵油中 PUFA ω -6 型含量(24.37%)为草鱼油(18.88%)的 1.3 倍,且 ω -6: ω -3 为 1.96:1,与美国专家推荐值 2.3:1 接近^[19]。精制大鲵油中 AI(0.41)和 TI(0.33)比草鱼油中 AI(0.81)和 TI(0.61)低,表明前者具有更高的脂肪酸不饱和度,能有效的抑制冠心病和血栓的形成^[20]。此外,对人体极为重要的油酸及亚油酸,精制大鲵油中的含量明显高于草鱼油。由此可知,精制大鲵油的保健功能较草鱼油更为突出。

表 3 粗大鲵油精制过程中脂肪酸组成变化及其与草鱼油组成间的差异

Table 3 Composition changes of fatty acid in crude *Andrias davidianus* oil during refining process and their difference with grass carp oil

脂肪酸 Fatty acid	系统名称 Systematic name	含量 Content(%)					
		粗大鲵油 Coarse oil of giant salamander	脱胶 Degum- ming	脱酸 Deacid- ification	脱臭 Deodor- izing	草鱼油 Grass carp oil	
饱和脂肪酸 SFA	C12:0	十二碳酸/月桂酸 Lauric acid	0.42	0.28	0.15	0.16	1.62
	C14:0	十四碳酸/肉豆蔻酸 Myristic acid	4.64	4.47	4.22	4.21	7.63
	C15:0	十五碳酸 Pentadecanoic acid	0.52	0.31	0.12	0.11	2.93
	C16:0	十六碳酸/棕榈酸 Palmitic acid	13.64	13.83	14.05	14.06	17.43
	C17:0	十七碳酸 Heptadecanoic acid	0.09	0.13	0.24	0.25	1.92
	C18:0	十八碳酸/硬脂酸 Octadecanoic acid	3.82	4.05	4.13	4.14	3.28

续表 3 (Continued Tab. 3)

脂肪酸 Fatty acid	系统名称 Systematic name	含量 Content (%)				
		粗大鲵油 Coarse oil of giant salamander	脱胶 Degum- ming	脱酸 Deacid- ification	脱臭 Deodor- izing	草鱼油 Grass carp oil
C20:0	二十碳酸/花生酸 Eicosanoic acid	0.09	0.19	0.22	0.21	0.89
总计 Sum		23.22	23.26	23.13	23.14	35.70
单不饱和脂肪 MUFA						
C11:1	10-十一碳烯酸 10-Henecenoic acid	0.09	0.18	0.27	0.25	0.97
C16:1	顺-9-十六碳烯酸 Cis-9-hexadecenoic acid	4.53	4.72	4.91	4.93	2.28
C18:1	顺-9-十八碳烯酸/油酸 Oleic acid	30.11	30.36	30.51	30.52	27.28
C18:1	顺-11-十八碳烯酸 11-Octadecenoic acid	1.38	1.24	1.07	1.03	1.78
C20:1	二十碳烯酸 Eicosenoic acid	1.38	1.22	1.09	1.11	1.89
C22:1	顺-13-二十二碳烯酸 Cis-13-docosenoic acid	0.56	0.32	0.12	0.14	1.59
总计 Sum		38.05	38.04	37.97	37.98	35.79
多不饱和脂肪酸 PUFA						
C18:2 ω -6	亚油酸 linoleic acid	21.01	21.18	21.31	21.34	16.97
C18:3 ω -3	亚麻酸 α -Linolenic acid	3.46	3.69	3.81	3.83	1.93
C20:3 ω -6	顺-8,11,14-二十碳三烯酸 Cis-8,11,14-eicosatrienoic acid	0.64	0.58	0.30	0.21	0.79
C20:4 ω -6	花生四烯酸 Arachidonic acid	2.44	2.69	2.82	2.82	1.12
C20:4 ω -3	顺-8,11,14,17-二十碳四烯酸 Cis-8,11,14,17-eicosatetraenoic acid	0.65	0.31	0.27	0.25	0.98
C20:5 ω -3	顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸(EPA) Cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid	3.11	3.33	3.56	3.57	1.98
C22:6 ω -3	顺-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸(DHA) Cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid	4.52	4.64	4.77	4.76	1.52
总计 Sum		35.83	36.42	36.84	36.78	25.29
	UFA	73.88	74.46	74.81	74.76	61.08
	其它脂肪酸/Other fatty acids	2.90	2.28	2.06	2.10	3.22
	UFA/SFA	3.18:1	3.20:1	3.23:1	3.23:1	1.71:1
	$\Sigma \omega$ -6 PUFA	24.09	24.45	24.43	24.37	18.88
	$\Sigma \omega$ -3 PUFA	11.74	11.97	12.41	12.41	6.41
	$\Sigma \omega$ -6/ $\Sigma \omega$ -3	2.05	2.04	1.97	1.96	2.95

3 结论

本研究采用水酶法优化了大鲵油提取的最佳工艺:酶解温度 60 °C, pH6.5, 酶添加量 0.75%, 时间 90 min, 在此条件下大鲵油的提取率达 89.34% \pm 1.00%。粗制大鲵油达到 SC/T3502-2016 粗鱼油二级标准。粗大鲵油精制过程中, 脂肪酸组成变化较小, 精制后的大鲵油中 UFA 和必需脂肪酸(EFA) 相对含量分别达 74.76% 和 25.17%, 均高于精制草鱼油。本研究确定了水酶法提取大鲵油的最佳工艺条件, 初步掌握了大鲵油脂肪酸组成, 为大鲵油的开发利用提供了理论依据。然而, 对大鲵油中各 MUFA 和 PUFA 的定量分析及其分离提取有待开展进一步研究。

参考文献

- Zhang AF, Zhang HX, Yu ZJ. An overview of research status of giant salamander based on literature analysis [J]. Jiangxi Fis Sci Tech (江西水产科技), 2015, 4:38-40.
- Li LQ, Zan LS. Analysis of amino acids in mucus, skin and flesh of giant salamander [J]. Sci Tech Food Ind (食品工业科技), 2010, 31(01):364-366.
- James J, Greg C, Elizabeth H, et al. Nutrition, brain aging and neurodegeneration [J]. J Neurosci, 2009, 29: 12795-12801.
- Leopolo B, Leonardo C, Mauro M, et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids for the prevention of arrhythmia recurrence after e-

- lectrical cardioversion of chronic persistent atrial fibrillation; a randomized, double-blind, multicentre study[J]. *Europace*, 2012, 13:174-181.
- 5 Aslibekyan S, Jensen M, Campos H, et al. Genetic variation in fatty acid elongases is not associated with intermediate cardiovascular phenotypes or myocardial infarction[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2012, 66:353-359.
- 6 Wang MM. Nutrition analysis of Chinese giant salamander muscle and preparation of oil from its tails adipose tissue [D]. Jishou: Jishou University(吉首大学), 2015.
- 7 Lou Q, Sun Q, Ye X, et al. Refining and fatty acid composition of crude giant salamander oil[J]. *China Oils Fats(中国油脂)*, 2014, 39(7):5-8.
- 8 Liu DM, WANG JH, Liu YL, et al. Changes in fatty acid composition during cold storage of fresh grass muscle[J]. *Food Sci(食品科学)*, 2013, 34:194-198.
- 9 Theeraphol S, Soottawat B. Compositions and yield of lipids extracted from hepatopancreas of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by prior autolysis[J]. *Food Chem*, 2012, 134:829-835.
- 10 Yang X, Chu BJ, Hui J, et al. Research status of extracting maize germ oil and sunflower seed oil by aqueous enzymatic extraction method[J]. *Cereal Food Ind(粮食与食品工业)*, 2019, 26(2):1-5.
- 11 Li P, Cao LL, Mao XC. Study on the process of fish oil from salmo salar skin by papain extraction method[J]. *Chin Fish Qua Stand(中国渔业质量与标准)*, 2018, 8(6):18-25.
- 12 Bai XH, Luo Q, Qing W, et al. Optimization of extraction of *Andrias davidianus* oil by aqueous enzymes using response surface methodology[J]. *Sci Tech Food Ind(食品工业科技)*, 2016, 37:247-252.
- 13 Wang JH, Liu YL, Liu DM, et al. Dynamics of fat oxidation in grass carp fillets during cooling storage[J]. *Food Sci(食品科学)*, 2013, 34:243-246.
- 14 Zhang FP, Zhang R, Song J, et al. Evaluation of nutritive quality and analysis of nutrient components in the farmed *Silurus meridionalis* Chen × *Silurus* spp meat[J]. *Acta Nutr Sin(营养学报)*, 2012, 34:414-416.
- 15 Santossilva J, Bessa RJB, Santossilva F. Effect of genotype, feeding system and slaughter weight on the quality of light lambs; II. Fatty acid composition of meat [J]. *Livest Prod Sci*, 2002, 77:187-194.
- 16 Yu DY. *Oil Technology(油脂工艺学)* [M]. Beijing: The Science Publishing Company, 2012:210-221.
- 17 Duan YH, Li FN, Li LL, et al. The regulation of n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio in physiological functions of the body[J]. *Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发)*, 2014, 26:626-631.
- 18 Zhang JC, Xue L, Wang CT. Study on enzymic extracting fish oil from tail lipid of *Andrias davidianus* [J]. *J Food Sci Techn(食品科学技术学报)*, 2013, 31(3):25-29.
- 19 Kris-Etherton PM, Taylor DS, Yu-Poth S, et al. Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States[J]. *Am J Chn Nutr*, 2000, 71(supple):179-188.
- 20 Li LQ, Zan LS, Tian WQ, et al. Adipose tissue distribution and physical and chemical properties of *Andrias davidianus* [J]. *Acta Agri Bor-occid Sin(西北农业学报)*, 2010, 19(2):7-10.