

草原苏尼特羊脑中磷脂型 DHA 萃取 及其结构特性研究

包音都古荣·金花^{1,2,3}, 和硕特麦丽斯⁴, 呼格吉勒图³, 侯荣伦³, 于波^{1,2}, 周欢敏²

(1. 内蒙古农业大学 食品科学与工程学院, 呼和浩特 010010; 2. 内蒙古生物制造重点实验室,

呼和浩特 010010; 3. 内蒙古贺斯格农牧业科技有限公司, 内蒙古 锡林郭勒盟 026321;

4. 晶云药物科技股份有限公司, 美国 新泽西 08512)

摘要:旨在为绿色天然草原羊脑中磷脂型二十二碳六烯酸(DHA-PL)的开发利用提供科学数据,以苏尼特冻干羊脑为原料,采用溶剂萃取其中的粗脂肪,用冰丙酮沉淀得到磷脂,再采用硅胶柱层析法分离其中的磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰丝氨酸(PS)。测定了粗脂肪中胆固醇含量,以及磷脂中PC和PS的含量,分析了粗脂肪、磷脂、PC和PS中DHA含量,以及PC和PS中sn-2位的DHA含量。结果表明:采用体积比2:1乙醇-正己烷萃取冻干苏尼特羊脑中粗脂肪,粗脂肪得率较高,为45%;羊脑粗脂肪中胆固醇含量为29.42 mg/g,粗脂肪的脂肪酸组成中DHA含量为8.89%;磷脂的脂肪酸组成中DHA含量为11.41%;磷脂中PC和PS含量分别为27.67 μg/g和10.69 μg/g,PC和PS的sn-2位脂肪酸组成中DHA含量分别为8.06%和2.59%。综上,可以从苏尼特羊脑中制备易于吸收的DHA-PL。

关键词:草原苏尼特羊脑;磷脂型DHA;sn-2位脂肪酸;脂肪酸组成;DHA含量

中图分类号:TS225.6;TQ646 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)10-0034-07

Extraction and structural characteristics of phospholipid DHA from grassland Sunite sheep brain

BAOYINDUGURONG · Jinhua^{1,2,3}, HESHUOTE Mailisi⁴,
HUGEJILETU³, HOU Ronglun³, YU Bo^{1,2}, ZHOU Huanmin²

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010010, China;

2. Inner Mongolia Key Laboratory of Biofabrication, Hohhot 010010, China; 3. Inner Mongolia Hesige

Agriculture and Animal Husbandry Technology Co., Ltd., Xilingol League 026321, Inner

Mongolia, China; 4. Crystal Pharmatech, Inc., Cranbury, NJ 08512, USA)

Abstract: To provide scientific data for the development and utilization of phospholipid docosahexaenoic acid (DHA-PL) in green natural grassland sheep brain, the crude fat was extracted with solvent from the freeze-

收稿日期:2024-04-07;修回日期:2024-06-17

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2023MS03034);内蒙古自治区科技计划项目(2023YFDZ0050);内蒙古自治区科技计划项目(2021GG0348);草原英才项目(内组通字[2021]333号,内人才发[2023]3号)

作者简介:包音都古荣·金花(1965),女(蒙古族),副教授,硕士生导师,博士,主要从事食品分子机能学、功能性健康食品开发、人体生理营养学、脂质生理营养学等方面的研究工作(E-mail) huajin25@hotmail.com;和硕特麦丽斯(1991),女(蒙古族),研究员,硕士,研究方向为药物晶型和临床前制剂研发(E-mail) mailis.h.seijin@gmail.com。包音都古荣·金花与和硕特麦丽斯为共同第一作者。

dried Sunite sheep brain and precipitated with ice acetone to obtain phospholipid, and then the phosphatidylcholine (PC) and phosphatidylserine (PS) were separated by silica gel column chromatography from phospholipid. The total cholesterol content in the crude fat was determined, as well as the PC and PS contents in the phospholipid. The contents of DHA in crude fat, phospholipid, PC and PS, and the contents of DHA at sn-2 position in PC and PS were analyzed. The results showed that the higher crude fat yield of 45% was obtained by extraction

with ethanol - *n* - hexane (volume ratio of 2:1). The cholesterol content in the crude fat was 29.42 mg/g, and the DHA content in the crude fat was 8.89%. The DHA content in the phospholipid was 11.41%. The contents of PC and PS in phospholipid were 27.67 $\mu\text{g/g}$ and 10.69 $\mu\text{g/g}$, respectively. The DHA content in the sn - 2 position of PC and PS was 8.06% and 2.59%, respectively. In summary, DHA - PL that is easily absorbed can be prepared from the Sunite sheep brain.

Key words: grassland Sunite sheep brain; phospholipid DHA; sn - 2 position fatty acid; fatty acid composition; DHA content

认知障碍症是神经退行性疾病的一种特征,是目前世界上第七大死亡原因,世界卫生组织(WHO)预计,神经退行性疾病将是本世纪最令人关注的健康问题^[1]。有研究数据显示,在3496名65岁以上受试者中有近30%的老年人存在不同程度的认知功能障碍,其中大约有10%的人被诊断为痴呆症^[2]。阿尔茨海默病和脑血管病是痴呆症最常见的病因,占有痴呆症的60%~80%^[3-4]。由于年龄是认知障碍症和痴呆症最大的风险因素,随着老龄化社会的深入,其对老年人及其家庭、医疗保健能力和成本的影响,对未来社会和经济福祉构成相当大的挑战。据估计,痴呆症对全球的经济影响,包括无偿的家庭护理,将从2019年的1.3万亿美元增至2030年的2.8万亿美元以上^[5-6],这对经济造成巨大负担。然而,认知障碍症无法治愈,药物能减少大脑中的 β -淀粉样蛋白斑块,但难以根治。磷脂型二十二碳六烯酸(DHA-PL)能够减少 β -淀粉样蛋白沉积和神经纤维缠结,调节氧化应激和炎症反应,在改善神经认知障碍方面具有潜在的益处^[7-9]。

二十二碳六烯酸(DHA)可以由 α -亚麻酸(ALA)转化而来,但转化效率相对较低,通常还需从食物中摄取,且与磷脂结合形成的DHA-PL才能经血脑屏障(BBB)进入大脑,并参与大脑生化反应^[10]。自然界中的DHA主要以甘油酯型(DHA-TAG)和磷脂型(DHA-PL)的形式存在,与DHA-TAG比较,DHA-PL具有更好的氧化稳定性、更高的生物效应和生物利用率^[11-12]。有研究发现,DHA-PL的特殊结构导致DHA在组织中的掺入量显著高于DHA-TAG形式的^[13-14],DHA-PL比DHA-TAG在脑部具有更高的生物可利用性^[15-16]。Cutuli等^[17]的研究指出,DHA-PL可减少细胞凋亡、神经元密度损失和神经胶质变性,有助于改善多种大脑疾病。在脑中DHA与磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰基胆碱(PC)等磷脂酯化^[18],改变了其物理结构,改善了细胞对磷脂双层细胞膜的渗透、吸收和携带的

反应^[19],有助于改善认知能力、大脑功能和脂质代谢^[20]。因此,以DHA-PC和DHA-PS为主的DHA-PL因在功能性食品和医药产品中对健康有益而受到科学界的极大关注。

海洋生物中的DHA以DHA-PL形式存在,且DHA主要位于甘油的sn-2位^[21]。天然DHA-PL主要来源于南极磷虾、海鱼卵等海洋动物,但存在原料供应、过敏原及海洋核污染等问题。国内外学者以海藻和鱼卵中DHA,以及大豆中提取的卵磷脂为原料,采用酶法制备DHA-PC,但价格较为昂贵。20世纪90年代,国际上曾有大量从牛脑中提取DHA-PL的研究报告,但是继疯牛病发生后,相关研究暂被搁浅。羊脑在传统蒙古医学中用于治疗脑部疾病^[22],亦有食用的饮食文化。羊脑中的DHA-PC和DHA-PS能够穿过BBB到达大脑内部,从而治疗脑部疾病。生长于草原特定生态环境中的放牧草原羊在千年历史变迁中,从未感染过疯牛病和羊痘病。因此,本研究以草原羊脑为原料,采用溶剂萃取其中的粗脂肪,再用冰丙酮沉淀得到磷脂,然后采用硅胶柱层析法分离其中的PC和PS,分析了PC和PS的总脂肪酸组成以及sn-2位脂肪酸组成,以期绿色天然羊脑中DHA-PL的开发利用提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

羊脑:从内蒙古锡林郭勒盟苏尼特左旗购买自然放牧环境下的10只苏尼特羊的羊头,开颅后取出羊脑,称质量,并将新鲜羊脑分装并储存于-80℃冰箱中。同时取部分新鲜羊脑切成1~3mm大小片状装入密封袋中,利用真空冷冻干燥机在-58℃下冷冻干燥72h,制得冻干羊脑,在-80℃冷冻保存。

氯仿、甲醇、正己烷、乙醇、氢氧化钠、氯化钠,均为分析纯,日本和光制药株式会社;37种脂肪酸甲酯标准品、磷脂酶A₂和三氟化硼,均为分析纯,Sigma公司;胆固醇(TC)测试盒,南京建成生物工程研究所;PC标准品、冰丙酮、硅胶,国药集团化学试剂有限公

司;PS 标准品,理星(天津)生物科技有限公司。

R-210 型旋转蒸发器,BUCHI Labortechnik AG 公司;7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS),美国 Agilent 公司;SIGMA3-18K 离心机,德国 Sartorius 公司;FD-1A-50+真空冷冻干燥机,博医康(北京)仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 苏尼特羊脑中磷脂的提取

取冻干羊脑,研磨成粉状后称取 15 g,加入 60 mL 萃取溶剂,室温下浸泡 72 h 后过滤,滤液于 60℃下蒸发去除溶剂后得到粗脂肪。向粗脂肪中加入与粗脂肪等体积的冰丙酮,用磁力搅拌器搅拌至出现沉淀后过滤,回收沉淀。沉淀再用冰丙酮重复处理 3 次后,于 60℃下恒温 30 min 以挥发掉残余丙酮,得到磷脂(固体)。

1.2.2 PC 和 PS 的分离

参照日比野英彦等^[23]的方法,以 1.2.1 中提取的磷脂为原料,采用硅胶柱层析法分离其中的 PC 和 PS。称取 45 g 柱层析硅胶于烧杯中,加 150 mL 甲醇,充分搅拌,室温静置 30 min,待硅胶沉淀后去除上层的甲醇溶液,再加 150 mL 氯仿充分搅拌,室温静置 30 min,硅胶沉淀后去除上层氯仿。将硅胶置于超净工作台中通风 40~60 min,待残余的氯仿挥发后,将硅胶置于 105℃干燥箱内,活化硅胶 1~2 h,然后取出硅胶降至室温。采用湿法装柱,向硅胶中加 100 mL 乙醇-正己烷(体积比 2:1)并搅拌均匀至没有气泡,边搅拌边缓缓倒入层析柱中,静置 30 min 左右,直至硅胶稳定。将磷脂固体放入层析柱中硅胶上部,把外接滴定管插入层析柱中,密封上口。利用体积比 1:3 的正己烷-乙醇和体积比 5:2:1 的水-乙醇-氯仿滴定液通过滴定管注入层析柱内,分别提取羊脑中的 PC 和 PS,根据预试验确定收集的洗脱液体积,将收集的洗脱液的溶剂挥发掉,即得 PC 和 PS。

1.2.3 脂肪酸组成及含量测定

参照简路洋等^[24]的方法进行样品的前处理和脂肪酸的提取、皂化与甲酯化处理,再利用 GC-MS 测定脂肪酸组成和含量。GC 条件:Supelco SPTM-2560 气相毛细管色谱柱(100 m×0.25 mm×0.2 μm);进样口温度 260℃;检测器温度 260℃;恒定柱流速 1.2 mL/min;进样量 2.0 μL;升温程序为初始温度 100℃,保持 5 min,然后以 4℃/min 的速度升至 200℃后,以 1℃/min 的速度升至 240℃,保持 5 min。MS 条件:电子轰击离子源(EI),离子源温度 230℃,四极杆温度 150℃,电子轰击能 70 eV,离子

扫描模式,扫描范围(m/z) 30~400,辅助气温度 230℃。

采用质谱库与 37 种脂肪酸甲酯混标溶液保留时间对照进行定性,峰面积归一化法计算各脂肪酸的含量。

1.2.4 TC、PC 和 PS 含量的测定

参照 TC 测试盒说明书测定羊脑粗脂肪中 TC 含量。参照关明等^[25]的研究采用紫外分光光度法测定羊脑磷脂中 PC 含量。参考刘国生等^[26]的研究,采用反相高效液相色谱法测定羊脑磷脂中 PS 含量并对色谱条件略作修改,色谱条件:C18 色谱柱(150 mm×4.6 mm,5 μm);流动相 85%磷酸-甲醇-乙腈(体积比 1.8:10:100);柱温 35℃;检测波长 205 nm;等速洗脱,流速 0.8 mL/min;进样量 10 μL。

1.2.5 sn-2 位脂肪酸组成的测定

将按 1.2.2 方法分离的 PC 和 PS 用正己烷溶解定容后,准确量取 5 mL PC 或 PS 溶液于 250 mL 烧杯中,加入 30 mL 1 mol/L NaCl 溶液、10 mL 0.1 mol/L CaCl₂ 溶液和 100 mL 去离子水,25℃下搅拌 2~3 h 形成乳液。用去离子水稀释至 200 mL 后用 0.01 mol/L NaOH 溶液滴定至 pH 为 8.9,再分别加入 4 mL 2.5 U/mL 磷脂酶 A₂ 溶液(溶剂为冷去离子水)和等体积冷去离子水,反应约 10 min。反应期间通过添加 0.01 mol/L NaOH 溶液使 pH 保持在 8.9。取氨基固相萃取柱(500 g/6 mL),依次用 5 mL 丙酮和 5 mL 正己烷活化,将上述酶解产物通过活化氨基固相萃取柱,再用 5 mL 丙酮-正己烷(体积比 15:75)淋洗柱子,5 mL 丙酮-正己烷(体积比 1:1)洗脱,收集洗脱液,即为 sn-2 位单甘酯。

甲酯化:吸取 3 mL 上述洗脱液于螺纹试管中,加入 4 mL 三氟化硼-甲醇溶液,剧烈振荡混匀,沸水浴锅中反应 30 min,放至室温后加入 2 mL 色谱纯正己烷,混合均匀,静置 5 min,再加入 5 mL 饱和 NaCl 溶液混匀,静置 5 min,1 000 r/min 下离心 10 min,取上清液过 0.22 μm 有机系微孔滤膜,待 GC-MS 分析。GC-MS 分析条件及 sn-2 位脂肪酸定性、定量方法见 1.2.3。

1.2.6 数据统计分析

试验数据采用 SPSS 26.0 软件进行正态检验,若呈正态分布则进行 ANOVA 方差分析及 t 检验,检验水平 $\alpha=0.05$, $p<0.05$ 为存在显著性差异,结果均以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 苏尼特羊脑中粗脂肪萃取溶剂的选择

采用体积比 2:1 的甲醇-氯仿、正己烷和体积

比2:1的乙醇-正己烷萃取羊脑中的粗脂肪,其得率如表1所示。

表1 不同溶剂萃取羊脑中粗脂肪的得率

Table 1 Yield of crude fat from sheep brain extracted with different solvents

溶剂	得率/%
甲醇-氯仿(体积比2:1)	37
正己烷	19
乙醇-正己烷(体积比2:1)	45

由表1可知,体积比2:1的甲醇-氯仿、正己烷和体积比2:1的乙醇-正己烷3种萃取溶剂从冻干羊脑中萃取的粗脂肪得率分别为37%、19%和45%,体积比2:1的乙醇-正己烷的粗脂肪得率最高。乙醇和正己烷可以应用于食品工业,生产加工的食品安全性较高。因此,本研究选择体积比2:1乙醇-正己烷作为羊脑中粗脂肪的萃取溶剂。

2.2 苏尼特羊脑粗脂肪的脂肪酸组成及含量

苏尼特羊脑粗脂肪的主要脂肪酸组成及含量如表2所示。

表2 苏尼特羊脑粗脂肪的主要脂肪酸组成及含量($n=10$)

Table 2 Composition and content of main fatty acids in crude fat of Sunit sheep brain ($n=10$)

脂肪酸	含量/%
肉豆蔻酸(C14:0)	1.05 ± 0.36
棕榈酸(C16:0)	41.94 ± 7.27
硬脂酸(C18:0)	1.55 ± 1.00
反油酸(C18:1 ω 9)	1.39 ± 8.45
油酸(C18:1 ω 7)	22.99 ± 4.61
二十二碳二烯酸(C22:2)	1.59 ± 2.26
EPA(C20:5 n 3)	3.82 ± 3.42
DHA(C22:6 n 3)	8.89 ± 1.69
SFA	44.54 ± 2.89
MUFA	24.38 ± 6.53
PUFA	14.30 ± 2.46

注:SFA.饱和脂肪酸;MUFA.单不饱和脂肪酸;PUFA.多不饱和脂肪酸

Note: SFA. Saturated fatty acids; MUFA. Monounsaturated fatty acids; PUFA. Polyunsaturated fatty acids

由表2可知,苏尼特羊脑粗脂肪中主要有8种脂肪酸,SFA中棕榈酸含量最高,MUFA以油酸为主,PUFA以DHA和EPA为主,其中DHA含量最高,为8.89%。

2.3 苏尼特羊脑粗脂肪中TC、PC、PS含量

经测定,苏尼特羊脑粗脂肪中TC含量为(29.42 ± 0.92)mg/g,磷脂中PC和PS含量分别为(27.67 ± 1.19) μ g/g和(10.69 ± 1.19) μ g/g。

2.4 苏尼特羊脑磷脂的脂肪酸组成及含量

苏尼特羊脑磷脂中主要脂肪酸组成及含量如表3所示。

表3 苏尼特羊脑磷脂中主要脂肪酸组成及含量($n=10$)

Table 3 Composition and content of main fatty acids in Sunit sheep brain phospholipids ($n=10$)

脂肪酸	含量/%
十三烷酸(C13:0)	1.12 ± 0.77
棕榈酸(C16:0)	46.64 ± 9.14
硬脂酸(C18:0)	3.19 ± 2.78
反油酸(C18:1 ω 9)	0.61 ± 0.14
油酸(C18:1 ω 7)	20.45 ± 4.20
二十二碳二烯酸(C22:2)	6.82 ± 1.10
DHA(C22:6 n 3)	11.41 ± 1.83
SFA	50.95 ± 4.23
MUFA	21.06 ± 2.17
PUFA	18.23 ± 1.47

由表3可知,苏尼特羊脑磷脂中主要有7种脂肪酸,其中PUFA中DHA含量最高,为11.41%,超过甘油三酯中DHA含量(表2),说明苏尼特羊脑中DHA更多地分布在磷脂中。

2.5 苏尼特羊脑中PC和PS的总脂肪酸及sn-2位脂肪酸组成及含量

表4为苏尼特羊脑中PC和PS的总脂肪酸及sn-2位主要脂肪酸组成及含量。

由表4可知,就总脂肪酸而言,苏尼特羊脑PC的PUFA中,DHA含量最高,为5.82%,而苏尼特羊脑PS的PUFA中,DHA含量仅为1.32%,由此可以推断,在自然分布的羊脑中DHA更倾向于与PC结合。在特异性磷脂酶A₂(iPLA₂)的作用下,磷脂在细胞膜上水解释放游离DHA^[27]。在细胞内,DHA可以重新酯化为磷脂,并整合到细胞膜中,从而影响细胞膜的物理特性和功能,包括增加膜的流动性和通透性,促进囊泡的形成和膜的膨胀^[28-31]。DHA通过调节神经发生^[32]、影响神经传递^[33]和促进突触活动^[34]来影响脑功能,这些作用对于细胞信号传递,特别是脑突触的发育和功能至关重要。Lagarde等^[35]的研究指出,血液中的DHA主要结合于溶血卵磷脂(lysoPC),以DHA-lysoPC的形式优先通过BBB并沉积在大脑中,DHA结合PC有利于提高其在大脑的生物利用度,故其吸收效率更高。因此,天然羊脑DHA-PL中结合于PC的DHA含量最高即为自然选择的结果。

由表4还可知,与PC总脂肪酸组成相比,sn-2位脂肪酸组成中C14:0、C16:1、C20:1、C20:4和

DHA 含量发生显著变化($p < 0.05$),其中,C16:1 和 DHA 含量显著增加($p < 0.05$),C14:0、C20:1 和 C20:4 含量显著下降($p < 0.05$)。结果说明,PC 中的 DHA 主要结合在 sn-2 位,与王琦^[36]的研究结果相似。苏尼特羊脑 PS 中 sn-2 位 DHA 含量显著高于其在总脂肪酸中的含量($p < 0.05$),说明 DHA 优先占据 PS 的 sn-2 位。另外,PC 和 PS 中 sn-2 位不饱和脂肪酸含量高于其在总脂肪酸中的含量,说明不饱和脂肪酸易分布在 sn-2 位。膳食中的

sn-2 位 DHA-PC 基于磷脂酶 A₂ 的去酰化/再酰化循环,通过高密度脂蛋白与 BBB 中的脑毛细血管内皮细胞结合,将 DHA 输送到大脑,在这一过程中,sn-2 位 DHA 裂解 LysoPC 优先被大脑吸收^[37]。虽然有项研究表明,在 PC 的 sn-1 位存在的 DHA 是被大脑更有效吸收的 DHA 来源^[38],但更多的研究表明 sn-2 位大多为不饱和脂肪酸且易于被人体消化吸收^[39-41]。

表 4 PC 和 PS 的总脂肪酸及 sn-2 位主要脂肪酸组成及含量($n = 10$)

Table 4 Composition and content of total fatty acids and main fatty acids at sn-2 position in PC and PS($n = 10$) %

脂肪酸	PC		PS	
	总脂肪酸	sn-2 位	总脂肪酸	sn-2 位
肉豆蔻酸 (C14:0)	1.93 ± 0.40	1.00 ± 0.37*	1.72 ± 0.35	1.70 ± 0.25
棕榈酸 (C16:0)	28.82 ± 1.10	25.08 ± 4.21	50.15 ± 3.86	47.03 ± 3.66
十七烷酸 (C17:0)	4.11 ± 0.37	4.09 ± 1.56	1.17 ± 0.10	1.56 ± 0.34
硬脂酸 (C18:0)	25.84 ± 1.90	26.33 ± 2.14	15.83 ± 0.85	16.34 ± 1.30
棕榈油酸 (C16:1)	0.34 ± 0.14	1.86 ± 0.90*	-	-
油酸 (C18:1n9)	20.61 ± 2.77	20.51 ± 3.20	23.47 ± 2.83	23.09 ± 1.14
二十碳一烯酸 (C20:1)	2.29 ± 0.26	0.99 ± 0.62*	0.99 ± 0.11	1.15 ± 0.16
亚油酸 (C18:2n6)	0.71 ± 0.29	0.45 ± 0.16	1.14 ± 1.87	0.72 ± 0.48
花生四烯酸 (C20:4n6)	4.06 ± 0.55	2.06 ± 0.74*	1.42 ± 0.52	2.18 ± 0.29
DHA (C22:6n3)	5.82 ± 0.88	8.06 ± 1.48*	1.32 ± 0.55	2.59 ± 0.76*
SFA	60.69 ± 1.12	56.49 ± 2.30	68.87 ± 1.29	66.63 ± 1.38
MUFA	23.25 ± 1.06	23.36 ± 2.88	24.46 ± 1.47	24.24 ± 0.65
PUFA	10.59 ± 0.60	10.57 ± 2.56	3.89 ± 1.19	5.49 ± 0.39

注: * 表示 sn-2 位与总脂肪酸相比差异显著($p < 0.05$); - 表示未检出

Note: *. Significant difference between sn-2 and total fatty acids ($p < 0.05$); -. Not detected

3 结论

以冻干苏尼特羊脑为原料,用体积比 2:1 的乙醇-正己烷萃取后经冰丙酮沉淀得到天然 DHA-PL,其脂肪酸组成中 DHA 占 11.41%;DHA-PL 再经硅胶柱层析法分别提取得到 DHA-PC 和 DHA-PS,磷脂中 PC 和 PS 含量分别达 27.67 $\mu\text{g/g}$ 和 10.69 $\mu\text{g/g}$,PC 和 PS 总脂肪酸组成中 DHA 的含量分别为 5.82% 和 1.32%,且提取的 DHA-PL 中 DHA 主要结合于 sn-2 位。本研究可为开发草原绿色羊脑中的天然 DHA-PL 作为新型功能性食品使用提供参考。

参考文献:

- [1] MORTADA I, FARAH R, NABHA S, et al. Immunotherapies for neurodegenerative diseases [J/OL]. Front Neurol, 2021, 12: 654739 [2024-04-07]. <https://doi.org/10.3389/fneur.2021.654739>.
- [2] MANLY J J, JONES R N, LANGA K M, et al. Estimating the prevalence of dementia and mild cognitive impairment in the US: The 2016 health and retirement study

- harmonized cognitive assessment protocol project [J]. JAMA Neurol, 2022, 79(12): 1242-1249.
- [3] REUBEN D B, KREMEN S, MAUST D T. Dementia prevention and treatment: A narrative review [J]. JAMA Intern Med, 2024, 184(5): 563-572.
- [4] 2021 Alzheimer's disease facts and figures [J]. Alzheimers Dement, 2021, 17(3): 327-406.
- [5] PRINCE M, ALI G C, GUERCHET M, et al. Recent global trends in the prevalence and incidence of dementia, and survival with dementia [J/OL]. Alzheimers Res Ther, 2016, 8(1): 23 [2024-04-07]. <https://doi.org/10.1186/s13195-016-0188-8>.
- [6] World Health Organization Dementia [EB/OL]. [2024-04-07]. <http://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/dementia>.
- [7] XIAO M, XIANG W, CHEN Y, et al. DHA ameliorates cognitive ability, reduces amyloid deposition, and nerve fiber production in Alzheimer's disease [J/OL]. Front Nutr, 2022, 9: 852433 [2024-04-07]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.852433>.

- [8] CHOUINARD – WATKINS R, LACOMBE R J S, METHEREL A H, et al. DHA esterified to phosphatidylserine or phosphatidylcholine is more efficient at targeting the brain than DHA esterified to triacylglycerol [J/OL]. *Mol Nutr Food Res*, 2019, 63(9): e1801224 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801224>.
- [9] HACHEM M, NACIR H, PICQ M, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) bioavailability in humans after oral intake of DHA – containing triacylglycerol or the structured phospholipid AceDoPC[®] [J/OL]. *Nutrients*, 2020, 12(1): E251 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.3390/nu12010251>.
- [10] AHMMED M K, AHMMED F, TIAN H S, et al. Marine *omega* – 3 (*n* – 3) phospholipids: A comprehensive review of their properties, sources, bioavailability, and relation to brain health [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19(1): 64 – 123.
- [11] AHN S H, LIM S J, RYU Y M, et al. Absorption rate of krill oil and fish oil in blood and brain of rats [J/OL]. *Lipids Health Dis*, 2018, 17(1): 162 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0812-7>.
- [12] CARDOSO C, AFONSO C, BANDARRA N M. Dietary DHA and health: Cognitive function ageing [J]. *Nutr Res Rev*, 2016, 29(2): 281 – 294.
- [13] LIU L, BARTKE N, VAN DAELE H, et al. Higher efficacy of dietary DHA provided as a phospholipid than as a triglyceride for brain DHA accretion in neonatal piglets [J]. *J Lipid Res*, 2014, 55(3): 531 – 539.
- [14] ROSSMEISL M, JILKOVA Z M, KUDA O, et al. Metabolic effects of *n* – 3 PUFA as phospholipids are superior to triglycerides in mice fed a high – fat diet: Possible role of endocannabinoids [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38834 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038834>.
- [15] XIE D, JIN J, SUN J, et al. Comparison of solvents for extraction of krill oil from krill meal: Lipid yield, phospholipids content, fatty acids composition and minor components [J]. *Food Chem*, 2017, 233: 434 – 441.
- [16] NIELSEN N S, LU H F S, BRUHEIM I, et al. Quality changes of Antarctic krill powder during long term storage [J/OL]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2017, 119: 1600085 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600085>.
- [17] CUTULI D, LANDOLFO E, DECANDIA D, et al. Neuroprotective role of dietary supplementation with *omega* – 3 fatty acids in the presence of basal forebrain cholinergic neurons degeneration in aged mice [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5): 1741 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.3390/ijms21051741>.
- [18] TAHA A Y, CHEON Y, MA K, et al. Altered fatty acid concentrations in prefrontal cortex of schizophrenic patients [J]. *J Psychiatr Res*, 2013, 47(5): 636 – 643.
- [19] MENG J, ZHOU M, WANG C, et al. Comparative analyses of DHA – phosphatidylcholine forage and liposomes on Alzheimer's disease in SAMP8 mice [J/OL]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2019, 121: 1800524 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800524>.
- [20] ZHANG Y, WU G, ZHANG Y, et al. Advances in exogenous docosahexaenoic acid – containing phospholipids: Sources, positional isomerism, biological activities, and advantages [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19(4): 1420 – 1448.
- [21] WANG C, WANG D, XU J, et al. DHA enriched phospholipids with different polar groups (PC and PS) had different improvements on MPTP – induced mice with Parkinson's disease [J]. *J Funct Foods*, 2018, 45: 417 – 426.
- [22] 赵肯堂. 内蒙古药用动物 [M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 1981.
- [23] 日比野英彦, 福田信雄, 仲地理, 等. ドコサヘキサエン酸含有ホスファチジルコリンの製造方法: 第 2717517 号 [P]. 1997 – 11 – 14.
- [24] 简路洋, 王晗, 梁帅, 等. 氢化大豆油对小鼠肝脏和血液反式脂肪酸含量及脂代谢的影响 [J]. *大连工业大学学报*, 2019, 38(1): 29 – 31.
- [25] 关明, 李燕, 赵淑贤. 紫外分光光度法测定卵磷脂胶囊中的磷脂酰胆碱 [J]. *中国酿造*, 2008, 27(12): 95 – 96.
- [26] 刘国生, 廖国玲. RP – HPLC 法测定糖尿病患者红细胞膜磷脂酰丝氨酸含量 [J]. *中外医学研究*, 2011, 9(4): 42 – 43.
- [27] CAO H T, LI M Y, LI G Y, et al. Retinoid X receptor α regulates DHA – dependent spinogenesis and functional synapse formation *in vivo* [J/OL]. *Cell Press*, 2020, 31(7): 107649 [2024 – 04 – 07]. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107649>.
- [28] DARIOS F, DAVLETOV B. *Omega* – 3 and *omega* – 6 fatty acids stimulate cell membrane expansion by acting on syntaxin 3 [J]. *Nature*, 2006, 440(7085): 813 – 817.
- [29] STILLWELL W, WASSALL S R. Docosahexaenoic acid: Membrane properties of a unique fatty acid [J]. *Chem Phys Lipids*, 2003, 126: 1 – 27.
- [30] UAUY R, MENA P, ROJAS C. Essential fatty acids in early life: Structural and functional role [J]. *Proc Nutr Soc*, 2000, 59(1): 3 – 15.

- mesenchymal stem/progenitor cells to hyperlipidemia [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75(22): 4079–4091.
- [5] BEDOGNI G, GASTALDELLI A, FOSCHI F G. Fatty liver, cardiometabolic disease and mortality [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2020, 31(1): 27–31.
- [6] BEVERLY J K, BUDOFF M J. Atherosclerosis: Pathophysiology of insulin resistance, hyperglycemia, hyperlipidemia, and inflammation [J]. *J Diabetes*, 2020, 12(2): 102–104.
- [7] ELAGIZI A, LAVIE C J, O'KEEFE E, et al. An update on ω -3 polyunsaturated fatty acids and cardiovascular health[J/OL]. *Nutrients*, 2021, 13(1): 204 [2023–12–16]. <https://doi.org/10.3390/nu13010204>.
- [8] 杨敏, 魏冰, 孟橘, 等. ω -3 多不饱和脂肪酸的来源及生理功能研究进展[J]. *中国油脂*, 2019, 44(10): 110–115.
- [9] 许春芳, 董喆, 郑明明, 等. 不同产地的紫苏籽油活性成分检测与主成分分析 [J]. *中国油料作物学报*, 2019, 41(2): 275–282.
- [10] FADWA E O, AMSSAYEF A, EDDOUKS M. Antihyperglycemic and antidyslipidemic activities of the aqueous *Salvia hispanica* extract in diabetic rat [J]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, 2022, 20(1): 60–66.
- [11] CHEN X, RAN J, MAZHAR M, et al. The balanced unsaturated fatty acid supplement constituted by woody edible oils improved lipid metabolism and gut microbiota in high-fat diet mice[J/OL]. *Front Nutr*, 2023, 10: 1203932 [2023–12–16]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1203932>.
- [12] YANG L G, SONG Z X, YIN H, et al. Low n -6/ n -3 PUFA ratio improves lipid metabolism, inflammation, oxidative stress and endothelial function in rats using plant oils as n -3 fatty acid source[J]. *Lipids*, 2016, 51(1): 49–59.
- [13] ALI A H, ZOU X, ABED S M, et al. Natural phospholipids: Occurrence, biosynthesis, separation, identification, and beneficial health aspects [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2019, 59(2): 253–275.
- [14] YIN M, MATSUOKA R, XI Y, et al. Comparison of egg yolk and soybean phospholipids on hepatic fatty acid profile and liver protection in rats fed a high-fructose diet [J/OL]. *Foods*, 2021, 10(7): 1569 [2023–12–16]. <https://doi.org/10.3390/foods10071569>.
- [15] NGO NJEMBE M T, DEJONGHE L, VERSTRAELEN E, et al. The egg yolk content in ω -3 and conjugated fatty acids can be sustainably increased upon long-term feeding of laying hens with a diet containing flaxseeds and pomegranate seed oil [J/OL]. *Foods*, 2021, 10(5): 1134 [2023–12–16]. <https://doi.org/10.3390/foods10051134>.
- [16] 尹明雨, 刘启军, 张宗毅, 等. 蛋黄磷脂与大豆磷脂调节失血应激性糖脂紊乱作用比较[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(23): 35–40.
- [17] 王国财, 袁诚, 唐顺之, 等. 蛋黄卵磷脂中两种溶血磷脂的分离与结构鉴定[J]. *中国油脂*, 2019, 44(3): 158–160.
- [18] 申思洋, 裴建峰, 柴逸飞, 等. 红花籽油和紫苏籽油不同配比降血脂作用研究[J]. *中国油脂*, 2020, 45(2): 106–110.
- [19] 余德林, 马超英, 宋磊, 等. 紫苏籽油与红花籽油联合使用降血脂研究[J]. *中国油脂*, 2014, 39(12): 35–38.
- (上接第 39 页)
- [31] JANSSEN C I, ZERBI V, MUTSAERS M P, et al. Impact of dietary n -3 polyunsaturated fatty acids on cognition, motor skills and hippocampal neurogenesis in developing C57BL/6J mice[J]. *J Nutr Biochem*, 2015, 26(1): 24–35.
- [32] KODAS E, GALINEAU L, BODARD S, et al. Serotonergic neurotransmission is affected by n -3 polyunsaturated fatty acids in the rat [J]. *J Neurochem*, 2004, 89(3): 695–702.
- [33] CAO D, KEVALA K, KIM J, et al. Docosahexaenoic acid promotes hippocampal neuronal development and synaptic function[J]. *J Neurochem*, 2009, 111(2): 510–521.
- [34] LAURITZEN L, BRAMBILLA P, MAZZOCCHI A, et al. DHA effects in brain development and function[J/OL]. *Nutrients*, 2016, 8(1): E6 [2024–04–07]. <https://doi.org/10.3390/nu8010006>.
- [35] LAGARDE M, BERNOUD N, BROSSARD N, et al. Lysophosphatidylcholine as a preferred carrier form of docosahexaenoic acid to the brain [J]. *J Mol Neurosci*, 2001, 16(2): 201–204.
- [36] 王琦. 海产动物来源 n -3 PUFA 磷脂的提取及生物活性研究[D]. 山东青岛: 中国海洋大学, 2008.
- [37] CHEN S, SUBBAIAH P V. Phospholipid and fatty acid specificity of endothelial lipase: Potential role of the enzyme in the delivery of docosahexaenoic acid (DHA) to tissues[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1771(10): 1319–1328.
- [38] CHEN S, SUBBAIAH P V. Regioisomers of phosphatidylcholine containing DHA and their potential to deliver DHA to the brain: Role of phospholipase specificities[J]. *Lipids*, 2013, 48(7): 675–686.
- [39] 许铁军, 陈超, 李晓东. 婴幼儿配方奶粉脂肪酸母乳化调制的研究现状[J]. *中国乳业*, 2009(4): 37–39.
- [40] 冯纳, 钟海雁, 周波, 等. 不同物种茶油脂肪酸组成及其在 Sn-2 位上的分布[J]. *食品与机械*, 2016, 32(3): 20–23.
- [41] LING P R, ISTFAN N W, LOPES S M, et al. Structured lipid made from fish oil and medium-chain triglycerides alters tumor and host metabolism in Yoshida-sarcoma-bearing rats [J]. *Am J Clin Nutr*, 1991, 53(5): 1177–1184.