牦牛酥油中鞘磷脂的提取及其脂肪酸组成分析

罗鑫[1]，孙万成[1]，罗毅皓[1]，马海青[2]，洪森森[1]
（1.青海大学农牧学院，青海西宁 810016）（2.青海省祁连县畜牧兽医站，青海祁连 810499）

摘要：本研究以牦牛酥油为原料，利用有机溶剂对牦牛酥油中鞘磷脂提取工艺进行探索和优化，并分析鞘磷脂的脂肪酸组成。通过单因素试验与正交试验优化获得鞘磷脂的最佳提取条件为：氯仿甲醇（2:1，*V/V*）与粗鞘磷脂的液料比为 10:1 mL/g、浸提温度为 40 ℃浸提时间为 1 h。以提取到的鞘磷脂为原料，采用三氟化硼-甲醇对获得的脂肪酸进行甲酯化处理，用气相色谱串联质谱法（Gas Chromatography-Mass Spectrometer，GC-MS）检测分析鞘磷脂的脂肪酸组成。结果表明，鞘磷脂中含有 82.79%饱和脂肪酸、75.70%长链脂肪酸，经过提纯后，鞘磷脂中的多不饱和脂肪酸的含量由原来粗鞘磷脂中的 7.98%降低为 2.83%，长链脂肪酸含量由 85.04%降为了 75.70%，超长链脂肪酸由 9.57%增加到 23.15%，支链脂肪酸由原来的 10.43%降为了 8.69%，说明鞘磷脂主要由长链脂肪酸和饱和脂肪酸组成。

关键词：牦牛酥油；鞘磷脂；脂肪酸；有机溶剂提取
文章篇号：1673-9078(2020)03-72-79 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.3.010

Extraction of Sphingomyelin from Yak Butter and Analysis of Fatty Acids Composition

LUO Xin[1], SUN Wan-cheng[1], LUO Yi-hao[1], MA Hai-qing[2], HONG Sen-sen[1]
(1.College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China)
(2.Station of Husbandry and Veterinary of Qilian, Qilian 810499, China)

Abstract: This study used yak butter as raw material to explore and optimize the extraction process of sphingomyelin from yak butter in organic solvent, and the fatty acid composition of sphingomyelin was analyzed. The optimum extraction conditions of sphingomyelin were obtained by single factor test and orthogonal test as follows: chloroform-methanol (2:1, *V/V*) and crude sphingomyelin: liquid-solid ratio 10:1 ml/g, extraction temperature 40 ℃ and extraction time 1 h. The extracted sphingomyelin was used as the raw material and the fatty acids were esterified by boron trifluoride methanol method, and analyzed by GC-MS. The results showed that sphingomyelin contained 82.79% of saturated fatty acid and 75.70% of long chain fatty acid, and the content of polyunsaturated fatty acid in sphingomyelin decreased from 7.98% to 2.83% after purification, the content of long chain fatty acid decreased from 85.04% to 75.70%, the content of super long chain fatty acid increased from 9.57% to 23.15%, and the content of branched chain fatty acid decreased from 10.43% to 8.69%, indicating that sphingomyelin is mainly composed by long chain fatty acid and saturated fatty acid.

Key words: yak butter; sphingomyelin; fatty acid; organic solvent extraction
引文格式：
罗鑫,孙万成,罗毅皓,等.牦牛酥油中鞘磷脂的提取及其脂肪酸组成分析[J].现代食品科技,2020,36(3):72-79
LUO Xin, SUN Wan-cheng, LUO Yi-hao, et al. Extraction of sphingomyelin from yak butter and analysis of fatty acids composition [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(3): 72-79

牦牛酥油是似黄油的一种乳制品，是从牦牛奶中提炼出的脂肪。产于夏秋季的牦牛酥油，色泽鲜黄，味道香甜，口感极佳，冬季的则呈淡黄色。酥油含多种维生素，与普通奶油相比营养价值颇高，其硬质酸钠更高、棕榈酸低、反式油酸和共轭亚油酸分别是普通奶油的将近八倍和两倍[1]。

鞘磷脂（sphingomyelin，SM）是含鞘氨醇或二氢鞘氨醇的磷脂，其分子不含甘油，是一分子脂肪酸以酰胺键与鞘氨醇的氨基相连形成的，是细胞膜的重要组成成分[2]。大多数食物中都含 SM，不同食物中 SM 的含量不同，在某些果蔬中 SM 含量不到 100 μmol/kg，而在鸡蛋、奶制品和大豆类食物中高达 2000 μmol/kg

收稿日期：2019-09-24
基金项目：青海省科技厅项目（2018-ZJ-728；2017-ZJ-711）
作者简介：罗鑫(1995-)，女，硕士研究生，研究方向：食品加工与安全
通讯作者：罗毅皓(1976-)，女，副教授，研究方向：功能食品

以上[3]。近年来有研究表明，SM 与多种疾病的发生和治疗有密切关系[4]。一些小鼠试验发现，SM 可通过调节结肠癌发生早期表达的蛋白质抑制小鼠结肠癌[5,6]细胞增殖。其潜在的抑癌作用，与两大代谢产物神经酰胺和鞘氨醇有关，二者具有调节细胞生长、分化、凋亡等作用。如果其抑癌机制能进一步证实，将有利于通过调整饮食或利用人工合成开发出有效的癌抑制剂进行预防。因此，SM 与人类健康之间的关系已成为当前研究的热点[7]。

国内外对 SM 的提取、鉴定及在人体内的生物功能等方面开展了研究，国内赵雨[8]，刘仁萍[9]等发现 SM 是人体内含量较高的磷脂，是生物膜脂的重要组成部分；阿曼古丽[10]利用高效液相色谱法对三种鸡皮中的 SM 进行了更深入的分析；依帕尔古丽[11]的研究表明，SM 能降低高脂血症小鼠的血脂水平；刘仁萍[12]利用高效液相色谱蒸发光散射检测法对魔芋中的 SM 进行了分析，发现魔芋飞粉中 SM 的含量最高。国外 Hannunm[13]发现 SM 主要存在于细胞膜外层、神经髓鞘及其他富含脂类的结构上，且 SM 具有明显的调节脂类分子的物理状态及抑癌等作用；Vesper[2]测定了食物中 SM 的含量；Keita[14]利用化学试剂法从鸡皮中提取了 SM；Dillehay[15]通过小鼠试验发现，天然存在的和合成的 SM 均可抑制二甲肼诱导的小鼠结肠肿瘤；Exon [16]等最近发现，SM 能降低小鼠异常结肠隐窝数量，抑制结肠隐窝癌细胞增殖，且对小鼠免疫功能无影响；Kim[17]发现从枸杞中分离的 SM 水解后具有抗肝毒作用。

但目前对从食物中提取 SM 的研究仍处于初级阶段，用有机溶剂法提取 SM 的研究还较少。本研究的目的是利用有机溶剂法提取牦牛酥油中的 SM，再进行 GC/MS 分析，得到 SM 的脂肪酸组成，为今后的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

牦牛黄酥油，青海祁连；甲醇，天津市富宇精细化工有限公司；三氯甲烷，北京化工厂；正己烷，天津市富宇精细化工有限公司；丙酮，天津市富宇精细化工有限公司；乙醚，天津市富宇精细化工有限公司；氮气，灌装；饱和生理盐水，自配；无水硫酸钠，天津市河东区红岩试剂厂；氢氧化钾，天津市河东区红岩试剂厂。

1.2 主要仪器

ESJ110-4B 电子天平，沈阳龙腾电子有限公司；XMTD-4000 电热恒温水槽，上海比朗仪器有限公司；THZ-32 恒温振荡器，常州国华电器有限公司；TTL-DC 型氮吹仪，北京同泰联科技发展有限公司；RE-2000B 旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂；TGL20MW 台式大容量高速冷冻离心机，湖南赫西仪器装备有限公司；MVS-1 漩涡混合器，北京京晶科技有限公司；TSQTM9000 气质联用仪，赛默飞世尔科技。

1.3 方法

1.3.1 鞘磷脂的提取与纯化

（1）磷脂的提取：取酥油适量，放入锥形瓶中，在 45 ℃，恒温振荡 30 min。待酥油融化后，加入正己烷，于 45 ℃恒温振荡 1 h，然后取正己烷层，用旋转蒸发仪（50 ℃进行旋蒸。旋蒸后得到的油状液体，加入丙酮，放入 4 ℃冰箱静置一夜，以使磷脂沉淀。再进行减压抽滤，得到的磷脂于 35 ℃真空干燥 1 h，得到不溶于丙酮的粉末状磷脂类化合物。

（2）粗鞘磷脂的提取：将干燥的磷脂类化合物[18]取适量放入锥形瓶中，加入料液比为 1:10 的乙醚，在 30 ℃静置浸提 25 min，3500 r/min 离心 10 min，过滤得到粗鞘磷脂。磷脂中的甘油磷脂质溶于乙醚，鞘磷脂不溶于乙醚。

（3）鞘磷脂的纯化：将干燥的粗鞘磷脂放入锥形瓶中，加入氯仿:甲醇（2:1, *V/V*），在一定温度下静置一段时间，过滤后得到滤液，滤液用旋转蒸发仪浓缩至干燥，干燥的固体物为纯化的鞘磷脂。

鞘磷脂的得率计算按公式（1）计算。

$$得率(\%)=m/M\times100\% \quad (1)$$

式中：m-鞘磷脂的重量，g；M-酥油的重量，g。

1.3.2 GC-MS 前处理-甲酯化

（1）游离脂肪酸制备：取 0.5 g 的样品于玻璃试管中，加入 10 mL 甲醇和 1 g 氢氧化钾，封住试管口，65 ℃恒温振荡 2 h。

（2）酸化：冷却后，加入浓盐酸酸化至 pH 为 2~3。

（3）萃取：加入 10 mL 正己烷，摇晃后，静置 10 min 分层，取正己烷层于另一干燥试管中。

（4）干燥：用氮气干燥正己烷，获得干燥的游离脂肪酸。

（5）甲酯化：取干燥后的脂肪酸加入 1 mL 质量分数为 15%的 BF_3，封住试管口，90 ℃水浴 2 h。

（6）萃取及破乳：冷却后加入 2 mL 正己烷于离心管中，振荡，加入 2 mL 饱和 NaCl 溶液，封口振摇，3500 r/min 离心 2 min，取正己烷层于另一只离心管中。

（7）干燥：加 1 g 无水硫酸钠除湿，振摇，3500 r/min 离心 2 min，取正己烷层于另一干燥试管中，氮气干燥至 1 mL 不到。

（8）用 1 mL 正己烷溶解 2 次，将管壁上的脂肪清洗收集装入棕色小瓶以备 GC-MS 分析。

1.3.3 GC- MS 分析

气相色谱-质谱分析：柱子型号 DB-5MS 60 m×0.25 mm×0.25 μm 广州费尼根仪器有限公司；色谱柱：柱子型号为 ZB-5MS 60 m×0.25 mm×0.25 μm。起始温度 60 ℃保持 1 min，以 10 ℃/min 升至 180 ℃，再以 4 ℃/min 升至 280 ℃保持 20 min；再以 20 ℃/min 升至 300 ℃保持 2 min。进样孔温度为 280 ℃载气：高纯 He(99.999%)，流速为 1 mL/min。连接杆温度为 285 ℃离子源温度为 250 ℃溶剂延迟时间 7 min。质量扫描范围：40~550 u。

用化学工作站数据处理系统检索谱图库，进行谱图解析，确认各个脂肪酸的化学结构。通过峰面积归一化法计算各脂肪酸的相对含量。

1.3.4 单因素试验

本研究选择以氯仿甲醇与粗鞘磷脂的液料比、浸提温度、浸提时间作为单因素进行试验，并计算鞘磷脂的得率确定最优提取工艺。单因素试验设计如下：

氯仿甲醇与粗鞘磷脂的液料比：称取适量粗鞘磷脂，在浸提温度为 30 ℃浸提时间为 1 h 的条件下，考察液料比(6:1、8:1、10:1、12:1)对牦牛酥油鞘磷脂提取效果的影响。

浸提温度：称取适量粗鞘磷脂，在氯仿甲醇与粗鞘磷脂之比为 10:1，浸提时间为 1 h 的条件下，考察浸提温度(25 ℃30 ℃35 ℃40 ℃)对牦牛酥油鞘磷脂提取效果的影响。

浸提时间：称取适量粗鞘磷脂，在氯仿甲醇与粗鞘磷脂之比为 10:1，浸提温度为 30 ℃条件下，考察浸提时间(0.5 h、1 h、1.5 h、2 h)对牦牛酥油鞘磷脂提取效果的影响。

1.3.5 正交试验

在单因素试验的基础上，为综合考虑各因素对鞘磷脂提取效果的影响，以氯仿甲醇与粗鞘磷脂的液料比、浸提温度、浸提时间为因素进行正交试验，即构建三因素三水平的正交试验表 $L_9(3^4)$确定鞘磷脂提取的最佳方案。

1.3.6 数据处理

利用 SPSS 16.0 软件进行单因素方差分析，采用 *F* 检验，显著性水平在 $p<0.05$ 条件下进行分析，用不同字母代表差异显著。计量数据用平均值±标准差的形式表示。

2 结果与分析

2.1 单因素试验分析

2.1.1 氯仿甲醇与粗鞘磷脂液料比对牦牛酥油鞘磷脂提取效果的影响

氯仿甲醇与粗鞘磷脂液料比对牦牛酥油中鞘磷脂得率的影响如图 1 所示。

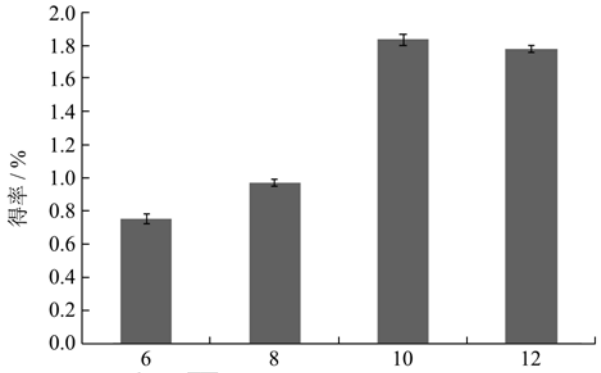


图 1 氯仿甲醇与粗鞘磷脂液料比（mL/g）对牦牛酥油中鞘磷脂得率的影响

Fig.1 Effect of chloroform-methanol ratio on the yield rate of sphingomyelin in yak butter

由图 1 可知，随着氯仿甲醇与粗鞘磷脂的液料比的增加，鞘磷脂的得率也显著增大。当液料比增加到 10:1 时，得率出现最大值 1.83%，继续增加液料比，得率增加不显著。因此，考虑到生产成本等因素，选择液料比为 10:1。

2.1.2 浸提温度对牦牛酥油鞘磷脂提取效果的影响

浸提温度对牦牛酥油中鞘磷脂得率的影响如图 2 所示。

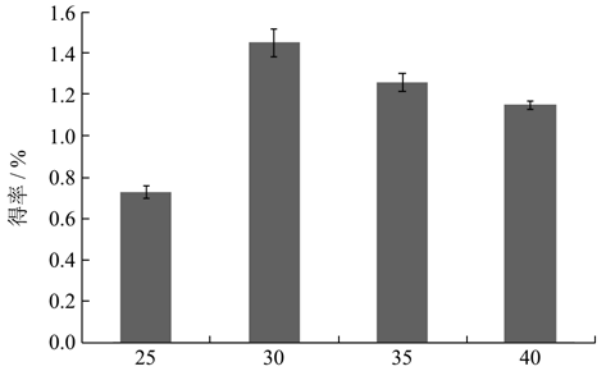


图 2 浸提温度（℃）对牦牛酥油中鞘磷脂得率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on sphingomyelin yield rate from yak butter

由图 2 可知，鞘磷脂的得率随着浸提温度的升高而增加，浸提温度升高到 30 ℃时得率出现最大值 1.45%。当浸提温度超过 30 ℃后得率开始降低，由

于磷脂类化合物属于热敏性物质，温度过高易氧化分解，所以选择浸提温度为 30 ℃

2.1.3 浸提时间对牦牛酥油鞘磷脂提取效果的影响

浸提时间对牦牛酥油中鞘磷脂得率的影响如图 3 所示。

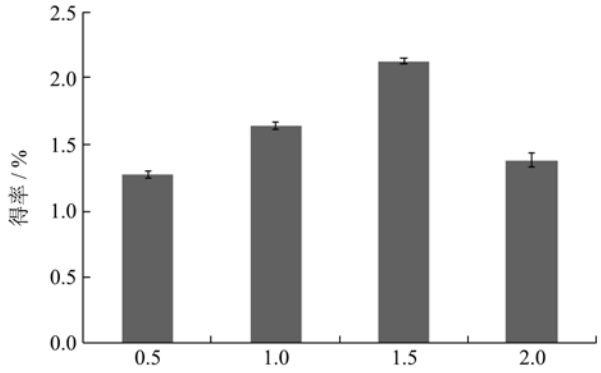


图 3 浸提时间（h）对牦牛酥油中鞘磷脂得率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on the yield rate of sphingomyelin in yak butter

由图 3 可知，在提取时间低于 1.5 h 时，鞘磷脂的得率随着浸提时间的延长而提高，当提取时间为 1.5 h 时，得率出现最大值 2.15%，提取时间超过 1.5 h 时，得率开始降低。结合提取效果且为了节省工艺时间，提取时间定为 1.5 h。

综合上述单因素试验，当氯仿甲醇与粗鞘磷脂的液料比为 10:1；浸提温度为 30 ℃浸提时间为 1.5 h 时，牦牛酥油中鞘磷脂的得率最高，达 2.63%。目前研究学者常采用的鞘磷脂提取方法包括硅胶柱层析法、有机溶剂提取法和高效液相色谱法，这三种方法都可以较大程度地分离出脂肪中的鞘磷脂，但阿曼古丽[10]的研究中指出有机溶剂法提取的鞘磷脂含量高于其他方法所提取的鞘磷脂，因此本试验选用有机溶剂提取鞘磷脂。

2.2 正交试验分析

在单因素试验的基础上，为综合考虑各因素对牦牛酥油中鞘磷脂提取效果的影响，确定最佳的提取工艺条件，选取氯仿甲醇与粗鞘磷脂的液料比、浸提温度、浸提时间，设计正交试验，正交试验因素水平表见表 1，正交试验极差分析表见表 2，正交试验中各检测指标方差分析表见表 3。

表 1 正交试验因素水平表 $L_9(3^4)$

Table 1 Factor level table of orthogonal test $L_9(3^4)$

	因素			
水平	液料比 A/(mL/g)	浸提温度 B/℃	浸提时间 C/h	空列 D
1	8	30	1	0
2	10	35	1.5	0
3	12	40	2	0

表 2 正交试验极差分析表

Table 2 Results of orthogonal experiment and range analysis

试验号	A 液料比/(mL/g)	B 浸提温度/℃	C 浸提时间/h	空列 D	SM 得率/%
1	1	1	1	0	1.85
2	1	2	2	0	1.25
3	1	3	3	0	2.56
4	2	1	2	0	2.63
5	2	2	3	0	1.07
6	2	3	1	0	4.31
7	3	1	3	0	3.65
8	3	2	1	0	1.46
9	3	3	2	0	3.27
K_1	1.89	2.71	2.54		
K_2	2.67	1.26	2.39		
K_3	2.46	3.38	2.43		
R_1	0.78	2.12	0.15		

采用直观分析法对正交试验结果进行分析，分析结果如表 2 所示。

从表 2 极差(R)分析结果可以看出，各因素对牦牛酥油中鞘磷脂的提取效果影响的大小次序为：RB>RA>RC，即浸提温度对牦牛酥油中鞘磷脂的提取效果影响最大，其次是液料比和浸提时间。鞘磷脂的最优提取工艺组合为 $A_2B_3C_1$，即氯仿甲醇与粗鞘磷脂液料比为 10:1，浸提温度为 40 ℃浸提时间为 1 h，该条件下，鞘磷脂的得率高达 4.31%。

F 检验结果表明，氯仿甲醇与粗鞘磷脂液料比、

浸提温度和浸提时间对牦牛酥油中鞘磷脂得率的影响　　有显著性差异（p<0.05）。

表 3 鞘磷脂得率方差分析表

Table 3 Variance analysis of sphingomyelin extraction rate

变异来源	离均差平方和	自由度	均方	*F*	*p* 值
模型	64.26	7	9.18	273.06	0.004*
液料比/(mL/g)（A）	1.45	2	0.73	10.08	0.044*
浸提温度/℃（B）	4.25	2	2.13	26.03	0.016*
浸提时间/h（C）	1.74	2	0.87	21.65	0.037*
误差	0.07	2	0.04		
总变异	64.33	9			

注：*：p< 0.05，表示差异显著。

表 4 不同样品中脂肪酸含量(%)（Mean±SD）

Table 4 The content of fatty acids in different samples

脂肪酸	酥油磷脂	粗鞘磷脂	纯化鞘磷脂
C8:0	0.04±0.00	0.00±0.00	0.02±0.00
C10:0	0.38±0.04	1.43±0.13	0.20±0.02
C12:0	1.02±0.10	2.97±0.23	0.93±0.09
C13:0	0.05±0.01	0.13±0.01	0.06±0.01
Iso C14:0	0.10±0.01	0.44±0.04	0.11±0.01
C14:1n5	0.02±0.00	0.30±0.03	0.04±0.00
C14:0	9.44±0.96	8.81±0.86	7.34±0.75
Iso C15:0	0.37±0.04	1.07±0.11	0.53±0.06
Anteiso C15:0	0.34±0.04	1.79±0.18	0.49±0.05
C15:0	3.46±0.35	3.25±0.33	3.95±0.41
Iso C16:0	0.18±0.02	0.94±0.09	0.76±0.08
C16:1n-7	0.07±0.01	1.86±0.19	0.68±0.07
C16:0	38.58±4.01	17.59±1.89	19.60±2.16
Iso C17:0	1.45±0.17	2.47±0.25	3.33±0.04
Anteiso C17:0	0.81±0.09	2.71±0.27	2.39±0.02
C17:1	0.00±0.00	1.27±0.13	0.21±0.02
C17:0	3.35±0.34	3.87±0.40	6.34±0.70
3,7,11,15-tetramethylhexadecanoic acid	0.00±0.00	1.03±0.10	1.09±0.11
C18:2n6	0.48±0.03	3.01±0.30	1.71±0.18
C18:1n9	2.03±0.20	9.79±1.00	7.32±0.74
反 C18:1n9	0.08±0.01	4.92±0.50	6.89±0.70
C18:0	27.49±2.76	16.59±1.67	12.02±1.21
CLA	0.26±0.03	4.23±0.44	0.85±0.09
C19:1	0.21±0.02	1.02±0.11	0.42±0.04
C19:0	0.69±0.07	1.20±0.12	3.38±0.34
C20:1n9	0.00±0.00	0.13±0.01	0.88±0.09
C20:0	3.75±0.40	2.90±0.30	6.67±0.77
C21:0	0.87±0.09	0.50±0.06	2.51±0.23
C22:6n3	0.00±0.00	0.17±0.02	0.07±0.01
C22:5n3	0.00±0.00	0.58±0.06	0.20±0.02

转下页

接上页

C22:1n9	0.00±0.00	0.27±0.03	0.10±0.01
C22:0	2.07±0.24	1.18±0.13	3.94±0.41
C23:0	0.96±0.08	0.67±0.08	2.06±0.22
C24:1n9	0.06±0.01	0.06±0.01	0.16±0.02
C24:0	0.93±0.09	0.55±0.06	1.90±0.21
C25:0	0.11±0.01	0.08±0.01	0.28±0.03
C26:0	0.39±0.04	0.28±0.02	0.59±0.05
BCFA*	3.24±0.31^{a}	10.43±1.05^{b}	8.69±0.88^{c}
SFA*	97.04±9.72^{a}	82.49±8.26^{b}	82.79±8.28^{b}
PUFA**	0.71±0.07^{a}	7.98±0.80^{b}	2.83±0.20^{c}
MUFA*	2.25±0.22^{a}	9.53±0.93^{b}	9.33±0.83^{b}
LCFA*	88.51±8.83^{a}	86.04±8.60^{a}	75.70±7.41^{b}
VLCFA**	10.05±0.10^{a}	9.57±0.90^{a}	23.15±2.29^{b}

注：BCFA(支链脂肪酸)、SFA（饱和脂肪酸）、PUFA（多不饱和脂肪酸）、MUFA（单不饱和脂肪酸）、LCFA(长链脂肪酸)、VLCFA(超长链脂肪酸)、Iso-表示支链、Anteiso-表示反式支链。*：p<0.05，表示差异显著，**：p <0.01，表示极显著差异。

2.3 脂肪酸的测定与分析

2.3.1 不同样品的脂肪酸测定

将甲酯化后的样品进行送检处理，得到酥油磷脂、粗鞘磷脂和纯化鞘磷脂 3 种不同样品中的脂肪酸含量，进行比较分析，如表 4 所示。鞘磷脂的 GC/MS 谱图见图 4。

从表 4 可以看出，牦牛酥油磷脂、粗鞘磷脂与纯化鞘磷脂中 PUFA 和 VLCFA 的含量具有极显著性差异（p<0.01）；BCFA、SFA、MUFA 和 LCFA 的含量具有显著性差异（p<0.05）。而且，鞘磷脂中含有近 20%脂肪酸含量的棕榈酸，Liu[19]、陶龙啸[20]等人的研究证明了 SM 中含有的棕榈酸是肥胖等代谢疾病的重要靶标；Raichur[21]等人的研究表明棕榈酸能促进糖尿病大鼠胰岛细胞的凋亡。

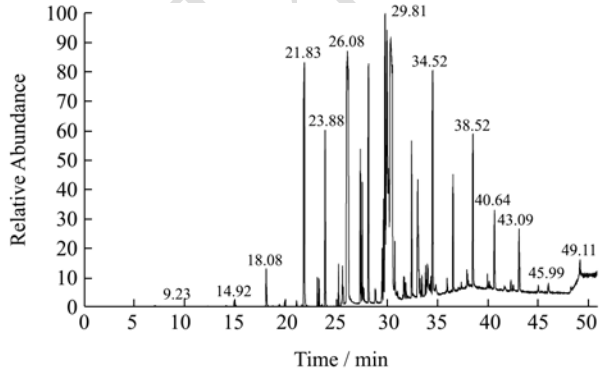


图 4 鞘磷脂的 GC/MS 谱图

Fig.4 GC/MS Chromatogram of sphingomyelin

2.3.2 脂肪酸含量分布分析

3 种不同样品中单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸、饱和脂肪酸、支链脂肪酸、长链脂肪酸和超长链脂肪酸含量分布见图 5。

由图 5 可以看出酥油磷脂、粗鞘磷脂和纯化鞘磷脂中长链脂肪酸和饱和脂肪酸的含量明显较高，酥油磷脂中长链脂肪酸和饱和脂肪酸分别为 88.51%和 97.04%；粗鞘磷脂中分别为 85.04%和 82.49%；纯化鞘磷脂中分别为 75.70%和 82.79%。酥油磷脂中，单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸都较少，分别为 2.25%和 0.71%。经过提纯后，纯化鞘磷脂中的超长链脂肪酸含量有一个明显的增加，相比于酥油磷脂和粗鞘磷脂，分别由 10.05%和 9.57%增加到 23.15%；且粗鞘磷脂与纯化鞘磷脂的支链脂肪酸的含量和单不饱和脂肪酸的含量无明显变化，但多不饱和脂肪酸明显减少，从 7.98%降低为 2.83%。

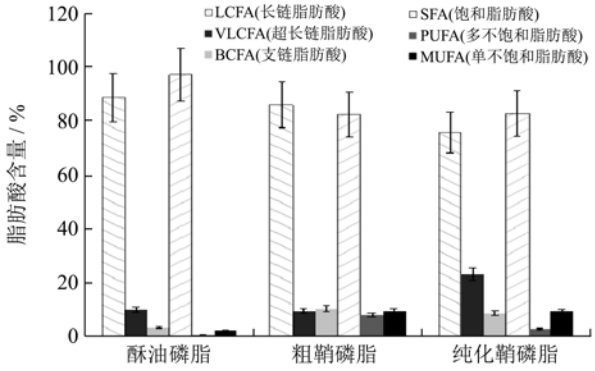


图 5 不同样品中脂肪酸的含量

Fig.5 The content of fatty acids in different samples

从孙美青[22]等人的试验得知，牦牛酥油脂肪酸质量分数最多的脂肪酸为饱和脂肪酸(60.56%)，其次为单不饱和脂肪酸(35.05%)和多不饱和脂肪酸(9%)。本试验通过 GC/MS 分析后发现，纯化的鞘磷脂中脂肪酸含量最多的为饱和脂肪酸(82.79%)，其次为单不饱

和脂肪酸(9.33%)和多不饱和脂肪酸(2.83%)。李继荣[2]等人的试验也得到了类似的结论：鞘磷脂的主要脂肪酸成分中，饱和脂肪酸所占比例接近 65%，单不饱和脂肪酸占 21%左右。Boslem[23]等人的研究发现鞘磷脂中的饱和脂肪酸具有参与内质网应激诱导胰岛细胞凋亡的作用。

3 结论

牦牛酥油中鞘磷脂提取的最优工艺条件为：氯仿甲醇与粗鞘磷脂液料比 10:1，浸提温度 40 ℃浸提时间 1 h，该条件下得到的鞘磷脂得率最高，达 4.31%。牦牛酥油中鞘磷脂的脂肪酸组成以饱和脂肪酸和长链脂肪酸为主，其具有调节肥胖等代谢疾病、诱导胰岛细胞凋亡等生物学功能。本研究对牦牛酥油中鞘磷脂的提取工艺进行优化，并分析了牦牛酥油中鞘磷脂的脂肪酸组成，为将来对牦牛酥油中鞘磷脂的高效综合利用和开发提供参考。

参考文献

[1] 扎西穷达,央拉,刘吉爱,等.西藏牦牛酥油研究现状和展望[J].西藏科技,2018,4:26-30
TASHI Panda, YANG La, LIU Ji-ai, et al. Current status and prospects of Tibetan yak butter [J]. Tibet Science and Technology, 2018, 4: 26-30

[2] 李继荣,唐顺之,牟肖男,等.蛋黄卵磷脂中鞘磷脂的分离与结构鉴定[J].广东化工,2016,43(22):206-207
LI Ji-rong, TANG Shun-zhi, MU Xiao-nan, et al. Isolation and identification of sphingomyelins in egg yolk lecithin [J]. Guangdong Chemical Industry, 2016, 43(22): 206-207

[3] Vesper H, Schmelz E M, Nikolovakarakashian M N, et al. Sphingolipids in food and the emerging importance of sphingolipids to nutrition [J]. Journal of Nutrition, 1999, 129(7): 12-39

[4] Skowron M, Zakrzewski R, Ciesielski W. Application of thin-layer chromatography image analysis technique in quantitative determination of sphingomyelin [J]. Journal of Analytical Chemistry, 2016, 71(8): 808-813

[5] 王少媛,张金兰,张丹,等.鞘脂在肝脏疾病中的研究进展[J].药学学报,2015,50(12):1551-1558
WANG Shao-yuan, ZHANG Jin-lan, ZHANG Dan, et al. Recent advances in study of sphingolipids on liver diseases [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2015, 50(12): 1551-1558

[6] Ilan Y. Compounds of the sphingomyelin-ceramide-glycosphingolipid pathways as secondary messenger molecules: new targets for therapies for fatty liver disease and insulin resistance [J]. American Journal of Physiology, Gastrointestinal and Liver Physiology, 2016, 310(11): G1102-G1117

[7] 张涛,李百祥.鞘磷脂的研究进展[J].中国公共卫生,2004,1:110-111
ZHANG Tao, LI Bai-xiang. Research progress on sphingomyelin [J]. Chinese Journal of Public Health, 2004, 1: 110-111

[8] 赵雨,赵大庆,席时权,等.鞘磷脂与胆固醇相互作用的拉曼光谱研究[J].光散射学报,1999,2:98-102
ZHAO Yu, ZHAO Da-qing, XI Shi-quan, et al. Ft-raman studies on the interaction of cholesterol with sphingomyelin [J]. Chinese Journal of Light Scattering, 1999, 2: 98-102

[9] 刘仁萍,杨建奎,颜焱娜,等.魔芋神经酰胺的提取及其鞘磷脂含量的测定[J].天然产物研究与开发,2011,23(3):542-546
LIU Ren-ping, YANG Jian-kui, YAN Yan-na, et al. Extraction of ceramide from konjac and its sphingomyelin analysis [J]. Natural Product Research and Development, 2011, 23(3): 542-546

[10] 阿曼古丽·依马木山.拜城油鸡功能性脂质成分的分析鉴定研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2014
Amanguli·Yimamushan. Study on analysis of the bay chicken functional lipid composition [D]. Wulumuqi: Xinjiang Agricultural University, 2014

[11] 依帕尔古丽·阿不拉,阿依姑丽·艾合麦提,热娜古丽·木沙,等.拜城油鸡鞘磷脂提取物对高脂血症小鼠血脂及肝脏的影响[J].西北药学杂志,2018,33(2):196-199
Yipaerguli ABULA, Aygul AHMAT, Renaguli MUSHA, et al. Effects of sphingomyelin extract from Baicheng fatty chicken on blood lipids and liver in hyperlipidemia mice [J]. Journal of Northwest Pharmaceutical, 2018, 33(2): 196-199

[12] 刘仁萍,杨建奎,詹逸舒,等.魔芋中神经酰胺类物质的 HPLC-ELSD 分析及其含量测定[J].中国生物化学与分子生物学报,2010,26(2):189-194
LIU Ren-ping, YANG Jian-kuri, ZHAN Yi-shu, et al. Analysis and determination of ceramide in konjac by HPLC-ELSD [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2010, 26(2): 189-194

[13] Hannun Y A, Bell R M. Regulation of protein kinase C by sphingosine and lysosphingosine [J]. Clinica Chimica Acta, 1990, 185(3): 333-345

[14] Yunoki K, Kukino O, Nadachi Y, et al. Separation and determination of functional complex lipids from chicken skin [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2008, 85(5): 20-26

[15] Dillehay D L, Webb S K, Schmelz E M, et al. Dietary sphingomyelin inhibits 1, 2-dimethylhydrazine-induced colon cancer in CF1 mice [J]. Journal of Nutrition, 1994, 124(5): 615-620

[16] Exon J H, South E H. Effects of sphingomyelin on aberrant colonic crypt foci development, colon crypt cell proliferation and immune function in an aging rat tumor model [J]. Food and Chemical Toxicology, 2003, 41(4): 71-78

[17] Kim S Y, Choi Y H, Huh H, et al. New antihepatotoxic cerebroside from *Lycium chinense* fruits [J]. Journal of Natural Products, 1997, 60(3): 274-276

[18] 姚莉.中华稻蝗脂类的提取、组成及生物学功能的研究[D].西安:陕西师范大学, 2005
YAO Li. Studies on extraction, isolation and bioactivities of the grease of oxya chinensis (Thunberg) [D]. Xi'an: Shanxi Normal University, 2005

[19] Liu J, Zhou L, Xiong K, et al. Hepatic cannabinoid receptor-1 mediates diet-induced insulin resistance *via* inhibition of insulin signaling and clearance in mice [J]. Gastroenterology, 2012, 142(5): 36-37

[20] 陶龙啸,师建辉,张海,等.神经酰胺代谢与肥胖的研究进展[J].医学研究杂志,2018,47(2):5-8
TAO Long-xiao, SHI Jian-hui, ZHANG Hai, et al. Progress in research on ceramide metabolism and obesity [J]. Journal of Medical Sciences, 2018, 47(2): 5-8

[21] Raichur S, Brunner B, Bielohuby M, et al. The role of C16:0 ceramide in the development of obesity and type 2 diabetes: CerS6 inhibition as a novel therapeutic approach [J]. Molecular Metabolism, 2018, 43(3): 21-23

[22] 孙美青,马莺,程金菊.牦牛酥油理化性质研究[J].中国乳品工业,2016,44(3):9-11,19
SUN Mei-qing, MA Ying, CHENG Jin-ju. Physical and chemical properties of yak butter [J]. China Dairy Industry, 2016, 44(3): 9-11, 19

[23] Boslem E, Mac Intosh G, Preston A M, et al. A lipidomic screen of palmitate-treated MIN6 *β*-cells links sphingolipid metabolites with endoplasmic reticulum (ER) stress and impaired protein trafficking [J]. Biochemical Journal, 2011, 435(1): 267-276

（上接第 210 页）

[13] Isbrucker R A, Burdock G A. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2006, 46(3): 167-192

[14] Ma L, Li Q, Du Z, et al. A natural supramolecular saponin hydrogelator for creation of ultrastable and thermostimulable food-grade foams [J]. Advanced Materials Interfaces, 2019, 6(14)

[15] Rio E, Drenckhan W, Salonen A, et al. Unusually stable liquid foams [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2014, 205: 74-86

[16] Gonzenbach U T, Studart A R, Tervoort E, et al. Stabilization of foams with inorganic colloidal particles [J]. Langmuir, 2006, 22(26): 10983-10988

[17] Binks B P, Horozov T S. Aqueous foams stabilized solely by silica nanoparticles [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2005, 44(24): 3722-3725

[18] Martinez A C, Rio E, Delon G, et al. On the origin of the remarkable stability of aqueous foams stabilised by nanoparticles: link with microscopic surface properties [J]. Soft Matter, 2008, 4(7): 1531-1535

[19] Alargova R G, Warhadpande D S, Paunov V N, et al. Foam superstabilization by polymer microrods [J]. Langmuir, 2004, 20(24): 10371-10374

[20] Fameau A L, Houinsou-Houssou B, Ventureira J L, et al. Self-assembly, foaming, and emulsifying properties of sodium alkyl carboxylate/guanidine hydrochloride aqueous mixtures [J]. Langmuir, 2011, 27(8): 4505-4513

[21] Zhang L, Mikhailovskaya A, Yazhgur P, et al. Precipitating sodium dodecyl sulfate to create ultrastable and stimulable foams [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2015, 54(33): 9533-9536

[22] Ritu Khurana, Chris Coleman, Cristian Ionescu-Zanetti, et al. Mechanism of thioflavin T binding to amyloid fibrils [J]. Journal of Structural Biology, 2005, 151(3): 229-238

[23] Goodwin J W, Hughes R. W. Rheology for chemist an introduction [M]. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2008

[24] Dr C T, Dr A L Y, Dr J F F. Springer Handbook of Experimental Fluid Mechanics [M]. Springer Berlin Heigelberg, 2007