

草鱼头磷脂制备工艺优化 及抗氧化性能分析

岳大鹏¹, 王然然¹, 王琦^{1,2,3,*}, 张维农^{1,2,3}, 贺军波^{1,2,3}, 王学东^{1,2,3}, 陈季旺^{1,2,3}

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北武汉 430023;

2. 湖北省农产品加工与转化重点实验室, 湖北武汉 430023;

3. 大宗粮油精深加工省部共建教育部重点实验室, 湖北武汉 430023)

摘要: 为了得到较高纯度的草鱼头磷脂并分析其抗氧化性能, 采用乙醇溶液浸提冷冻干燥草鱼头粉末制备磷脂, 正交试验确定其最优工艺后, 利用薄层层析(TLC)分析比较草鱼头磷脂种类的组成及含量, 利用气相色谱-质谱联用技术分析磷脂的脂肪酸组成, 并进行体外抗氧化能力测定。结果表明: 磷脂制备最优工艺方案为: 乙醇浓度 80%, 料液比 1:6 g/mL, 提取温度 65℃, 提取时间 3 h, 在此条件下, 得到草鱼头磷脂的纯度为 84.20% ± 0.65%, 提取率为 3.03% ± 0.06%。草鱼头磷脂主要含有磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、鞘磷脂(SM)、溶血磷脂酰胆碱(LPC)四种磷脂, 其中 PC 的含量最高(60.00% ± 0.26%), 其次为 PE(20.00% ± 0.17%)。草鱼头磷脂脂肪酸组成以多不饱和脂肪酸(PUFA)为主(52.09% ± 0.59%), 其中, C20:5n-3(EPA)和 C22:6n-3(DHA)含量较高。体外抗氧化测定试验结果表明, 草鱼头磷脂的羟自由基(·OH)清除能力和还原力能力都显著($P < 0.05$)优于对照的商品大豆磷脂。

关键词: 草鱼头, 磷脂, 醇提, 抗氧化活性, 磷脂组成, 脂肪酸

Preparation Technology Optimization and Antioxigenic Property Analysis of Phospholipids from Grass Carp Head

YUE Da-peng¹, WANG Ran-ran¹, WANG Qi^{1,2,3,*}, ZHANG Wei-nong^{1,2,3},

HE Jun-bo^{1,2,3}, WANG Xue-dong^{1,2,3}, CHEN Ji-wang^{1,2,3}

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;

2. Key Laboratory of Agricultural Products Processing and Transformation in Hubei Province, Wuhan 430023, China;

3. Key Laboratory for Deep Processing of Major Grain and Oil, Ministry of Education, Wuhan 430023, China)

Abstract: In order to obtain higher purity grass carp head phospholipids and analyze the antioxidant properties of the prepared grass carp head phospholipids, phospholipids were prepared from freeze-dried grass head powder by ethanol extraction. After determined its optimal process by the orthogonal test, the composition and content of phospholipids from grass carp head were analyzed by thin layer chromatography (TLC). The fatty acid composition of the phospholipids was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the antioxidant activity *in vitro* was determined. The results showed that, the optimal process for preparing phospholipids was: Ethanol concentration 80%, material-liquid ratio 1:6 g/mL, extraction temperature 65℃, and extraction time 3 h. Under these conditions, the purity of grass carp head phospholipids were 84.20% ± 0.65%, and the extraction rate were 3.03% ± 0.06%. The grass carp head phospholipids mainly contained phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), sphingomyelin (SM), and lysophosphatidylcholine (LPC), among which PC had the highest contents (60.00% ± 0.26%), followed by PE (20.00% ± 0.17%). The fatty acids of grass carp head phospholipids were mainly composed of polyunsaturated fatty acid (PUFA, 52.09% ± 0.59%). The PUFAs in phospholipids were mainly C20:5n-3 (eicosapentaenoic acid, EPA) and C22:6n-3 (docosahexaenoic acid, DHA). The results of antioxidant assay *in vitro* showed that the hydroxyl radical (·OH) scavenging ability and reducing power of grass carp head phospholipids were significantly ($P < 0.05$) better than the commercial soybean phospholipids as comparison.

Key words: grass carp head; phospholipids; ethanol extraction; antioxidant activity; phospholipid components; fatty acid composition

中图分类号: TS254.9

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2020)06-0149-06

收稿日期: 2019-07-12

作者简介: 岳大鹏 (1995-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 水产品加工与综合利用, E-mail: yuedp313@163.com。

* 通讯作者: 王琦 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品加工与综合利用, E-mail: wq311zb@hotmail.com。

基金项目: “十三五”国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项 (2018YFD0901103)。

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.06.025

引文格式:岳大鹏,王然然,王琦,等.草鱼头磷脂制备工艺优化及抗氧化性能分析[J].食品工业科技,2020,41(6):149-154.

磷脂是生命的重要物质和细胞膜的组成成分之一,具有调节机体代谢,降血脂,预防血栓等生理活性功能^[1-2]。从结构来看,磷脂属两亲结构,磷脂中的磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine, PC)和磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine, PE)将细胞膜上的过氧化脂质运出细胞膜,防止细胞膜表面积累较多的脂质过氧化产物,避免细胞膜的损伤,从而实现磷脂的抗氧化作用^[3-5]。

草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)是我国具有本土特色且大量养殖的一种常见鱼类,养殖周期短,食用口感好,受到水产养殖行业和市场的喜爱,草鱼加工产品主要有鱼肉的冷冻制品、生鲜调味品、鱼糜以及干腌制品4种类型,但鱼头一般作为副产物没有很好的加工利用途径^[6]。国内有研究者对草鱼肌肉中磷脂进行了提取优化和分析测定,并对草鱼各部位脂质进行系统性的分析研究,但基于草鱼头来源磷脂的制备工艺优化并分析其抗氧化性能的课题鲜见报道^[7]。目前磷脂的制备方法主要为溶剂萃取法^[8-10]、柱层析法^[11]、CO₂超临界萃取法^[12]和膜分离法^[13]等。

本研究以草鱼加工副产物中的鱼头为原料,基于成本和工业化生产可行性考虑,选择溶剂法来提取草鱼头磷脂,并检测草鱼头磷脂的体外抗氧化性能,其可为磷脂在水产品加工副产物领域的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲜活草鱼 产地武汉,购买于武汉市常青花园武商量贩店,每条重量(1000±100)g;大豆磷脂(纯度≥65%) 美国Sigma公司;氯仿、正己烷、甲醇 色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;BF₃-甲醇 上海Aladdin公司;GF254薄层色谱硅胶板、GF254柱层析硅胶(100~200目) 青岛海洋化工厂;所有分离用有机溶剂 均为国产分析纯。

RE-52CS旋转蒸发器、YH-500隔膜真空泵 上海亚荣生化仪器厂;HH-2数显恒温水浴锅 上海维诚仪器有限公司;CP214电子分析天平 奥豪斯国际贸易(上海)有限公司;7890A-5975C气相色谱-质谱联用仪 美国Agilent公司。

1.2 实验方法

1.2.1 草鱼头磷脂提取工艺流程 鲜活草鱼→宰杀→鱼头→破壁机破碎→真空冷冻干燥→粉碎后过200目筛→加乙醇混匀后于水浴锅静置提取→抽滤→取滤液于0.08 MPa真空,80℃条件下旋转蒸发去除溶剂→磷脂

1.2.1.1 乙醇浓度对草鱼头磷脂得率及纯度的影响 取粉碎后的草鱼头粉25g左右,设置乙醇浓度为50%、60%、70%、80%、90%、100%,固定条件为:料液比1:10 g/mL,55℃条件下提取1.5h,抽滤后旋蒸除去乙醇,用磷脂纯度来确定最优乙醇浓度。

1.2.1.2 料液比对草鱼头磷脂得率及纯度的影响 取粉碎后的草鱼头粉25g左右,设置料液比为1:4、1:6、1:8、1:10、1:12 g/mL,固定条件为:乙醇浓度70%,55℃条件下提取时间1.5h,抽滤后旋蒸除去乙醇,用磷脂纯度来确定最优料液比。

1.2.1.3 提取温度对草鱼头磷脂提取率及纯度的影响 取粉碎后的草鱼头粉25g左右,设置提取温度为25、35、45、55、65、75℃,固定条件为:乙醇浓度70%,料液比1:8 g/mL,提取时间1.5h,抽滤后旋蒸除去乙醇,用磷脂纯度来确定最优提取温度。

1.2.1.4 提取时间对草鱼头磷脂提取率及纯度的影响 取粉碎后的草鱼头粉25g左右,设置提取时间为1.5、3.0、4.5、6.0、7.5、9.0h,固定条件为:乙醇浓度70%,料液比1:8 g/mL,提取温度55℃,抽滤后旋蒸除去乙醇,用磷脂纯度来确定最优提取时间。

1.2.2 正交试验设计 分别考察乙醇浓度、料液比、提取温度、提取时间四个单因素对草鱼头磷脂得率及纯度的影响。根据单因素实验结果,每个因素选取3个较佳水平,按照L₉(3⁴)进行正交试验,以磷脂纯度为考核指标来优化草鱼头磷脂制备工艺,见表1^[14]。

表1 正交实验因素与水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	A 乙醇浓度 (%)	B 料液比 (g/mL)	C 提取温度 (℃)	D 提取时间 (h)
1	60	1:6	45	1.5
2	70	1:8	55	3.0
3	80	1:10	65	4.5

1.2.3 磷脂纯度检测 磷脂产物中所含纯磷脂的质量检测参考SN/T 3851-2014^[15]。

$$\text{磷脂产物得率}(\%) = \frac{\text{磷脂产物质量}}{\text{样品冻干粉质量}} \times 100$$

$$\text{磷脂纯度}(\%) = \frac{\text{磷脂产物中所含纯磷脂质量}}{\text{磷脂产物质量}} \times 100$$

1.2.4 草鱼头磷脂的纯化 准确称取0.2g最优工艺条件下乙醇提取的草鱼头磷脂进行硅胶柱分离,先后用220 mL氯仿、120 mL丙酮、220 mL甲醇洗脱,收集甲醇洗脱液后旋蒸去除甲醇,即为纯化后磷脂。纯化后的磷脂-20℃条件下保存,用于磷脂脂肪酸组成分析。

1.2.5 草鱼头磷脂薄层色谱分析 将上述所纯化的磷脂加入氯仿溶解,配制成100 mg/mL的溶液进行薄层色谱分离,展开剂为氯仿:甲醇:水=65:25:4(V/V/V),采用Dittmer-Leser试剂作为显色剂,显色后扫描薄层结果,采用比移值R_f=溶质移动的距离/溶液移动的距离,并使用Scion Image软件处理图像后分析不同磷脂种类的含量。

1.2.6 草鱼头磷脂的脂肪酸组成分析

1.2.6.1 脂肪酸甲酯化 称取草鱼头磷脂50 mg于

10 mL 容量瓶中,加入 2 mL 0.5 mol/L 的 NaOH/甲醇溶液,在 65 °C 皂化 30 min,后加入 2 mL 的 BF₃-甲醇(1:3,V/V)溶液,加热反应 3 min 后,冷却至室温,加入 2 mL 正己烷进行萃取,摇匀后静置分层,取上层有机相,离心备用。

1.2.6.2 GC 条件 色谱柱:HP-FFAP 石英毛细柱(30 m × 0.25 mm,0.25 μm);升温程序:140 °C 保持 1 min,以 5 °C/min 升至 190 °C,再以 3 °C/min 升至 220 °C,保持 10 min;载气(He)流速 1.0 mL/min,压力 88 kPa,进样量 1 μL;分流比 10:1。

1.2.6.3 MS 条件 电子轰击离子源;电子能量 70 eV;传输线温度 250 °C;离子源温度 230 °C;扫描周期 3.21 次/s;质量扫描范围 m/z 10~460。

1.2.6.4 GC-MS 数据分析 用气相色谱-质谱进行全离子扫描分析。用化学工作站数据处理系统和标准质谱图库 NIST11 进行解析,确认草鱼头磷脂中各种脂肪酸的化学结构。根据化合物色谱峰响应,利用面积归一化法计算各脂肪酸组分的相对百分含量。

1.2.7 外抗氧化能力测定

1.2.7.1 羟自由基(·OH)清除能力测定 参考文献[16],将脂质样品配成 5、10、15、20、25 mg/mL 的五种样品溶液,进行羟自由基(·OH)清除能力测定。与样品同浓度的大豆卵磷脂重复上述步骤,并与草鱼头磷脂比较。

1.2.7.2 还原力的测定 参考文献[17],样品用蒸馏水超声溶解,配制成 10、20、30、40、50 mg/mL 的五种样品溶液,进行还原力测定。与样品同浓度的大豆卵磷脂重复上述步骤,并与草鱼头磷脂比较。

1.3 数据处理

试验数据经整理后,采用 SPSS Statistics 19 对数据进行显著性方差分析,多重比较采用最小显著法,差异显著水平为 α = 0.05,试验数据使用平均值 ± 标准差来表示。

2 结果与分析

2.1 乙醇浓度对磷脂得率及纯度的影响

为了保证提取得到的草鱼头磷脂的品质,在工艺优化时以磷脂的纯度作为主要检测指标,同时测定得率作为参考。从图 1 可以看到,提取的草鱼头磷脂纯度随着乙醇浓度的升高先增大后减小,而磷脂得率呈现与之相反的先下降后升高的趋势,当乙醇浓度为 70% 时,磷脂纯度最高,达 64.34%,确定为最佳乙醇浓度,此时得率为 4.74%。当乙醇浓度在 50% 时,提取液水含量较高,I/O 值(无机性值/有机性值)偏无机性方向,水溶性杂质提取较多,故其中磷脂纯度较低;随着乙醇浓度升高,提取液的无机性逐渐减弱,有机性升高,逐渐接近磷脂的 I/O 值,提取得到的磷脂纯度升高,水溶性成分明显减少,磷脂得率降低;当乙醇浓度进一步升高时,提取液极性开始下降,I/O 值偏向有机性质,作为极性脂的磷脂的溶解度降低^[18],而同时提取到的非极性脂质的增加,导致磷脂得率上升但纯度下降。陈文娟等^[19]发现使用乙醇溶液提取大黄鱼鱼卵时提取物中磷脂含量(纯度)随着乙醇含量的增大逐渐增大,当乙醇含量

为 95% 时,磷脂纯度为 24%,提取率最大,直到使用乙醇浓度 100%,磷脂纯度提取率开始下降,与本研究结果类似,只是最优的乙醇浓度偏高,这可能与原料不同有关,包括其中的磷脂含量、磷脂结合状态等因素都会对提取工艺产生影响,故确定最佳乙醇浓度为 70%。

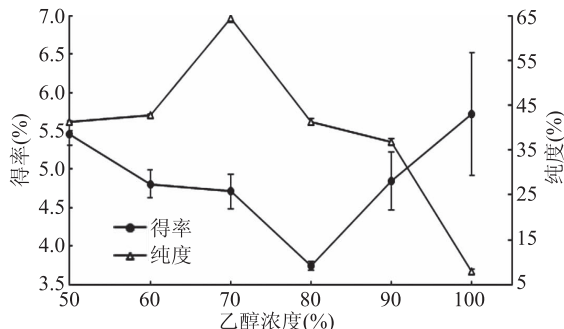


图1 乙醇浓度对磷脂得率及纯度的影响

Fig.1 Effects of ethanol concentration on yield and purity of phospholipids

2.2 料液比范围的确定

图 2 结果表明,随着料液比中提取液的比例增加,提取的草鱼头磷脂纯度先升高后下降,在料液比 1:8 和 1:10 g/mL 时达到最高,两者都在 65% 附近,差别不明显;而磷脂得率呈现先明显降低再上升的变化,料液比在 1:8 和 1:10 g/mL 时,提取率偏低,都在 3.4% 附近,区别不显著。在指标相同的情况下,更低的料液比可以降低成本,故确定 1:8 g/mL 为最佳料液比。

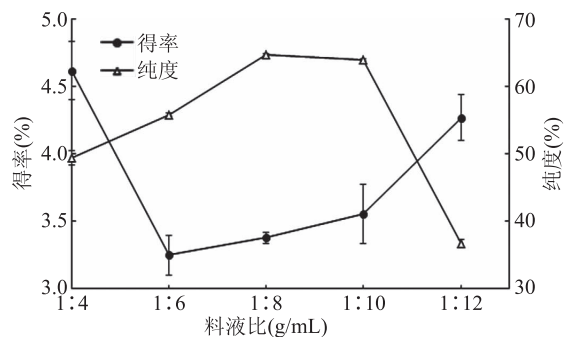


图2 料液比对磷脂得率及纯度的影响

Fig.2 Effect of material to liquid ratio on yield and purity of phospholipids

料液比 1:4 g/mL 时提取液的量偏少,草鱼头粉末吸收了乙醇溶液的水分会导致乙醇浓度增加,从而导致提取的磷脂纯度不高但提取率偏高(参见 2.1 中乙醇浓度高的情况),随着提取液的比例增加,草鱼头粉末对乙醇溶液的影响逐渐减小,磷脂提取的纯度增加,得率保持稳定,磷脂在乙醇溶液中浓度适宜,达到提取的动态平衡,但当提取液比例进一步增大时,平衡被打破,过多的乙醇溶液会在提取磷脂后继续溶解中性脂,从而导致纯度下降而得率上升。

2.3 提取温度对磷脂得率及纯度的影响

从图 3 可以看到,草鱼头磷脂纯度随着提取温度的升高先上升后下降,当提取温度为 55 °C 时,磷脂纯度最高,达 76.75%。而磷脂得率随着提取温度

的升高,在 2.5%~3.5% 附近呈现波动变化,当提取温度为 55 ℃ 时,磷脂产物得率 2.65%,确定 55 ℃ 为最佳提取温度。提取温度的升高可加快溶质的传质速率,对于极性磷脂的选择性更强,因此可以获得较高纯度的磷脂;但随着温度逐渐升高,乙醇挥发加快,导致提取液中乙醇浓度降低,因而磷脂纯度又开始下降(参见 2.1)。过高的温度还会使磷脂氧化降解,影响磷脂的品质^[20]。因此提取温度不宜过高。得率的波动变化,推测与提取的磷脂中混有的中性脂比例有关。

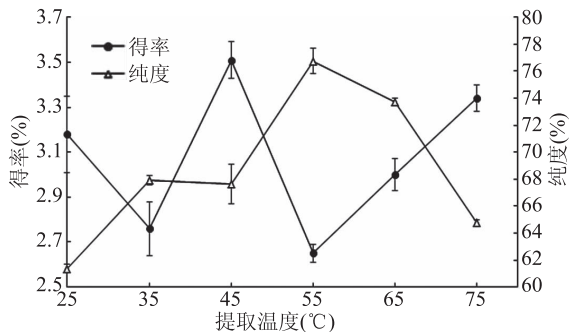


图3 提取温度对磷脂得率及纯度的影响

Fig.3 Effect of temperature on yield and purity of phospholipids

2.4 提取时间对磷脂得率及纯度的影响

分析图 4 中的结果可以看到,草鱼头磷脂纯度在提取时间从 1.5 h 增加到 3 h 时略有上升,达到最高值,之后再延长提取时间,纯度连续下降。磷脂提取率随着提取时间的增加,在 1.88%~3.15% 之间呈现波动,在提取时间为 4.5 h 时,得率达到最高,但 3 h 时得率已经达到 3%,与之相差不大。确定 3 h 为最佳提取时间。草鱼头粉末所含的磷脂的被乙醇溶液充分提取出来需要一定时间,适当的提取时间有利于得到纯度和得率都较高的磷脂,但是过长的提取时间会由于偏高的提取温度(55 ℃)引起乙醇挥发从而降低乙醇浓度,使提取的磷脂纯度下降,同时非磷脂成分的增加导致得率降低后又上升。

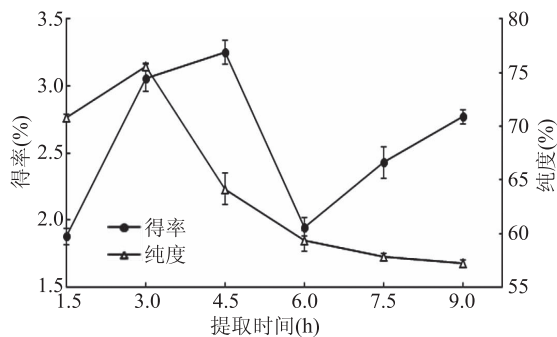


图4 提取时间对磷脂得率及纯度的影响

Fig.4 Effect of time on yield and purity of phospholipids

2.5 草鱼头磷脂制备正交试验结果

从表 2 可知,影响草鱼头磷脂制备的主次因素为 $A > B > C > D$,即乙醇浓度 > 料液比 > 提取温度 > 提取时间。从表 3 可知,通过进一步的方差分析表明,乙醇浓度对草鱼头磷脂的提取影响非常显著,提取时间对草鱼头磷脂的提取影响显著,而料液比和

提取温度对草鱼头磷脂的提取影响不显著。

2.6 验证试验结果

优方案为 $A_3B_2C_2D_2$ (乙醇浓度 80%,料液比 1:8 g/mL,提取温度 55 ℃,提取时间 3 h)。经验证,按照 $A_3B_2C_2D_2$ 条件提取的脂质样品中磷脂纯度为 $79.52\% \pm 1.48\%$,略低于正交试验 $A_3B_1C_3D_2$ 的纯度 ($84.20\% \pm 0.65\%$),最终确定 $A_3B_1C_3D_2$ 为最优工艺条件,此时磷脂得率为 $3.03\% \pm 0.06\%$ 。综上所述,根据正交试验结果,确认最佳工艺条件为:乙醇浓度 80%,料液比 1:6 g/mL,提取温度 65 ℃,提取时间 3 h。

表2 正交试验方案和结果

Table 2 Program and results of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	磷脂纯度 (%)
1	1	1	1	1	47.90
2	1	2	2	2	64.45
3	1	3	3	3	44.76
4	2	1	2	3	69.56
5	2	2	3	1	68.11
6	2	3	1	2	66.68
7	3	1	3	2	84.20
8	3	2	2	3	83.24
9	3	3	1	1	68.96
K_1	157.11	201.65	183.53	184.97	
K_2	204.35	215.80	217.24	215.32	
K_3	236.40	180.40	197.08	197.56	
k_1	52.37	67.22	61.18	61.66	
k_2	68.12	71.93	72.41	71.77	
k_3	78.80	60.13	65.69	65.85	
R	26.43	11.80	11.24	10.12	
主次因素	乙醇浓度 > 料液比 > 提取温度 > 提取时间				
优方案	$A_3B_2C_2D_2$ (乙醇浓度 80%,料液比 1:8 g/mL,提取温度 55 ℃,提取时间 3 h)				

表3 草鱼头磷脂提取方差分析

Table 3 Analysis of variance of extraction of grass carp head phospholipids

差异来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	显著性
A	2121.31	2	1060.655	1449.529	**
B	47.658	2	23.829	32.566	
C	13.688	2	6.844	9.353	
D	257.687	2	128.843	176.082	*

注:“*”表示影响显著, $P < 0.05$;“**”表示影响极显著, $P < 0.01$ 。

2.7 最优条件磷脂薄层色谱分析

草鱼头磷脂薄层分析结果见图 5 和表 4。从结果中可看到,草鱼头磷脂主要含有磷脂酰胆碱 (Phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺 (Phosphatidylethanolamine, PE)、鞘磷脂 (Sphingomyelin, SM) 和溶血磷脂酰胆碱 (Lysophosphatidylcholine, LPC) 四种磷脂,PC 在鱼头磷脂中含量最高,达 60%,PE 其次,达 20%。

表 4 磷脂各组分的比移值

	LPC	SM	PC	PE
迁移率	0.16 ± 0.02 ^a	0.25 ± 0.01 ^b	0.35 ± 0.07 ^c	0.62 ± 0.04 ^d
磷脂含量(%)	9.56 ± 0.15	13.23 ± 0.12	60.00 ± 0.26	20.00 ± 0.17

注:不同字母表示具有显著性差异, $P < 0.05$ 。

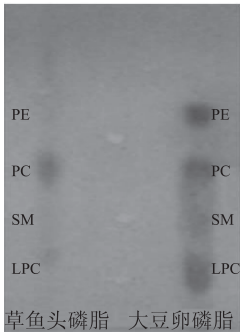


图 5 磷脂的薄层色谱图

Fig.5 Thin layer chromatography of phospholipid

PC 是人体生长发育所需的重要磷脂,是人体获得胆碱及生长代谢的物质来源^[21]。PE 是神经细胞膜的重要构成,能显著改善大脑发育及功能^[22]。Judde 等^[23]发现大豆卵磷脂的抗氧化能力与磷脂中的 PC 和 PE 的含量有关。SM 对于抑制癌症具有潜在的作用效果,其代谢产物神经酰胺和鞘氨醇维持体内细胞的正常生长^[24]。

2.8 最优条件磷脂的脂肪酸组成

草鱼头磷脂脂肪酸组成见表 5。草鱼头磷脂中的脂肪酸组成以 PUFA 为主,含量达到 52.09% ± 0.59%。草鱼头磷脂中 EPA 含量占 10.34% ± 0.03%,DHA 含量占 17.83% ± 0.48%。作为 n-3 系列 PUFA,DHA 和 EPA 具有独特的生理活性。DHA 是人体必需的多不饱和脂肪酸,对人体视网膜的发育起着关键作用。EPA 对视网膜和大脑的结构膜起重要作用,并可预防心脑血管疾病的发生^[25]。

结合有 DHA 和 EPA 的磷脂在拥有磷脂和 PUFA 各自的生理功能外,更容易被人体接受并消化吸收效果更佳,而当它们作为单独脂肪酸或者甘油酯等形式时,其结构更加稳定,不易被人体吸收^[26]。

2.9 体外抗氧化能力测定

2.9.1 ·OH 清除能力测定 ·OH 是人体内最活泼的自由基之一,能够氧化细胞膜上的不饱和脂肪酸,其氧化产物能够与蛋白质等生物大分子反应,引起细胞膜损伤^[27]。由图 6 可知,草鱼头磷脂和大豆卵磷脂对·OH 都有清除能力,且·OH 清除率随着浓度的增加而增长。在检测的磷脂浓度范围内,草鱼头磷脂·OH 清除率全都显著高于大豆卵磷脂($P < 0.05$),两者的·OH 清除率在浓度为 25 mg/mL 时达最大值,分别为 94.4%、84.2%。Saito 等^[28]发现,PC 和 PE 的极性头部侧链具有清除氢过氧化物的活性氨基。Cortie 等^[29]研究发现,磷脂中 SFA 和 MUFA 的含量越高,其磷脂的氧化稳定性越好。草鱼头磷脂中 PC 和 PE 含量比大豆磷脂含量高,草鱼头磷脂比大豆磷脂结合了更多的 SFA 和 MUFA,因此,草鱼头磷脂比大豆磷

表 5 草鱼头磷脂脂肪酸组成

草鱼头磷脂	脂肪酸含量(%)
C14:0	0.17 ± 0.07
C16:0	15.30 ± 1.12
C16:1n-7	1.34 ± 0.24
C18:0	4.81 ± 0.68
C18:1n-9	15.45 ± 0.08
C18:2n-6	4.79 ± 1.44
C18:3n-3	9.44 ± 1.12
C20:2n-6	1.99 ± 0.07
C20:3n-6	3.37 ± 0.95
C20:4n-6	6.12 ± 0.74
C20:5n-3	10.34 ± 0.03
C22:5n-6	2.21 ± 0.37
C22:6n-3	17.83 ± 0.48
其他	6.80 ± 0.97
Σ SFA	20.28 ± 0.07
Σ MUFA	16.79 ± 0.08
Σ PUFA	52.09 ± 0.59

脂清除自由基的活性更好^[30]。

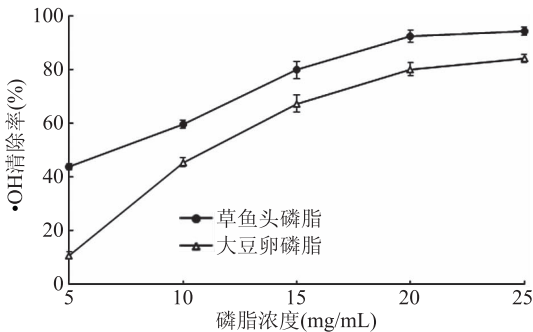


图 6 磷脂对·OH 清除能力

Fig.6 ·OH scavenging ability of phospholipids

2.9.2 还原力的测定 还原力是衡量物质抗氧化能力的指标之一^[31]。由图 7 可知,吸光度随着磷脂浓度的增加而增大,即还原力随磷脂浓度增加而增强。在 10~50 mg/mL 范围内,草鱼头磷脂的还原力显著高于大豆卵磷脂($P < 0.05$),大豆磷脂和草鱼头磷脂都具有 PC 和 PE,二者在还原力之间的差异可能是草鱼头磷脂中 PC 和 PE 含量比大豆磷脂含量高所导致,还可能与草鱼头 SFA 的含量高有关^[28-29]。

3 结论

通过单因素正交试验确定乙醇提取冷冻干燥草鱼头粉磷脂的最优工艺方案为:乙醇浓度 80%,料液比 1:6,提取温度 65 ℃,提取时间 3 h,在此条件下,

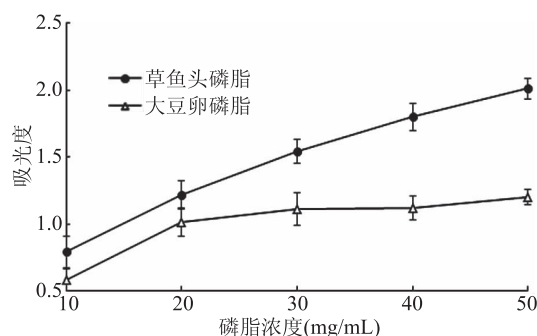


图7 磷脂的还原能力

Fig.7 Reducing capacity of phospholipids

磷脂纯度 $84.20\% \pm 0.65\%$, 磷脂得率为 $3.03\% \pm 0.06\%$ 。草鱼头磷脂以 PC 为主, 脂肪酸组成以 PUFA 为主, 特别是含有一定量的 DHA 和 EPA。体外抗氧化能力测定中, 草鱼头磷脂的 $\cdot\text{OH}$ 清除能力和还原力都优于大豆磷脂。通过本文中醇提法制备的草鱼头磷脂营养价值较高, 具有一定开发前景, 或可将其应用在磷脂补充剂、抗衰老保健品等方面。

参考文献

- [1] Madrigal S, limb S, Rodriguez G, et al. Optimization of the preparation technology of astaxanthin microcapsule of crayfish crayfish[J]. Journal of Functional Foods, 2010, 2(2): 99-106.
- [2] 梁鹏, 许艳萍, 程文健, 等. 大黄鱼鱼卵磷脂对小鼠脂质代谢的调节作用[J]. 现代食品科技, 2016, 32(11): 1-7.
- [3] Xun Ang, Chen Hong, Xiang Ji-Qian, et al. Preparation and functionality of lipase-catalysed structured phospholipid—areview[J]. Trends in Food Science & Technology, 2019, 88: 373-383.
- [4] 魏玉强, 李景伟, 毕宇霖, 等. 大豆磷脂理化性质及其在猪饲料中的应用[J]. 畜牧与饲料科学, 2016(5): 16-18.
- [5] Israelachvili J. Intermolecular and surface forces[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(7): 4913-4923.
- [6] 宋迁红, 赵永锋. 我国淡水鱼加工产业浅析[J]. 科学养鱼, 2014(9): 12-17.
- [7] 王友谊, 张虹, 戴志远. 直接进样电喷雾串联质谱法测定草鱼肌肉组织中磷脂[J]. 分析化学, 2012, 40(6): 893-898.
- [8] 张椿, 吴昊, 周旋, 等. 超声微波协同萃取鸡蛋卵磷脂的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(7): 42-46.
- [9] 宋范范, 张康逸, 杨妍, 等. 离子液体超声辅助提取磷脂酰肌醇[J]. 食品工业科技, 2017(18): 155-159.
- [10] 崔益玮, 李诗言, 王珏, 等. 水产加工副产物中磷脂和鱼油的分离及脂质组学研究[J]. 水产学报, 2017, 41(6): 827-835.
- [11] 邹舟, 王琦, 于刚, 等. 鲢鱼各部位磷脂组分及脂肪酸组成分析[J]. 食品科学, 2014, 35(24): 105-109.

- [12] 宋玉卿, 王腾宇, 周晓丹, 等. 超临界 CO_2 条件下大豆粉末磷脂氢化工艺优化[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 218-221.
- [13] 陆云华, 曹丽萍, 李茜, 等. 薄膜分散法制备乌索酸豆磷脂纳米粒及其理化性质研究[J]. 时珍国医国药, 2015(1): 104-106.
- [14] 李云燕, 胡传荣. 试验设计与数据处理[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 79-107.
- [15] SN/T 3851-2014 出口食品中磷脂的测定比色法[S].
- [16] 闫蕊, 赵桦. 黄花油点草总黄酮超声提取工艺的响应面优化及抗氧化性分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(10): 190-196, 203.
- [17] 谌银强, 汤尚文, 黄其茗, 等. 烟熏液对咸鸭蛋抗氧化和质构特性影响的研究[J]. 食品科技, 2018, 43(11): 70-74.
- [18] 安红. 磷脂化学及应用技术[M]. 北京: 中国计量出版社, 2006: 49.
- [19] 陈文娟, 陈丽娇. 大黄鱼鱼卵磷脂提取及磷脂成分分析[J]. 福建农林大学学报, 2012, 41(4): 498-502.
- [20] 张丽, 卢航, 刘迪, 等. 超声波辅助提取鱼脑磷脂的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(1): 66-69.
- [21] 李贞. 卵磷脂的生物学功能及其应用[J]. 畜牧与饲料科学, 2016, 37(2): 94-95.
- [22] 邓杨敏, 李冰麟, 董文博, 等. 磷脂酰乙醇胺的酶促合成及底物抑制动力学[J]. 化工进展, 2017, 36(7): 2601-2606.
- [23] Judde A, Villeneuve P, Rossignol - Castera A, et al. Antioxidant effect of soy lecithins on vegetable oil stability and their synergism with tocopherols[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2003, 80(12): 1209-1215.
- [24] 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, 22(43): 206-207.
- [25] 刘汝萃, 王彩华, 肖晶, 等. 鱼油的提取、富集与应用研究进展[J]. 粮食与食品工业, 2017(5): 9-12.
- [26] 曹万新, 孟橘, 田玉霞. DHA 的生理功能及应用研究进展[J]. 中国油脂, 2011, 36(3): 1-4.
- [27] 黄进, 杨国宇, 李宏基, 等. 抗氧化剂作用机制研究进展[J]. 自然杂志, 2004(2): 74-78.
- [28] Saito H, Ishihara K. Antioxidant activity and active sites of phospholipids as antioxidant[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1997, 74(12): 1531-1536.
- [29] Cortie C H, Else P L. An antioxidant-like action for non-peroxidisable phospholipids using ferrous iron as a peroxidation initiator[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2015, 1848(6): 1303-1307.
- [30] 王梓博, 万欣, 王文倩, 等. 鲢鱼头磷脂对菜籽油抗氧化作用分析[J]. 武汉轻工大学学报, 2017, 36(3): 27-32.
- [31] 陈建中, 葛水莲, 咎立峰, 等. 茼蒿总黄酮抗氧化活性及稳定性研究[J]. 食品科技, 2015, 40(8): 217-222.

(上接第 148 页)

- [16] 赵雪梅, 廖诚成, 丁捷, 等. 挤压型速冻青裸鱼面品质评价模型的建立[J]. 食品科技, 2018(2): 189-195.
- [17] Huang J J, Tzeng G H, Ong C S. A novel algorithm for uncertain portfolio selection[J]. Applied Mathematics & Computation, 2006, 173(1): 350-359.
- [18] Vercher E, Bermúdez J D, Segura J V. Fuzzy portfolio optimization under downside risk measures[J]. Fuzzy Sets & Systems, 2007, 158(7): 769-782.

- [19] 傅曼琴, 肖更生, 陈于阮, 等. 改进型 Clevenger 装置提取柠檬果皮精油及成分分析[J]. 食品科学, 2017, 38(2): 170-175.
- [20] 崔砾砾, 傅强, 黄斌, 等. 柠檬果汁碳酸饮料体系稳定性研究[J]. 饮料工业, 2018(2): 32-37.
- [21] 聂继云, 李静, 徐国锋, 等. 水果可溶性固形物含量测定适宜取汁方法的筛选[J]. 保鲜与加工, 2014(5): 62-64.
- [22] 蒋丽萍, 张静. 果葡糖浆的特征及其在食品中的应用[J]. 新疆畜牧业, 2009(3): 21-26.