DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250925005
引用格式: 段一蓉, 杨巨娜, 曹岱琳, 等. 超声辅助提取脱油蛋黄粉中卵磷脂的工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(3): 101–110.
DUAN YR, YANG JN, CAO DL, *et al*. Study on process optimization of ultrasound-assisted extraction of lecithin from defatted egg yolk powder and its antioxidant activity [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(3): 101–110. (in Chinese with English abstract).

超声辅助提取脱油蛋黄粉中卵磷脂的工艺优化及其抗氧化活性研究

段一蓉, 杨巨娜, 曹岱琳, 苗可心, 刘佳琪, 刘美玉*
(河北工程大学生命科学与食品工程学院, 邯郸 056038)

摘 要: 目的 通过优化超声辅助乙醇提取脱油蛋黄粉中卵磷脂的工艺, 并研究其抗氧化活性。**方法** 本研究通过响应面实验设计优化超声处理辅助乙醇提取工艺, 探究了超声时间、乙醇浓度、料液比 3 个因素对蛋黄卵磷脂提取效果的影响; 再通过氯化锌沉淀、丙酮纯化得到蛋黄卵磷脂产品, 并对其脂肪酸组成、结构、抗氧化活性进行表征。**结果** 最佳工艺为: 超声时间 33 min, 乙醇浓度 94%, 料液比 1:22 (g:mL), 此条件下所制蛋黄卵磷脂含量 354.179 mg/g。蛋黄卵磷脂由 12 种脂肪酸组成, 其中饱和脂肪酸占总量的 53.32%, 不饱和脂肪酸占 46.68%; 在 4000~400 cm^{-1} 波数下与标准品出峰基本一致, 在波数为 1089.5、1220 及 2851 cm^{-1} 处出现相同的特征基团伸缩振动, 高效液相色谱法检测到蛋黄卵磷脂样品中磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)含量分别为 268.9、23.6 及 100.3 mg/g, PC 约占 89.65%, 表明所制蛋黄卵磷脂纯度较高; 卵磷脂对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基、超氧阴离子自由基均有较好的清除率, 且与样品浓度呈正相关, 最大为 52.02%和 82.2%, 总抗氧化能力为 80.81%。**结论** 利用超声辅助乙醇提取方法可从脱油蛋黄粉中提出纯度较高、抗氧化活性好的蛋黄卵磷脂, 提高了脱油蛋黄粉的利用率。

关键词: 超声辅助; 蛋黄卵磷脂; 溶剂提取; 抗氧化活性

Study on process optimization of ultrasound-assisted extraction of lecithin from defatted egg yolk powder and its antioxidant activity

DUAN Yi-Rong, YANG Ju-Na, CAO Dai-Lin, MIAO Ke-Xin, LIU Jia-Qi, LIU Mei-Yu*
(*School of Life Sciences and Food Engineering*, *Hebei University of Engineering*, *Handan* 056038, *China*)

ABSTRACT: Objective To investigate the antioxidant activity of lecithin by optimizing the process of ultrasonic-assisted ethanol extraction of lecithin from defatted egg yolk powder. **Methods** This study optimized the

收稿日期: 2025-09-25
基金项目: 河北省现代农业产业技术体系建设专项资金项目(HBCT2024260208); 中央引导地方科技发展资金项目(246Z7103G)
第一作者: 段一蓉(2002—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为蛋品科学。E-mail: dyr20026606@163.com
***通信作者:** 刘美玉(1968—), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为蛋品科学。E-mail: lmy200751@163.com

ultrasound-assisted ethanol extraction process using response surface methodology, investigating the effects of 3 factors: Ultrasonic time, ethanol concentration and solid-to-liquid ratio on the extraction efficiency of egg yolk lecithin. The resulting product was further purified via zinc chloride precipitation and acetone purification. The fatty acid composition, structure and antioxidant activity of the purified egg yolk lecithin were characterized. **Results** The optimal extraction conditions were as follows: Ultrasonic time of 33 min, ethanol concentration of 94% and solid-to-liquid ratio of 1:22 (g:mL). Under these conditions, the lecithin content was 354.179 mg/g. Egg yolk lecithin was composed of 12 kinds of fatty acids, among which saturated fatty acids accounted for 53.32% of the total, and unsaturated fatty acids account for 46.68%. The infrared spectrum of egg yolk lecithin (in the wavelength of 4000–400 cm^{-1}) was basically consistent with that of standard. The same characteristic group stretching vibrations appeared at wave numbers of 1089.5, 1220 and 2851 cm^{-1}. High performance liquid chromatography analysis showed that the content of phosphatidylcholine (PC), phosphatidylinositol (PI) and phosphatidylethanolamine (PE) in the egg yolk lecithin sample were 268.9, 23.6 and 100.3 mg/g, respectively. The proportion of PC was approximately 89.65%, indicating that the prepared egg yolk lecithin had high purity. Lecithin exhibited good scavenging rates against 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical and superoxide anion free radicals, which were positively correlated with the sample concentration. The maximum scavenging rates were 52.02% and 82.2%, respectively, and the total antioxidant capacity was 80.81%. **Conclusion** The ultrasonic-assisted ethanol extraction method can extract egg yolk lecithin with high purity and good antioxidant activity from defatted egg yolk powder, which improves the utilization rate of defatted egg yolk powder.

KEY WORDS: ultrasound-assisted; egg yolk lecithin; solvent extraction; antioxidant activity

0 引 言

卵磷脂又称蛋黄素, 在蛋黄、豆科植物和动物肝脏中普遍存在, 可提供 90%人体所需的外源性胆碱[1]。蛋黄卵磷脂占鸡蛋黄干重的 8%~10%[2], 主要以磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)为主, 约占总重 80%, 其余部分由磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)和磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)及少量溶血磷脂酰乙醇胺(lyso phosphatidyl ethanolamine, LPE)和鞘磷脂(sphingomyelin, SM)共同组成, 作为三大营养素之一[3], 具有优异的生物相容性、两亲性[4], 具有调节血脂、维持肝脑功能、抗氧化、提高记忆力、调控细胞代谢、信号传导等一系列生理功能, 在食品[5]、医药及日用化工等领域应用较为普遍[6−7]。

在蛋黄卵磷脂的提取工艺方面, 有机溶剂提取法是传统且工业应用广泛的技术, 其原理是利用丙酮、烷烃等有机溶剂对磷脂的选择性溶解差异, 从而实现磷脂与其他组分的分离, 该方法操作简便, 但可能存在溶剂残留、提取效率有限等问题[8]。为优化提取效果, 实际操作中常将其与高压脉冲电场、超声波或微波等新型辅助技术结合, 通过改进提取溶剂配比与工艺参数(如超声时间、温度), 可有效提高磷脂的提取率。如鲍妮娜[9]利用高压脉冲电场结合溶剂提取鹿茸渣中的卵磷脂, 将卵磷脂质量提高至 1.592 mg/g; 孙静等[10]选择乙醇和石油醚作为提取溶剂, 利用超声微波处理制备了鸭蛋黄卵磷脂。除此之外, 还有低温沉淀法[11]、超临界萃取法、色谱法、酶法、柱层析法等[1,12], 但这些技术各有局限性: 高洁[13]利用乙醇辅助超临界萃取法制备蛋黄卵磷脂, 纯度可达 96%以上, 但该方法需使用大量夹带剂来改变流体极性, 成本较高, 难以满足规模化生产需求[3]; 酶解法依赖酶的专一性与高效性以实现卵磷脂提取的目的, 但酶解过程可能破坏卵磷脂的分子结构, 影响产品品质[14]; GUO 等[15]使用溶剂提取法结合高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)从桔梗中提取卵磷脂, 但过程较为复杂; 柱层析法可制备高纯度卵磷脂, 但其处理量小, 且常需使用有毒有机溶剂, 限制了工业化推广。

综合对比后, 选择以乙醇为溶剂[16]、结合超声辅助的提取方案, 在成本控制与操作可行性上更具优势, 尤其适合蛋黄卵磷脂的规模化提取。但该提取方案存在一个关键问题: 卵磷脂溶于乙醇后, 在旋蒸回收中易粘附于容器壁, 导致产物损失。为解决这一问题, 引入金属离子沉淀法提升卵磷脂的回收效率, 其原理是利用金属离子与卵磷脂形成沉淀后回收, 可减少产物损失[17]。

本研究以脱油蛋黄粉为原料, 采用超声辅助乙醇提取与金属离子沉淀法制备蛋黄卵磷脂, 通过响应面设计实验对超声提取工艺参数进行筛选优化, 为全面评价蛋黄卵磷脂的品质, 利用气相色谱法(gas chromatography, GC)和 HPLC 分析其脂肪酸组成和主要胆碱组分的含量, 借助傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)仪对其结构进行表征, 最终制备高纯度、具有良好抗氧化活性的蛋黄卵磷脂, 有效拓展了脱油蛋黄粉的应用场景, 为蛋黄卵磷脂的高效提取工艺及品质评价体系的构建提供数据支撑与理论参考。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

脱油蛋黄粉(实验室自制)。

PC、PI、PE 标准品(纯度≥98%, 中国食品药品检定研究院); 无水乙醇、丙酮、氯化锌、氧化锌、氢氧化钾(分析纯, 天津欧博凯化工有限公司); 甲酸铵、甲醇、三氯甲烷、乙腈(色谱纯, 上海麦克林生物试剂公司); 钼酸钠、硫酸联胺、邻苯三酚、溴化钾、三羟甲基氨基甲烷(分析纯, 天津市众联化学试剂有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical, DPPH)(纯度≥98%, 美国阿法埃莎化学有限公司); 总抗氧化能力试剂盒(江苏艾迪生生物科技有限公司); 实验用水为蒸馏水。

1.2　仪器与设备

FRQ-1010HT 超声清洗器(杭州法兰特超声波科技有限公司); UV-1780 紫外可见分光光度计(苏州岛津仪器有限公司); SY-2000 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器有限公司); HJ-1 磁力搅拌器(常州金分仪器有限公司); GL-21M 高速冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); Agilent 7820A 气相色谱仪、HP-88 色谱柱(100 m×0.25 mm, 0.2 μm)(美国安捷伦公司); LC-2030C Plus 液相色谱仪(带 Water X Bridge HILIC 柱 250 mm×4.6 mm, 日本岛津仪器有限公司); Multiskan Skyhigh 酶标仪(北京伯迈科技有限公司); Nicolet Avatar-370 傅里叶红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　脱油蛋黄粉中卵磷脂的提取工艺流程

确定超声频率为 40 kHz, 将 5 g 脱油蛋黄粉与 100 mL 不同浓度乙醇混合浸泡 1 h 后开始超声提取, 超声结束后收集样液置于 50 mL 离心管, 4000 r/min, 离心 8 min, 取上清, 加入 35%氯化锌溶液 20 mL, 使用相同条件离心, 收集沉淀在真空冷冻干燥机中干燥 24 h, 得到卵磷脂粗品。

1.3.2　单因素实验设计

探究不同乙醇浓度(84%、88%、92%、96%、无水乙醇)、超声时间(15、30、45、60、75 min)、料液比(1:5、1:10、1:15、1:20、1:25, g:mL)对从脱油蛋黄粉中提取蛋黄卵磷脂的提取效果, 以所得卵磷脂粗品中卵磷脂含量作为评价标准, 筛选合适的工艺参数进行下一步实验。

1.3.3　响应面实验设计

基于单因素实验结果, 选取乙醇浓度、料液比、超声时间进行响应面实验, 以卵磷脂含量为指标, 优化实验参数, 因素设计水平见表 1。

1.3.4　卵磷脂磷含量测定

采用钼蓝比色法测定样品中总磷含量。参考何仙玉等[18]方法。取 0.5 g 样品与 0.5 g 氧化锌置于坩埚, 电炉加热至完全炭化后, 移至马弗炉 550 ℃灰化至彻底。加入 10 mL 1:1 (*V*:*V*)盐酸加热微沸, 过滤至 50 mL 锥形瓶; 用 5 mL 热水冲洗坩埚 3 次, 洗液并入锥形瓶, 加 50%氢氧化钾中和至出现浑浊, 滴加 1:1 (*V*:*V*)盐酸至沉淀溶解, 补加 2 滴保持酸性, 最后加水定容至 100 mL。取 10 mL 待测液于具塞比色管中, 依次加入 8 mL 0.015%硫酸联氨溶液和 2 mL 2.5%钼酸钠溶液, 混匀后沸水浴 10 min, 待其冷却后加去离子水至 25 mL 刻度线, 摇匀待测, 以水为空白对照, 在 650 nm 波长处测定其吸光度。对比磷标准曲线(Y=0.1119X+0.0916, r^2=0.9971), 按式(1)计算卵磷脂含量。

表 1　响应面设计表
Table 1　Table of response surface design

水平	因素		
	A: 乙醇浓度/%	*B*: 超声时间/min	*C*: 料液比(g:mL)
–1	88	15	1:15
0	92	30	1:20
1	96	45	1:25

$$C=(P/m)\times(V_1/V_2)\times 26.31 \quad (1)$$

式中: C 为卵磷脂含量, mg/g; P 为标准曲线所对应的磷含量, mg; m 为卵磷脂提取物样品的质量, g; V_1 为样品灰化后稀释的体积, mL; V_2 为检测时所取待测液体积, mL; 26.31 为换算系数。

1.3.5　蛋黄卵磷脂的精制

利用卵磷脂不溶于丙酮的特性[19], 将上述实验中的粗提卵磷脂用丙酮搅拌洗脱, 直至上清液呈淡黄色或无色, 洗脱完成后使用旋转蒸发仪除去丙酮, 取丙酮不溶物于恒温干燥箱 35 ℃干燥 1.5 h 后收集密封保存, 记作精制蛋黄卵磷脂。洗脱前后干燥称重, 按照式(2)计算回收率:

$$R/\%=\frac{M_0}{M_1}\times 100\% \quad (2)$$

式中: R 为蛋黄卵磷脂回收率, %; M_1 为粗卵磷脂质量, g; M_0 为蛋黄卵磷脂质量, g。

1.3.6　精制蛋黄卵磷脂脂肪酸组成与结构分析

(1) GC 分析蛋黄卵磷脂脂肪酸组成

根据 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》中内标法测定蛋黄油中脂肪酸含量。

GC 条件: 进样口温度 270 ℃; 分流比 30:1, 初始温度 100 ℃保持 1 min, 以 15 ℃/min 速率升至 190 ℃并保持 4 min; 再以 1 ℃/min 升至 100 ℃保持 15 min; 随后以 1 ℃/min 升至 205 ℃保持 4 min; 最后以 5 ℃/min 升至 240 ℃, 保持 9 min。检测器温度: 280 ℃; 空气流量: 400 mL/min, 氢气燃气流量: 40 mL/min, 尾吹气流量: 25 mL/min。

(2) HPLC 分析蛋黄卵磷脂中 PC、PE、PI 含量

精确称取 0.3 g 试样于 50 mL 棕色容量瓶中, 加入 30 mL 三氯甲烷-甲醇混合液, 涡旋 15 min 至样品完全溶解后定容至 50 mL, 超声处理 30 min。取上清液经 0.45 μm 有机

滤膜过滤，待测。

色谱条件：柱温 30 ℃，流动相 A 为 0.9 mmol/L 甲酸铵溶液，流动相 B 按以下梯度洗脱：0~1 min，95%乙腈，1~5 min，乙腈 95%~67%，5~6 min，乙腈 67%，6~12 min，95%乙腈，流速 1 mL/min，进样量 10 μL，检测波长：205 nm。

(3) FT-IR 分析蛋黄卵磷脂结构分析

参考毕爽等[20]的方法并适当修改，将蛋黄卵磷脂和 PC 标准品溶液分别与充分干燥过的 KBr 按照 1:150 的比例在红外灯下混合研磨至细密贴壁，放于压片机中压制透明薄片，于波数 4000~400 cm^{-1} 进行扫描。扫描空白背景后依次将样品压片放置样品池扫描，样品扫描次数和背景扫描次数均为 32。

1.3.7 蛋黄卵磷脂抗氧化特性研究

(1)蛋黄卵磷脂 DPPH 自由基清除率

DPPH 自由基形式在 517 nm 处有强吸收，其与抗氧化剂或氢供体反应时，会接收一个氢原子形成 DPPH，颜色会从紫色变为黄色[21]。称取适量精制卵磷脂加入无水乙醇溶解稀释，制备 2、4、6、8、10 mg/mL 样品溶液，吸取 100 μL 各个浓度样液和 0.1 mmol/L DPPH 工作液(0.002 g DPPH 溶于 50 mL 无水乙醇)加入 96 孔板，对照组为 DPPH 和水各 100 μL；空白组为样品溶液和无水乙醇各 100 μL；避光操作后振荡均匀，室温避光反应 30 min，测定 517 nm 处吸光度，按式(3)计算样品对 DPPH 自由基的清除率。

$$DPPH\ 自由基清除率/\%=[1-(As-Ab)/Ac]\times 100\% \quad (3)$$

式中：As 为样品组吸光度值；Ab 为空白组吸光度值；Ac 为对照组吸光度值。

(2)蛋黄卵磷脂超氧阴离子自由基清除能力

使用邻苯三酚自氧化法测定，参考孟丽媛等[22]方法稍加修改。于 25 ℃条件下加入 2950 μL Tris-HCl 缓冲液和 50 μL 60 mmol/L 连苯三酚溶液，迅速混合，每 30 s 读一次吸光度值(325 nm)，至 300 s 结束，按式(4)计算 ΔA，记作 ΔA_0。向 96 孔板中分别加入 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 卵磷脂溶液 1000 μL，再加入 1950 μL Tris-HCl 缓冲液和 50 μL 连苯三酚溶液，迅速混合后记时，每 30 s 记其 A 值(325 nm)，300 s 读数后结束实验。清除率计算见公式(5)。

$$\Delta A_0=A_{300}-A_{30} \quad (4)$$

$$清除率/\%=(\Delta A_0-\Delta A_{样})/\Delta A_0\times 100\% \quad (5)$$

式中：A_{30} 为 30 s 时样品在 325 nm 处吸光度；A_{300} 为 300 s 时样品在 325 nm 处吸光度。

(3)蛋黄卵磷脂总抗氧化能力的测定

根据总抗氧化能力试剂盒中说明书操作，在 96 孔板中依次加入 5 μL 样本溶液(100 mg/mL)、25 μL 80%乙醇溶液、170 μL 显色液，以样本溶液作为空白对照，混匀后室温反应 10 min，于 590 nm 处测定吸光度，按说明书计算总抗氧化能力。

1.4 数据处理

所有实验均测定 3 次，采用 SPSS 27 和 Origin 2022 软件对实验数据进行显著性分析与绘图，采用 Design-Expert 13 对响应面数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

(1)不同乙醇浓度对蛋黄卵磷脂含量的影响

乙醇浓度对蛋黄卵磷脂含量的影响如图 1 所示。在乙醇浓度 84%~92%范围内蛋黄卵磷脂含量随溶剂浓度升高而升高，且在 92%时显著优于其他组($P<0.05$)，为 88.21 mg/g。溶剂提取法是利用相似相溶的原理进行提取，当乙醇浓度在 96%时蛋黄卵磷脂含量反而下降，可能是乙醇的体积浓度增大后水分含量减少，破坏了磷脂的亲水亲油平衡，使其溶解度降低[23]，综上选择乙醇浓度 88%、92%、96%进行响应面实验。

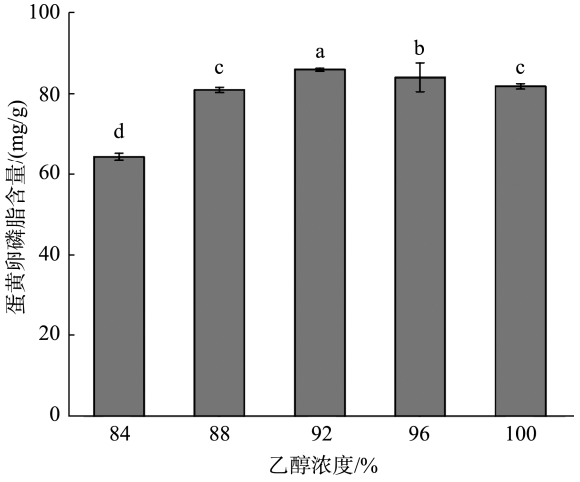


图 1 不同乙醇浓度对蛋黄卵磷脂含量的影响

Fig.1 Effects of different ethanol concentrations on the content of egg yolk lecithin

(2)不同超声时间对蛋黄卵磷脂含量的影响

从图 2 可以看出，在实验初始阶段，蛋黄卵磷脂含量随着超声时间增长而显著提高，且在超声时间为 30 min 时显著高于其他组($P<0.05$)，含量为 102.82 mg/g，延长提取时间，其含量呈现先降低后稳定的趋势，基本稳定在 87 mg/g。适当延长超声时间可通过促进乙醇对蛋黄粉颗粒结构的破坏，提高溶剂提取的效率，与此同时超声波的机械振动也会加速蛋白-脂质复合物的解离，但超过 30 min 后分子扩散速率变小，蛋黄卵磷脂溶解逐渐趋于饱和；继续超声提取，溶质分子不断碰撞会导致料液温度升高，可能会造成部分蛋黄卵磷脂被氧化导致提取效果不佳，因此选择超声时间为 15、30、45 min 进行后续实验。

(3)不同料液比对蛋黄卵磷脂含量的影响

料液比是溶剂萃取的重要影响因素之一。分析图 3 可知，随着溶剂量增加，蛋黄卵磷脂的含量随之升高，在料液比为 1:20 (g:mL)时提取效果最显著($P<0.05$)，蛋黄卵磷脂含量为 122.71 mg/g。增加乙醇含量可以使物料与溶剂的接触面积更大，从而提高提取效率，继续提高溶剂用量提取效果逐渐趋于稳定，说明此时溶剂与物料的量已达到平衡，继续增大用量不会使蛋黄卵磷脂溶解度增加[24]，反而会

增加成本, 因此选用 1:15、1:20、1:25 (g:mL)进行后续实验。

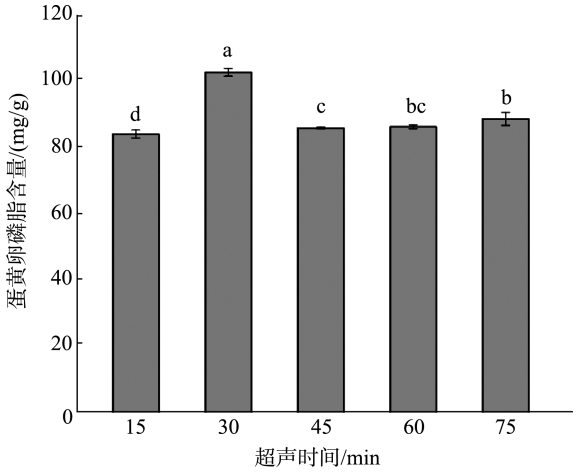


图 2　不同超声时间对蛋黄卵磷脂含量的影响

Fig.2　Effects of different ultrasonic times on the content of egg yolk lecithin

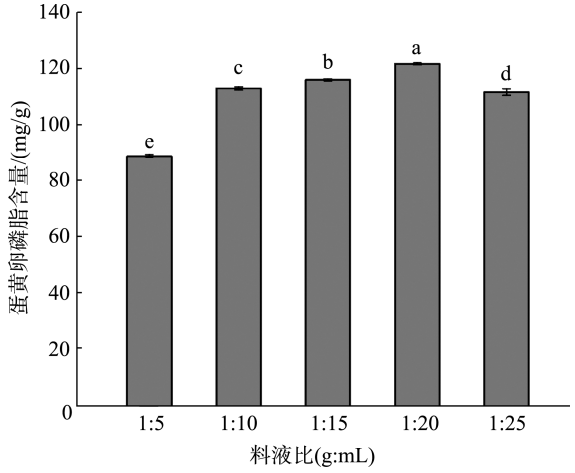


图 3　不同料液比对蛋黄卵磷脂含量的影响

Fig.3　Effects of different solid-liquid ratios on the content of egg yolk lecithin

2.2　响应面实验结果分析

根据表 1 进行实验, 响应面实验结果见表 2。使用 Design expert 13 软件, 对表 2 中的实验数据进行回归拟合分析得到蛋黄卵磷脂含量(Y)的回归方程为:

Y=345.93+27.02A+10.16B+14.73C–5.31AB+10.84AC+3.86BC–41.7A^2–21.38B^2–27.36C^2。

对表 2 数据进行方差分析与显著性检验, 由表 3 可知模型确定系数 R^2=0.9863, 数值接近 1, 表明模型对实验数据的拟合程度优异, 能较好反映变量间的关系; 模型矫正决定系数 R^2_{Adj} 为 0.9686, 说明排除无关变量影响后, 模型对实际结果的预测可信度仍达 96.86%, 预测准确性较高; 该回归模型 P<0.0001, 失拟项 P 为 0.7913 (P>0.05)进一步体现该拟合模具有极强的统计学显著性, 变量间的线性关系可靠, 不存在显著的系统误差, 模型偏差较小。对数据方差分析可得: 模型一次项(X)和二次项(X^2)极显著影响蛋黄卵磷脂提取效果(P<0.01); 交互项 AC 显著影响卵磷脂提取效果(P<0.05), 交互项 AB、BC 不显著。综合来看, 3 个因素对蛋黄卵磷脂的提取效率影响程度贡献大小为: 乙醇浓度(A)>料液比(C)>超声时间(B)。

表 2　响应面实验结果

Table 2　Results of response surface experiments

编号	A: 乙醇浓度/%	B: 超声时间/min	C: 料液比(g:mL)	卵磷脂含量/(mg/g)
1	0	–1	–1	272.143
2	–1	0	–1	248.402
3	1	0	–1	280.532
4	1	0	1	327.005
5	0	0	0	336.186
6	0	0	0	340.953
7	1	1	0	313.156
8	0	1	–1	288.125
9	1	–1	0	306.819
10	–1	0	1	251.51
11	0	0	0	354.719
12	0	1	1	329.951
13	–1	–1	0	241.911
14	0	–1	1	298.541
15	0	0	0	353.159
16	0	0	0	344.62
17	–1	1	0	269.497

表 3　回归模型方差分析结果

Table 3　Analysis of variance results for the regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	22750.21	9	2527.80	55.79	<0.0001	**
A: 乙醇浓度	5842.37	1	5842.37	128.94	<0.0001	**
B: 超声时间	826.52	1	826.52	18.24	0.0037	**
C: 料液比	1734.75	1	1734.75	38.29	0.0005	**
AB	112.88	1	112.88	2.49	0.1585	
AC	470.13	1	470.13	10.38	0.0146	*
BC	59.51	1	59.51	1.31	0.2895	
A^2	7523.29	1	7535.53	124.38	<0.0001	**
B^2	1924.10	1	1924.10	42.47	0.0003	**
C^2	3291.73	1	3291.73	54.33	<0.0001	**
残差	424.11	7	60.59			
失拟项	66.23	3	22.08	0.3519	0.7913	
纯误差	250.94	4	62.73			
总离差	23067.38	16				
R^2	0.9863					
R^2_{Adj}	0.9686					

注: *表示差异显著(P<0.05); **表示差异极显著(P<0.01)。

图 4 是在提取因素交互作用下对蛋黄卵磷脂含量影响的响应面等高线图。其中响应因素交互等高图(图 4A、B、C)呈现椭圆形, 曲线(图 4a、b、c)走势陡峭, 说明交互因素对卵磷脂含量的影响较为显著。在超声提取时间为 33.38 min,

乙醇浓度为93.43%，料液比为1:21.78 (g:mL)条件下卵磷脂含量达到最大，为354.499 mg/g，为了方便实际操作，选取超声时间33 min，乙醇浓度94%，料液比1:22 (g:mL)作为最终提取工艺。在上述工艺条件下进行验证实验，所得蛋黄卵磷脂含量为354.179 mg/g，与此时的预测值相差0.32，误差较小，证明该模型拟合较好，可重复性较高。

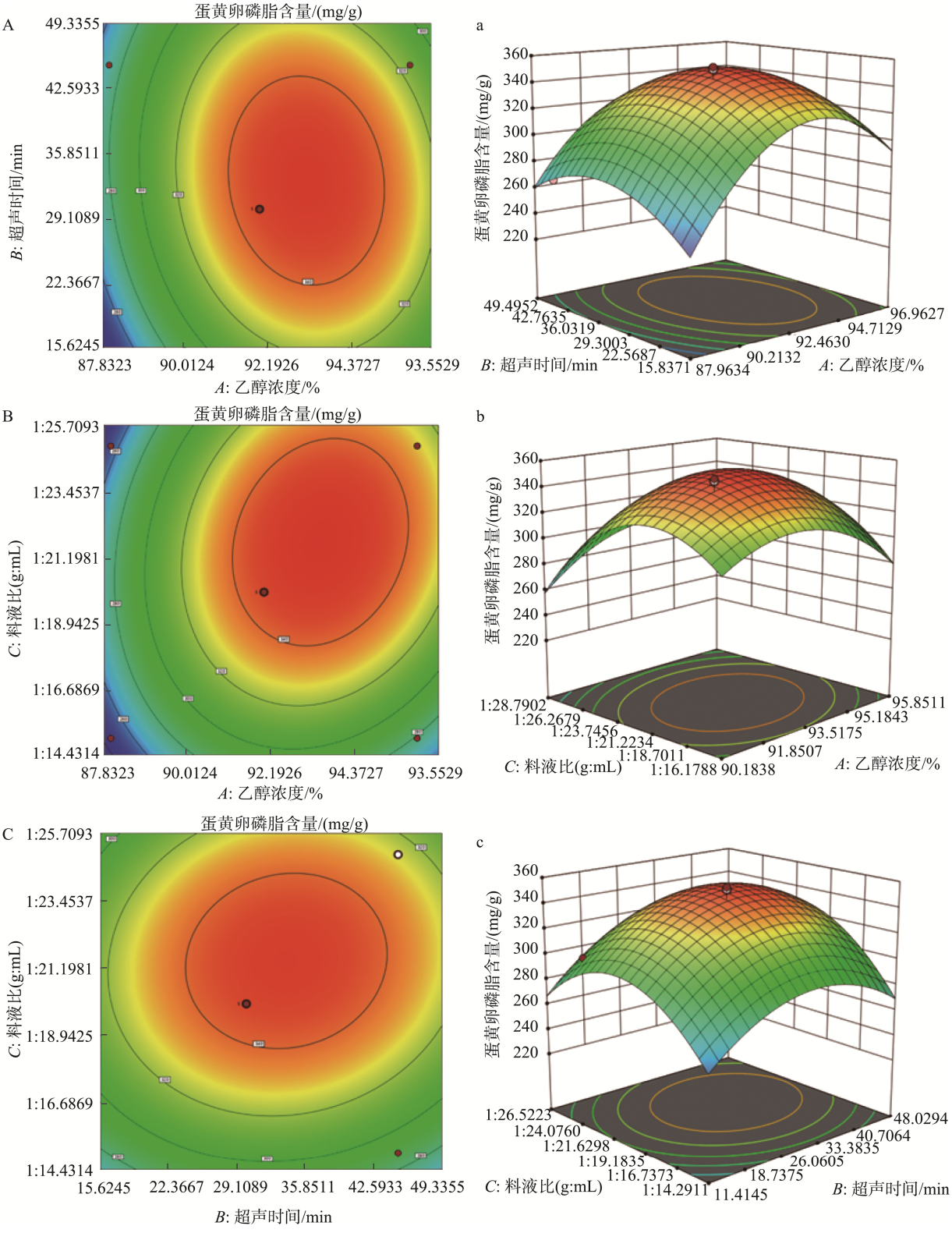


图 4 响应因素交互作用对蛋黄卵磷脂含量影响的响应面和等高线图

Fig.4 Response surface and contour plots of the effects of interaction between response factors on egg yolk lecithin content

2.3　蛋黄卵磷脂精制回收率

称取粗卵磷脂 2 g，倒入冰丙酮放于磁力搅拌器上搅拌洗脱 3 次，至上清为淡黄或无色，然后于 35 ℃旋蒸除去丙酮，取丙酮不溶物干燥后称重，计算得到蛋黄卵磷脂的回收率为 45.37%，分析原因可能是在洗脱转移过程中部分卵磷脂粘附在容器上难以收集，造成回收损失。精制后卵磷脂颜色呈淡黄色，微微发白；卵磷脂纯品颜色为淡黄乳白色，表明本研究所制蛋黄卵磷脂品质较好。

2.4　GC 分析蛋黄卵磷脂脂肪酸组成

对精制蛋黄卵磷脂的脂肪酸组成检测结果如图 5 所示。

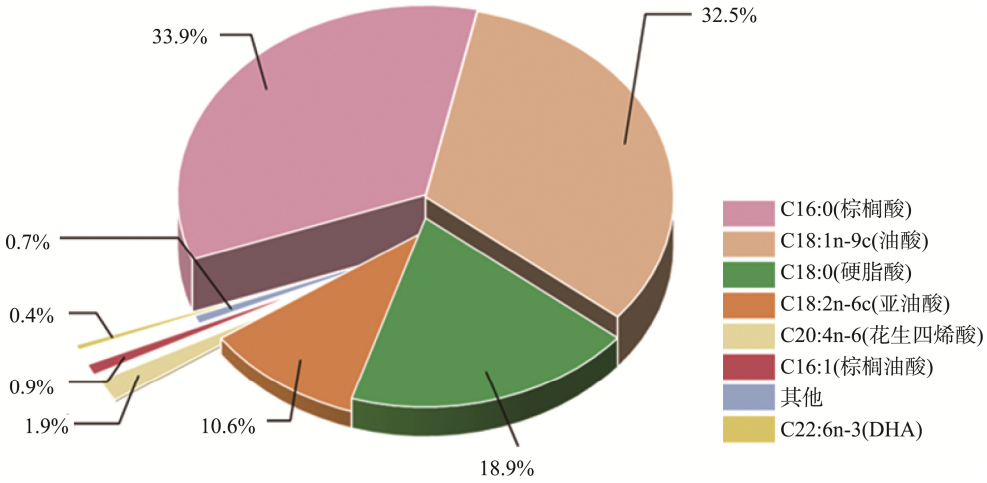


图 5　蛋黄卵磷脂脂肪酸组成饼状图

Fig.5　Pie chart of fatty acid composition of egg yolk lecithin

从蛋黄卵磷脂中共检出 12 种脂肪酸，其中棕榈酸与油酸的占比相对突出，分别为 33.9%和 32.5%。分析脂肪酸组成可知：饱和脂肪酸总含量为 53.32%，不饱和脂肪酸总含量为 46.68%，脂肪酸组成与现有研究结果一致：饱和脂肪酸以棕榈酸与硬脂酸为主，不饱和脂肪酸以油酸与亚油酸为主[25]。

丰富的脂肪酸组成赋予卵磷脂多样的生物活性，如 XU 等[26]研究发现：多不饱和脂肪酸尤其是 C18:2n-6c(亚油酸)、C22:6n-3(二十二碳六烯酸)对龙虾卵巢发育有重要作用，此外，卵磷脂中的不同脂肪酸成分可减轻认知能力下降和生物损伤[27]。值得关注的是，蛋黄卵磷脂中含有 1.9%的花生四烯酸(arachidonic acid, ARA)和 0.4%的二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)，前者是前列腺素和白三烯等类二十烷酸信号分子的前体，参与调节炎症反应、免疫功能和细胞信号传导[28]；后者则是大脑和视网膜脂质结构的重要组成部分，对神经发育和认知功能具有显著影响[29–30]。研究表明，适量摄入 ARA 和 DHA 可支持婴幼儿脑发育、改善脑功能，并有助于神经保护[31]。尽管它们在蛋黄卵磷脂中含量不高，但协同其他脂肪共同作用时，可能会增强脂质体的功能与生物利用度，使卵磷脂在功能性食品与保健品中有更多的应用潜力。

2.5　HPLC 分析蛋黄卵磷脂主要胆碱物质含量

表 4 展示的是蛋黄卵磷脂样品中磷脂的胆碱含量组成。

由于卵磷脂是由多种成分组合而成，每种磷脂分子结构内的链长、双键的位置和个数均有差异，选择 PC、PI、PE 标准品进行比对：PC 标准品的保留时间在 8.463 min 左右，PE 标准品的保留时间在 7.612 min 左右，PI 标准品的保留时间在 6.683 min 左右，蛋黄卵磷脂中 PC、PI、PE 出峰时间与标准品基本相符，对表 4 中数据分析可得，蛋黄卵磷脂中 PC 含量最高，可达 268.9 mg/g，占样品的 89.65%；PE 占比次之，为 100.3 mg/g，说明本研究所制备的蛋黄卵磷脂纯度较高。

表 4　蛋黄卵磷脂中 PC、PI、PE 含量及保留时间表

Table 4　Content and retention time table of PC, PI and PE in egg yolk lecithin

化合物名称	含量/(mg/g)	保留时间/min
PC	268.9	8.352
PI	23.6	7.541
PE	100.3	6.483
总量	392.9	-

注：-表示无数据。

2.6　FT-IR 分析蛋黄卵磷脂结构

由于蛋黄卵磷脂的主要组成为 PC，选取 PC 标准品作为红外光谱的对照。蛋黄卵磷脂、PC 标准品的 FT-IR 分析见图 6。

由图 6 可知，在 4000~400 cm^{-1} 区域内，蛋黄卵磷脂与 PC 标准品的主要吸收峰相同，均在 2851 cm^{-1}、1220 cm^{-1} 处有较明显出峰，蛋黄卵磷脂在 2700~1800 cm^{-1} 区域内相对平稳，与 PC 标准品的图谱基本相符。

对两者特征峰所代表基团结构分析知：波数 970 cm^{-1} 处的吸收峰为 C-N 的伸缩振动，来源于磷脂中的亲水头部基团的胆碱部分，可以看作 PC 的特征峰；波数 1089.5 cm^{-1} 处的吸收峰是 P-O-C 伸缩振动；波数 1220 cm^{-1} 为 P=O 伸缩振动[18]；波数 1738 cm^{-1} 处的吸收峰为 C=O 伸缩振动，主要涉及磷脂分子中 sn-1 和 sn-2 位酯酰基上的羰基 C=O 的伸缩振动，是形成氢键的潜在位点[32]；位于 2851 cm^{-1} 和 3008 cm^{-1} 的吸收峰分别归属于饱和 C-H 与不饱和=C-H 的伸缩振动，这是蛋黄卵磷脂中脂肪酸链的典型特征。

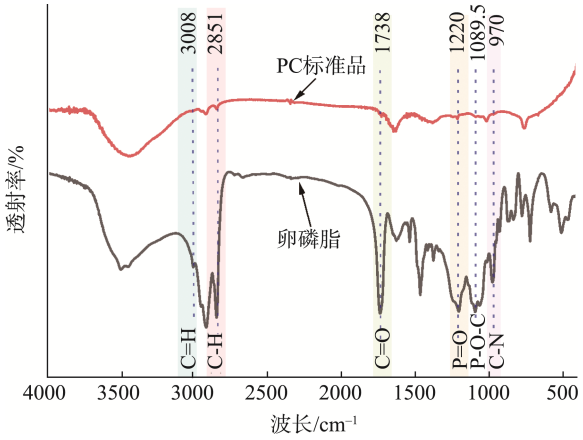


图 6 蛋黄卵磷脂 FT-IR 图

Fig.6 FT-IR diagram of egg yolk lecithin

2.7 蛋黄卵磷脂抗氧化活性分析

2.7.1 蛋黄卵磷脂对 DPPH 自由基清除率的影响

图 7 体现的是不同浓度的蛋黄卵磷脂对 DPPH 自由基清除率的影响。

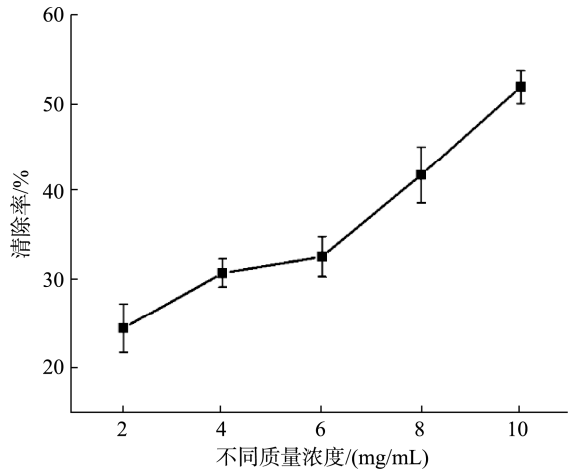


图 7 蛋黄卵磷脂对 DPPH 自由基清除率曲线

Fig.7 DPPH radical scavenging rate curve of egg yolk lecithin

分析图 7 可知，蛋黄卵磷脂具有 DPPH 自由基清除能力。在 2~10 mg/mL 质量浓度范围内，随着样品浓度的逐步升高，自由基清除率随之增大，这一趋势与伍艳霞[33]的研究相符：即浓度与清除率呈现出良好的正相关关系，蛋黄卵磷脂在 10 mg/mL 时对 DPPH 的清除率达到 52.02%，DPPH 含有的非对称价电子可与不饱和脂肪酸配对形成 DPPH-H，随后不饱和脂肪酸发生进一步反应如共轭化、C=C 双键氧化或环氧化反应形成稳定的非自由基产物，达到清除 DPPH 自由基的目的[34]。

2.7.2 蛋黄卵磷脂对超氧阴离子自由基清除率的影响

图 8 体现了不同浓度下的蛋黄卵磷脂对超氧阴离子清除率的影响。邻苯三酚的化学性质特殊，其自氧化反应及对超氧阴离子自由基的生成过程对 pH 和温度极为敏感—pH 偏离适宜范围易导致其氧化速率显著波动，温度升高则会加速自氧化反应干扰检测结果，因此本研究严格控制反应体系的温度为 25 ℃、pH=7.4。

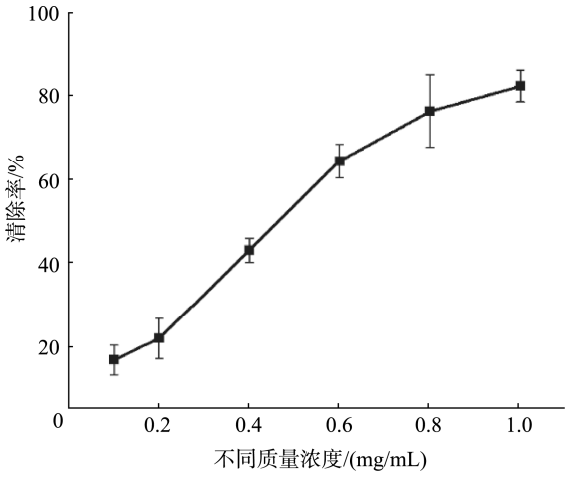


图 8 蛋黄卵磷脂对超氧阴离子自由基清除率曲线

Fig.8 Superoxide anion scavenging rate curve of egg yolk lecithin

分析图 8 发现，蛋黄卵磷脂对 O_2^-自由基的清除效果呈现出明确的浓度依赖性：随着蛋黄卵磷脂浓度的增大，其对 O_2^-自由基的清除率随之增大，在 0.1~1.0 mg/mL 的质量浓度范围内，卵磷脂浓度与 O_2^-自由基清除率呈正相关线性趋势，浓度与清除率的变化趋势一致，未出现清除效率停滞或下降的情况，当卵磷脂质量浓度达到 1 mg/mL 时，O_2^-自由基的清除率达到 82.2%，分析其原因可能是通过卵磷脂通过胶束作用将 O_2^-包围在微小的疏水微环境中，有效延缓链式反应的蔓延，与此同时卵磷脂中的不饱和脂肪酸如亚油酸和油酸可以通过提供氢原子直接与其发生反应，中断自由基链式反应的进程；两者协同作用使得卵磷脂具有较好的抗氧化活性[12]。

2.7.3 蛋黄卵磷脂的总抗氧化能力总抗氧化能力的测定

总抗氧化能力是利用抗氧化物可以还原 Fe^{3+}产生蓝色的亚铁离子-2,4,6-三吡啶基三嗪 (ferrousion-2,4,6-tripyridyl-s-triazine，Fe^{2+}-TPTZ)，该复合物在 593 nm 波长处具有特异性吸收峰[35]，吸光度越高，表明样品还原 Fe^{3+}

生成 Fe^{2+}-TPTZ 的量越多, 总抗氧化能力越强, 因此通过测定 590 nm 处的吸光度值, 并结合标准曲线计算得到蛋黄卵磷脂的总抗氧化能力可达 80.81%, 蛋黄卵磷脂的还原能力与其不饱和脂肪酸组成相关, 脂肪酸可通过释放氢原子或电子与体系中的氧化性物质如 Fe^{3+}发生反应, 从而发挥抗氧化作用。

3　结　论

本研究采用响应面法优化了蛋黄卵磷脂超声辅助有机溶剂提取的工艺, 拟合出可信度达 96.86%的模型, 最佳工艺参数为: 超声时间 33 min, 乙醇浓度 94%, 料液比 1:22 (g:mL)此条件下所提蛋黄卵磷脂含量为 354.179 mg/mL, 与模型预测结果相近。FT-IR 和 HPLC 结果表明所提蛋黄卵磷脂具有卵磷脂特征性基团 P=O、C-N 等, 与标准卵磷脂结构相符, 胆碱含量从大到小为 PC>PE>PI, 其中 PC 含量为 268.9 mg/g, 本研究所制备的蛋黄卵磷脂纯度较高。GC 分析表明蛋黄卵磷脂的由 12 种脂肪酸组成, 其中棕榈酸和油酸占比较大, 为 33.9%和 32.5%; 且饱和脂肪酸含量较不饱和脂肪酸高 6.64%, 也检测出了 ARA 和 DHA。卵磷脂对 DPPH 自由基、超氧阴离子自由基的清除率分别为 50.02%和 82.2%, 且随样品浓度越大清除率越高, 总抗氧化能力为 80.81%。综上所述, 本研究优化的提取工艺兼具高效性与实用性, 制备了一种具有较好抗氧化活性的蛋黄卵磷脂产品, 为蛋黄及蛋黄卵磷脂的深加工提供数据支撑。

参考文献

[1] ZHAO F, LI R, LIU Y, *et al*. Perspectives on lecithin from egg yolk: Extraction, physicochemical properties, modification, and applications [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 9: 1082671.

[2] 朱云芬, 陈宽维, 葛庆联, 等. 分光光度法测定鸡蛋黄卵磷脂含量[J]. 江苏农业学报, 2010, 26(4): 853–856.
ZHU YF, CHEN KW, GE QL, *et al*. Determination of lecithin content in egg yolk by spectrophotometry [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2010, 26(4): 853–856.

[3] 常皓, 王二雷, 宫新统, 等. 蛋黄卵磷脂研究概况[J]. 食品工业科技, 2010, 31: 414–416, 420.
CHANG H, WANG ERL, GONG XT, *et al*. Research overview of egg yolk lecithin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31: 414–416, 420.

[4] LI J, WANG X, ZHANG T, *et al*. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems [J]. Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2015, 10(2): 81–98.

[5] 林艺璇, 曾巧玲, 张玲云, 等. 大黄鱼鱼卵磷脂对面团流变学和面包感官品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(13): 4174–4179.
LIN YX, ZENG QL, ZHANG LY, *et al*. Effect of large yellow croaker lecithin on dough rheology and bread sensory quality [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(13): 4174–4179.

[6] 王兆明, 贺稚非, 余力, 等. 动物源卵磷脂功效作用及其分析方法[J]. 食品工业科技, 2014, 35(19): 362–367.
WANG ZM, HE ZF, YU L, *et al*. Functional effects and analytical methods of animal-derived lecithin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(19): 362–367.

[7] 尹明雨, 张彩霞, 松冈亮辅, 等. 卵磷脂的生物活性及其应用研究进展[J]. 包装工程, 2020, 41(6): 31–39.
YIN MY, ZHANG CX, MATSUOKA R, *et al*. Research progress on biological activity and application of lecithin [J]. Packaging Engineering, 2020, 41(6): 31–39.

[8] ABEYRATHNE EDNS, NAM KC, HUANG X, *et al*. Egg yolk lipids: Separation, characterization, and utilization [J]. Food Science and Biotechnology, 2022, 31(10): 1243–1256.

[9] 鲍妮娜. 高压脉冲电场辅助溶剂提取鹿茸渣中卵磷脂[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(12): 1983–1988.
BAO NN. Extraction of lecithin from deer antler residue by solvent assisted with high-voltage pulsed electric field [J]. Natural Product Research and Development, 2016, 28(12): 1983–1988.

[10] 孙静, 张巍, 张梦珂, 等. 鸭蛋黄中卵磷脂的提取工艺优化[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(21): 7311–7315.
SUN J, ZHANG W, ZHANG MK, *et al*. Optimization of extraction process of lecithin from duck egg yolk [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(21): 7311–7315.

[11] JIANG B, WANG L, WANG X, *et al*. Ultrasonic thermal-assisted extraction of phosvitin from egg yolk and evaluation of its properties [J]. Polymers, 2019, 11(8): 1353.

[12] 朱帅, 黄梦玲, 吴倩倩, 等. 蛋黄卵磷脂的结构、提取、功能与脂质体研究进展[J]. 粮油食品科技, 2020, 28(3): 18–25.
ZHU S, HUANG ML, WU QQ, *et al*. Research progress on structure, extraction, function and liposome of egg yolk lecithin [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2020, 28(3): 18–25.

[13] 高洁. 基于乙醇辅助超临界萃取蛋黄卵磷脂组分影响蛋黄粉加工适用性的实验研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2022.
GAO J. Experimental study on the effect of egg yolk lecithin components extracted by ethanol-assisted supercritical extraction on the processing applicability of egg yolk powder [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2022.

[14] 李秋慧, 隋晓楠, 徐靓, 等. 酶法改性磷脂对大豆蛋白共建体系乳化稳定性及氧化稳定性的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(23): 64–69.
LI QH, SUI XN, XU L, *et al*. Effect of enzyme-modified phospholipids on emulsifying stability and oxidative stability of soybean protein co-construction system [J]. Food Science, 2016, 37(23): 64–69.

[15] GUO A, LI S, YANG Y, *et al*. Lecithin extraction optimisation and synthesis in *Hemerocallis citrina* Baroni [J]. Scientia Horticulturae, 2022, 293: 110682.

[16] SU Y, CAI Y, CHANG C, *et al*. Comparative analysis on the properties of egg yolk lipids extracted by different extraction methods [J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 61(11): 2111–2120.

[17] 马萍, 陈有亮. 鸭蛋黄卵磷脂的提取与精制[J]. 食品与发酵工业, 2006(5): 163–165.
MA P, CHEN YL. Extraction and purification of lecithin from duck egg yolk [J]. Food and Fermentation Industries, 2006(5): 163–165.

[18] 何仙玉, 黄祎, 教小磐. 超声辅助提取蛋黄卵磷脂工艺优化及其理化

特性研究[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 185–190, 206.
HE XY, HUANG Y, JIAO XP. Optimization of ultrasonic-assisted extraction process of egg yolk lecithin and study on its physicochemical properties [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(3): 185–190, 206.

[19] 刘颖, 肖静静, 李硕绵, 等. 蛋黄卵磷脂提取方法的研究[J]. 河北农业大学学报, 2013, 36(6): 105–108.
LIU Y, XIAO JJ, LI SM, *et al*. Study on extraction methods of egg yolk lecithin [J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2013, 36(6): 105–108.

[20] 毕爽, 张巧智, 丁俭, 等. 红外光谱研究超声促聚集作用对大豆蛋白-磷脂结构与功能的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(11): 18–24.
BI S, ZHANG QZ, DING J, *et al*. Effect of ultrasound-induced aggregation on structure and function of soybean protein-phospholipid studied by infrared spectroscopy [J]. Food Science, 2017, 38(11): 18–24.

[21] JALALI-JIVAN M, ABBASI S. Novel approach for lutein extraction: Food grade microemulsion containing soy lecithin & sunflower oil [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2020, 66: 102505.

[22] 孟丽媛, 王凤舞. 西兰花多酚提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(5): 62–68.
MENG LY, WANG FW. Study on extraction process and antioxidant activity of broccoli polyphenols [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(5): 62–68.

[23] 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(自然科学版), 2012, 41(4): 498–502.
CHEN WJ, CHEN LJ. Extraction of lecithin from large yellow croaker and analysis of phospholipid components [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2012, 41(4): 498–502.

[24] PENG S, ZHU M, LI S, *et al*. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Chinese propolis [J]. Frontiers in Sustainable Food Systems, 2023, 7: 1131959.

[25] KAI M, JOSHITA T, SAGA M. Fatty acid composition of lecithin from beef brain and egg yolk [J]. The Journal of Biochemistry, 1963, 54(5): 403–411.

[26] XU C, YANG X, LIANG Z, *et al*. Evaluation of the role of soybean lecithin, egg yolk lecithin, and krill oil in promoting ovarian development in the female redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* [J]. Aquaculture Nutrition, 2023, 2023(1): 6925320.

[27] ZHOU MM, XUE Y, SUN SH, *et al*. Effects of different fatty acids composition of phosphatidylcholine on brain function of dementia mice induced by scopolamine [J]. Lipids in Health and Disease, 2016, 15(1): 135.

[28] TALLIMA H, EL-RIDI R. Arachidonic acid: Physiological roles and potential health benefits-A review [J]. Journal of Advanced Research, 2018, 11: 33–41.

[29] MARTINAT M, ROSSITTO M, DI MICELI M, *et al*. Perinatal dietary polyunsaturated fatty acids in brain development, role in neurodevelopmental disorders [J]. Nutrients, 2021, 13(4): 1185.

[30] DYALL SC. Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: A review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA [J]. Frontiers in Aging Neuroscience, 2015, 7: 52.

[31] 刘玉鹏, 夏佳, 秦炯. Omega-3 多不饱和脂肪酸对脑发育及脑功能的价值[J]. 中国实用儿科杂志, 2023, 38(10): 741–745.
LIU YP, XIA J, QIN J. Value of Omega-3 polyunsaturated fatty acids on brain development and brain function [J]. Chinese Journal of Practical Pediatrics, 2023, 38(10): 741–745.

[32] TAI K, LIU F, HE X, *et al*. The effect of sterol derivatives on properties of soybean and egg yolk lecithin liposomes: Stability, structure and membrane characteristics [J]. Food Research International, 2018, 109: 24–34.

[33] 伍艳霞, 谭翠容, 娄悦, 等. 卵磷脂的抗氧化性研究[J]. 广州化工, 2019, 47(1): 46–48.
WU YX, TAN CR, LOU Y, *et al*. Study on antioxidant activity of lecithin [J]. Guangzhou Chemical Industry, 2019, 47(1): 46–48.

[34] SUN N, CHEN J, BAO Z, *et al*. Egg yolk phosphatidylethanolamine: Extraction optimization, antioxidative activity, and molecular structure profiling [J]. Journal of Food Science, 2019, 84(5): 1002–1011.

[35] BENZIE IF, STRAIN JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay [J]. Analytical Biochemistry, 1996, 239(1): 70–76.

(责任编辑: 蔡世佳 韩晓红)