

磷脂酰丝氨酸国内外法规对比分析 及其检测技术研究进展

王康平¹, 陈念念², 张浩², 赵超敏², 赵静静¹, 邓晓军¹, 古淑青^{2*}

(1. 上海体育大学兴奋剂检测上海研究院, 上海 200438)

(2. 上海海关动植物与食品检验检疫技术中心, 上海 200135)

摘要: 磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS) 是一种提高记忆力的功效物质, 2010 年被纳入新资源食品目录中, 目前主要应用于胶囊、片剂、口服液、奶粉等保健品或营养品中。近年来, 食品企业将磷脂酰丝氨酸作为营养补充剂添加到食品中, 但国内对食品中磷脂酰丝氨酸含量的检验标准尚未颁布, 无法验证其含量与标识值是否一致。基于此, 该文将从磷脂酰丝氨酸的功效、国内外法律法规现状以及检测技术研究进展等三个方面展开论述。国内外法律法规包括中国、欧盟、美国、加拿大、日本和韩国。检测方法包括比色法、薄层色谱法、核磁共振法、高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法等, 其中高效液相色谱-蒸发光散射法是目前最常用的检测方法。通过国内外法规的差异化分析以及多种检测方法和联用技术的综合对比, 为建立更灵敏、准确、高效的检测技术提供参考, 并促进国内磷脂酰丝氨酸相关产品标准和检验标准的建立和实施。

关键词: 磷脂酰丝氨酸; 营养功效; 检测技术; 法律法规; 研究进展

文章编号: 1673-9078(2025)06-327-336

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.6.0393

Comparative Analysis of Domestic and Foreign Regulations on Phosphatidylserine and Research Progress on Its Detection Technology

WANG Kangping¹, CHEN Niannian², ZHANG Hao², ZHAO Chaomin²,

ZHAO Jingjing¹, DENG Xiaojun¹, GU Shuqing^{2*}

(1. Shanghai Institute of Doping Analyses, Shanghai University of Sport, Shanghai 200438, China)

(2. Technical Center for Animal Plant and Food Inspection and Quarantine, Shanghai Customs, Shanghai 200135, China)

Abstract: Phosphatidylserine (PS) is a functional substance for improving memory, which was included in the catalogue of new resource foods in 2010. At present, it has been mainly used in health care products or nutritional products such as capsules, tablets, oral liquids, and milk powder. In recent years, food enterprises have added phosphatidylserine as

引文格式:

王康平, 陈念念, 张浩, 等. 磷脂酰丝氨酸国内外法规对比分析及其检测技术研究进展[J]. 现代食品科技, 2025, 41(6): 327-336.

WANG Kangping, CHEN Niannian, ZHANG Hao, et al. Comparative analysis of domestic and foreign regulations on phosphatidylserine and research progress on its detection technology [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(6): 327-336.

收稿日期: 2024-03-28

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFF1103105); 上海市技术标准专项 (22DZ2202600; 21DZ2208500)

作者简介: 王康平 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: 18098682623@163.com

通讯作者: 古淑青 (1982-), 女, 博士, 正高级工程师, 研究方向: 食品安全与检测, E-mail: gushuqing@sina.cn

a nutritional supplement to food. However, domestic inspection standards for the content of PS content in food have not been promulgated, and it is impossible to verify whether the actual content is consistent with the labeled. Accordingly, this paper will discuss the efficacy of PS, the current status of domestic and international laws and regulations, and the research progress of detection technologies. The domestic and foreign laws and regulations include those from China, the European Union, the United States, Canada, Japan, and South Korea. The detection methods discussed include colorimetry, thin-layer chromatography, nuclear magnetic resonance, high-performance liquid chromatography (HPLC), and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Among these methods, the HPLC-evaporative light scattering method is the most commonly used detection method. By analyzing the differences in domestic and foreign regulations and comprehensively comparison of multiple detection methods and coupling techniques, this paper provides a reference for the establishment more sensitive, accurate, and efficient detection technologies, and promotes the establishment and implementation of domestic PS-related product standards and inspection standards.

Key words: phosphatidylserine; nutritional efficacy; detection method; laws and regulations; research progress

磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS) 是一种天然存在的磷脂类化合物, 广泛存在于动物、植物和微生物中。在 1942 年, 西班牙生物化学家 Jordi 首次从牛脑中发现并命名为磷脂酰丝氨酸。尽管在人体内 PS 的含量相对较少但它对细胞膜关键蛋白功能状态的调节方面发挥着独一无二的作用, 并且在保健方面展现出显著效果^[1]。PS 与改善老年人的阿尔茨海默症、提升认知和记忆能力、有效治疗抑郁症、缓解儿童多动症、减轻精神压力和身体疲劳, 以及提高运动表现等方面密切相关^[2-4], 并且于 2010 年被我国卫生部批准列入新资源食品目录中, 同时规定每日食用量 ≤ 600 mg/d(除婴幼儿食品外)。此外 PS 在国际上得到许多关注, 多个国家和地区, 如欧盟、美国、加拿大、日本和韩国, 都已设立相关法律法规, 将其引入本国市场。近年来, 随着人们对健康生活的追求, PS 作为一种营养补充剂受到了广泛关注, 被企业广泛用于乳制品、凝胶糖果、巧克力、谷物棒、饮料、药片和胶囊等多种食品中, 但其安全性和合规性问题也逐渐成为消费者关注的焦点。

目前, 已建立了多种检测 PS 的方法, 包括比色法 (Colorimetry)、薄层色谱法 (Thin Layer Chromatography, TLC)、核磁共振法 (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR)、高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)、液相色谱-质谱联用法 (Liquid

Chromatography Tandem-mass Spectrometry, LC-MS/MS) 等, 这些技术为监测磷脂酰丝氨酸的质量和含量提供了一定的帮助。本文将从 PS 的功效特性、国内外相关法律法规的最新发展以及检测技术的最新研究进展这三个维度进行深入探讨, 旨在为磷脂酰丝氨酸的应用研究提供科学依据和参考指导, 以促进其在食品工业中的发展。

1 磷脂酰丝氨酸的概况

PS 是一种主要的阴离子磷脂, 主要存在于神经组织的质膜内小叶中^[5]。它结构由两个部分组成: 一个亲水性的甘油骨架作为“头部”和一个亲油性的烃链基团作为“尾部”, 这种独特的双性结构使得磷脂酰丝氨酸能够同时存在于水性和脂性环境中, 成为细胞膜的关键成分之一^[6]。磷脂酰丝氨酸属于甘油磷脂 (Glycerol Phosphatide, GPLs) 这一大类。磷脂主要分为甘油磷脂和鞘磷脂 (Sphingomyelin, SM) 两大类。在甘油磷脂中, 磷脂酸 (Phosphatidic Acid, PA) 是最简单的形式, 而其他甘油磷脂则以附着在磷酸基上的亲水性残基命名, 包括磷脂酰乙醇胺 (L- α -phosphatidylethanolamine, PE)、磷脂酰肌醇 (Phosphatidylinositol, PI)、磷脂酰丝氨酸 (Phosphatidylserine, PS)、磷脂酰甘油 (L- α -phosphatidylglycerol, PG) 和磷脂酰胆碱 (Phosphatidylcholine, PC)。这些物质的结构式如图 1 所示。

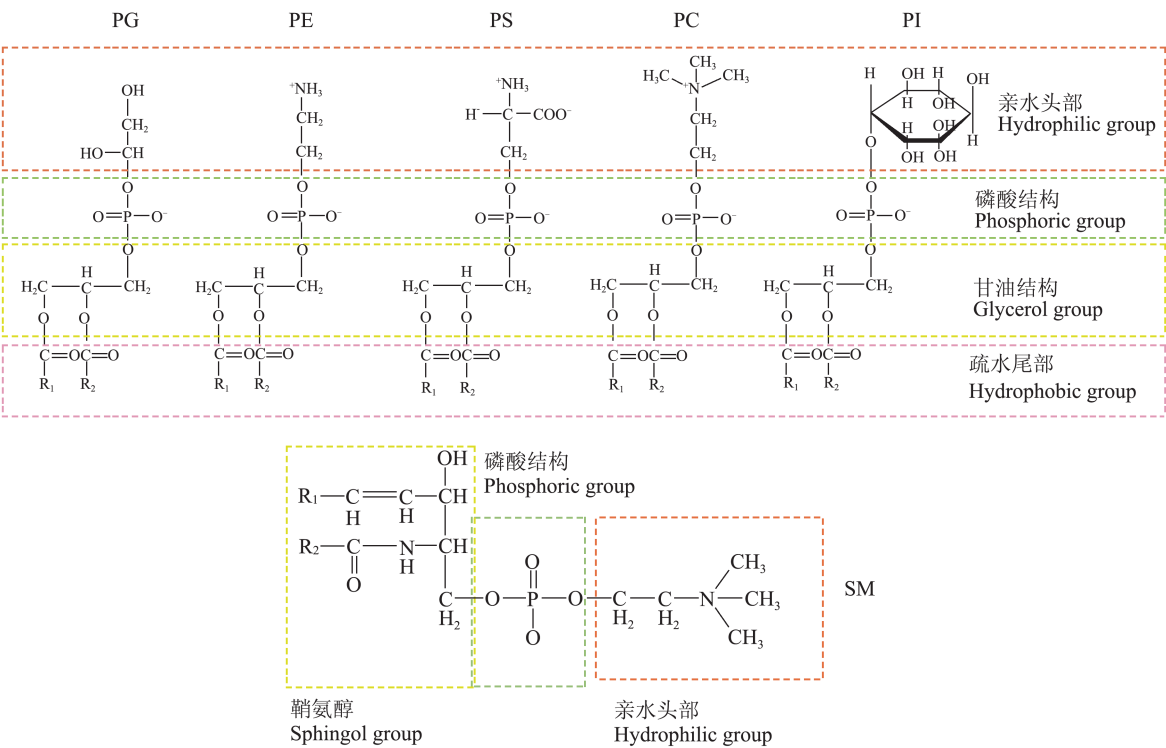


图 1 常见磷脂结构式

Fig.1 Molecular structure of the most common phospholipid

2 磷脂酰丝氨酸的功效

2.1 改善阿尔兹海默症

Cennacchi 等^[7]针对认知障碍的老年患者，评估了口服 PS（每日 300 mg，持续 6 个月）的疗效和安全性。研究共纳入 494 名老年人（年龄在 65 至 93 岁之间），其中 69 名患者在中途退出。最后分析结果显示，与安慰剂组相比，磷脂酰丝氨酸干预组在行为和认知方面均表现出统计学意义上的显著改善。

同样，Crook 等^[8]也得到了相似的研究结果。他们将 51 名阿尔茨海默病患者（年龄 55~85 岁）随机分组，分别给予磷脂酰丝氨酸和安慰剂治疗。研究结果显示，治疗组患者在认知能力上呈现出显著改善，且在认知障碍程度较轻的患者中表现尤为明显。因此，研究者认为磷脂酰丝氨酸可用于治疗早期阿尔茨海默病。

2.2 提高认知和记忆能力

Doma 等^[9]研究发现，口服 PS 的补充剂在自述存在记忆问题的健康成年人中显示出良好的安全性和耐受性。此外，该补充剂显著提升了受试者的记忆功能、认知准确性、注意力和集中度，以及对学习能力的促进作用。Kang 等^[10]研究发现 PS 对

认知能力下降的老年人的记忆有积极影响。唐勇等^[11]的研究表明，高中生饮用添加了磷脂酰丝氨酸的牛奶，可以明显提高其记忆能力。Ren 等^[12]通过设计实验研究含有 PS 的膳食补充剂对老年鼠认知的影响，结果表明含有 PS 的膳食补充剂能有效改善老年鼠的认知表现，提高抗氧化能力。Kato-Kataoka 等^[13]开展了一项针对 78 名患有轻度认知障碍的老年人的研究。在这些受试者中，一部分被随机分配接受 PS 补充剂治疗，而另一部分则接受安慰剂治疗，为期六个月。治疗期结束后，研究初期记忆力评分较低的受试者，接受 PS 补充剂治疗后其记忆力有了显著的提升，研究数据表明服用 PS 补充剂可能对改善轻度认知障碍老年人的记忆力具有积极影响。

2.3 有效帮助治疗抑郁症

Ricevuti 等^[14]研究发现磷脂酰丝氨酸能够调节大脑中控制情绪的神经递质，给抑郁症患者服用磷脂酰丝氨酸后，平均能使抑郁程度下降 70%。在 2015 年，Komori 等^[15]发表的一项研究中，对 65 岁以上患有重度抑郁症的患者进行了一项为期 12 周的临床试验。患者每天服用含有磷脂酰丝氨酸和 ω -3 脂肪酸的补充剂，研究结果显示，至试验结束时，患者的抑郁量表评分均有所提高。

2.4 缓解儿童多动症

Hirayama 等^[16]设计实验对 36 名年龄 (4~14 岁) 的儿童采取随机、双盲的方式为期两个月, 每天口服安慰剂和 200 mg/d 的磷脂酰丝氨酸。研究结果显示, 相比对照组, 口服磷脂酰丝氨酸可以明显改善儿童多动症的症状和短期记忆力, 可以使多动症儿童平静下来, 减少破坏性行为。Bruton 等^[17]通过数据分析显示, 每天服用 200~300 mg 的磷脂酰丝氨酸对缓解儿童注意力缺陷症状有显著效果。

2.5 缓解精神压力和身体疲劳

在 Hellhammer 等^[18]开展的一项研究中, 他们使用了大豆磷脂酸和磷脂酰丝氨酸的混合物 (Phosphatidylserine/ Phosphatidic Acid Complex, PAS), 对受试者进行社会压力测验后, 发现连续服用 3 周 400 mg/d PAS 后受试者的血清促肾上腺皮质激素和皮质醇水平明显受到 PAS 的抑制, 结果表明, PAS 能够显著降低紧张工作人群中体内过高的应激激素水平, 有助于集中注意力、提高警觉性和记忆力, 缓解不良情绪。Wells 等^[19]开展了一项实验, 旨在探讨 PS 对于缓解运动后疲劳的效果。该实验评估了受试者在口服 400 mg/d、100 mg/d 的 PS 补充剂和空白组后, 运动对认知功能、反应时间和情绪状态的影响。研究结果表明, 在运动后, 与空白组相比, 服用 PS 补充剂的受试者的情绪评分显著下降, 这表明 PS 补充剂能有效减轻运动引起的疲劳。

2.6 提高运动表现

陆姣姣等^[20]通过设计实验, 将 18 名手枪射击运动员, 分为 3 组, 分别为空白组、PS-400 组 (400 mg/d) 和 PS-800 组 (800 mg/d), 观察口服不同剂量 PS 对运动员赛前心理应激适应能力和神经递质激活水平的影响, 结果口服 800 mg/d 能有效降低运动员赛前皮质醇水平, 对减轻运动员心理压力和改善睡眠质量有着积极效果。Kingsley 等^[21]设计实验, 每天补充 750 mg 的磷脂酰丝氨酸, 可在 10 d 内显著提高男性骑行者的最大摄氧量, 最高可达 85%, 并对迟发性肌肉酸痛和肌肉损伤产生保护作用。经过研究发现, 补充磷脂酰丝氨酸可以有效提高运动员的表现, 帮助改善运动员的情绪和降低中枢疲劳, 并减轻机体对训练的反应。Jager 等^[22]研究表明, PS 可以通过增加高尔夫球手的抗逆性来提高开球时的准确性, 并可以减轻跑步者、骑自行车者和高尔夫球手的压力, 提高成绩。

3 国内外磷脂酰丝氨酸食品法律法规

磷脂酰丝氨酸作为食品添加剂时, 应严格遵守各个国家或地区相应的标准法规的要求^[23]。目前, 中国、欧盟、美国、加拿大、日本和韩国等对食品添加剂磷脂酰丝氨酸的使用规定如表 1 所示。

3.1 中国

2010 年 11 月, 中国食品药品监督管理局联合卫生部发布 2010 年第 15 号公告^[24], 根据《中华人民共和国食品安全法》和《新资源食品管理办法》的规定, 批准 PS 列入新资源食品目录, 其中每日食用量规定 ≤ 600 mg/d, 同时也注明了使用范围不包括婴幼儿食品, 并且要求添加 PS 商品的标签和说明书中应当标注不适宜人群和食用限量。目前, 我国尚未制定 PS 相关的国家产品及检测标准, 仅有团体标准《T/GDFPT 00014-2020 乳及乳制品中磷脂酰丝氨酸的测定》^[25]、轻工标准《QB/T 5821-2023 磷脂酰丝氨酸》^[26]和《Q/TRY 0004 S-2021 磷脂酰丝氨酸益生元多维调制乳粉》^[27]、《Q/CASQ 0064 S-2022 磷脂酰丝氨酸复合压片糖果》^[28]、《Q/HZY 0006 S-2022 磷脂酰丝氨酸粉》^[29]可供参考。因此, 在中国市场上, 对于磷脂酰丝氨酸的检测和监管仍存在一定的不完善和不规范。

3.2 欧盟

2011 年 8 月 19 日, 根据欧洲议会和理事会法规 (European Council, EC) No 258/97^[30], 欧盟允许磷脂酰丝氨酸可以作为一种新型食品配料投放市场。根据法规 (EC) No 258/97, 磷脂酰丝氨酸的每日摄入量限制如下: 酸奶饮料为 50 mg/100 mL, 奶粉为 3.5 g/100 g (相当于 40 mg/100 mL), 酸奶为 80 mg/100 g, 谷物棒为 350 mg/100 g, 巧克力糖果为每 200 mg/100 g。然而, 只有符合委员会指令 1999/21/EC 的情况下, 才能将来自大豆磷脂的磷脂酰丝氨酸用于特殊医疗目的的食品中。

3.3 美国

2006 年 9 月, 美国食品和药物管理局批准磷脂酰丝氨酸通过美国 (U.S. Food and Drug Administration, FDA) 的一般公认安全 (Generally Recognized As Safe, GRAS) 评估认定。根据对磷脂酰丝氨酸的膳食吸收的统计分析, 三种不同来源的磷脂酰丝氨酸的食品添加量有明确规定。在 GRN

000636^[31]、GRN 000637^[32] 和 GRN 000643^[33] 中分别提出, 向日葵、大豆和鱼提取的磷脂酰丝氨酸经过科学验证后, 其在乳制品类似物 (如仿制奶和豆奶)、谷物产品、奶制品 (奶和奶类饮料, 不包括液态奶) 中的食用量均不得超过 100 mg/ 份。在谷物早餐, 其含量不得超过 50 mg/ 份。在医用食品中, 其每日摄入量限制为不超过 300 mg。

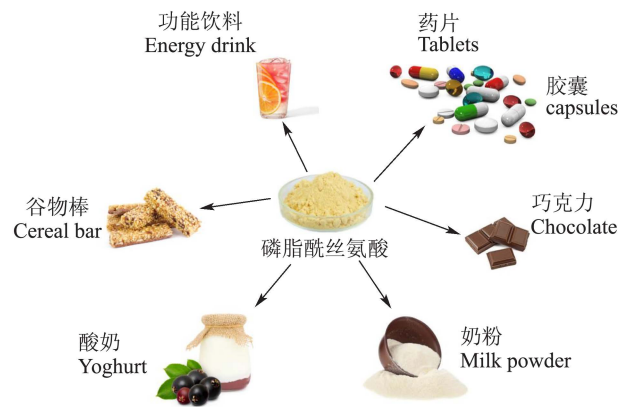


图 2 法规允许磷脂酰丝氨酸可添加的食品基质
Fig.2 Regulations allow food matrices to which phosphatidylserine can be added

3.4 加拿大

2022 年 9 月, 加拿大卫生部发布《NOP/ADP SI-003 号》^[34]文件, 批准使用磷脂酰丝氨酸 (大豆) 作为食品补充成分征求意见。加拿大卫生部食品局规定磷脂酰丝氨酸每日消耗量≤ 300 mg/ 人, 仅限成年人, 不建议孕妇及哺乳期的妇女使用, 不得与其他相同成分的补充剂同时食用, 并且食品的标签

上必须注明磷脂酰丝氨酸的含量。

3.5 日本

2010 年 2 月, 磷脂酰丝氨酸被原日本食药收录于所属的食品 (非药品) 名单中, 并且于 2010 年 2 月 5 日通过了食品添加剂个别审查^[35]。

3.6 韩国

2006 年 5 月, 韩国食品药品监督管理局 (Korea Food and Drug Administration, KFDA) 允许 PS 作为食品添加剂在添加到食品中标识, 并宣传其产品有改善不良情绪, 增强记忆力, 预防老年痴呆等功能^[36]。

4 磷脂酰丝氨酸的检测方法

4.1 薄层色谱法

薄层色谱法 (TLC) 利用不同展开剂中磷脂各组分与吸附剂的相互作用力差异, 实现磷脂在薄层板上的迁移距离不同, 形成不同的比移值 (Retention Factor Value, R_f value)。通过 R_f 值的差异, 可以实现磷脂各组分的有效分离。早期, MacKenzie 等^[37]将薄层色谱法应用于乳品中脂质的检测研究, 揭示了乳品脂质结构的存在差异。同时, Vyssotski 等^[38]研究薄层色谱法分离磷脂各组分时, 发现仅靠基础的薄层色谱法难以有效分离磷脂各组分。在基础薄层色谱法的基础上引入二维薄层色谱法 (Two-dimensional Thin Layer Chromatography, 2D-TLC), 虽然处理时间较长, 但能更好地分离磷脂组分。

表 1 食品添加剂磷脂酰丝氨酸相关标准法规

Table 1 Food additives phosphatidylserine related standards and regulations

国家 / 地区 / 组织	标准 / 法规编号	标准法规名称	允许添加限量
中国	卫生部公告 2010 年第 15 号	卫生部现批准蔗糖聚酯、玉米低聚肽粉、磷脂酰丝氨酸等 3 种物品为新资源食品	每日食用量≤600 mg/d
欧盟	Regulation(EC) No258/97	大豆磷脂中的磷脂酰丝氨酸符合法规 (EC) No 258/97 第 3 (1) 条规定的标准。	酸奶饮料≤50 mg/100 mL 奶粉≤3.5 g/100 g (40 mg/100 mL) 酸奶食品≤80 mg/100 g 谷物棒≤350 mg/100 g 巧克力糖果≤200 mg/100 g
美国	GRN 000636 GRN 000637 GRN 000643	豁免认证的膳食补充剂清单	大豆来源: PS 50~300 mg/ 份 向日葵来源: PS 50~100 mg/ 份
加拿大	《NOP/ADP SI-003 号》	关于允许在食品中使用磷脂酰丝氨酸 (大豆) 作为补充成分的建议通知	每日食用量≤300 mg/d
日本		磷脂酰丝氨酸被日本食药收录于所属的食品 (非药品) 名单中	
韩国		韩国食品药品监督管理局 (KFDA) 允许磷脂酰丝氨酸作为食品添加剂	

4.2 比色法

比色法利用磷脂与特定试剂反应产生颜色的特性,可以定量检测样品中磷脂物质的含量。胡椒红等^[39]建立了钼蓝比色法,使用三氯甲烷-甲醇溶液(体积比 2:1)提取液,测定乳清蛋白粉中总磷脂含量。王赛等^[40]研究了一种基于比色型适配体传感器的快速检测海洋食品中磷脂酰丝氨酸的方法。该方法实现对 PS 的快速定量检测,在 0.50~50.00 nmol/L 范围内具有良好的线性关系,检测限最低可达<93.84 pmol/L,回收率在 95.63%~110.76% 范围内,具有高选择性、准确性和重现性。

4.3 核磁共振法

核磁共振法(NMR)是磷脂检测的方法之一,利用 ^{31}P 核磁共振效应分析磷脂组分和含量。Katou 等^[41]开发了一种 ^{31}P -NMR 方法用于测定保健品中的 PS 含量,通过优化修饰和验证方法,样品的平均回收率为 100.5%,相对标准偏差(Relative Standard Deviation, RSD)约为 4%~5%。MacKenzie 等^[37]采用 ^{31}P -NMR 方法,通过测量磷原子位移变化,鉴别乳制品中磷脂不同组分类型,成功检测出 PE、PI、PC、PS 和 SM 磷脂组分。

TLC 操作简便、分离效果佳、成本低,适用于磷脂的初步定性和筛查分析,但因定性能力较弱,重复性差,不适合大批量检测。比色法简便、成本低,可检测微量样品,但仅能检测总磷脂含量,存在含量计算误差。核磁共振法具有高分辨率和准确性,可实现磷脂组分的定性和定量分析,但价格昂贵,对硬件和操作要求高。

4.4 高效液相色谱法

在复杂样本的定性与定量分析中,高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)分离技术扮演着不可或缺的角色。HPLC 不仅能够实现对磷脂化合物不同种类的精确分离,还能准确实现 PS 的精准定量分析。在针对 PS 的分离过程中,正相高效液相色谱(Normal Phase Liquid Chromatography, NPLC)^[42-45]和反相高效液相色谱(Reversed Phase Liquid Chromatography, RPLC)^[46-49]是常用的色谱分离方法。这些方法能够与多种检测器相结合,包括紫外检测器(Ultraviolet Detector, UV)、荧光检测器(Fluorescence Detector, FLD)、蒸发光散射检测器(Evaporative Light-scattering Detector, ELSD)^[50]和质谱检测器(Mass Spectrometer, MS)

等。附表 2 中详细总结了针对 PS 等目标物的 HPLC 分离方法,为相关研究提供了实用的参考。

4.4.1 高效液相色谱-紫外法(HPLC-UV)

林宏琳等^[51]采用高效液相色谱-紫外法测定 DHA 颗粒中磷脂酰丝氨酸含量。实验中,正己烷-异丙醇与氯仿-甲醇提取效果无明显差异,因绿色环保要求而选择前者。高、低浓度添加水平下,阴性 DHA 颗粒样品回收率分别为 101.2% 和 95.8%。通过比较三种典型色谱柱和三种流动相的分离效果,确定 XBridge Amide 色谱柱与乙腈-异丙醇(7:3)流动相体系分离效果最佳。

刘光兰等^[52]利用高效液相色谱-紫外法测定保健食品中磷脂酰丝氨酸含量。以三氯甲烷为提取溶剂,样品平均回收率为 96.16%~99.60%。正己烷:异丙醇:1% 磷酸水溶液(25:70:5, V/V/V)进行梯度洗脱,目标物在 10 分钟内成功洗脱,检出限为 0.187 mg/g。

4.4.2 高效液相色谱-蒸发光散射法(HPLC-ELSD)

HPLC-ELSD 法具有挥发性低于流动相的样品均能被检测、灵敏度高、基线稳定、应用范围广等特点。磷脂酰丝氨酸类物质具有低挥发性、不耐高温、弱紫外吸收、易吸水等特性,是较复杂的分析体系。因而 HPLC-ELSD 法成为当今研究磷脂酰丝氨酸类物质应用较广泛的分析方法之一。

Avalli 等^[53]建立高效液相色谱-蒸发光散射法对乳制品中的磷脂进行分析,比较了两种不同提取方法的提取效率,Folch 方法和 Rose-Gottlieb 方法这两种不同磷脂提取方法的提取效率,发现 Folch 方法对磷脂的提取效率更高。实验中还对比了硅胶柱和 C8 柱这两种 SPE 柱的回收效率,结果发现硅胶柱回收率效果更佳。通过优化后的方法,能成功分离和检测乳制品中的磷脂组分,包括磷脂酰丝氨酸、磷脂酰胆碱和磷脂酰肌醇等。冯雪萍等^[54]采用高效液相色谱-蒸发光散射法对保健食品中的磷脂酰丝氨酸进行测定。通过优化提取溶剂(三氯甲烷:甲醇=9:1)和流量(1.5 mL/min),实现了对磷脂酰丝氨酸的高效、准确检测。方法灵敏度较高检出线(Limit of Detection, LOD)为 0.15 mg/mL,适用于软胶囊和压片糖果等保健食品中磷脂酰丝氨酸的含量测定。

黄兴民等^[55]还研究了氯仿和甲醇提取剂的比例对磷脂酰丝氨酸提取率的影响,发现在 9:1 的比例下提取效果最佳。同时,通过优化旋涡振荡辅助超声提取法和流动相比比例,使磷脂酰丝氨酸的回收率

高达 95.7%~100.7%。张飞等^[56]采用高效液相色谱-蒸发光散射法对明胶型凝胶糖果中磷脂酰丝氨酸含量进行定量分析,在单因素实验设计中,对影响明胶软糖酸法水解的三个关键因素进行了优化,发现水解温度为 60 ℃、水解时间为 17 min 及盐酸浓度 1.8 mol/L 时为最优条件,回收率高达 93.5%~96%。李博群等^[57]同时对乳清蛋白粉中 5 种磷脂的含量进行了测定,包括磷脂酰丝氨酸,优化了梯度洗脱条件。HPLC-ELSD 方法因其高灵敏度、同时多种磷脂类别检测、精准定量等优点,在磷脂酰丝氨酸的应用领域具有很大的发展潜力。

4.4.3 高效液相色谱-荧光检测法 (HPLC-FLD)

Lin 等^[58]建立了高效液相色谱-荧光检测法,用于测定乳制品中磷脂酰丝氨酸含量。该方法使用 9- 芴基甲氧基羰基保护基 (9-Fluorenylmethyl Carbazate, FMOc) 试剂盒对 PS 进行在线衍生,实现对 PS 进行定量分析。通过自动进样器将样品与 FMOc 试剂盒硼酸缓冲液混合,形成均匀反应混合物,与传统离线衍生化方法相比,该方法更加快速便捷。通过对奶粉进行加标回收验证,平均回收率在 96%~105% 范围内,检出限和定量限分别为 16 mg/kg 和 53 mg/kg。

PS 分子因缺失显色基团,导致紫外吸收和荧光信号弱,使得传统紫外检测器灵敏度不足,且缺乏有效的衍生化方法,因此荧光检测器亦不适用。而 ELSD 作为一种通用性检测技术,不依赖样品光学性质,能检测挥发性低于流动相的组分,具有高信号响应和梯度洗脱能力。相较而言,HPLC-ELSD 因其不受样品紫外吸收特性的影响方法更为可靠,准确度更高,适合 PS 物质的定量分析。

4.5 液相色谱-串联质谱法

液相色谱-串联质谱法 (Liquid Chromatography

Tandem-mass Spectrometry, LC-MS/MS) 以其高分辨率、宽扫描质量范围、快速扫描速度和高度灵敏度而著称^[59]。在应对食品基质的高度复杂性时,LC-MS/MS 显示出卓越的分析效率,能够有效地检测出复杂食品中的磷脂酰丝氨酸,可靠地鉴定磷脂酰丝氨酸的结构,并提供准确的定性定量结果。因此,LC-MS/MS 已成为磷脂酰丝氨酸检测分析领域的关键方法之一。刘悦含等^[60]建立了液相色谱-离子阱飞行时间质谱技术 (Liquid Chromatography-iontrap-time of Flight-mass Spectrometry, LC-IT-TOF-MS),来分析 10 种不同品种大豆磷脂组分的方法。通过优化流动相和色谱柱实现对磷脂复合物的分离,通过 MS¹ 中的质荷比 (Mass to Charge Ratio, *m/z*) 对比脂质结构数据库 (LIPID MAPS ® Structure Database) 中的信息,进行初步识别磷脂分子结构,在综合二级质谱图 (Tandem Mass Spectrometry, MS²) 和三级质谱图 (A Triple-stage Mass Spectrometry, MS³) 的碎片信息,进一步对磷脂进行定性。并且根据磷脂分子亲水性和疏水性的不同,利用乙腈-水体系,加入 0.1% 甲酸和 10 mmol/L 甲酸铵作为流动相,亲水相互作用液相色谱柱 CORTECS HILIC 作为色谱柱,成功分离检测出 PC、PE、PI、PG、PS 等组分。Huang 等^[61]利用超高效液相色谱联用三联四极杆质谱仪 (Ultrahigh-performance Liquid Chromatography Tandem Triple-quadrupole Mass Spectrometry, UHPLC-MS/MS) 建立了一种快速、高灵敏度和高通量的方法,能在 11 分钟内定量分析生物样品中 PA、PC、PE、PS、PG、SM、LPA 等 10 类磷脂,该方法检出限 LOD 为 0.04~33 pmol/mL,定量线 (Limit of Quantitation, LOQ) 为 0.1~110 pmol/mL,展现出出色的灵敏度。但 LC-MS 因价格昂贵、维修费用高以及对操作人员有极高的要求,使其基础实验室普及性较低。

表 2 HPLC 分离磷脂酰丝氨酸方法总结

Table 2 Method summary on HPLC separation of Phosphatidylserine

检测器	固定相	流动相 (缓冲试剂)	检测器	分离组分	参考文献
NPLC	Zorbax Rx-SIL	正己烷-异丙醇-水 (硫酸铵)	UV	PE/PG/CL/PI/PS/LPE/PC/LPC	[43]
	Hypersil Si	正己烷-异丙醇-乙醇 (醋酸铵/醋酸)	UV	PE/PI/CL/PS/LPS/PC/LPC	[42]
	Tracer Extrasil SI	乙腈-甲醇 (磷酸)	UV	PI/PS/PE/PC/SM	[44]
	Hypersil Si	氯仿-甲醇-水 (乙酸铵)	MS	PG/PI/PE/LPC/LPE/LPG/PC/PS	[45]
RPLC	ZORBAX RP	乙腈-甲醇 (乙酸铵)	MS	PI/PS/PE/PC/SM	[46]
	P-E C18	甲醇-乙腈-水	UV	PE/PG/CL/PI/PS/LPE/PC/LPC	[47]
	Prodigy ODS	氯仿-甲醇-乙腈-水	ELSD	PG/PI/PE/LPC/LPE/LPG/PC/PS	[48]
	Sephasil C8	乙腈-甲醇 (三氟乙酸)	UV	PE/PI/CL/PS/LPS/PC/LPC	[49]

5 结论

随着人们对健康的关注日益加深,对营养食品的需求也逐渐增长。磷脂酰丝氨酸作为一种重要的功能性物质,在临床和健康领域具有广泛的应用前景。国内外磷脂酰丝氨酸食品的品牌和种类日趋丰富。许多国家已制定磷脂酰丝氨酸的标准及相关法律法规,而我国自2010年将磷脂酰丝氨酸引入中国市场以来,国内对食品中磷脂酰丝氨酸含量的检验标准尚未颁布,无法验证其含量与标识值是否一致。因此我国应加快食品中磷脂酰丝氨酸相关检测方法的研发和推广,确保市场上磷脂酰丝氨酸营养食品的质量和安

参考文献

- [1] GLADE M J, SMITH K. Phosphatidylserine and the human brain [J]. *Nutrition*, 2015, 31(6): 781-786.
- [2] KAY J G, FAIRN G D. Distribution, dynamics and functional roles of phosphatidylserine within the cell [J]. *Cell Communication and Signaling: CCS*, 2019, 17(1): 126.
- [3] CHANG W, FA H, XIAO D, et al. Targeting phosphatidylserine for cancer therapy: prospects and challenges [J]. *Theranostics*, 2020, 10(20): 9214-9229.
- [4] MA X, LI X, WANG W, et al. Phosphatidylserine, inflammation, and central nervous system diseases [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14: 975176.
- [5] JINGNAN C, JUN L, HAOYU X, et al. Phosphatidylserine: an overview on functionality, processing techniques, patents, and prospects [J]. *Grain & Oil Science and Technology*, 2023, 6(4): 206-218.
- [6] 周芳,李洪军,杨复习,等.磷脂酰丝氨酸研究进展[J]. *食品工业科技*, 2008, 5: 297-300.
- [7] CENACCHI T, BERTOLDIN T, FARINA C, et al. Cognitive decline in the elderly: a double-blind, placebo-controlled multicenter study on efficacy of phosphatidylserine administration [J]. *Aging (Milan, Italy)*, 1993, 5(2): 123-133.
- [8] CROOK T, PETRIE W, WELLS C, et al. Effects of phosphatidylserine in alzheimer's disease [J]. *Psychopharmacol Bull*, 1992, 28(1): 61-66.
- [9] DOMA K M, LEWIS E D, BARRACATO J M, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel study investigating the efficacy of a whole coffee cherry extract and phosphatidylserine formulation on cognitive performance of healthy adults with self-perceived memory problems [J]. *Neurology and Therapy*, 2023, 12(3): 777-794.
- [10] KANG E Y, CUI F, KIM H K, et al. Effect of phosphatidylserine on cognitive function in the elderly: a systematic review and meta-analysis [J]. *Korean Journal of Food Science*, 2022, 54(1): 52-58.
- [11] 唐勇,张乾勇,糜漫天,等.强化磷脂酰丝氨酸纯牛奶改善记忆力人群试食研究[J]. *重庆医学*, 2011, 40(30): 3022-3023.
- [12] REN Q, SUN J, XU D, et al. A dietary supplement containing micronutrients, phosphatidylserine, and docosahexaenoic acid counteracts cognitive impairment in d-galactose-induced aged rats [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 931734.
- [13] KATO-KATAOKA A, SAKAI M, EBINA R, et al. Soybean-derived phosphatidylserine improves memory function of the elderly japanese subjects with memory complaints [J]. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2010, 47(3): 246-255.
- [14] RICEVUTI G, BAIGUERA A, MAZZONE A, et al. Effects of phosphatidylserine on immunologic indices in aged patients [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1987, 496: 731-734.
- [15] KOMORI T. The effects of phosphatidylserine and omega-3 fatty acid-containing supplement on late life depression [J]. *Mental Illness*, 2015, 7(1): 5647.
- [16] HIRAYAMA S, TERASAWA K, RABELER R, et al. The effect of phosphatidylserine administration on memory and symptoms of attention-deficit hyperactivity disorder: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial [J]. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 2014, 27 I(Suppl 2): 284-291.
- [17] BRUTON A, NAUMAN J, HANES D, et al. Phosphatidylserine for the treatment of pediatric attention-deficit/hyperactivity disorder: a systematic review and meta-analysis [J]. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 2021, 27(4): 312-322.
- [18] HELHAMMER J, VOGT D, FRANZ N, et al. A soy-based phosphatidylserine/phosphatidic acid complex (PAS) normalizes the stress reactivity of hypothalamus-pituitary-adrenal-axis in chronically stressed male subjects: a randomized, placebo-controlled study [J]. *Lipids in Health and Disease*, 2014, 13: 121.
- [19] WELLS A J, HOFFMAN J R, GONZALEZ A M, et al. Phosphatidylserine and caffeine attenuate postexercise mood disturbance and perception of fatigue in humans [J]. *Nutrition Research*, 2013, 33(6): 464-472.
- [20] 陆姣姣,安燕,许瑾,等.磷脂酰丝氨酸对射击运动员心理应激适应能力及脑内神经递质激活水平的影响[J]. *营养学报*, 2019, 41(5): 439-443.
- [21] KINGSLEY M I, MILLER M, KILDUFF L P, et al. Effects of phosphatidylserine on exercise capacity during cycling in active males [J]. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 2006, 38(1): 64-71.
- [22] JAGER R, PURPURA M, GEISS K R, et al. The effect of

- phosphatidylserine on golf performance [J]. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2007, 4: 23.
- [23] 陈和芳.中国进出口食品安全法律监管的优化路径[J].*食品与机械*,2023,39(6):88-91.
- [24] 中华人民共和国卫生部.关于批准蔗糖聚酯、玉米低聚肽粉、磷脂酰丝氨酸等3种物品为新资源食品的公告(2010年第15号)[EB/OL].(2010-12-15)[2023-11-03].https://www.gov.cn/gzdt/2010-11/01/content_1735405.htm.
- [25] 广东省质量监督食品检验站.乳及乳制品中磷脂酰丝氨酸的测定: T/GDFPT 00014-2020[P]. 2020-08-01.
- [26] 工业和信息化部.磷脂酰丝氨酸:QB/T 5821-2023 [P]. 2023-04-21.
- [27] 新兴同仁药业有限公司.磷脂酰丝氨酸益生元多维调制乳粉: QTRY0004S-2021[P]. 2021-12-16.
- [28] 湖南康琪壹佰生物科技有限公司.磷脂酰丝氨酸复合压片糖果: QCASQ0064S-2022-0512[P]. 2022-03-03.
- [29] 陕西恒植源健康产业有限公司蓝田分公司.磷脂酰丝氨酸粉: QHZY0006S-2022-1001[P].2022-07-01.
- [30] EUROPEAN. 2011/513/EU: commission implementing decision of 19 august 2011 authorising the placing on the market of phosphatidylserine from soya phospholipids as a novel food ingredient under regulation (EC) No 258/97 of the european parliament and of the council (notified under document c(2011) 5897) [EB/OL]. (2011-08-20)[2024-01-13].http://data.europa.eu/eli/dec_impl/2011/513/oj.
- [31] FDA. GRAS notice 000636: phosphatidylserine derived from sunflower [EB/OL]. (2016-03-16)[2023-11-06]. <https://www.fda.gov/media/98564>.
- [32] FDA. GRAS notice 000637: phosphatidylserine derived soy lecithin [EB/OL]. (2016-03-09)[2023-11-08]. <https://www.fda.gov/media/98569>.
- [33] FDA. GRAS notice 000643: phosphatidylserine derived from fish [EB/OL]. (2016-03-28)[2023-11-08]. <https://www.fda.gov/media/99092>.
- [34] CANADA. Notice of proposal to enable the use of phosphatidylserine (soy) as a supplemental ingredient in foods [EB/OL]. (2022-09-20)[2024-02-05].<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/public-involvement-partnerships/notice-proposal-enable-use-phosphatidylserine-soy-supplemental-ingredient-foods/document.html>.
- [35] 厚生劳动省.关于“不标榜药品功效效果就不判断为医药品的成分本质(原材料)”在食品卫生法上的处理修改 [EB/OL]. [2023-11-23]. https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzendu/040601-001_1.pdf.
- [36] MFDS. 2016 Ministry of food and drug safety white paper [EB/OL]. [2024-02-24]. <https://www.mfds.go.kr/eng/search/searchEn.do>.
- [37] MACKENZIE A, VYSSOTSKI M, NEKRASOV E. Quantitative analysis of dairy phospholipids by ³¹P NMR [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2009, 86(8): 757-763.
- [38] VYSSOTSKI M, MACKENZIE A, SCOTT D. TLC and ³¹P-NMR analysis of low polarity phospholipids [J]. *Lipids*, 2009, 44(4): 381-389.
- [39] 胡淑红,王荣艳.富含乳脂肪球膜蛋白乳清粉中总磷脂的含量测定方法研究[J].*中国乳业*,2020,8:73-76.
- [40] 王赛,徐佳朔,李玲,等.基于比色型适配体传感器高灵敏快速检测磷脂酰丝氨酸[J].*水产学报*,2022,46(12):2443-2451.
- [41] KATOU T, FUEKI S, YAMAMOTO K, et al. Validation of the quantification of phosphatidylserine in food supplements using quantitative phosphorus NMR [J]. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 2023, 70(1): 33-41.
- [42] LESNEFSKY E J, STOLL M S, MINKLER P E, et al. Separation and quantitation of phospholipids and lysophospholipids by high-performance liquid chromatography [J]. *Analytical Biochemistry*, 2000, 285(2): 246-254.
- [43] GUAN Z, GRUNLER J, PIAO S, et al. Separation and quantitation of phospholipids and their ether analogues by high-performance liquid chromatography [J]. *Analytical Biochemistry*, 2001, 297(2): 137-143.
- [44] RODRIGUEZ-BERNALDO D Q A, LOPEZ-HERNANDEZ J, SIMAL-LOZANO J. Separation of phospholipid classes in sea urchin, *paracentrotus lividus* by high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography B*, 2002, 770(1-2): 71-75.
- [45] ZINK K, WILKES H, DISKO U, et al. Intact phospholipids-microbial “life markers” in marine deep subsurface sediments [J]. *Organic Geochemistry*, 2003, 34(6): 755-769.
- [46] FANG J, BARCELONA M J, NOGI Y, et al. Biochemical implications and geochemical significance of novel phospholipids of the extremely barophilic bacteria from the marianas trench at 11,000 m [J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2000, 47(6): 1173-1182.
- [47] 卢学清,王智华,洪筱坤,等.度反相高效液相色谱法测定熊胆中磷脂类化合物[J].*色谱*,2000,1:59-62.
- [48] 夏海涛,侯近龙,刘玉芬.高效液相色谱法分析大豆中磷脂酰胆碱的分子种[J].*分析试验室*,2003,1:9-11.
- [49] SUCHOCKA Z, GRONOSTAJSKA D, SUCHOCKI P, et al. New HPLC method for separation of blood plasma phospholipids [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003, 32(4-5): 859-865.
- [50] OSWALD M, PLATSCHER M, GEISSLER S, et al. HPLC analysis as a tool for assessing targeted liposome composition [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, 497(1-2): 293-300.

- [51] 林宏琳,陈华峰,林国斌.酰胺基亲水作用色谱-高效液相色谱-紫外法测定DHA颗粒中的磷脂酰丝氨酸[J].药物分析杂志,2017,37(11):1962-1966.
- [52] 刘光兰,吴银,陈彩云,等.高效液相色谱法测定保健食品中磷脂酰丝氨酸含量[J].食品安全质量检测学报,2020,11(23):8643-8646.
- [53] AVALLI A, CONTARINI G. Determination of phospholipids in dairy products by SPE/HPLC/ELSD [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1071(1-2): 185-190.
- [54] 冯雪萍,朱银宏,程倩,等.HPLC-ELSD测定保健食品软胶囊中磷脂酰丝氨酸的含量[J].中国食品添加剂,2021,32(9):149-154.
- [55] 黄兴民,郑家概,张飞,等.高效液相色谱-蒸发光散射法测定保健食品中磷脂酰丝氨酸的方法优化[J].食品安全质量检测学报,2019,10(12):3806-3810.
- [56] 张飞,蔡大川,冉文清,等.响应面优化-HPLC-ELSD法测定明胶型凝胶糖果中的磷脂酰丝氨酸[J].分析试验室,2019,38(11):1309-1314.
- [57] 李博群,宋戈,孙立庆,等.高效液相色谱-蒸发光散射法同时测定乳清蛋白粉中5种磷脂[J].中国乳品工业,2023,51(1):47-52.
- [58] LIN Q, ZHANG J, PEI W, et al. Determination of phosphatidylserine in milk-based nutritional products using online derivatization high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1381: 260-263.
- [59] 袁阳蕾,袁利杰,郭立净,等.高分辨质谱法快速筛查和定量分析改善胃肠道功能类保健食品中的22种非法添加化合物[J].现代食品科技,2023,39(1):311-319.
- [60] 刘悦含,刘婷婷,牛静琪,等.基于液相色谱-离子阱飞行时间质谱的大豆磷脂组分分析[J].卫生研究,2023,52(3):465-473.
- [61] HUANG Q, LEI H, DONG M, et al. Quantitative analysis of 10 classes of phospholipids by ultrahigh-performance liquid chromatography tandem triple-quadrupole mass spectrometry [J]. *Analyst*, 2019, 144(13): 3980-3987.