

# 泌乳期间母乳脂肪球及脂肪酸的变化

蒋文笛, 韦伟, 王兴国, 金青哲

(江南大学 食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 食品安全与营养协同创新中心,  
江苏 无锡 214122)

**摘要:** 为探究泌乳初期(30 日以内)母乳脂肪球及其脂肪酸组成的变化, 本研究采集了无锡地区六位健康产妇泌乳初期(3-30 日)的 134 个母乳样本, 分析了样本的粒径、表观电位、脂肪含量、脂肪酸组成及对微观结构进行了观测。研究发现, 泌乳期间母乳脂肪球的粒径从  $3.77 \pm 0.95 \mu\text{m}$  增加到了  $5.09 \pm 0.88 \mu\text{m}$ 。在泌乳初期的几日内(3-12 日), 脂肪球粒径及其脂肪含量有明显的上升趋势, 这可能是因为脂肪的含量与组成发生了变化。初乳样本的中链脂肪酸、超长链脂肪酸及饱和脂肪酸成分含量较多, 而长链脂肪酸与不饱和脂肪酸含量较少。因此, 初乳含较低含量的乳脂, 脂肪球粒径较小, 具有高含量的中链脂肪酸及多不饱和脂肪酸, 对婴儿的生长发育可能有特殊的益处。

**关键词:** 人乳脂; 人乳脂肪球; 脂肪酸组成; 泌乳阶段; 粒径分布

**中图分类号:** TS252

## Changes in fat globules and fatty acids of human milk during lactation

JIANG Wendi, WEI Wei, WANG Xingguo, JIN Qingzhe

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Collaborative innovation center of food safety and quality control in Jiangsu Province, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122)

**Abstract:** We aimed to gain new insights into the variations of human milk fat globules (HMFGs) and the association with the fatty acid (FA) composition during lactation. HM samples from six healthy Chinese mothers were collected every day from 3 days to 30 days postpartum ( $n=134$ ). The size distribution of HMFGs in HM samples were investigated using a laser particle size analyzer and confocal laser scanning microscopy (CLSM). FA composition of triacylglycerol (TAG) was also analyzed. Size distribution and CLSM images indicated that the size of HMFGs increased during lactation from  $3.77 \pm 0.95 \mu\text{m}$  to  $5.09 \pm 0.88 \mu\text{m}$ . A significant increase was observed in the size of HMFGs and fat content in HM samples for the first 10 days of lactation (colostrum). Changes in the size of HMFGs during lactation may have been associated with the content and composition of fat. Colostrum samples showed higher content of middle-chain fatty acids (MCFAs), very-long-chain fatty acids and saturated fatty acids, but lower content of long-chain fatty acids and unsaturated fatty acids. These results suggest that colostrum had low fat content, relatively small HMFGs, and high content of MCFAs and polyunsaturated fatty acids, which may confer special benefits for the needs of newborns.

**Key words:** Human milk fat; human milk fat globules; fatty acid composition; lactation stage; size distribution

## 0 引言

母乳被广泛认为是婴儿最为理想的食物<sup>[1]</sup>, 尤其是对于 6 个月以内的新生儿。母乳因含有营养物质与其他非营养的微量物质, 影响着婴儿的健康和生长<sup>[2]</sup>。母乳通常可分为初乳(产后 1-6 天), 过渡乳(产后 7-14 天)和成熟乳(产后 15 天以后), 其中脂肪是母乳最有价值的主要成分<sup>[3]</sup>。

**作者简介:** 蒋文笛(1994-), 女, 硕士研究生, 主要研究母乳脂质与营养

**通信联系人:** 韦伟(1988-), 副教授, 新型功能性油脂. E-mail: weiw@jiangnan.edu.cn

母乳中脂肪的比例约为 3 %-5 %，提供母乳喂养婴儿所需能量的 50 %。母乳脂肪以复合三层膜包裹内核的脂肪球结构存在于水包油形式的乳液中，称为人乳脂肪球（HMFG）。人乳脂肪球的外部三层膜结构富含磷脂及蛋白质，而内核为三酰基甘油酯<sup>[4]</sup>，具有广泛的粒径分布（0.2-15 μm，平均粒径 3-5 μm）。

50 近年来，关于泌乳期间人乳脂肪变化的研究逐渐增多。在泌乳期间，人乳脂肪发生了显著的变化，包括脂肪含量<sup>[5]</sup>，脂肪酸组成<sup>[6,7]</sup>，三酰基甘油酯的组成<sup>[8,9]</sup>和生育酚<sup>[10]</sup>的变化。一些研究已经报道了泌乳期间母乳与牛乳脂肪球粒径以及脂肪酸组成的差异<sup>[11-17]</sup>，但研究结论并不一致。据报道，随着泌乳期的发展，乳脂肪球的平均粒径体现出了没有显着性差异<sup>[12,18]</sup>，减少<sup>[13,15,16]</sup>和增加<sup>[11,14,17]</sup>的规律，这可能是由于样品的储存或处理以及分析方法的差异<sup>[15]</sup>。此外，泌乳期间人乳脂肪球结构的变化尚不清楚，这对于人乳脂肪和新型婴儿配方奶粉的开发极为重要。

60 本研究收集了 6 位产妇产后第 3 天至第 30 天的 134 份母乳样本，研究了不同泌乳时期人乳脂肪球的粒径分布、脂肪含量与 zeta 表观电位，还研究了泌乳期间与人乳脂肪球粒径相关的脂肪酸组成的变化。本研究获得的数据有助于婴儿配方奶粉的研究和开发。当母乳喂养不充分或无条件进行母乳喂养时，将需要在化学组成和物理结构方面与母乳更为相似的婴儿配方乳粉作为婴儿的食物供给。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本与试剂

65 本研究的 134 个母乳样本由无锡地区六位健康的产妇捐赠，分为初乳（3-6 天），过渡乳（7-14 天）和成熟乳（15-30 天）。样本于两小时内进行分析检测，提取脂肪并存于-80 ℃进行后续脂肪酸组成分析。6 位产妇的主要信息如下（表 1）。

表 1 产妇及新生儿的基本信息  
Tab. 1 Basic information of mothers and infants

各项指标	数值
生产方式（顺产/剖腹产）	6 / 0
年龄（岁）	28.00 ± 3.56
身高（cm）	162.00 ± 3.96
体重（kg）	58.50 ± 7.39
孕期增重（kg）	16.58 ± 6.09
胎儿体重（kg）	3.35 ± 0.21
胎儿性别（女/男）	4 / 2

注：数据表达为平均值±标准方差

70 尼罗红荧光染料（9-diethylamino-5H-benzoalha-phenoxazine-5-one ， 0.1 mg/mL 溶于丙酮; Sigma-Aldrich，美国），荧光头基标记的磷脂 N-（丽丝胺罗丹明 B 磺酰基）二油酰磷脂

酰乙醇胺 (Rh-DOPE, 1 mg / mL 溶于氯仿; Avanti Polar Lipids, 美国)。37 种脂肪酸甲酯 (FAME Mix, C4-C24) 的标准品和正己烷 (> 99.9 % 纯度) 分别从 Sigma-Aldrich 和 J&K Scientific (中国北京) 获得。所有其他试剂和溶剂均为分析级, 购自国药化学试剂 (中国上海)。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 粒径分布

S3500 型激光粒度分析仪 (美国 Microtrac 公司) 测定母乳脂肪球粒径分布。选用湿法模式测定, 样品分析参数设定为球形, 折射系数 1.460。在 0.2 mL 样本中依次加入 0.2 mL EDTA/NaOH (35 mM, pH=7.0) 缓冲液与 0.2 mL SDS 溶液 (1 %) 来裂解酪蛋白胶束与防止脂肪球之间的聚集。上述溶液混合后进行测定, 每个样品重复 3 次以上取平均值。

### 1.2.2 zeta 表观电位

利用纳米粒度及 zeta 电位分析仪 (英国 Malvern 公司) 在 25 ℃ 下测定样品的 zeta 表观电位。在 3-5 μL 样品中加入 10 mL 缓冲液 (5 mM CaCl<sub>2</sub>, 50 mM NaCl, 20 mM 咪唑, pH=7.0), 每个样品重复 3 次以上取平均值。

### 1.2.3 脂质含量

脂质的提取参考了 Röse-Gottlieb<sup>[3]</sup>的方法。5 mL 样品中加入 1 mL 氨水, 充分混匀, 并于 65 ± 5 ℃ 震荡水浴, 15-20 min 后取出冷却至室温。依次加入 5 mL 无水乙醇、12.5 mL 无水乙醚与 12.5 mL 石油醚, 充分震荡混匀。30 min 后待混合物静置分层, 分离上清液。上述操作重复两次, 合并上清液, 氮气吹干至恒重, 称量所得脂质。脂质含量按下式计算所得:

$$\text{脂质含量 (\%)} = \text{乳脂质量 (g)} / \text{母乳样品质量 (g)} \times 100$$

### 1.2.4 脂肪酸组成

取 10 mg 脂质, 加入 700 μL 正己烷与 125 μL KOH-CH<sub>3</sub>OH (2 mol/L), 旋涡振荡混匀后, 加入适量无水硫酸钠混匀, 静置, 取上清过膜后进行分析。利用配备有 Trace TR-FAME 毛细管柱 (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm)、氢火焰离子检测器与 7820A 系统的气相色谱 (GC) 进行脂肪酸组成分析。检测条件: 检测口与进样口温度设定为 250 ℃; 载气流速为 1.2 mL / min, 分流比为 1:20; 柱箱温度在 60 ℃ 维持 3 分钟后, 以 5 ℃/分钟的速率升至 175 ℃, 保持 15 分钟, 然后以 2 ℃/分钟的速率升至 220 ℃ 并保持 10 分钟。比较样品中包含的脂肪酸甲酯 (FAME) 的峰与 37 种 FAME 标准品出峰的保留时间来确定脂肪酸组成。

### 1.2.5 激光共聚焦显微镜

选用 LSM-710 型激光共聚焦显微镜 (德国 Zeiss 公司) 进行样品的微观结构观测。0.1 mg/mL Nile Red 染料与 1 mg/mL Rh-DOPE 染料分别与样本以 1:10 与 1:40 比例混合, 避光

染色 30 min 以上, 取 8  $\mu\text{L}$  于载玻片上, 20  $\mu\text{L}$  的琼脂糖 (0.5 % w/v, 45  $^{\circ}\text{C}$ ) 固定, 盖上盖玻片。Nile Red 于 488 nm 处, Ar+激光器激发, 发射光接收范围 500-600 nm, Rh-DOPE 于 552 nm 处, He-Ne 激光器激发, 发射光接收范围 570-670 nm, 利用  $\times 40$  物镜进行观测。

### 1.2.6 统计分析

本文数值表示为平均值 $\pm$ 标准偏差, 除粒径分布数据重复 5 次测定以外, 其余实验重复测定三次。采用 IBM SPSS 软件 (20.0 版, IBM, Armonk, NY, USA), ANOVA 的 Duncan 检验法进行单因素方差分析 ( $\alpha > 0.05$  判定为方差齐性,  $p < 0.05$  时具有差异,  $p < 0.01$  时差异显著)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 人乳脂肪含量

采集母乳的脂肪含量处于 3-5% 之间。从第 3 日至第 11 日, 样本脂质含量由  $3.24 \pm 1.68\%$  增加到了  $4.96 \pm 2.13\%$ , 之后则保持平稳 (图 1a)。如图 1b 中箱型图所示, 成熟乳的脂质含量 ( $3.89 \pm 1.52\%$ ) 处于初乳 ( $3.07 \pm 1.03\%$ ) 及过渡乳 ( $4.01 \pm 1.71\%$ ) 的脂质含量之间。自初乳至过渡乳分泌期间, 脂质含量增加显著 ( $p < 0.01$ ), 但之后的脂质含量未有明显的变化 ( $p = 0.468$ ), 这在一些研究中也有相似的报道<sup>[19-22]</sup>。另外, 一些研究表明, 在泌乳期间母乳脂质含量持续明显地上升<sup>[15,23]</sup>, 而另一些研究显示, 不同阶段母乳之间脂含量差异并不显著<sup>[24]</sup>。

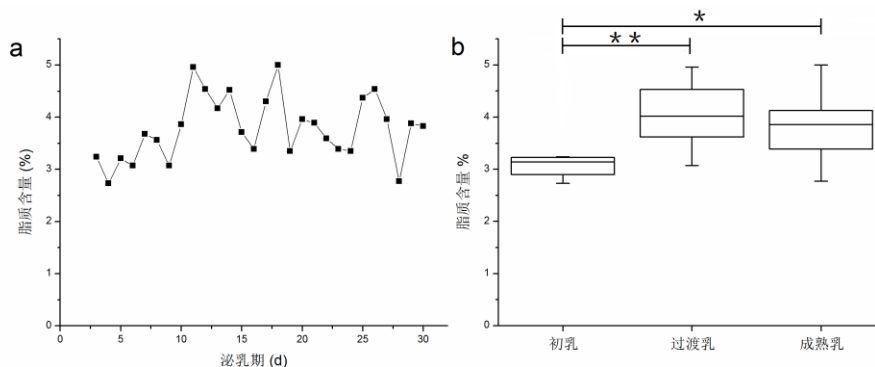


图 1 泌乳期间母乳脂质含量的变化 (\*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ )

Fig. 1 Changes of human milk fat content as lactation progress

### 2.2 人乳脂肪球的粒径分布

图 2a 显示了母乳脂肪球的体积平均粒径随泌乳期的变化。第 3 日 (初乳) 至第 12 日 (过渡乳) 期间, 体积平均粒径显著上升, 分布范围处于  $3.77 \pm 0.95 \mu\text{m}$  至  $5.09 \pm 0.88 \mu\text{m}$  之间, 之后稳定在  $5 \mu\text{m}$  左右。

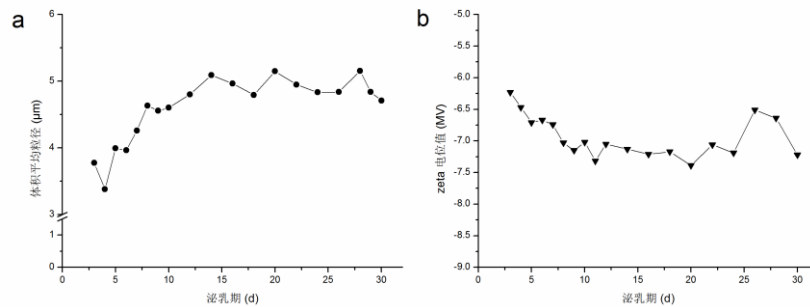


图2 泌乳期间人乳脂肪球 (a) 平均粒径及 (b) zeta 表观电位值的变化

Fig. 2 Changes of HMFG average diameters (a) and zeta potential value (b) during the day of lactation.

130

最初 12 日以内母乳脂肪球粒径分布呈现在图 3 中。曲线逐渐由双峰的模式（初乳）转变为三峰的模式（过渡乳），且初乳的脂肪球粒径分布范围（平均粒径  $3.27\text{--}3.89\text{ }\mu\text{m}$ ）要比过渡乳的分布范围广（ $4.62\text{--}5.50\text{ }\mu\text{m}$ ）。总而言之，在泌乳期间，存在大粒径的脂肪球比例增多且样本体积平均粒径增加的现象。

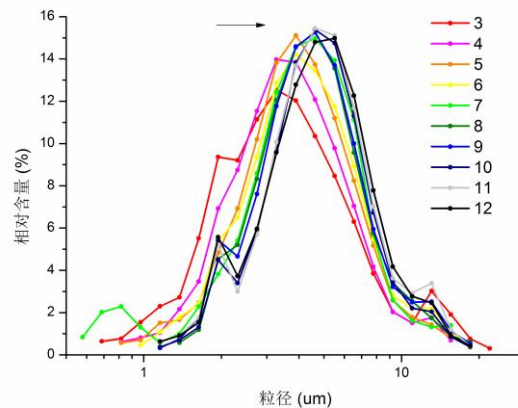


图3 泌乳初期 10 日内母乳中脂肪球粒径分布的变化

Fig. 3 Milk fat globule size distribution changes of human milk samples during the first 10 days of lactation.

上述结果与一些学者的研究结果类似<sup>[25,26,18]</sup>。其中，Harzer, Jensen<sup>[25,26]</sup>等人提出，母乳脂肪球的粒径在泌乳最初四周内有上升的现象，而 R üegg<sup>[18]</sup>等发现自初乳分泌至此 4-5 个月期间，脂肪球粒径从约  $1.80\text{ }\mu\text{m}$  持续增加至约  $4.00\text{ }\mu\text{m}$ 。还有研究表明，一位依靠人工挤乳的母亲在分泌成熟乳期间脂肪球粒径也体现出增加趋势<sup>[12]</sup>。

我们的研究发现，泌乳期间母乳样本中的脂质含量随脂肪球平均粒径增加而增加（图 2a,1a），与之相似的结论也曾被报道<sup>[25,26]</sup>。在牛乳中，乳脂肪球的平均粒径也与日泌乳量存在联系<sup>[11]</sup>。这是因为，乳脂分泌增加时，泌乳细胞分泌的包裹脂滴的膜材料没有同步增加，因此脂滴在被质膜包裹前积聚形成了较大的脂滴。Whittlesto 等人<sup>[27]</sup>并没有观察到母乳与牛乳中脂肪球平均粒径与乳脂含量之间存在的联系，这可能是不同的分析手段与样本所导致的。

145

### 2.3 人乳脂肪球的 zeta 表观电位

乳脂肪球表面的电位不能被直接测量，但 zeta 表观电位（即距微粒表面一定距离的表

面电位)可被测定<sup>[28]</sup>。图 2b 中显示,初乳与过渡乳之间 zeta 表观电位的差异较显著( $p < 0.01$ ),整个泌乳阶段 zeta 表观电位的范围处于 -6 mV 至 -7.5 mV 之间。据 Michalski 等人<sup>[29]</sup>报道,母乳成熟乳的脂肪球 zeta 表观电位在  $-7.8 \pm 0.1$  mV 左右,比牛乳中脂肪球的表观电位值要低 ( $-13.5 \pm 0.9$  mV)。另有文献报道母乳脂肪球 zeta 表观电位平均在  $-7.6 \pm 0.5$  mV<sup>[30]</sup>。我们的研究数据表明,泌乳阶段的最初 11 日之内,电位值存在下降的趋势(范围处于  $-6.23 \pm 1.14$  mV 与  $-7.32 \pm 0.63$  mV 间),而之后的阶段中保持平稳。有文献表明<sup>[15]</sup>,不同泌乳阶段间人乳脂肪球 zeta 表观电位的变化是由于水相环境中不同的蛋白质、极性脂与矿物质所导致的。具有高 zeta 表观电位的脂肪球更稳定,不易凝集,而表观电位较低的脂肪球对于新生儿来说更利于脂质消化。

2.4 人乳脂肪酸组成

不同泌乳时期母乳样本的脂肪酸组成是不同的,母乳脂质的特性主要取决于其脂肪酸组成。有文献表明<sup>[25,31]</sup>,每日晨间与晚间的母乳样本无显著性差异。下表 2 为初乳、过渡乳与成熟乳样本的脂肪酸组成。

表 2 初乳、过渡乳与成熟乳样本的脂肪酸组成 (wt %)

Table 2 Fatty acid composition of colostrum, transitional and mature milk (wt %)

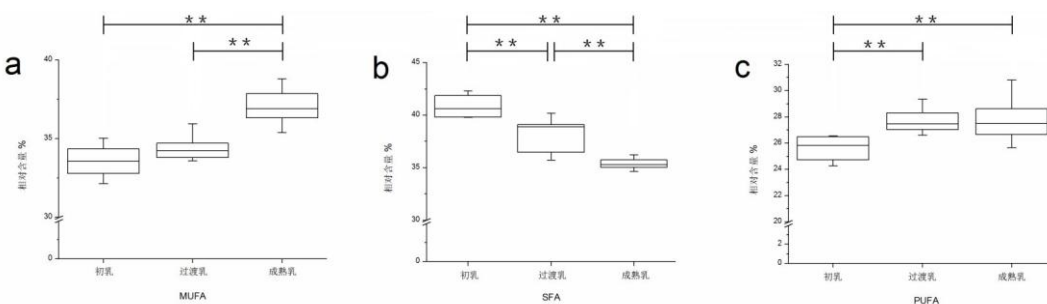
Fatty acid	Colostrum (n=21)	Transitional milk (n=43)	Mature milk (n=70)
10:0	1.18 ±0.77	1.32 ±0.59	0.91 ±0.40 <sup>b,c</sup>
12:0	5.35 ±2.13	4.99 ±2.00	3.27 ±1.28 <sup>b,c</sup>
14:0	5.67 ±1.23	4.46 ±1.70 <sup>a</sup>	3.18 ±1.21 <sup>b,c</sup>
15:0	0.16 ±0.02	0.14 ±0.05	0.14 ±0.06
16:0	21.63 ±1.49	20.47 ±1.64 <sup>a</sup>	20.73 ±2.10
17:0	0.29 ±0.04	0.28 ±0.04	0.27 ±0.05
18:0	5.08 ±0.68	5.37 ±0.88	5.88 ±0.95 <sup>b,c</sup>
20:0	0.76 ±0.22	0.52 ±0.08 <sup>a</sup>	0.47 ±0.07 <sup>b</sup>
22:0	0.71 ±0.35	0.54 ±0.20 <sup>a</sup>	0.44 ±0.12 <sup>b,c</sup>
16:1 n-7	2.49 ±0.48	2.52 ±0.53	2.52 ±0.47
17:1 n-7	0.15 ±0.03	0.15 ±0.03	0.17 ±0.08
18:1 n-9	30.92 ±3.04	31.55 ±2.65	34.32 ±2.65 <sup>b,c</sup>
18:2 n-6	22.28 ±2.24	24.49 ±3.45 <sup>a</sup>	24.57 ±3.36 <sup>b</sup>
18:3 n-3	1.38 ±0.31	1.63 ±0.46 <sup>a</sup>	1.55 ±0.48
18:3 n-6	0.41 ±0.11	0.35 ±0.07 <sup>a</sup>	0.38 ±0.07
20:3 n-6	0.91 ±0.30	0.76 ±0.15 <sup>a</sup>	0.74 ±0.15 <sup>b</sup>
22:6 n-3	0.62 ±0.47	0.46 ±0.22 <sup>a</sup>	0.48 ±0.27 <sup>b</sup>
ΣSFA	40.83 ±3.61	38.10 ±4.10 <sup>a</sup>	35.28 ±3.70 <sup>b,c</sup>
ΣMUFA	33.57 ±3.37	34.22 ±2.83	37.01 ±2.70 <sup>b,c</sup>
ΣPUFA	25.61 ±2.60	27.70 ±3.76 <sup>a</sup>	27.71 ±3.72 <sup>b</sup>
n-6/n-3	11.85 ±2.45	12.32 ±2.29	12.83 ±2.52
LA/ALA	16.11 ±2.58	15.17 ±2.37	16.12 ±3.17

注: a 初乳与过渡乳之间存在显著性差异 ( $p < 0.05$ ), b 初乳与成熟乳之间存在显著性差异 ( $p < 0.05$ ), c 过渡乳与成熟乳之间存在显著性差异 ( $p < 0.05$ ); LA/LnA: 亚油酸与亚麻酸相对含量的比例。

母乳样本中检测出了 17 种脂肪酸,其中包括 9 种主要脂肪酸(相对含量> 95 %)与 8 种微量脂肪酸(相对含量< 1 %)。这其中仅有一种奇数碳脂肪酸(17:1 n-7)与两种反式脂

肪酸 (18:1 n-9 与 16:1 n-7) 被检测出。

170 样本检测出了 9 种饱和脂肪酸, 其中初乳中占比  $40.83 \pm 3.61\%$  而成熟乳中占比  $35.28 \pm 3.70\%$ , 在泌乳期间相对含量显著降低 ( $p < 0.01$ )。图 4 为饱和脂肪酸 (SFAs)、单不饱  
和脂肪酸 (MUFAs) 与多不饱和脂肪酸 (PUFAs) 在泌乳期间样本中相对含量的箱形图。  
在所有的 SFAs 中, 棕榈酸 (16:0) 占比约 50%, 初乳阶段至过渡乳阶段, 含量显著降低 ( $p < 0.05$ ), 文献中对于中国与西班牙的母乳样本中曾有相似报道<sup>[32-34]</sup>。在泌乳阶段, 18:0 是  
175 唯一一种自泌乳初期至成熟乳阶段含量显著上升的脂肪酸 ( $p < 0.05$ ), 相似的结论对于我国及其他国家的母乳样本也有报道<sup>[31,32,34]</sup>。就不同粒径的脂肪球的脂肪酸组成对比来说<sup>[35,36]</sup>, 18:0 在粒径较大的脂肪球中含量更多, 对于 15:0 与 17:0 两种奇数碳脂肪酸, 整个泌  
乳过程的含量较为稳定。一些文献报道<sup>[15,31]</sup>, 随着乳汁的成熟, SFAs 的总含量没有明显差  
异。



180 图 4 不同泌乳时期母乳饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸与多不饱和脂肪酸含量的变化 (\*\*  $p < 0.01$ )

Fig. 4 Box plots of saturated fatty acid (SFA), monounsaturated fatty acid (MUFA) and polyunsaturated fatty acid (PUFA) in human milk during the lactation (\*\*  $p < 0.01$ ).

185 样本的单不饱和脂肪酸 (MUFAs) 中, 我们观察到油酸 (18:1 n-9) 含量明显上升了 ( $p < 0.05$ ), 在成熟乳中含量高达  $34.32 \pm 2.65\%$  (表 2)。这与 Chen, Sala-Vila 等人<sup>[32,34]</sup>的  
结论相似, 但与另一些报道的变化趋势略有不同<sup>[31,33]</sup>。尽管 18:1 n-9 非必需脂肪酸, 但它降低了  
甘油三酯的熔点, 为脂肪球提供了流动性, 从而进行组合、运输与新陈代谢等, 是结构成  
分与能量的来源<sup>[37]</sup>。除了脂肪酸 18:1 n-9, 我们并没有观察到 16:1 n-7 与 17:1 等明显的变  
化。若考虑不同粒径脂肪球的脂肪酸组成, 有文献报道, 油酸 (18:1 n-9) 在大粒径的脂肪  
190 球中含量更高<sup>[36]</sup>, 但另有学者认为, 相比于小粒径的脂肪球, 大粒径脂肪球中 18:1 n-9 含量  
反而降低了<sup>[38]</sup>, 这也可能是脂肪提取方法或是检测到的脂肪酸种类各异所造成的。

相比于过渡乳与成熟乳, 初乳中所含多不饱和脂肪酸 (PUFA) 较少 (图 4), 但由过  
渡乳向成熟乳转变期间, PUFA 含量几乎没有变化 (表 2)。22:6 n-3 (DHA) 有助于婴儿  
智力的提升<sup>[15]</sup>, 并且可能对视网膜功能与髓鞘形成有利。它在初乳中含量相对较高, 可能  
195 与细胞膜中长链脂肪酸分子含量较为丰富有关, Agostoni<sup>[39]</sup>, Koletzko<sup>[40]</sup>, Nyuar<sup>[41]</sup>及 Wang<sup>[42]</sup>  
等学者相继有过相似的报告。而 Qi 等学者<sup>[43]</sup>还曾报道, 无锡地区的母乳样本相比其他一些  
地区, DHA 含量相对更高, 这可能是食用水产品的饮食习惯所导致的。

泌乳时期 n-6 与 n-3 脂肪酸的比例随时间相对增加。对于必需脂肪酸来说, 亚油酸 (LA, 18:2 n-6) 含量最高, 约占总脂肪酸的  $22.28 \pm 2.24\%$  至  $24.57 \pm 3.36\%$ , 另一必需脂肪酸,

$\alpha$ -亚麻酸 (ALA, 18:3 n-3), 在过渡乳与成熟乳中含量相对丰富, 而  $\gamma$ -亚麻酸 (GLA, 18:3 n-6) 与 20:3 n-6 则在初乳中含量较高, 之后出现降低 ( $p < 0.05$ )。在初乳与过渡乳中, LA:ALA 比例有些许降低, 但差异并不显著, 同时, López López 等人<sup>[33]</sup>也发现 LA:ALA 比例在初乳中偏低。值得提及的是, LA 与 ALA 这两种脂肪酸确保了足够的生物学必需脂肪酸来源, 为婴儿提供营养, 相关标准中规定<sup>[44]</sup>, LA:ALA 比例应处于 5:1 至 15:1 之间。但由于全球其他一些地区母乳中 LA:ALA 的比例也未达标准<sup>[43]</sup>, 因此, 欧盟 2016 年的最新标准中, 删除了这一项。

总的来说, SFAs 含量自  $40.83 \pm 3.61\%$  持续下降到  $35.28 \pm 3.70\%$  的同时, MUFAs 与 PUFAs 含量分别显著上升 ( $p < 0.01$ ) 至  $37.01 \pm 2.70\%$  (成熟乳) 与  $27.70 \pm 3.76\%$  (过渡乳)。对于不同链长的脂肪酸, 长链脂肪酸 (LCFAs) 含量上升而中链 (MCFAs) 与超长链脂肪酸 (VLCFAs) 含量则下降 (图 5)。图 6 中的箱形图显示, 泌乳的不同阶段之间 MCFAs 与 LCFAs 具有显著性差异。与初乳相比, VLCFAs 在过渡乳与成熟乳中显著降低了。有文献表明<sup>[36,45,46]</sup>, 小粒径脂肪球中, MCFAs 含量较丰富, 这也显示了乳腺细胞的生物合成能力的变化<sup>[47]</sup>。

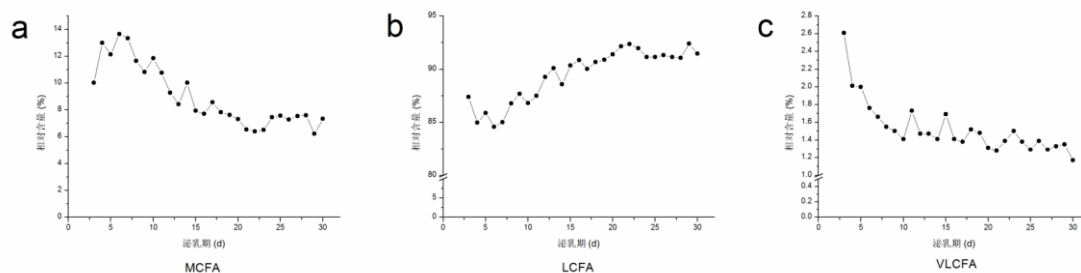


图 5 母乳中链脂肪酸、长链脂肪酸与超长链脂肪酸含量随泌乳期的变化

Fig. 5 The content of middle-chain fatty acid (MCFAs), long-chain fatty acid (LCFAs) and very long-chain fatty acid (VLCFAs) in human milk fat during the day.

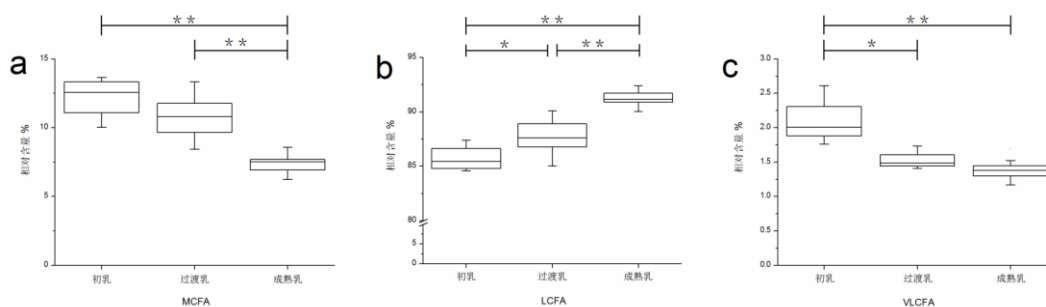


图 6 不同泌乳时期母乳中链脂肪酸、长链脂肪酸与超长链脂肪酸含量的变化 (\*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ )

Fig. 6 Box plots of MCFAs, LCFAs and VLCFAs in human milk fat during the lactation (\*\*  $p < 0.01$ , \*  $p < 0.05$ ).

随着泌乳的进程, 母乳样本脂肪酸组成的变化, 可能是由于新生儿的需求变化所导致的。总的来说, 我们的结论反应出母亲的新陈代谢适应性, 并且不同粒径大小的脂肪球组成可能不同, 类似假设在相关文献中也有提及<sup>[36,46,48,49]</sup>。

225

## 2.5 人乳脂肪球的微观结构

230

泌乳前 7 日之内的母乳样本经尼罗红与 Rh-DOPE 荧光染料染色后在激光共聚焦显微镜下观测（初乳与过渡乳样本）。图 7 中显示了泌乳第 3、5、7 天的母乳脂肪球。尼罗红染色的中性脂（TAG）呈现于脂肪球的核心，而由 Rh-DOPE 标记的磷脂则包裹于甘油三酯外侧呈圆环状。这是因为脂肪球分泌时，脂滴由内质网分泌进入细胞质，覆盖了三层膜的包裹，再被分泌出细胞<sup>[4]</sup>。图中，圆环上的荧光强弱不一，这可能是磷脂分布不均匀所导致的。

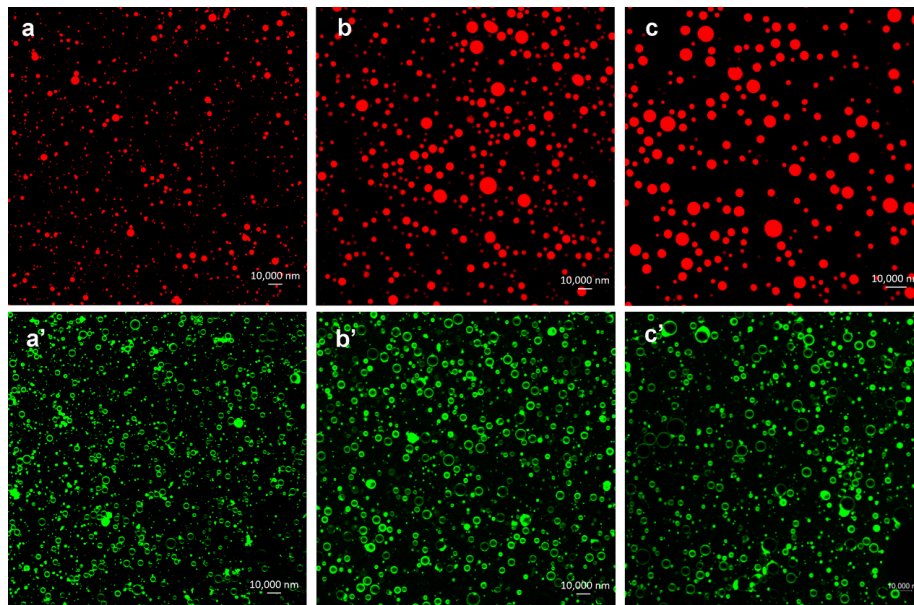


图 7 激光共聚焦显微镜下泌乳第 3 (a, a')、第 5 (b, b')、第 7 (c, c') 天的母乳样本，非极性脂由尼罗红染色 (a, b, c)，极性脂由 Rh-DOPE 染色 (a', b', c')

235

Fig. 7 Images of human milk fat globules observed under CLSM for the 3 d (a, a'), 5 d (b, b') and 7 d (c, c'). Lipids (a, b, c) were labelled by Nile red, and polar lipids (a', b', c') was labelled by Rh-DOPE fluorescent probe.

240

泌乳最初的 7 日内，乳脂肪球的粒径显著增加（图 7），这与激光粒度仪测定的母乳样本的粒径分布结论一致（图 2、3），都显示大粒径脂肪球随泌乳期延长比例增加。在最初的泌乳时期，母乳脂肪球的体积平均粒径增加，这是首次由激光共聚焦显微镜观测到的母乳脂肪球粒径的增加。

Wiking, Rüegg 等人<sup>[11,18]</sup>发现，在牛乳中，乳脂含量，脂肪酸组成与含量， $\gamma$ -谷氨酰转肽酶的活性，激素的减少（例如，催产素，催乳素）与脂肪球膜均与脂肪球的粒径相关。在人乳中也有相似结论得出<sup>[50,40]</sup>，但另一方面，Zou 等人<sup>[15]</sup>表示，由于不同的基因或是饮食习惯不同，也可能有不同结论的提出。

## 3 结论

245

本研究收集了无锡地区产妇最初泌乳时期第 3 至 30 天的母乳样本，并对其脂肪球粒径、脂肪酸组成变化等指标进行研究。研究数据表明，随泌乳期延长，母乳脂肪球粒径存在增加的趋势。在最初十日内，脂质含量也随着大粒径脂肪球比例的增加而提升，而 zeta 表观电位却趋向于降低，这些指标在之后维持稳定。初乳相比于过渡乳与成熟乳，小粒径的乳脂肪

球占多数, 饱和脂肪酸 (SFAs), 中链脂肪酸 (MCFAs) 与超长链脂肪酸 (VLCFAs) 含量丰富, 但不饱和脂肪酸 (UFAs) 与长链脂肪酸 (LCFAs) 含量较低。本研究以新视角切入研究了母乳脂肪球随泌乳期的影响, 未来将有更多的研究着重于揭示其与新生儿机能方面的联系。本文的研究数据有利于婴幼儿配方产品的研发, 使其无论是物理结构还是化学组成更贴近于母乳, 从而在缺失母乳喂养时为新生儿提供更适合的膳食。

## [参考文献] (References)

- [1] LANIGAN J. Global strategy for infant and young child feeding [J]. Geneva Switzerland Who, 2003, 56(March-April): 236-8.
- [2] VICTORA C G, BAHL R, BARROS A J, et al. Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect [J]. Lancet, 2016, 387(10017): 475-90.
- [3] JENSEN R G. The Lipids of Human Milk [M]. CRC Press, 1989.
- [4] KEENAN T W. Milk lipid globules and their surrounding membrane: a brief history and perspectives for future research [J]. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2001, 6(3): 365-71.
- [5] JENSEN R G. The lipids in human milk [J]. Progress in Lipid Research, 1996, 35(1): 53-92.
- [6] BARRERA C, VALENZUELA R, CHAMORRO R, et al. The Impact of Maternal Diet during Pregnancy and Lactation on the Fatty Acid Composition of Erythrocytes and Breast Milk of Chilean Women [J]. Nutrients, 2018, 10(7).
- [7] JIANG J J, WU K J, YU Z X, et al. Changes in fatty acid composition of human milk over lactation stages and relationship with dietary intake in Chinese women [J]. Food & Function, 2016, 7(7): 3154-62.
- [8] MORERA PONS S, CASTELLOTE BARGALL A, CAMPOY FOLGOSO C, et al. Triacylglycerol composition in colostrum, transitional and mature human milk [J]. European Journal of Clinical Nutrition, 2000, 54(12): 878.
- [9] ZHAO P, ZHANG S, LIU L, et al. Differences in the Triacylglycerol and Fatty Acid Compositions of Human Colostrum and Mature Milk [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(17): 4571-9.
- [10] Wei W, Yang J, Xia Y, et al. Tocopherols in human milk: change during lactation, stability during frozen storage, and impact of maternal diet[J]. International Dairy Journal, 2018:S0958694618300748.
- [11] WIKING L, STAGSTED J, BJ RCK L, et al. Milk fat globule size is affected by fat production in dairy cows [J]. International Dairy Journal, 2004, 14(10): 909-13.
- [12] MICHALSKI M C, BRIARD V, MICHEL F, et al. Size Distribution of Fat Globules in Human Colostrum, Breast Milk, and Infant Formula [J]. J Dairy Sci, 2005, 88(6): 1927-40.
- [13] WALSTRA P, WOUTERS J T M, GEURTS T J. Dairy Science and Technology, Second Edition [J]. 2005.
- [14] NIELSEN J H, WIKING L. Impact of milking frequencies on the level of free fatty acids in milk, fat globule size, and fatty acid composition [J]. J Dairy Sci, 2006, 89(3): 1004-9.
- [15] ZOU X Q, GUO Z, HUANG J H, et al. Human milk fat globules from different stages of lactation: a lipid composition analysis and microstructure characterization [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(29): 7158-67.
- [16] MARTINI M, ALTOMONTE I, PESI R, et al. Fat globule membranes in ewes' milk: The main enzyme activities during lactation [J]. International Dairy Journal, 2013, 28(1): 36-9.
- [17] Mesilati-Stahy R, Argov-Argaman N. The relationship between size and lipid composition of the bovine milk fat globule is modulated by lactation stage[J]. Food Chemistry, 2014, 145:562-570.
- [18] R EGG M, BLANC B. The fat globule size distribution in human milk [J]. Biochim Biophys Acta, 1981, 666(1): 7-14.
- [19] ANDERSON G H, ATKINSON S A, BRYAN M H. Energy and macronutrient content of human milk during early lactation from mothers giving birth prematurely and at term [J]. Amjclinnutr, 1981, 34(2): 258-65.
- [20] GUERRINI P, BOSI G, CHIERICI R, et al. Human milk: relationship of fat content with gestational age [J]. Early Hum Dev, 1981, 5(2): 187-94.
- [21] CHANG N, JUNG J A, KIM H, et al. Macronutrient composition of human milk from Korean mothers of full term infants born at 37-42 gestational weeks [J]. Nutrition Research & Practice, 2015, 9(4): 433-8.
- [22] Armoni Domany K, Mandel D, Hausman Kedem M, et al. Breast milk fat content of mothers to small-for-gestational-age infants[J]. Journal of Perinatology, 2015, 35(6):444-446.
- [23] BOERSMA E R, OFFRINGA P J, MUSKIET F A, et al. Vitamin E, lipid fractions, and fatty acid composition of colostrum, transitional milk, and mature milk: an international comparative study [J]. Am J Clin Nutr, 1991, 53(5): 1197.
- [24] FRAN A E L, NICOMEDES T D R, CALDERON I D M P, et al. Time-dependent alterations of soluble and cellular components in human milk [J]. Biol Rhythm Res, 2010, 41(5): 333-47.
- [25] HARZER G, HAUG M, DIETERICH I, et al. Changing patterns of human milk lipids in the course of the lactation and during the day [J]. Am J Clin Nutr, 1983, 37(4): 612-621.
- [26] JENSEN R J. Handbook of Milk Composition [J]. Food Science & Technology International, 1995, 6(11): 1223-1224.

- [27] WHITTLESTON W G, PEBBIN D B. Variations in the fat content of human milk during suckling [J]. *J Dairy Res*, 1954, 21(2): 204-206.
- [28] TUINIER R, KRUIF C G D. Stability of casein micelles in milk [J]. *J Chem Phys*, 2002, 117(3): 1290-1295.
- [29] MICHALSKI M C, MICHEL F, SAINMONT D, et al. Apparent  $\gamma$ -potential as a tool to assess mechanical damages to the milk fat globule membrane [J]. *Colloids & Surfaces B Biointerfaces*, 2002, 23(1): 23-30.
- [30] LOPEZ C, M  $\odot$ NARD O. Human milk fat globules: polar lipid composition and in situ structural investigations revealing the heterogeneous distribution of proteins and the lateral segregation of sphingomyelin in the biological membrane [J]. *Colloids & Surfaces B Biointerfaces*, 2011, 83(1): 29-41.
- [31] SERRA G, MARLETTA A, BONACCI W, et al. Fatty acid composition of human milk in Italy [J]. *Neonatology*, 1997, 72(1): 1-8.
- [32] CHEN Z Y, KWAN K Y, TONG K K, et al. Breast milk fatty acid composition: a comparative study between Hong Kong and Chongqing Chinese [J]. *Lipids*, 1997, 32(10): 1061-7.
- [33] L PEZL PEZ A, L PEZSABATER M C, CAMPOYFOLGOSO C, et al. Fatty acid and sn-2 fatty acid composition in human milk from Granada (Spain) and in infant formulas [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2002, 56(12): 1242-54.
- [34] SALA-VILA A, CASTELLOTE A I, RODRIGUEZ-PALMERO M, et al. Lipid composition in human breast milk from Granada (Spain): changes during lactation [J]. *Nutrition*, 2005, 21(4): 467-473.
- [35] BRIARD-BION V, JUANEDA P, RICHOUX R, et al. trans-C18:1 isomers in cheeses enriched in unsaturated fatty acids and manufactured with different milk fat globule sizes [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(20): 9374-9382.
- [36] LOPEZ C, BRIARD-BION V, M  $\odot$ NARD O, et al. Fat globules selected from whole milk according to their size: Different compositions and structure of the biomembrane, revealing sphingomyelin-rich domains [J]. *Food Chem*, 2011, 125(2): 355-368.
- [37] JENSEN R G. Lipids in human milk [J]. *Lipids*, 1999, 34(12): 1243-71.
- [38] BRIARD V, LECONTE N, MICHEL F, et al. The fatty acid composition of small and large naturally occurring milk fat globules [J]. *European Journal of Lipid Science & Technology*, 2010, 105(11): 677-82.
- [39] AGOSTONI C, MARANGONI F, LAMMARDO A M, et al. Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acid Concentrations in Human Hindmilk are Constant Throughout Twelve Months of Lactation [M]. Springer US, 2001.
- [40] KOLETZKO B, RODRIGUEZ-PALMERO M, DEMMELMAIR H, et al. Physiological aspects of human milk lipids [J]. *Early Hum Dev*, 2001, 65(01): S3-S18.
- [41] NYUAR K B, MIN Y, GHEBREMESKEL K, et al. Milk of northern Sudanese mothers whose traditional diet is high in carbohydrate contains low docosahexaenoic acid [J]. *Acta P $\ddot{a}$ diatrica*, 2010, 99(12): 1824-1827.
- [42] WANG L, SHIMIZU Y, KANEKO S, et al. Comparison of the fatty acid composition of total lipids and phospholipids in breast milk from Japanese women [J]. *Pediatr Int*, 2010, 42(1): 14-20.
- [43] QI C, SUN J, XIA Y, et al. Fatty Acid Profile and the sn-2 Position Distribution in Triacylglycerols of Breast Milk during Different Lactation Stages [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(12): 3118-3126.
- [44] BLANCHARD E, ZHU P, SCHUCK P. 18 - Infant formula powders [J]. *Handbook of Food Powders*, 2013, 147(4): 465-83.
- [45] MICHALSKI M C, BRIARD V, JUANEDA P. CLA profile in native fat globules of different sizes selected from raw milk [J]. *International Dairy Journal*, 2005, 15(11): 1089-1094.
- [46] FAUQUANT C, BRIARD V, LECONTE N, et al. Differently sized native milk fat globules separated by microfiltration: fatty acid composition of the milk fat globule membrane and triglyceride core [J]. *European Journal of Lipid Science & Technology*, 2010, 107(2): 80-86.
- [47] GIBSON R A, KNEEBONE G M. Fatty acid composition of human colostrum and mature breast milk [J]. *Am J Clin Nutr*, 1981, 34(2): 252-257.
- [48] ARGOV N, WACHSMANNHOGIU S, FREEMAN S L, et al. Size-dependent lipid content in human milk fat globules [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(16): 7446-7450.
- [49] MESILATISTAHY R, MIDA K, ARGOVARGAMAN N. Size-dependent lipid content of bovine milk fat globule and membrane phospholipids [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(13): 7427-7435.
- [50] PATTON S, KEENAN T W. The Milk fat globule membrane [J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*, 1975, 415(3): 273-309.