

检测分析

人乳的磷脂组成与脂肪球结构

杨洁¹, 杨丹², 张雪¹, 韦伟¹, 黄健花¹, 金青哲¹, 王兴国¹

(1. 江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 江苏省食品安全与质量控制协同创新中心, 江苏无锡 214122; 2. 中粮营养健康研究院 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209)

摘要:采用核磁共振磷谱(³¹P-NMR)测定不同泌乳期、不同胎龄的人乳磷脂组成, 结果显示足月儿和早产儿人乳中, 磷脂的主要组成均为鞘磷脂(SM)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰乙醇胺缩醛磷脂(EPLAS)、磷脂酰肌醇(PI)和磷脂酰丝氨酸(PS), 其中SM含量最高, 其次为PC和PE, PS和PI含量最低。总磷脂含量在相同胎龄不同泌乳期以及相同泌乳期不同胎龄间均无显著性差异。在磷脂组成上, 足月儿人乳中PI在初乳和过渡乳中的含量分别为(4.14 ± 0.42)%和(3.66 ± 0.66)%, 显著高于成熟乳中的(2.79 ± 0.09)%; 早产儿人乳中PC在初乳和过渡乳中的含量分别为(30.74 ± 2.03)%和(29.40 ± 2.37)%, 显著高于成熟乳的(27.55 ± 2.42)%, 此外EPLAS含量随泌乳期的延长逐渐降低, PE含量逐渐升高, PE + EPLAS在不同的泌乳期无显著性差异。另外, 足月儿和早产儿的脂肪球结构无明显差异, 磷脂构成的膜包裹体积平均粒径约为5 μm的脂肪球。

关键词:磷谱核磁; 磷脂; 人乳脂肪球; 泌乳期; 胎龄

中图分类号: TS252.1; TQ641 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)10-0134-06

Phospholipid composition and fat globule structure of human milk

YANG Jie¹, YANG Dan², ZHANG Xue¹, WEI Wei¹,
HUANG Jianhua¹, JIN Qingzhe¹, WANG Xingguo¹

(1. Collaborative Innovation Center of Food Safety and Quality Control in Jiangsu Province, State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 2. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, COFCO Health and Nutrition Institute, Beijing 102209, China)

Abstract: Phospholipid (PL) composition in human milk from different lactation periods and gestational ages was analyzed using ³¹P-NMR. The results indicated that in preterm and full term human milk, the main PL were SM, PC, PE, EPLAS, PI and PS, in which the content of SM was the highest, followed by PC and PE, and the contents of PI and PS were the lowest. The content of total PL did not show significant difference in human milk from different lactation periods and gestational ages. In phospholipid composition, the contents of PI in colostrum and transitional milk in full term human milk were (4.14 ± 0.42)% and (3.66 ± 0.66)% respectively, which were significantly higher than (2.79 ± 0.09)% of the mature milk. In preterm human milk, the contents of PC in colostrum and transitional milk were

(30.74 ± 2.03)% and (29.40 ± 2.37)% respectively, which were significantly higher than (27.55 ± 2.42)% of the mature milk. In addition, the EPLAS content decreased and PE content increased gradually with the lactation period prolonging, while the content of PE + EPLAS had no significant difference. Moreover, there was no significant difference in milk fat globule between preterm and full term human milk. Milk fat glob-

收稿日期: 2017-12-28; 修回日期: 2018-07-07

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31701558); 国家重点研发计划“现代食品加工及粮油收储运技术与装备”重点专项(2017YFD0400600); 中央高校基本科研业务费专项资金资助(JMSRP11734)

作者简介: 杨洁(1992), 女, 在读硕士, 研究方向为油脂及植物蛋白工程(E-mail) yangjiejndx@163.com。

通信作者: 韦伟, 副教授(E-mail) weiw@jiangnan.edu.cn。

ule membrane composed of phospholipid enveloped milk fat globule with volume mean diameter about 5 μm .

Key words: ^{31}P -NMR; phospholipid; human milk fat globule; lactation period; gestational age

人乳是婴儿最理想的食物,含有3%~5%的脂肪,0.8%~0.9%的蛋白质,6.9%~7.2%的碳水化合物(主要是乳糖),0.2%的矿物质,以及其他生物活性物质等。人乳中脂肪提供了婴儿生长发育所需膳食能量的40%~55%,是婴儿成长所需能量的主要来源^[1],其在乳液中以脂肪球的形式存在。人乳中磷脂的含量很低,约占总脂肪的0.4%~1%,但是对婴儿的生长发育具有重要作用,尤其对婴儿大脑、神经和视觉的发育,并且磷脂是维持乳脂肪球结构稳定不可或缺的成分。

人乳中存在的磷脂主要为甘油磷脂和鞘磷脂。甘油磷脂为甘油骨架的sn-1、sn-2位上连接两个脂肪酸,sn-3位上为带不同基团的磷酸盐,如:磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰丝氨酸(PS)、磷脂酰肌醇(PI)。鞘磷脂(SM)是含鞘氨醇或二氢鞘氨醇的磷脂,其分子不含甘油,是一分子脂肪酸以酰胺键与鞘氨醇的氨基相连而成。研究显示PC对肝病的治疗具有一定的功效^[2];PS对中枢神经系统的发育有着重要意义^[3],且能通过饮食补充来改善人的认知能力^[4];PE和PI具有降低胆固醇的作用^[5-6];而SM作为动物特有的磷脂,参与炎症反应^[7]以及泌乳期肠道的成熟^[8]等;此外,哺乳动物中还含有缩醛磷脂(PLAS)——甘油骨架C-1位置上含有烯醚键的磷脂,可以调节质膜的流动性,是多不饱和脂肪酸的存储库,可以作为内源抗氧化剂保护细胞氧化应激,还与细胞信号传导有关^[9-10]。在人乳中,磷脂主要存在于乳脂肪球膜(MFGM)上,构成脂肪和乳清的隔离屏障,使脂肪球呈现一定的大小,稳定存在于乳液中,这个结构具有独特的营养学意义^[11-13]。因此,对人乳磷脂的组成及其在人乳中的分布进行探讨是非常有意义的。

目前,磷脂的测定方法主要为薄层色谱(TLC)、高效液相色谱(HPLC)以及核磁共振磷谱(^{31}P -NMR)等。TLC具有设备简单、廉价、分离结果直观可见等优点,但操作步骤复杂,不适合大量样品的检测;HPLC通常采用蒸发光散射检测器(ELSD)或质谱(MS)对磷脂种类进行测定,其方法快速且不破坏样品,但需要各种标品来定性定量,且大豆磷脂标品与样品磷脂间的差异可能会影响峰的响应值从而造

成结果的不准确性^[14]。只有含磷组分能够在 ^{31}P -NMR图谱上出峰, ^{31}P -NMR具有干扰因素少、预处理简便、快速、准确度高等优点,但核磁共振仪器较为昂贵,目前利用其测定人乳磷脂组成的研究较少^[15]。

本文使用 ^{31}P -NMR系统地分析了人乳磷脂的组成,并对人乳脂肪球的结构进行了探讨,为婴儿配方奶粉的制备提供更全面有效的数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人乳样品来源于无锡市的24位产妇,无妊娠糖尿病、高血压以及任何影响脂质代谢的疾病,无乳腺炎等哺乳禁忌症,其中18位早产儿母亲和6位足月儿母亲。分别在不同哺乳时期,初乳((4±3)d)、过渡乳((11±3)d)以及成熟乳((30±3)d)进行采样。样品收集的6h内进行粒径和共聚焦测定,然后储存在-80℃下作为磷脂测定的样品。尼罗红染料购于美国Sigma公司,并以质量浓度42 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶于丙酮中;Rh-DOPE(1 mg/mL溶于氯仿)购于美国Avanti公司;氘代氯仿(CDCl_3)、色谱纯甲醇(MeOH)、乙二胺四乙酸(EDTA)和磷酸三苯酯(TPP),购于美国Sigma公司;其他分析纯试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。

III 400核磁共振波谱仪,德国Bruker公司;S3500激光粒度分析仪,美国Microtrac公司;LSM710激光共聚焦显微镜,德国Zeiss公司。

1.2 实验方法

1.2.1 乳脂肪提取

采用GB 5413.3—2010《食品安全国家标准 婴幼儿食品和乳品中脂肪的测定》对人乳中的脂肪进行提取。移取10 mL的人乳于抽脂瓶中,加入2 mL氨水,充分混合后立即放入(65±5)℃的水浴中,振荡水浴15~20 min,不时取出振荡。取出后,冷却至室温。静止30 s后加入10 mL乙醇,缓和但彻底地进行混合。再依次加入25 mL乙醚和25 mL石油醚,按100次/min的速率分别振荡1 min和30 s,缓和进行,避免形成持久乳化液。随后静置至少30 min,直到上层液澄清,明显与水相分离。收集上层清液,下层液用乙醇、乙醚和石油醚重复提取一次,溶剂用量分别为5、15 mL和15 mL,操作同第一

次提取。最后合并所有上层清液,旋蒸并氮吹除去溶剂得到乳脂肪。

1.2.2 乳脂肪样品的前处理

参考文献[16]方法。精确称取 TPP 约 5 mg,溶于 50 mL $CDCl_3$ 中,取上述提取的乳脂肪样品约 200 mg 于 15 mL 离心管中,加入 0.5 mL MeOH - H_2O 、0.5 mL 0.2 mol/L EDTA - Na^+ (1 mol/L NaOH 溶液调节 0.2 mol/L EDTA 的 pH 至 7.0),再加入 0.5 mL 含有 TPP 的 $CDCl_3$ 溶液,充分混合至所有样品溶解(旋涡振荡)后离心(4 000 r/min, 5 min, 室温),吸取下层液 500 μL 至核磁管中。

1.2.3 ^{31}P -NMR 分析

采用反门控去耦消除奥氏核效应,仪器条件:探针温度 25 $^{\circ}C$, 90° 脉冲,数据点 32 k,弛豫时间 12.25 s,脉冲宽度 11.66 μs ,采样时间 3.22 s,谱仪频率 161.98 Hz。

1.2.4 粒径分析

取 0.2 mL 的新鲜人乳样品,加入 0.2 mL EDTA/NaOH(35 mmol/L)缓冲液裂解乳中的酪蛋白胶束和 0.2 mL SDS 溶液(1%)防止脂肪球聚集。选用激光粒度分析仪的湿法进行测试,设置样品为球形及折射率为 1.460,测试结果利用已开发的 Microtrac FLEX 粒度分析软件数据处理系统进行计算机处理。每个样品重复测试 5 次,取平均值。

1.2.5 微观结构分析

共聚焦显微镜观察前需对样品进行染色标记,100 μL 尼罗红染料(42 $\mu g/mL$)加入 0.5 mL 人乳样品中对中性脂进行标记,10 μL Rh - DOPE 染料加入 250 μL 人乳样品中对极性脂进行标记,然后在室温下保持 30 min。取已标记好的样品 5 μL 于载玻片上,用 20 μL 的琼脂糖(0.5%, 45 $^{\circ}C$)固定。共

聚焦显微镜分别采用 Ar 激光器在 488 nm 和 He - Ne 激光器在 543 nm 下激发尼罗红和 Rh - DOPE 荧光探针,使用 40 倍物镜进行观察。

2 结果与分析

2.1 ^{31}P -NMR 的分析

^{31}P -NMR 分离得到人乳磷脂的核磁图,见图 1。

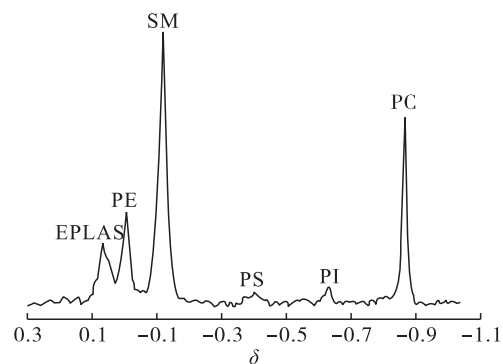


图 1 人乳磷脂的 ^{31}P -NMR 谱图

由图 1 可知,从高场到低场的峰分别代表 PC、PI、PS、SM、PE 以及磷脂酰乙醇胺缩醛磷脂(EPLAS)^[15-16]。其中,磷脂的化学位移是相对内标 TPP 的化学位移($\delta = -17.8$)而定,然后将此化学位移同相关文献^[15-16]报道的化学位移进行比对对各磷脂峰进行定性。此外, ^{31}P -NMR 谱上各个峰的峰面积之比为各个含磷组分的摩尔比,因此可以利用内标法通过面积积分计算对含磷组分进行定量。

2.2 人乳的磷脂分析

2.2.1 人乳磷脂的含量

以 TPP 为内标,通过面积积分计算得不同泌乳期的足月儿和早产儿人乳中主要磷脂的含量,结果见表 1。

表 1 足月儿和早产儿初乳、过渡乳及成熟乳中各磷脂的含量

$\mu mol/100 mL$

| 磷脂 | 足月儿 | | | 早产儿 | | |
|------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | 初乳 | 过渡乳 | 成熟乳 | 初乳 | 过渡乳 | 成熟乳 |
| PC | 7.55 \pm 1.52 ^a | 7.21 \pm 1.20 ^a | 6.74 \pm 0.72 ^a | 8.42 \pm 2.31 ^a | 7.48 \pm 1.88 ^{ab} | 6.64 \pm 1.32 ^b |
| PI | 1.05 \pm 0.06 ^a | 0.93 \pm 0.30 ^a | 0.64 \pm 0.08 ^b | 0.92 \pm 0.43 ^a | 0.85 \pm 0.33 ^a | 0.81 \pm 0.26 ^a |
| PS | 1.29 \pm 0.09 ^a | 1.21 \pm 0.24 ^{ab} | 1.03 \pm 0.15 ^b | 1.25 \pm 0.43 ^a | 1.14 \pm 0.31 ^a | 1.09 \pm 0.44 ^a |
| SM | 8.54 \pm 1.83 ^a | 8.37 \pm 1.54 ^a | 8.34 \pm 0.94 ^a | 9.15 \pm 2.35 ^a | 8.63 \pm 2.45 ^a | 8.42 \pm 2.09 ^a |
| PE | 4.82 \pm 0.26 ^a | 4.39 \pm 0.46 ^a | 4.95 \pm 1.18 ^a | 4.06 \pm 1.22 ^a | 4.47 \pm 1.08 ^{ab} | 5.12 \pm 1.42 ^b |
| EPLAS | 2.57 \pm 0.44 ^a | 2.68 \pm 0.29 ^a | 1.97 \pm 0.42 ^b | 3.66 \pm 1.07 ^a | 2.97 \pm 0.88 ^b | 2.23 \pm 0.70 ^c |
| PE + EPLAS | 7.39 \pm 0.58 ^a | 7.07 \pm 0.60 ^a | 6.92 \pm 0.98 ^a | 7.72 \pm 2.21 ^a | 7.44 \pm 1.89 ^a | 7.35 \pm 1.68 ^a |
| 总磷脂 | 25.83 \pm 3.80 ^a | 24.78 \pm 3.54 ^a | 23.67 \pm 2.45 ^a | 27.47 \pm 7.38 ^a | 25.53 \pm 6.56 ^a | 24.31 \pm 5.29 ^a |

注:早产儿与足月儿独立分析,同行字母不同表示差异显著($p < 0.05$)。

由表 1 可知,人乳中总磷脂的平均含量为(25.39 \pm 5.99) $\mu mol/100 mL$,与 Zou 等^[17]的研究

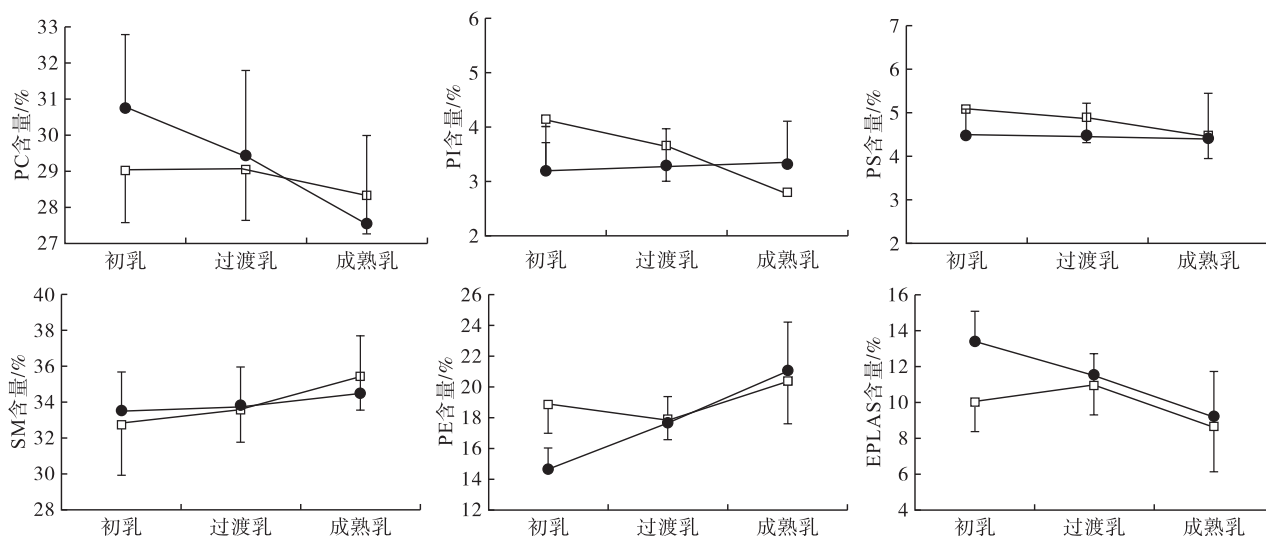
结论相近,低于 Claumarchirant 等^[18],但高于 Sala - Vila 等^[19]的研究结果,差异来源除了人乳样品本身

外,还可能受仪器及方法的影响,文献所用仪器均为 HPLC - ELSD,而本文所用为 ^{31}P - NMR。不同泌乳期的人乳中总磷脂含量没有显著性差异,结果与 Shoji 等^[20]的结论一致,而 Bitman 等^[21]得出其在过渡乳中含量最高,在成熟乳中随着泌乳期的延长逐渐下降, Claumarchirant 等^[18]对足月儿人乳的研究也得出与 Bitman 等^[21]相同的结论。另外,同一泌乳期不同胎龄人乳中的总磷脂含量也无显著性差异。人乳磷脂中 SM($(8.61 \pm 2.14) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$)、PC($(7.40 \pm 1.86) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$)和 PE($(\text{PE} + \text{EPLAS})(7.36 \pm 1.74) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$)是主要磷脂,占总磷脂含量的90%以上。在足月儿人乳中,PI在初乳和过渡乳中的含量分别为 $(1.05 \pm 0.06) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$ 和 $(0.93 \pm 0.30) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$,显著高于成熟乳中的 $(0.64 \pm 0.08) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$;EPLAS

也具有相似的变化趋势,在初乳和过渡乳中的含量显著高于成熟乳中的含量;PS在初乳中的含量显著高于成熟乳中的含量。而在早产儿人乳中,PC和PE在初乳中的含量分别为 $(8.42 \pm 2.31) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$ 和 $(4.06 \pm 1.22) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$,分别与在成熟乳中的含量 $(6.64 \pm 1.32) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$ 和 $(5.12 \pm 1.42) \mu\text{mol}/100 \text{ mL}$ 具有显著性差异,PC含量随泌乳期的延长逐渐降低,而PE含量随泌乳期的延长逐渐升高;另外,EPLAS含量随泌乳期的延长显著降低。

2.2.2 人乳磷脂的组成分析

对足月儿和早产儿人乳中的磷脂组成进行分析,得到不同泌乳期各磷脂含量(摩尔百分比)的变化,结果见图2。



注:空心方代表足月儿人乳,实心圆代表早产儿人乳。

图2 不同泌乳期人乳中磷脂组成的变化

由图2可知,在足月儿人乳中,含量最高的为SM,达32%以上,其次为PC和PE,含量最低的为PS和PI,同很多文献报道一致^[21-22]。其中PI在初乳和过渡乳中的含量分别为 $(4.14 \pm 0.42)\%$ 和 $(3.66 \pm 0.66)\%$,显著高于成熟乳中的 $(2.79 \pm 0.09)\%$,而其他磷脂随泌乳期的延长并无显著性差异,这与 Shoji 等^[20]得到的足月儿人乳中磷脂组成在不同泌乳期稳定的结论基本一致,而 Zou 等^[17]研究发现成熟乳中PE和PS的含量显著高于初乳,而PC的含量显著低于初乳,PI和SM在不同泌乳期无显著性变化。由图2可知,在早产儿人乳中,各磷脂的含量由高到低也为SM、PC、PE、EPLAS、PS和PI,其中SM、PI、PS以及PE + EPLAS在不同的泌乳期无显著性差异,而PC在初乳和过渡乳中的含量分别为 $(30.74 \pm 2.03)\%$ 和 $(29.40 \pm 2.37)\%$,显著

高于成熟乳的 $(27.55 \pm 2.42)\%$,此趋势与 Shoji^[20]、Bitman^[21]等的研究结论一致。另外,本文的 ^{31}P - NMR检测不同于HPLC和TLC,其将EPLAS峰从PE峰中分离开,得到早产儿人乳中其含量随泌乳期的延长逐渐降低,同时PE含量逐渐升高。

2.3 人乳脂肪球的粒径

由于新鲜人乳样品尤其是早产儿人乳样品较难获得,脂肪球粒径的分析为随机选取的足月儿、早产儿各5位健康母亲的成熟乳进行测定,得出其主要参数,结果见表2。由表2可知,足月儿与早产儿人乳的粒径无显著性差异,其体积平均粒径分别为 $(5.19 \pm 0.31) \mu\text{m}$ 和 $(5.17 \pm 0.65) \mu\text{m}$,面积平均粒径分别为 $(4.19 \pm 0.23) \mu\text{m}$ 和 $(3.70 \pm 0.31) \mu\text{m}$,数量平均粒径分别为 $(2.34 \pm 0.33) \mu\text{m}$ 和 $(2.06 \pm 0.62) \mu\text{m}$ 。

表 2 人乳脂肪球的粒径分布 μm

| 粒径 | 足月儿 | 早产儿 |
|--------|-----------------|-----------------|
| 体积平均粒径 | 5.19 ± 0.31 | 5.17 ± 0.65 |
| 面积平均粒径 | 4.19 ± 0.23 | 3.70 ± 0.31 |
| 数量平均粒径 | 2.34 ± 0.33 | 2.06 ± 0.62 |

图 3 为一个具有代表性的足月儿成熟乳脂肪球的体积粒径分布。由图 3 可知,人乳脂肪球的体积平均粒径分布范围为 $0.5 \sim 20 \mu\text{m}$,呈现双峰分布;第一个峰值为 $1.35 \mu\text{m}$,其体积含量为 6.33% ,第二个峰值为 $5.54 \mu\text{m}$,其体积含量为 93.67% 。实际在数量上,人乳中粒径小于 $1 \mu\text{m}$ 的脂肪球占 80% 以上,而体积分数仅占 5% 左右^[23]。

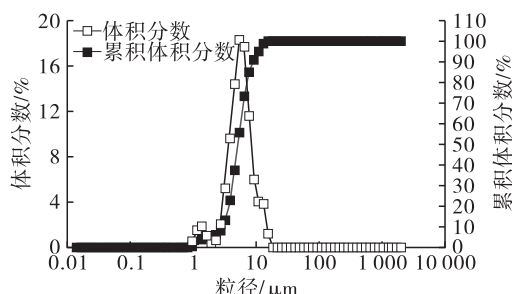


图 3 足月儿成熟乳脂肪球的体积粒径分布

2.4 人乳脂肪球的微观结构

通过激光共聚焦显微镜对足月儿和早产儿人乳脂肪球进行观察,其微观结构见图 4。由图 4 可知,

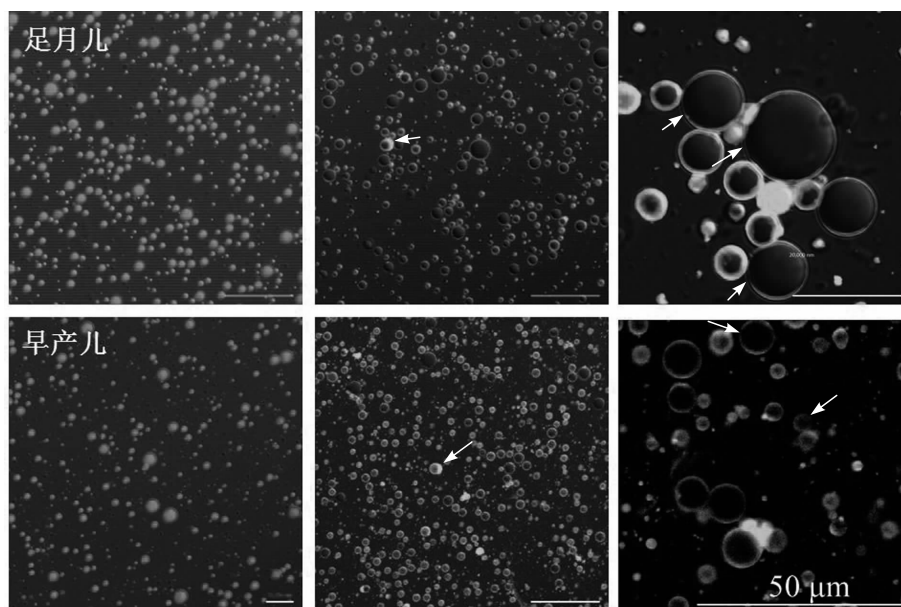


图 4 人乳脂肪球的微观结构

3 结论

人乳磷脂的主要组成为 SM、PC、PE、EPLAS、PI 和 PS,其中 SM 含量最高,其次为 PC 和 PE,PS 和 PI 含量最低。总磷脂含量在相同胎龄不同泌乳期以及相同泌乳期不同胎龄间均无显著性差异,平均含量

二者无明显差异,乳脂肪呈球形存在于水相中,甘油三酯位于脂肪球的中心,而极性脂(主要为磷脂)包裹在甘油三酯外,构成 MFGM 的一部分。MFGM 是乳中脂肪和乳清的隔离屏障,防止了乳脂肪球中脂肪的絮凝与融合,也阻止了乳中脂肪与酶的接触,是一层稳定的具有生物活性的膜^[24-25]。另外,Rh-DOPE 荧光探针在膜上的分布具有差异性。有的脂肪球被荧光探针包裹,呈完整的环状;而有的脂肪球表面出现黑色空缺(如右图中白箭头所指)。对于这部分没被荧光染色的区域,目前较为接受的解释为 MFGM 上存在一定的特殊区域,其类似于细胞膜上的液态有序区(脂筏域),主要由 SM 和胆固醇组成,由于具有长链饱和脂肪酸和鞘氨醇骨架的直线 SM 分子具有一个较长的分子长度,其尾端能与胆固醇交错接合从而填补 SM 头部间的空隙,使得排列较为紧密,故荧光探针不能与之结合而显色^[11]。而有荧光显示的区域由甘油磷脂(PE、PC、PI、PS)组成,排列较为松散,其间镶嵌有嗜乳脂蛋白、糖基化蛋白等,称之为液态无序区^[25]。此外,中间图中箭头所示的区域,呈月牙状位于外层膜的下面,呈现一片荧光的区域,可能为细胞质新月,包含有小囊泡、线粒体、核糖体以及其他一些细胞质物质^[22]。

为 $(25.39 \pm 5.99) \mu\text{mol}/100 \text{mL}$ 。此外,足月儿与早产儿人乳脂肪球的粒径和微观结构也无明显差异,磷脂构成的膜包裹体积平均粒径约为 $5 \mu\text{m}$ 的脂肪球。

参考文献:

[1] JENSEN R G. Lipids in human milk[J]. Lipids, 1999,

- 34(12):1243–1271.
- [2] COHN J S, WAT E, KAMILI A, et al. Dietary phospholipids, hepatic lipid metabolism and cardiovascular disease [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2008, 19(3):257–262.
- [3] DE S R, AJMONE – CAT M A, MINGHETTI L. A typical antiinflammatory activation of microglia induced by apoptotic neurons: possible role of phosphatidylserine – phosphatidylserine receptor interaction [J]. *Mol Neurobiol*, 2004, 29(2):197–212.
- [4] PEPEU G, PEPEU I M, AMADUCCI L. A review of phosphatidylserine pharmacological and clinical effects. Is phosphatidylserine a drug for the ageing brain? [J]. *Pharmacol Res*, 1996, 33(2):73–80.
- [5] IMAIZUMI K, SEKIHARA K, SUGANO M. Hypocholesterolemic action of dietary phosphatidylethanolamine in rats sensitive to exogenous cholesterol [J]. *J Nutr Biochem*, 1991, 2(5):251–254.
- [6] SHIROUCHI B, NAGAO K, FURUYA K, et al. Effect of dietary phosphatidylinositol on cholesterol metabolism in Zucker (fa/fa) rats [J]. *J Oleo Sci*, 2009, 58(3):111–115.
- [7] CHAURIO R A, JANKO C, MUÑOZ L E, et al. Phospholipids: key players in apoptosis and immune regulation [J]. *Molecules*, 2009, 14(12):4892–4914.
- [8] ECKHARDT E R, WANG D Q, DONOVAN J M, et al. Dietary sphingomyelin suppresses intestinal cholesterol absorption by decreasing thermodynamic activity of cholesterol monomers [J]. *Gastroenterology*, 2002, 122(4):948–956.
- [9] MARTÍNEZ M, BALLABRIGA A. A chemical study on the development of the human forebrain and cerebellum during the brain ‘growth spurt’ period. I. Gangliosides and plasmalogens [J]. *Brain Res*, 1978, 159(2):351–362.
- [10] YAVIN E, BRAND A, GREEN P. Docosahexaenoic acid abundance in the brain: a biodevice to combat oxidative stress [J]. *Nutr Neurosci*, 2002, 5(3):149–157.
- [11] LIPKIE T E, BANAVARA D, SHAH B, et al. Caco – 2 accumulation of lutein is greater from human milk than from infant formula despite similar bioaccessibility [J]. *Mol Nutr Food Res*, 2014, 58(10):2014–2022.
- [12] OOSTING A, KEGLER D, WOPEREIS H J, et al. Size and phospholipid coating of lipid droplets in the diet of young mice modify body fat accumulation in adulthood [J]. *Pediatr Res*, 2012, 72(4):362–369.
- [13] OOSTING A, VAN V N, KEGLER D, et al. Effect of dietary lipid structure in early postnatal life on mouse adipose tissue development and function in adulthood [J]. *Brit J Nutr*, 2014, 111(2):215–226.
- [14] MACKENZIE A, VYSSOTSKI M, NEKRASOV E. Quantitative analysis of dairy phospholipids by ³¹P NMR [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2009, 86(8):757–763.
- [15] GARCIA C, LUTZ N W, CONFORT – GOUNY S, et al. Phospholipid fingerprints of milk from different mammals determined by ³¹P NMR: towards specific interest in human health [J]. *Food Chem*, 2012, 135(3):1777–1783.
- [16] YAO L, JUNG S. ³¹P NMR phospholipid profiling of soybean emulsion recovered from aqueous extraction [J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(8):4866–4872.
- [17] 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):7158–7167.
- [18] CLAUMARCHIRANT L, CILLA A, MATENCIO E, et al. Addition of milk fat globule membrane as an ingredient of infant formulas for resembling the polar lipids of human milk [J]. *Int Dairy J*, 2016, 61:228–238.
- [19] 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.
- [20] SHOJI H, SHIMIZU T, KANEKO N, et al. Comparison of the phospholipid classes in human milk in Japanese mothers of term and preterm infants [J]. *Acta Paediatr*, 2006, 95(8):996–1000.
- [21] BITMAN J, WOOD D L, MEHTA N R, et al. Comparison of the phospholipid composition of breast milk from mothers of term and preterm infants during lactation [J]. *Am J Clin Nutr*, 1984, 40(5):1103–1119.
- [22] LOPEZ C, MÉNARD 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]. *Colloid Surface B*, 2011, 83(1):29–41.
- [23] TRUONG T, PALMER M, BANSAL N, et al. Effect of milk fat globule size on the physical functionality of dairy products [M]. Berlin: Springer, 2016.
- [24] HEID H W, KEENAN T W. Intracellular origin and secretion of milk fat globules [J]. *Eur J Cell Biol*, 2005, 84(84):245–258.
- [25] LOPEZ C. Milk fat globules enveloped by their biological membrane: unique colloidal assemblies with a specific composition and structure [J]. *Curr Opin Colloid In*, 2011, 16(5):391–404.