

母乳及牛乳低聚糖组成、含量及功能的研究进展

张卓星, 徐慧慧, 刘汝薇, 邹芸霞, 安 芹, 张雅丽*
(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100091)

摘 要: 母乳低聚糖 (human milk oligosaccharides, HMOs) 作为母乳的第三大固体成分, 近年来由于其重要的生理功能而受到广泛重视。牛乳低聚糖 (bovine milk oligosaccharides, BMOs) 具有与HMOs相似的结构和功能, 在成分组成上具有类似的复杂性, 是模拟HMOs并应用于婴幼儿配方乳粉和功能食品的优质成分。本文综述了HMOs和BMOs的结构组成、含量分布、生理功能和生产应用, 旨在为HMOs和BMOs的相关科研和研发提供参考。

关键词: 母乳低聚糖; 牛乳低聚糖; 微生物群; 大脑发育; 婴幼儿配方乳粉

Research Progress in Compositions, Contents and Functions of Oligosaccharides in Breast Milk and Cow's Milk

ZHANG Zhuoxing, XU Huihui, LIU Ruwei, ZOU Yunxia, AN Qin, ZHANG Yali*
(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100091, China)

Abstract: Human milk oligosaccharides (HMOs), as the third largest solid component of breast milk, have been widely emphasized in recent years due to their important physiological functions. Bovine milk oligosaccharides (BMOs) have similar structures and functions to HMOs and similar complexity in composition, which make them high-quality ingredients in infant formula milk powder and functional foods. In this article, the structural compositions, quantitative distributions, physiological functions and industrial applications of HMOs and BMOs are reviewed to provide references for the research and development of HMOs and BMOs.

Keywords: human milk oligosaccharides; bovine milk oligosaccharides; microbiota; brain development; infant formula milk powder
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240510-076

中图分类号: TS252.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 24-0302-14

引文格式:

张卓星, 徐慧慧, 刘汝薇, 等. 母乳及牛乳低聚糖组成、含量及功能的研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(24): 302-315.
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240510-076. <http://www.spkx.net.cn>

ZHANG Zhuoxing, XU Huihui, LIU Ruwei, et al. Research progress in compositions, contents and functions of oligosaccharides in breast milk and cow's milk[J]. Food Science, 2024, 45(24): 302-315. (in Chinese with English abstract)
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240510-076. <http://www.spkx.net.cn>

母乳为新生儿的发育提供了最天然的营养物质, 研究发现母乳喂养能降低儿童患急性白血病^[1]、食物过敏^[2]和肥胖^[3]的风险。母乳低聚糖 (human milk oligosaccharides, HMOs) 是母乳中仅次于乳糖 (55~70 g/L)、脂肪 (16~39 g/L) 的第三大固体成分^[4], 其在初乳和成熟乳中的质量浓度分别为20~25 g/L和5~20 g/L^[5-7]。目前已检测出200多种结构明确的HMOs, 但绝大多数尚未得到充分研究^[8]。HMOs在婴儿的生长发育中发挥重要作用, 包括调节肠道微生物、增强肠道屏障

和促进大脑发育等^[9-10], 目前我国已批准将2'-岩藻糖基乳糖 (2'-fucosyllactose, 2'-FL) 和乳糖-N-新四糖 (lacto-N-neotetraose, LNnT) 添加到婴幼儿配方乳粉中, 美国、欧盟和澳大利亚等国家及地区也已允许将2'-FL、LNnT、3-岩藻糖基乳糖 (3-fucosyllactose, 3-FL)、3'-唾液酸乳糖 (3'-sialyllactose, 3'-SL)、6'-唾液酸乳糖 (6'-sialyllactose, 6'-SL)、乳糖-N-四糖 (lacto-N-tetraose, LNT) 和二岩藻糖基乳糖 (difucosyllactose, DFL) 这7种HMOs单体作为营养强化剂添加到婴幼儿配方乳粉中^[6]。

收稿日期: 2024-05-10

基金项目: 国家重点研发计划资助项目 (2021YFD1200903)

第一作者简介: 张卓星 (2001—) (ORCID: 0009-0005-3562-2656), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物与人体健康。

E-mail: zzx15652682199@163.com

*通信作者简介: 张雅丽 (1975—) (ORCID: 0000-0002-5354-1973), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物与人体健康。

E-mail: zhangyali@cau.edu.cn

牛乳作为婴幼儿配方乳粉的基础原料,来源广泛且生产量大,含有与HMOs结构组成和生理功能相似的牛乳低聚糖(bovine milk oligosaccharides, BMOs)^[11]。BMOs是模拟HMOs功能的较佳替代品,可从奶酪乳清、乳清渗透液以及母液等乳制品副产物中富集,因此将纯化的BMOs添加到婴幼儿配方乳粉中具有一定研究意义^[12]。本文综述HMOs和BMOs的结构组成、含量分布、生理功能以及生产应用,以期为婴幼儿配方乳粉的母乳化研究提供一定参考。

1 HMOs和BMOs结构组成比较

1.1 HMOs的结构组成

HMOs由D-半乳糖(D-galactose, Gal)、D-葡萄糖(D-glucose, Glc)、L-岩藻糖(L-fucose, Fuc)、N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine, GlcNAc)和N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac, 也称为唾液酸)5种单糖组成^[13]。目前学者们在母乳中已经鉴定出200多种HMOs,多数HMOs由3~14个单糖以直链或支链的结构排列组成^[14]。HMOs根据有无Fuc或唾液酸修饰分为3种:中性岩藻糖基化母乳低聚糖(neutral fucosylated human milk oligosaccharides, NFHMOs),如2'-FL、3-FL;酸性唾液酸化母乳低聚糖(sialylated human milk oligosaccharides, SHMOs),如3'-SL、6'-SL;中性非岩藻糖基化母乳低聚糖(neutral non fucosylated human milk oligosaccharides, NnFHMOs),如LNT、LNnT^[15]。

1.2 BMOs的结构组成

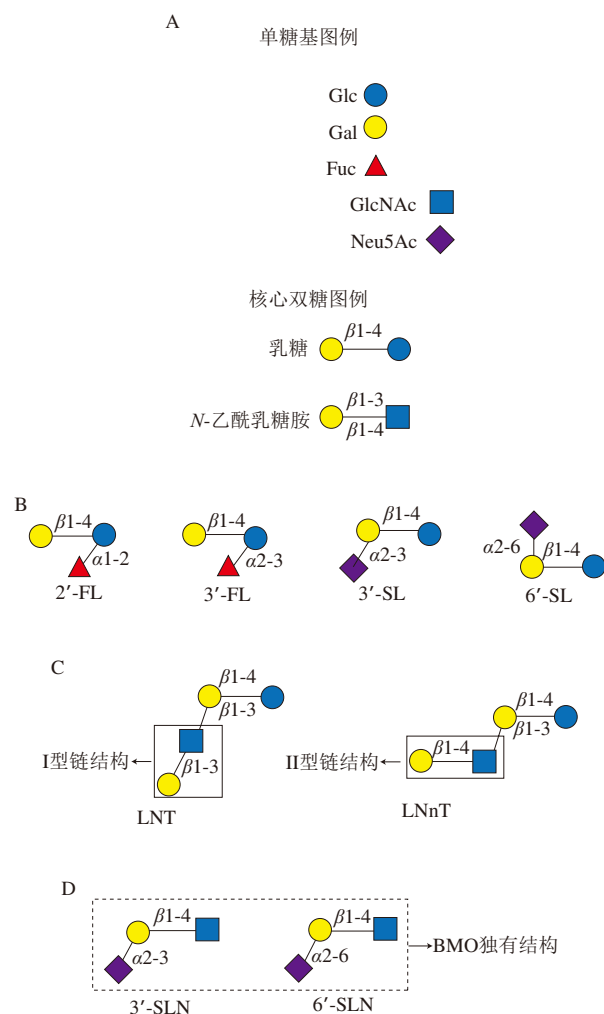
研究人员通过高通量质谱等先进技术的分析,目前已鉴定出60多种BMOs^[16]。BMOs由Gal、Glc、Fuc、GlcNAc、Neu5Ac和N-羟乙酰神经氨酸(N-glycolylneuraminic acid, Neu5Gc)6种单糖组成^[17]。BMOs的还原端含有D-Gal和D-Glc组成的乳糖核心结构(Gal β 1-4 Glc)以及N-乙酰乳糖胺(Gal β 1-4 GlcNAc),除了形成2'-FL、3-FL、LNT、LNnT、3'-SL和6'-SL等BMOs外,BMOs还可在N-乙酰乳糖胺的核心基础通过 α 2-3、 α 2-6糖苷键连接Neu5Ac,组成3'-唾液酸乳糖胺(3'-sialyllactosamine, 3'-SLN)和6'-唾液酸乳糖胺(6'-sialyllactosamine, 6'-SLN)^[18]。

1.3 HMOs与BMOs的结构组成比较

HMOs与BMOs结构组成相似,至少有十几种低聚糖的成分相同,且都具有Gal、Glc、Fuc、GlcNAc和

Neu5Ac 5种单糖结构。两者都可在乳糖核心的基础上通过 α 1-2、 α 1-3糖苷键连接L-Fuc被岩藻糖基化,形成2'-FL或3-FL;通过 α 2-3或 α 2-6糖苷键连接Neu5Ac被唾液酸化,形成3'-SL或6'-SL;通过 β 1-3或 β 1-6糖苷键连接乳糖-N-二糖(Gal β 1-3 GlcNAc, I型链)或N-乙酰氨基乳糖(Gal β 1-4 GlcNAc, II型链),形成LNT或LNnT。BMOs和HMOs中重叠的成分为从BMOs中提取类似的低聚糖添加至婴幼儿配方乳粉中提供了可能。

但两者在结构组成上也有差别。由于人乳中缺少CMP-Neu5Ac羟化酶,因此HMOs中几乎不含Neu5Gc单糖^[17]。常见HMOs和BMOs的结构组成见图1,缩写与全称见表1。



A. HMOs和BMOs构件以及之间的联系; B.乳糖被岩藻糖基化或唾液酸化形成HMOs和BMOs; C.乳糖通过酶促延长成乳糖-N-二糖(I型)或N-乙酰乳糖胺(II型)的重复序列; D. N-乙酰乳糖胺核心通过 α 2-3、 α 2-6糖苷键连接Neu5Ac形成3'-SLN和6'-SLN。

图1 常见HMOs和BMOs的结构组成^[19]

Fig. 1 Structures and compositions of common HMOs and BMOs^[19]

表1 常见HMOs和BMOs的缩写与全称		
Table 1	Abbreviations and full names of common HMOs and BMOs	
缩写	英文全称	中文全称
3'-GL	3'-galactosyllactose	3'-半乳糖基乳糖
4'-GL	4'-galactosyllactose	4'-半乳糖基乳糖
6'-GL	6'-galactosyllactose	6'-半乳糖基乳糖
DFLNH	difucosyllacto-N-hexaose	二岩藻糖基乳糖-N-己糖
DFLNT	difucosyllacto-N-tetraose	二岩藻糖基乳糖-N-四糖
DSLNH	disialyllacto-N-hexaose	二唾液酸乳糖-N-己糖
DSLNT	disialyllacto-N-tetraose	二唾液酸乳糖-N-四糖
LNFP I	lacto-N-fucopentaose I	乳糖-N-岩藻五糖I
LNFP II	lacto-N-fucopentaose II	乳糖-N-岩藻五糖II
LNFP III	lacto-N-fucopentaose III	乳糖-N-岩藻五糖III
LNH	lacto-N-hexaose	乳糖-N-己糖
LNnH	lacto-N-neohexaose	乳糖-N-新己糖
LDFT	lacto-difucotetraose	乳糖-N-二岩藻四糖
LSTa	sialyl-lacto-N-tetraose a	唾液酸乳糖-N-四糖a
LSTb	sialyl-lacto-N-tetraose b	唾液酸乳糖-N-四糖b
LSTc	sialyl-lacto-N-tetraose c	唾液酸乳糖-N-四糖c

2 HMOs与BMOs含量分布比较

2.1 HMOs的含量分布

受基因型和地理位置等因素影响，不同母体之间HMOs的含量分布有很大差异，且单个母体的HMOs水平会随哺乳时间的变化而不同^[20-22]。Conze等^[6]汇总了近20年不同地区不同泌乳期HMOs的相关文献，总结了5种HMOs单体的中位数（±标准差）水平：2'-FL为

(2.560±0.054) g/L，3-FL为(0.320±0.045) g/L，LNT为(0.820 0±0.005 7) g/L，3'-SL为(0.230 0±0.001 8) g/L，6'-SL为(0.330±0.003) g/L。通过查找文献总结了国内外近几年6种常见HMOs单体的质量浓度（表2）。

由表2可知，在这6种HMOs单体中NFHMOs（2'-FL、3-FL）的含量较高，尤其是2'-FL；其次是NnFHMOs（LNT、LNnT）；而SHMOs（3'-SL、6'-SL）的含量相对较少，这与Conze等^[6]的结果类似。但可能由于调查的国家地区、哺乳阶段及人种不同，不同文献中HMOs单体在母乳中的含量差异较大。例如，2'-FL在美国的初乳中平均质量浓度为(3.75±0.10) g/L^[24]，而在中国的成熟乳中平均质量浓度只有(1.134±0.055) g/L^[23]；在同一国家地区的同一泌乳阶段中，不同个体母乳的2'-FL含量差异也可达数倍。2'-FL在初乳中含量比较高（占表2所列6种单体总和的56.6%），但随着泌乳时间的延长，其含量会下降（过渡乳占比为43.5%，成熟乳占比为44.0%），具有类似变化的还有3'-SL（从初乳的4.5%到过渡乳的3.4%和成熟乳的3.5%）和LNnT（从初乳的8.5%到过渡乳的5.2%和成熟乳的4.2%）；与之相反，3-FL的含量随着泌乳时间的延长而上升（从初乳的5.5%到过渡乳的8.0%和成熟乳的18.6%）；而6'-SL和LNT的含量随泌乳时间的延长先上升后下降（6'-SL从初乳的9.7%到过渡乳的14.3%和成熟乳的7.1%；LNT从初乳的15.0%到过渡乳的25.4%和成熟乳的22.2%）。

表2 6种HMOs单体的质量浓度									
Table 2 Concentrations of 6 HMO monomers								mg/L	
哺乳期	2'-FL	3-FL	3'-SL	6'-SL	LNT	LNnT	国家和地区	样本数	参考文献
初乳 (1~7 d)	^a 3 866.70±20.59	371.50±55.17	321.00±23.54	540.70±62.43	821.00±52.27	415.00±31.41	中国		[23]
	^a 3 750±100		110±10	340±30	480±0		美国	20	[24]
	^a 3 691±1 941	422±453	254±90	543±168	912±802	307±132	欧洲部分国家		[25]
	^b 3 127.5	261.0	270.0	841.5	1 120.5	1 071.0	中国	481	[26]
	^b 2 891 (1 715, 4 343)	272 (155, 561)	241 (201, 308)	409 (307, 517)	744 (373, 1 442)	255 (188, 404)	中国	96	[27]
过渡乳 (8~14 d)	^a 2 627±1 028	594±554	149±38	649±189	1 213±720	177±97	欧洲部分国家		[25]
	^a 2 386.00±68.98	678.00±94.57	260.00±11.89	631.00±55.09	1 614.0±135.7	261.00±18.76	中国		[23]
	^b 2 160	193	141	602	1 478	183	中国	96	[27]
	(1 672, 2 816)	(128, 381)	(124, 162)	(522, 770)	(1 077, 2 038)	(126, 260)	中国	481	[26]
	^b 2 025.0	236.3	171.0	1 141.0	1 062.0	486.0	中国	481	[26]
成熟乳 (14 d以上)	^a 2 480±130		120±0	250±20	510±30		美国	20	[24]
	^a 2 450±935	720±608	141±35	465±162	1 009±591	153±80	欧洲部分国家		[25]
	^b 2 063	480	111	300	748	117	中国	104	[27]
	(1 376, 2 685)	(330, 801)	(96, 133)	(218, 370)	(487, 1 025)	(69, 182)	中国	104	[27]
	^a 1 517.97±952.00	1 603.590±2.159	88.49±33.54	149.14±63.07	572.49±2.01	79.04±2.56	欧洲和亚洲国家	60	[28]
全阶段乳 7~270 d	^b 1 350.0	580.5	157.5	252.0	356.1	219.9	中国	481	[26]
	^a 1 134.00±55.22	1 190.00±39.83	152.00±2.12	125.00±10.15	1 429.00±81.21	190.00±18.58	中国		[23]
	^b 3 700		188	186	108	68.3	印度尼西亚	120	[29]
	(2 097, 5 878)		(137, 248)	(137, 244)	(62, 211)	(37.1, 114.2)	印度尼西亚	120	[29]
	^a 2 705	1 546	163	268	628		中国	50	[30]
0~13个月	^b 1 466	665	125	190	555	97	中国	1 758	[31]
	(624, 2 410)	(259, 1 310)	(100, 165)	(29, 461)	(299, 1 072)	(39, 199)	中国	1 758	[31]

注：a.数值为 $\bar{x}\pm s$ ；b.数值为中位数（范围）。

2.1.1 基因型与HMOs含量

不同个体母乳中HMOs含量有较大差异,这种个体差异的因素之一是岩藻糖基转移酶的遗传倾向,即编码 α 1-2岩藻糖基转移酶(fucosyltransferase 2, FUT2)的分泌基因(*secretor*, *Se*)和编码 α 1-3/4岩藻糖基转移酶(fucosyltransferase 3, FUT3)的路易斯基因(*Lewis*, *Le*)的不同表达^[25]。*Se*基因表达的母亲被称为“分泌型”母亲(*Se*+)，其乳汁富含 α 1-2 NFHMOs，如2'-FL和LNFP I；而*Se*基因低表达或不表达的母亲被称为“非分泌型”母亲(*Se*-)，其乳汁中不含或仅含痕量的 α 1-2 NFHMOs。*Le*基因表达的母亲被认为是路易斯阳性母亲(*Le*+)，其乳汁富含 α 1-3/4 NFHMOs，如3-FL和LNFP II；而*Le*基因低表达或不表达的母亲被认为是路易斯阴性母亲(*Le*-)^[32]，其乳汁中不含或仅含痕量的 α 1-4 NFHMOs，而 α 1-3 NFHMOs由于存在补偿*Le*基因低表达的其他岩藻糖基转移酶，因此不会由于*Le*基因低表达或不表达而消除。

由于FUT2和FUT3酶的相互作用，哺乳期母亲的HMOs被分为4种乳汁表型组：I组：分泌型和路易斯阳性组(*Se*+*Le*+)、II组：非分泌型路易斯阳性组(*Se*-*Le*+)、III组：分泌型路易斯阴性组(*Se*+*Le*-)和IV组：非分泌型路易斯阴性组(*Se*-*Le*-)。研究表明，在欧洲、亚洲和非洲的一些人群中，*Se*+*Le*+母亲是最主要的群体^[33-35]。不同基因型个体的HMOs浓度具有差异。*Se*+母亲的HMOs质量浓度(11.3 g/L)显著高于*Se*-母亲(5.8 g/L)，且*Se*+母亲乳汁中的NFHMOs(如2'-FL、LNFP I、DFL和LDFT)含量高于*Se*-母亲，而3'-SL和3'-SLN的含量在两者之间无显著差异^[22,33,36]。近几年国内外研究表明，目前*Se*+母亲是主要群体，但受地理位置影响，西非、南非和南亚的*Se*+母亲占比约为60%，中国和美国的*Se*+母亲占比约为80%^[26,37]，拉丁美洲的占比则接近100%^[20]。不同的基因型导致母乳中HMOs单体含量存在差异，Ren Xiangnan等^[26]研究发现，II组母乳中LNFP II和乳糖-*N*-二岩藻六糖(lacto-*N*-difucohexaose II, LNDFHII)的浓度高于I组，而III组和IV组母乳则不存在LNFP II和LNDFH II。近几年文献报道不同地区4种乳组的占比情况见表3，肯尼亚地区的I组占比明显低于欧洲、南美洲地区，这可能是非洲与欧洲、美洲等地区人种基因型差异造成的。此外不同文献报道中国的4种乳组占比也有一定差异，这可能是样本数量和采样地区的差异造成。

表3 4种乳组在不同国家和地区的占比

Table 3 Percentages of four breast milk groups in different countries and regions

国家和地区	<i>Se</i> + <i>Le</i> + 占比/%	<i>Se</i> - <i>Le</i> + 占比/%	<i>Se</i> + <i>Le</i> - 占比/%	<i>Se</i> - <i>Le</i> - 占比/%	样本数	参考文献
巴西	75.6	11.5	11.5	1.3	78	[38]
德国	77	7	13	3	60	[34]
德国	74	18	7	1	682	[39]
肯尼亚	48.9	22.2	22.2	6.7	105	[33]
欧洲	72	17.6	6.9	3.5	290	[25]
印度尼西亚	85	0	15	0	120	[29]
中国	76.7	17.2	4.3	1.7	116	[35]
中国	68.1	7.3	22.7	1.9	481	[26]
中国	73.3	17.1	6.0	3.6	251	[40]
中国	71.8	18.8	9.4	0	85	[41]

2.1.2 哺乳期与HMOs含量

哺乳期是影响HMOs含量的主要因素。Mainardi等^[42]发现在泌乳期前3个月，HMOs的总质量浓度从2~5周的(9 182±2 013) mg/L下降到6周的(7 887±1 813) mg/L和3个月时的(6 248±1 322) mg/L。此外HMOs单体的浓度也会随哺乳期变化。许多研究表明，大多数HMOs单体如2'-FL、6'-SL、LNT、LNnT、LNFP I、LNFP II、LSTc等的含量会随哺乳期下降^[26]，Zhang Lina^[23]和Liu Shuang^[31]等的研究结果均证明了这种趋势，而3-FL、3'-SL和LNFP III的含量则会随哺乳期上升^[37]。

2.1.3 地理位置与HMOs含量

地理位置也会影响HMOs的浓度和分布。Vinjamuri等^[20]分析了来自阿根廷、美国、印度、波兰和菲律宾等国家的15个城市共1 090位母亲的HMOs，发现尼泊尔*Se*+母乳中2'-FL的含量显著低于其他国家，冈比亚和美国波士顿母乳中LNFP I和LNFP III的相对丰度较高。与其他国家相同，中国母乳HMOs的含量也会受地理位置的影响。Liu Shuang等^[31]对长春、兰州、成都、天津、广州和上海这6个城市共1 758名母亲母乳的HMOs进行了检测分析，发现产后40~45 d时，兰州市母乳的2'-FL含量比成都市高1.3倍，长春市母乳的3-FL浓度显著高于上海市。Zhang Wenyuan等^[43]研究发现，6'-SL质量浓度在成都母乳中最高，为(5.34±7.68) g/L，兰州最低，为(0.89±1.09) g/L，且存在显著差异(所有地区总样本量为203)。Li Jiaqi等^[40]定量检测了来自中国不同地区5个不同民族(汉族、藏族、回族、壮族和蒙古族)的251名母亲母乳HMOs，结果显示藏族母乳HMOs的质量浓度(7.0 g/L)比壮族(4.5 g/L)高56%，汉族(6.3 g/L)则接近所有样品的平均值(5.6 g/L)。另外与其他国家相比，中国母乳3-FL的水平在产后4~8个月高于欧洲^[25]，而LNT和LNnT含量低于欧洲和巴西^[44]。Wu Jiayi等^[22]通过比较中国广州(*n*=222)和其他地区母乳中2'-FL的含量，发现包括中国在内的亚洲母亲初乳的2'-FL浓度低于

欧洲母亲,但高于非洲母亲。以上研究中HMOs的含量差异可能是地理区域以及种族不同导致的,这说明母亲的饮食习惯、地理环境和生活文化也可能会影响HMOs的分泌。

2.1.4 其他因素与HMOs含量

除了以上因素,母亲胎龄和分娩方式也会影响HMOs含量。Siziba等^[39]发现早产儿母乳中的HMOs质量浓度(约15 g/L)低于足月婴儿母乳中HMOs的质量浓度(约17 g/L),且2'-FL和LNFP I在早产母亲的乳汁中含量略低。Samuel等^[25]发现,剖腹产母乳中2'-FL和3'-SL浓度低于阴道分娩的母亲,推测可能是分娩过程中的激素变化影响了母体低聚糖的糖基化。但在Sudarma^[29]和Siziba^[39]等的研究表明分娩方式和HMOs单体含量没有显著关系,这可能是受研究队列、基因型和抽样时间等因素影响。

2.2 BMOs的含量分布

牛初乳中BMOs的质量浓度约为1 g/L,比其在成熟乳中高20倍^[45]。牛乳中唾液酸化牛乳低聚糖(sialylated bovine milk oligosaccharides, SBMOs)占比较大,如3'-SL和6'-SL。Albrecht等^[45]在对荷斯坦牛的BMOs检测中发现,SBMOs占总BMOs的91%,中性岩藻糖基化牛乳低聚糖(neutral fucosylated bovine milk oligosaccharides, NFBMOs)和中性非岩藻糖基化牛乳低聚糖(neutral non fucosylated bovine milk oligosaccharides, NnFBMOs)仅占9%。Fischer-Tlustos等^[46]发现,荷斯坦牛BMOs中含Neu5Ac单糖的SBMOs含量较高。Liu Fan等^[47]在分析荷兰市场中12种不同婴幼儿配方乳粉时发现,Neu5Ac单糖在牛乳配方粉中占主导地位。

目前许多研究表明3'-SL是牛乳中含量最丰富的低聚糖。Wang Yanfei等^[48]发现,中国青岛农大牧场牛乳的3'-SL质量浓度最高,为127.78 mg/L。Shi Yue等^[49]研究发现,SBMOs中3'-SL(58 mg/L)、6'-SL(12 mg/L)和DSL(2.76 mg/L)的质量浓度最高,这与Zhang Lina^[23]和Wang Haiyan^[50]等的检测结果一致。本实验室也进行了一定样本量的BMOs检测工作(数据未发表),结果显示不同品种牛(如荷斯坦牛、娟姗牛、西门塔尔牛等)乳的3'-SL和LNT含量均显著高于其他常见BMOs(如6'-SL、DSL、3'-GL、LNnT等)。

2.2.1 哺乳期与BMOs含量

随着哺乳时间的变化,牛乳中SBMOs的占比下降^[51]。牛初乳中单体(如3'-SL、6'-SL和6'-SLN)的含量会随泌乳时间延长而迅速下降,之后在牛成熟乳中保持稳定,尤其是3'-SL^[23]。Zhang Lina等^[23]发现,牛初乳中SBMOs、NnFBMOs和NFBMOs的占比分别为95.7%、4.1%和0.2%,在成熟乳中的占比分别为93.7%、5.9%和0.4%。3'-SL质量浓度会从初乳中的322.2 mg/L降低到过渡乳的63.8 mg/L,最后在成熟乳中稳定为63.4 mg/L。

Gray等^[52]认为,荷斯坦牛3'-SL含量随哺乳期延长下降,可能是硫酸化BMOs与SBMOs生物合成竞争所导致。

2.2.2 牛品种与BMOs含量

荷斯坦牛产奶量高,是目前奶牛场饲养数量较多的品种;娟姗牛产奶量相对较少,但娟姗牛乳所含的蛋白质和脂肪浓度较高。这两种牛乳性能优良,是目前发达国家奶业生产的重要品种。Robinson等^[53]在对334头荷斯坦牛和300头娟姗牛乳的BMOs比较中发现,娟姗牛乳含有较高浓度的中性BMOs和SBMOs,如3'-SL。而5Hex4HexNAc(表示由5个六碳糖和4个GlcNAc组成)在荷斯坦牛乳中含量更高。本实验室研究结果发现,荷斯坦牛乳的BMOs中含量最高的是3'-SL,而娟姗牛和西门塔尔牛乳的BMOs中含量最高的是LNT(数据未发表),这表明牛品种可能会影响BMOs的含量,可为今后牛的育种工作提供一定理论基础。

2.2.3 其他因素与BMOs含量

Liu Zhiqian等^[54]研究发现,大多数BMOs如3'-SL、6'-SL和6'-SLN的浓度会有季节性的变化。Fischer-Tlustos等^[46]研究发现,在前7d的牛初乳中3'-SL、6'-SL和6'-SLN含量存在胎次差异,经产奶牛乳中的含量大于未经产奶牛。Robinson等^[53]也发现与第1产次奶牛相比,第2产次奶牛乳含有更丰富的BMOs。

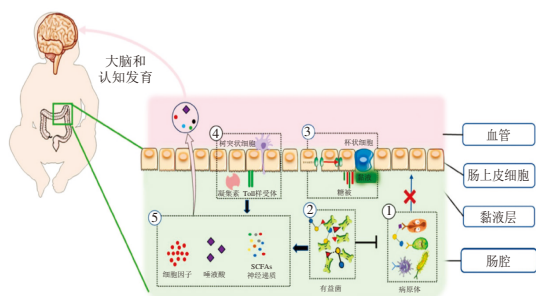
2.3 HMOs和BMOs的含量比较

在HMOs中,SHMOs占12%~14%,NFHMOs占35%~55%,NnFHMOs占42%~55%^[15]。而荷斯坦牛乳的BMOs相反,SBMOs含量更丰富,超过70%的BMOs含有一个或多个酸性唾液酸残基,其中3'-SL在牛初乳(322.2 mg/L)和人初乳(321.0 mg/L)中的质量浓度相近^[23],而在牛乳中NFBMOs含量极少^[19]。可看出HMOs与BMOs虽然具有相似的含量变化规律,但还是存在一定差异,这也为婴幼儿配方乳粉的开发提供了一定参考。首先可根据婴幼儿配方乳粉的不同功能需求针对性补充低聚糖,例如BMOs中SBMOs的占比较大,因此BMOs可作为新生儿的外源唾液酸添加到配方乳粉中,促进新生儿早期大脑发育;其次由于不同地区的HMOs比例不同,因此婴幼儿配方乳粉中低聚糖的添加也可根据地区的特点进行配比;最后也可针对不同阶段的婴儿以及早产儿和足月儿的特殊营养需求进行低聚糖的配比添加。

3 HMOs和BMOs的生理功能

HMOs可以抵抗低pH值胃酸的破坏以及唾液和胰腺分泌的消化酶的分解^[55],因此大多数HMOs进入胃肠道后会到达远端小肠或结肠,被婴儿的肠道微生物群选择性代谢^[6]。Smilowitz^[56]和Westreich^[57]等的临床试验都表明BMOs会在人体胃肠道的远端结肠处发酵,且健康成年人

对BMOs补充剂有良好的耐受性。由于HMOs和BMOs的难消化特性和与黏膜聚糖的结构相似性,两者会影响许多聚糖介导的过程,如微生物在肠道的早期定植^[58]、免疫系统的发育^[59]和病原体的感染等^[60]。因此基于许多体内、体外和临床研究,本文总结了HMOs与BMOs中几种含量较高的低聚糖单体和混合物的生理功能,HMOs对母乳喂养婴儿的健康益处如图2所示。



- ①. HMOs作为诱饵受体,直接与病原体相互作用,阻止病原体进入;
- ②. HMOs作为益生元选择性富集双歧杆菌等有益菌,从而进一步竞争性抑制病原菌定植,预防传染病。短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)是HMOs发酵的主要代谢产物,已被证明可以维持肠道完整性并调节先天性和适应性免疫;
- ③. HMO通过调节紧密连接蛋白和黏液层蛋白的表达改善屏障功能,HMOs和HMOs代谢物也会改变糖萼成分的表达;
- ④. HMOs通过Toll样受体和凝集素等分子介导的信号传导调节免疫反应;
- ⑤. SHMOs提供唾液酸作为大脑和认知发育的必需营养素,HMOs可能通过影响免疫系统的发育和肠道微生物群的代谢(例如SCFAs和神经递质的产生)促进认知功能发展。

图2 HMOs对母乳喂养婴儿的健康益处^[61]

Fig. 2 Health benefits of HMOs for breastfed infants^[61]

3.1 2'-FL的生理功能

2'-FL作为HMOs中含量最高的单体,对婴儿早期肠道微生物的建立和大脑神经的发育都有影响^[62]。双歧杆菌作为婴儿肠道微生物群的第1批定植细菌之一^[63],能选择性利用HMOs进行生长富集并产生代谢物SCFAs,SCFAs既可通过降低肠道pH值抑制病原体的生长,也可通过增加黏蛋白的产生直接影响肠道健康^[64]。Walsh等^[65]发现两歧双歧杆菌可通过代谢2'-FL产生的单糖降解物刺激短双歧杆菌的生长;Lou等^[66]发现瘤胃球菌可通过利用2'-FL释放的乳糖促进短双歧杆菌的生长;Zhang Shiqi等^[67]研究发现,2'-FL的干预不仅可刺激婴儿肠道中双歧杆菌生长,还可降低产气荚膜梭菌的丰度。这些研究结果都说明补充2'-FL在一定程度上可增加双歧杆菌的多样性,维持肠道内双歧杆菌的稳定定植和大量繁殖,从而推动补充HMOs配方乳粉喂养的婴儿肠道微生物群向母乳喂养的婴儿肠道微生物群发展。

Gao Haina等^[68]发现,2'-FL的干预抑制了小鼠的神经炎症并恢复了认知障碍,可减轻与阿尔茨海默病相关的认知缺陷、海马体损伤和神经炎症。Willemsen等^[69]研究了产后12周内母乳HMOs单体浓度与婴儿3岁时认知功能

的关联,发现2'-FL的浓度与婴儿3岁时较好的执行能力有关。这些研究结果表明2'-FL对婴儿的学习、记忆、认知等大脑发育有一定作用,但仍需要更多实验数据进一步阐明其作用机制。

2'-FL除了对人体的肠道微生物群和大脑认知有一定影响,在抗病原体感染和调节免疫方面也有重要作用。Yu Zhuoteng等^[70]通过建立小鼠体外模型发现,2'-FL可减少80%的空肠弯曲菌定植,并减弱了小鼠肠道炎症和炎症信号分子的表达。Koromyslova等^[71]发现2'-FL可作为诱饵分子阻断GII.17诺如病毒与组织血型抗原的结合,具有潜在的抗诺如病毒作用。Kou Ruixin等^[72]发现,2'-FL的干预还可恢复小鼠的免疫损伤,缓解食物过敏小鼠卵清蛋白诱导的过敏症状。Jo等^[73]发现,2'-FL可显著增加环磷酸腺苷诱导小鼠的白细胞介素-10和 γ -干扰素的浓度,改善环磷酸腺苷的免疫抑制。

3.2 3'-SL的生理功能

3'-SL是BMOs中含量最高的单体,许多研究发现3'-SL作为重要的唾液酸化低聚糖之一与人体的神经发育和认知功能相关,这是因为唾液酸可通过形成神经节苷脂影响脑髓鞘的形成^[74],进一步影响婴儿的认知、智力、语言、社交和行为发展的发育^[75]。成年哺乳动物可通过Glc和其他糖酵解产物内源性合成唾液酸,但新生儿很大程度上缺乏这种能力,因此需要补充外源唾液酸^[76]。Obelitz-Ryom等^[77]发现富含3'-SL的BMOs可改善早产仔猪的空间认知,且对其唾液酸代谢、髓鞘形成和神经节苷脂生物合成相关的海马基因有影响。

3'-SL除了具有促进大脑发育和改善认知的作用,还表现出一定的免疫调节活性。Baek等^[78]发现,3'-SL通过抑制丝裂原激活蛋白激酶和磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B/核因子- κ B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/nuclear factor kappa-B, PI3K/AKT/NF- κ B)信号级联反应以及下调氧化应激和炎症,减轻白细胞介素-1 β 诱导的骨关节炎发病机制。Baek等^[79]在之后的研究中又发现,3'-SL可通过调节骨稳态缓解小鼠的骨质疏松症,是一种潜在的骨质疏松症药物。

流感病毒表面具有血凝素糖蛋白,可识别并结合人体红细胞和上呼吸道细胞膜表面的唾液酸结构,因此3'-SL可通过与流感病毒的糖蛋白结合抵抗流感感染^[80]。

3.3 6'-SL的生理功能

6'-SL和3'-SL是一对异构体,结构分别表示为Neu5Aca2,3Gal β 1,4Glc和Neu5Aca2,6Gal β 1,4Glc,是唾液酸分别通过 α 2,6-和 α 2,3-糖苷键与乳糖连接形成的^[80]。尽管6'-SL在HMOs和BMOs中的含量与3'-SL相比都较少,但其仍具有许多与3'-SL相似的生理功能,是一种重要的唾液酸化低聚糖。

Rajhans等^[81]发现哺乳期前3个月的母乳6'-SL浓度与婴儿12月时社交情感技能相关,且该关联由髓鞘形成介导。Hauser等^[82]发现,6'-SL可通过短期上调前额叶皮层

神经元模式的基因调节认知发展。Assale等^[83]发现6'-SL可改善小鼠的听力损伤并逆转促炎细胞因子的增加。Huang Xiaoyang等^[84]还将6'-SL与动物双歧杆菌F1-7相结合,该合生元组合增强了体外粪便中SCFAs的产生,减少了几种有害的肠道细菌含量,为新型膳食成分的研制提供了强有力的支持。

3.4 LNT的生理功能

LNT作为一种重要的NnF低聚糖,在HMOs和BMOs中的含量都很丰富。LNT的生理功能主要包括对微生物群组成和活性的影响、防止病原体黏附以及对上皮细胞或免疫细胞的直接影响^[85]。Duar等^[86]比较了与婴儿肠道相关的12种双歧杆菌代谢LNT、LNnT和2'-FL的能力,发现具有完整的利用HMOs基因的菌株在LNT和LNnT上长势优异。同时婴儿芽孢杆菌的体外定植实验显示,LNT和LNnT是婴儿芽孢杆菌EVC001的首选底物,而不是2'-FL。

3.5 LNnT的生理功能

LNnT是LNT的异构体,作为HMOs中含量较高的中性低聚糖之一,LNnT也有许多健康益处,具体生理功能见图3。LNnT作为一种益生元同样可刺激双歧杆菌的大量增殖,研究人员发现长双歧杆菌婴儿亚种、长双歧杆菌长亚种、短双歧杆菌和两双歧杆菌等都可利用LNnT进行富集^[87]。Thongaram等^[88]又研究了乳酸杆菌对LNnT的利用情况,发现两种嗜酸乳杆菌菌株NCFM和La-5可在LNnT上适度生长,而植物乳杆菌LP-66和罗伊氏乳杆菌DSM17938对LNnT的生长利用非常有限。Šuligoj等^[89]通过建立人类肠道微生物生态系统模拟器研究低聚糖对肠道菌群的作用,发现LNnT的补充可增加有益菌双歧杆菌及其代谢产物SCFAs的含量,从而促进肠道健康。在针对健康成人的临床试验中,Elison等^[90]发现补充LNnT是安全且耐受性良好的,并可促进双歧杆菌的生长。在促进肠道屏障方面,Holscher等^[91]发现LNnT可促进前汇合HT-29、前汇合Caco-2Bbe和汇合后Caco-2Bbe细胞的上皮分化,进而促进小肠上皮细胞的成熟。

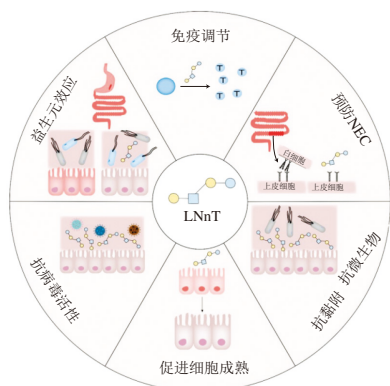


图3 LNnT对人体的生理功能^[92]

Fig. 3 Physiological functions of LNnT in the human body^[92]

LNnT在调节免疫、预防坏死性小肠结肠炎(necrotizing enterocolitis, NEC)和抗病原体感染方面也有重要作用。Farhadihosseinabadi等^[93-94]发现,LNnT在全层伤口小鼠模型上表现出对诱导2型免疫反应的体内作用,具有很强的抗炎能力。Hoeftlinger等^[95]研究了LNnT对11种与NEC相关的肠杆菌菌株生长的体外影响,发现没有一种菌株在LNnT上生长,这表明LNnT可能会阻止NEC的发展。研究人员发现LNnT能够抑制兔模型中致病性肺炎链球菌在肺部的定植,并防止肺炎球菌黏附,以缓解肺炎球菌肺炎的发展^[96]。

3.6 其他单体的生理功能

除了以上几种单体,3-FL和DSLNT的功效也是目前研究的热点。3-FL是HMOs重要的岩藻糖基化低聚糖,Cheng Lianghui等^[97]发现3-FL可以刺激杯状细胞中黏蛋白和抗菌肽的产生,从而增强婴儿的肠道屏障功能。DSLNT虽然在HMOs中的含量不高,但作为一种非岩藻糖基化双唾液酸化的低聚糖,DSLNT在预防治疗NEC上有一定潜力。Masi等^[98]发现,与健康婴儿相比,患有NEC的婴儿DSLNT摄入显著降低,且低浓度的DSLNT会影响婴儿微生物组的发育。

3.7 混合低聚糖的生理功能

近些年学者们不仅关注几种低聚糖单体的生理功能,还研究了许多低聚糖混合物的联合功效。Jin Yujin等^[99]发现3'-SL和6'-SL可通过信号转导因子和转录激活因子1(signal transducer and activator of transcription 1, STAT1)和NF- κ B信号通路保护脂多糖诱导的巨噬细胞活化和急性肺损伤。Kim等^[100]发现,高剂量的2'-FL和6'-SL混合物可有效改善脂多糖诱导的小鼠炎症,如体质量减轻、结肠长度减少、组织学结构损伤以及与炎症反应相关的肠道基因表达。Holst等^[101]分别对配方乳粉喂养、添加HMOs补充剂配方乳粉喂养和纯母乳喂养的婴儿粪便微生物进行研究,发现与纯配方乳粉相比,添加HMOs混合剂配方乳粉喂养的婴儿粪便微生物中长双歧杆菌长亚种和长双歧杆菌婴儿亚种含量更高,而致病菌如艰难梭菌含量会降低。Moore等^[102]发现,补充HMOs混合物可以减少B族链球菌对母体妊娠组织的黏附和生殖道内的定植,从而预防婴儿感染细菌。

此外,BMOs混合物作为唾液酸化低聚糖的重要来源也有许多功效。Estorninos等^[103]发现,与配方乳粉喂养的婴儿相比,含有BMOs混合物的配方乳粉使婴儿的肠道微生物群和代谢特征更接近纯母乳喂养婴儿。Monaco等^[104]向配方乳粉中添加2'-FL、LNnT和BMOs混合物,发现BMOs混合物的补充增强了对新生仔猪产生的免疫调节作用。Cowardin等^[105]发现,SBMOs补充剂可以促进定植了生长发育不良的婴儿肠道微生物群小鼠的生长,增加定植小鼠的股骨处骨小梁体积。

目前的研究结果表明HMOs和BMOs混合物都具有一定生理功效,但乳源低聚糖在国内外比例的差异说明,低聚糖单体应该根据不同地区的含量特点进行针对性混合,从而满足不同地区婴儿的营养需求,为不同地区的婴幼儿配方乳粉母乳化提供支撑。

4 HMOs和BMOs的生产应用

4.1 HMOs的生产方法

4.1.1 天然提取

母乳构成复杂,研究人员一般通过离心或溶剂萃取去除脂肪,再用有机溶剂如乙腈沉淀蛋白质或采用膜过滤技术去除蛋白质^[106],最后结合多孔石墨碳色谱和液相色谱进行纯化^[107]。尽管该方法不会破坏HMOs的天然结构,但由于成本高且缺少足够的捐赠母乳,从母乳中提取的HMOs无法满足临床试验的需要和产业化发展,因此需要替代母乳来源以便生产HMOs作为人们的膳食或药物成分。

4.1.2 人工合成

除了从乳源制品进行HMOs的提取,还可以通过化学合成、酶法合成、化学酶合成、生物发酵合成得到与天然HMOs化学结构相同的低聚糖。

HMOs的化学合成主要是通过寡糖的糖基化反应,涉及两个单糖之间糖苷键的形成^[108],但由于纯化过程复杂且需要使用一定剂量的有毒试剂等因素,该方法更适用于功能与结构关系的研究。HMOs的酶法合成主要通过糖基转移酶和糖苷水解酶合成寡糖^[109-110],该方法虽可有效制备结构更复杂的HMOs^[10],但受底物特异性和糖苷酶可用性的限制,酶法合成的成本较高。化学酶法合成是一个以化学方法合成底物,再通过酶促反应进行延伸和修饰从而得到HMOs的过程,该方法可用来开发HMOs更多复杂结构的数据库。

微生物发酵合成目前是HMOs商业化生产的主要方法,此方法的重点是选择安全性高、生长速度快和成本低的宿主菌株^[111]。目前研究人员主要选用大肠杆菌^[112-113]、枯草芽孢杆菌^[114]、酿酒酵母^[115]和谷氨酸棒杆菌^[116]等菌株作为宿主生物。Wang Luyao等^[117]在利用大肠杆菌合成2'-FL的过程中,通过优化岩藻糖基转移酶的溶解度以及减少副产物乙酸的形成,提高了2'-FL的产量。目前研究人员利用微生物发酵合成已制备出42种HMOs单体,且2'-FL的产量最高可到180 g/L^[118]。即使微生物发酵技术已成为生产HMOs的主要技术,但许多菌株并不适合工业生产或不具有工业生产竞争力,在大规模发酵的过程中会遇到工程菌株遗传不稳定性等挑战,且高性能生产菌株可能会因代谢负担和产物毒性而丧失生产能力,转变成低产或不生产的变种^[119]。另一方面,微生物发酵技术目前的首选宿主生物大肠杆菌并不是公认的可食用安全菌

株,工程大肠杆菌在大规模发酵过程中会受到噬菌体的阻碍并产生感染风险和潜在的内毒素污染^[61]。

高效安全的大规模生产HMOs是研究人员目前面临的一个重要问题,一些生物技术初创公司开始利用基于代谢工程的细胞技术合成牛乳成分(如低聚糖),但生产细胞培养乳源低聚糖仍处于早期阶段。欧洲食品安全局于2023年5月组织了一次关于细胞培养食品和食品成分的科学研讨会^[119],随着细胞培养技术和监管框架的发展,细胞培养奶的前景预计将扩大。

4.2 BMOs的生产方式

牛初乳中的BMOs结构和功能与HMOs相似,尤其是含有唾液酸基团的酸性低聚糖含量远高于牛成熟乳^[12],是提取BMOs的较佳来源。但牛初乳中蛋白质、乳糖、脂肪和单糖的含量远高于低浓度的BMOs,需要复杂的生产工艺才能去除这些物质富集BMOs,不适合工业化生产。乳制品加工过程中会产生许多副产品(乳清、乳清渗透液和母液等),随着分离提取技术的发展,研究人员开始从这些副产品中提取高营养价值的BMOs,提高了副产品的经济价值和乳制品的持续利用率^[19]。

目前牛初乳的工业应用以生产富含免疫球蛋白的高价值浓缩物(如奶酪)为主,生产过程中通过滤膜的乳糖和盐等小分子物质则形成了大量的副产品乳清^[120]。在20世纪上半叶,乳清被乳制品行业视为废物,但随着乳清加工技术的发展以及对乳清成分需求的增加,学者们通过超滤技术浓缩乳清蛋白,BMOs则随小分子物质穿过膜形成乳清渗透液^[121]。乳清渗透液除了富含乳糖,de Moura Bell等^[122]还在乳清渗透液中检测到质量浓度为0.21 g/L的BMOs。Dallas等^[123]也在乳清渗透液中检测到26种BMOs单体,其中3'-SL、6'-SL和6'-SLN含量较高。这些研究结果为利用乳清渗透液分离和纯化天然BMOs提供了实验基础,同时也提高了乳清渗透液的经济价值。

乳清渗透液中乳糖的含量远高于BMOs,工业生产中乳清渗透液可通过结晶获得大量乳糖,结晶后剩余的液体则被称为母液^[124],因此母液中BMOs的含量高于乳清渗透液中BMOs的含量。学者们发现唾液酸乳糖/乳糖在母液中的浓度比约为0.35%,比乳清渗透液(0.1%~0.13%)高2.5~3.5倍^[120]。Mehra等^[125]通过质谱法检测出母液中的25种BMOs,这说明母液也是商业化生产BMOs的较佳来源。

在乳制品副产品的乳源基础上,提高BMOs纯度的另一个挑战便是选择能够以更低的成本和最少的溶剂使用量达到高选择性和高效率的分离技术,同时乳糖和单糖的去除也是关键。目前学者们针对乳制品副产品乳糖单糖浓度高、目标BMOs浓度低的特点,采用了一种乳糖酶水解/乳糖结晶、酵母单糖发酵和纳滤分离的新型综合生物工艺提高BMOs的回收率和纯度。de Moura Bell等^[122]开

发了一种综合工艺,以中试规模提高乳清渗透液中BMOs的产量和纯度,研究了乳糖水解、酵母发酵单糖和纳滤回收BMOs的最佳条件,最终实现了高回收率(95%)和高纯度(>90%)。

4.3 HMOs和BMOs的应用前景

尽管母乳喂养对婴儿身体发育有许多益处,但并非所有婴儿都能获得纯母乳喂养。研究发现在中低收入国家中,只有37%的6个月以下婴儿为纯母乳喂养^[126]。与母乳喂养的婴儿相比,配方乳粉喂养的婴儿更容易患NEC、肠易激综合征、过敏和湿疹等疾病^[5],这可能是由于乳源低聚糖的缺乏导致配方乳粉喂养婴儿的早期肠道微生物发育以及免疫系统发育受到影响。

随着人们越来越认识到HMOs在婴儿生长发育中的重要性,许多食品监管机构将低聚糖单体列为食品添加剂,这也激发了研究人员对合成乳源低聚糖或其活性类似物作为婴幼儿配方乳粉补充剂的研究兴趣。在2015年,Glycom A/S公司通过化学合成的2'-FL和LNnT以及Jennewein公司通过生物合成的2'-FL首次获得美国食品和药物管理局的“普遍认为安全”监管批准^[127]。目前已有2'-FL、3-FL^[128]、LNT^[129]、LNnT、DFL、3'-SL^[130]和6'-SL共7种低聚糖单体被美国、欧盟和其他司法管辖区确定可安全用于婴幼儿配方乳粉。目前我国对HMOs也进行了深入的研究,2023年,国家卫健委已经批准了2'-FL和LNnT两种低聚糖作为食品营养强化剂添加到婴幼儿配方乳粉中。

虽然HMOs单体在婴幼儿配方乳粉中的添加已经成为了新的应用趋势,但由于HMOs合成的局限性,目前的研究还远远不能覆盖200多种HMOs的复杂性,对更复杂的HMOs单体生理效应的了解有限,未来HMOs单体生理效应的研究将在更现代的研究方法上继续扩大,深化HMOs单体的研究将大大提高HMOs在婴幼儿配方乳粉和临床上的应用价值。同时由于母乳中HMOs的含量存在波动,因此婴幼儿配方乳粉中HMOs的理想剂量仍需更多研究结果的支撑,未来可进一步研究HMOs添加的类型、浓度以及治疗时间。总而言之,HMOs与婴幼儿发育之间存在动态的相互作用,针对婴幼儿所需营养的复杂性应该谨慎添加HMOs,以便为非纯母乳喂养的婴儿提供与母乳喂养婴儿相似的发育过程。

BMOs作为类似的低聚糖混合物,具有与HMOs相似的结构组成、含量变化规律以及生理功能,例如Yue Haiyun等^[131]发现BMOs对金黄色葡萄球菌具有类似于HMOs的抗致病作用,因此将纯化的BMOs混合物添加到婴幼儿配方乳粉中也可能具有应用价值。一方面,目前可通过乳糖酶水解和纳滤分离的技术从牛乳副产品中提取BMOs,该技术相比HMOs的合成方法具有成本低、操作简便和安全性高的特点;另一方面,牛乳中天然存在

的BMOs混合物相比人工合成的单一低聚糖具有更复杂的结构和更丰富的生理功能,BMOs作为HMOs的替代品有一定开发前景。

5 结 语

HMOs和BMOs具有类似的单体组成,表明BMOs作为混合物可能比单一的某种低聚糖具有更复杂的生理学功能,这需要更多的研究探索。HMOs的含量和组成会因为母乳的基因型、地域、泌乳期的不同而产生差异;虽然有研究报道了BMOs也存在这些类似母乳的规律,但BMOs的研究相对滞后,需要更大规模和更多群体的研究,从而对BMOs的数据进行校准和补充,为BMOs的生产和应用提供更加可靠的基础。

参考文献:

- [1] SCHRAW J M, BAILEY H D, BONAVENTURE A, et al. Infant feeding practices and childhood acute leukemia: findings from the childhood cancer & leukemia international consortium[J]. *International Journal of Cancer*, 2022, 151(7): 1013-1023. DOI:10.1002/ijc.34062.
- [2] MATSUMOTO N, YORIFUJI T, NAKAMURA K, et al. Breastfeeding and risk of food allergy: a nationwide birth cohort in Japan[J]. *Allergology International*, 2020, 69(1): 91-97. DOI:10.1016/j.alit.2019.08.007.
- [3] ZHENG M B, D'SOUZA N J, ATKINS L, et al. Breastfeeding and the longitudinal changes of body mass index in childhood and adulthood: a systematic review[J]. *Advances in Nutrition*, 2024, 15(1): 100152. DOI:10.1016/j.advnut.2023.100152.
- [4] 揭良, 苏米亚, 贾宏信, 等. 母乳低聚糖组成及其对益生菌的增殖作用[J]. *乳业科学与技术*, 2021, 44(1): 13-17. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.01.003.
- [5] ZHANG B, LI L Q, LIU F T, et al. Human milk oligosaccharides and infant gut microbiota: molecular structures, utilization strategies and immune function[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 276: 118738. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118738.
- [6] CONZE D B, KRUGER C L, SYMONDS J M, et al. Weighted analysis of 2'-fucosyllactose, 3-fucosyllactose, lacto-N-tetraose, 3'-sialyllactose, and 6'-sialyllactose concentrations in human milk[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2022, 163: 112877. DOI:10.1016/j.fct.2022.112877.
- [7] 陈禹含, 李巧慧, 李岩, 等. 长双歧杆菌婴儿亚种利用母乳低聚糖的分子机制及益生作用研究进展[J]. *食品科学*, 2024, 45(9): 243-251. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230521-198.
- [8] THUM C, WALL C R, WEISS G A, et al. Changes in HMO concentrations throughout lactation: influencing factors, health effects and opportunities[J]. *Nutrients*, 2021, 13(7): 2272. DOI:10.3390/nu13072272.
- [9] 周叶, 陈慧娟, 赵建新, 等. 母乳微生物及其对婴幼儿健康影响的研究进展[J]. *中国微生态学杂志*, 2024, 36(2): 218-224; 229. DOI:10.13381/j.cnki.cjm.202402015.
- [10] ZHENG J, XU H, FANG J Q, et al. Enzymatic and chemoenzymatic synthesis of human milk oligosaccharides and derivatives[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 291: 119564. DOI:10.1016/j.carbpol.2022.119564.

- [11] 韩立华, 朱师晨, WEISER M, 等. 牛初乳营养组成和功能特性研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(13): 397-407. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220809-111.
- [12] LIN T T, MELETHARAYIL G, KAPOOR R, et al. Bioactives in bovine milk: chemistry, technology, and applications[J]. Nutrition Reviews, 2021, 79(Suppl 2): 48-69. DOI:10.1093/nutrit/nuab099.
- [13] BAI Y Y, YANG X H, YU H, et al. Substrate and process engineering for biocatalytic synthesis and facile purification of human milk oligosaccharides[J]. ChemSusChem, 2022, 15(9): e202102539. DOI:10.1002/cssc.202102539.
- [14] NGUYEN T L L, NGUYEN D V, HEO K S. Potential biological functions and future perspectives of sialylated milk oligosaccharides[J]. Archives of Pharmacal Research, 2024, 47(4): 325-340. DOI:10.1007/s12272-024-01492-3.
- [15] BOSHEVA M, TOKODI I, KRASNOW A, et al. Infant formula with a specific blend of five human milk oligosaccharides drives the gut microbiota development and improves gut maturation markers: a randomized controlled trial[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 920362. DOI:10.3389/fnut.2022.920362.
- [16] VAN ESCH B C A M, PORBAHAIE M, ABBRING S, et al. The impact of milk and its components on epigenetic programming of immune function in early life and beyond: implications for allergy and asthma[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 2141. DOI:10.3389/fimmu.2020.02141.
- [17] WANG Y, YU J H. Membrane separation processes for enrichment of bovine and caprine milk oligosaccharides from dairy byproducts[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2021, 20(4): 3667-3689. DOI:10.1111/1541-4337.12758.
- [18] ROBINSON R C. Structures and metabolic properties of bovine milk oligosaccharides and their potential in the development of novel therapeutics[J]. Frontiers in Nutrition, 2019, 6: 50. DOI:10.3389/fnut.2019.00050.
- [19] 董人华, 滕国新, 王晓杰, 等. 牛乳低聚糖的结构和功能研究及其开发应用[J]. 中国乳品工业, 2022, 50(12): 34-38. DOI:10.19827/j.issn1001-2230.2022.12.006.
- [20] VINJAMURI A, DAVIS J C C, TOTTEEN S M, et al. Human milk oligosaccharide compositions illustrate global variations in early nutrition[J]. The Journal of Nutrition, 2022, 152(5): 1239-1253. DOI:10.1093/jn/nxac027.
- [21] PLOWS J F, BERGER P K, JONES R B, et al. Longitudinal changes in human milk oligosaccharides (HMOs) over the course of 24 months of lactation[J]. The Journal of Nutrition, 2021, 151(4): 876-882. DOI:10.1093/jn/nxaa427.
- [22] WU J Y, WU S H, HUO J H, et al. Systematic characterization and longitudinal study reveal distinguishing features of human milk oligosaccharides in China[J]. Current Developments in Nutrition, 2020, 4(8): nzaa113. DOI:10.1093/cdn/nzaa113.
- [23] ZHANG L N, LIN Q R, ZHANG J Y, et al. Qualitative and quantitative changes of oligosaccharides in human and animal milk over lactation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(42): 15553-15568. DOI:10.1021/acs.jafc.3c03181.
- [24] NIJMAN R M, LIU Y, BUNYATRATCHATA A, et al. Characterization and quantification of oligosaccharides in human milk and infant formula[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(26): 6851-6859. DOI:10.1021/acs.jafc.8b01515.
- [25] SAMUEL T M, BINIA A, DE CASTRO C A, et al. Impact of maternal characteristics on human milk oligosaccharide composition over the first 4 months of lactation in a cohort of healthy European mothers[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 11767. DOI:10.1038/s41598-019-48337-4.
- [26] REN X N, YAN J Y, BI Y, et al. Human milk oligosaccharides are associated with lactation stage and Lewis phenotype in a Chinese population[J]. Nutrients, 2023, 15(6): 1408. DOI:10.3390/nu15061408.
- [27] LIU S, CAI X K, WANG J, et al. Six oligosaccharides' variation in breast milk: a study in South China from 0 to 400 days postpartum[J]. Nutrients, 2021, 13(11): 4017. DOI:10.3390/nu13114017.
- [28] CHEEMA A S, GRIDNEVA Z, FURST A J, et al. Human milk oligosaccharides and bacterial profile modulate infant body composition during exclusive breastfeeding[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(5): 2865. DOI:10.3390/ijms23052865.
- [29] SUDARMA V, SUNARDI D, MARZUKI N S, et al. Human milk oligosaccharide profiles and the secretor and Lewis gene status of Indonesian lactating mothers[J]. Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition, 2023, 26(5): 266-276. DOI:10.5223/pghn.2023.26.5.266.
- [30] YAO Q Q, GAO Y N, WANG F G, et al. Label-free quantitation of milk oligosaccharides from different mammal species and heat treatment influence[J]. Food Chemistry, 2024, 430: 136977. DOI:10.1016/j.foodchem.2023.136977.
- [31] LIU S, MAO Y Y, WANG J, et al. Lactational and geographical variation in the concentration of six oligosaccharides in Chinese breast milk: a multicenter study over 13 months postpartum[J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1267287. DOI:10.3389/fnut.2023.1267287.
- [32] SOYYILMAZ B, MIKŠ M H, RÖHRIG C H, et al. The mean of milk: a review of human milk oligosaccharide concentrations throughout lactation[J]. Nutrients, 2021, 13(8): 2737. DOI:10.3390/nu13082737.
- [33] DERRIEN M, MIKULIC N, UYOGA M A, et al. Gut microbiome function and composition in infants from rural Kenya and association with human milk oligosaccharides[J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2178793. DOI:10.1080/19490976.2023.2178793.
- [34] MANK M, HAUNER H, HECK A J R, et al. Targeted LC-ESI-MS² characterization of human milk oligosaccharide diversity at 6 to 16 weeks post-partum reveals clear staging effects and distinctive milk groups[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, 412(25): 6887-6907. DOI:10.1007/s00216-020-02819-x.
- [35] WANG M C, ZHAO Z W, ZHAO A, et al. Neutral human milk oligosaccharides are associated with multiple fixed and modifiable maternal and infant characteristics[J]. Nutrients, 2020, 12(3): 826. DOI:10.3390/nu12030826.
- [36] SCHÖNBACHER L, TREICHLER C, BRANDL W, et al. Prenatal human milk oligosaccharides (HMOs) in the context of BMI, gestational weight gain, and lipid profile: an association study in pregnant women with overweight or obesity[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2024, 68(2): e2300533. DOI:10.1002/mnfr.202300533.
- [37] RENWICK S, RAHIMI K, SEJANE K, et al. Consistency and variability of the human milk oligosaccharide profile in repeat pregnancies[J]. Nutrients, 2024, 16(5): 643. DOI:10.3390/nu16050643.
- [38] TONON K M, DE MORAIS M B, ABRÃO A C F V, et al. Maternal and infant factors associated with human milk oligosaccharides concentrations according to secretor and Lewis phenotypes[J]. Nutrients, 2019, 11(6): 1358. DOI:10.3390/nu11061358.

- [39] SIZIBA L P, MANK M, STAHL B, et al. Human milk oligosaccharide profiles over 12 months of lactation: the Ulm SPATZ health study[J]. *Nutrients*, 2021, 13(6): 1973. DOI:10.3390/nu13061973.
- [40] LI J Q, BI Y, ZHENG Y, et al. Development of high-throughput UPLC-MS/MS using multiple reaction monitoring for quantitation of complex human milk oligosaccharides and application to large population survey of secretor status and Lewis blood group[J]. *Food Chemistry*, 2022, 397: 133750. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.133750.
- [41] HUANG C C, LU Y, KONG L, et al. Human milk oligosaccharides in milk of mothers with term and preterm delivery at different lactation stage[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 321: 121263. DOI:10.1016/j.carbpol.2023.121263.
- [42] MAINARDI F, BINIA A, RAJHANS P, et al. Human milk oligosaccharide composition and associations with growth: results from an observational study in the US[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 10: 1239349. DOI:10.3389/fnut.2023.1239349.
- [43] ZHANG W Y, VERVOORT J, PAN J C, et al. Comparison of twelve human milk oligosaccharides in mature milk from different areas in China in the Chinese Human Milk Project (CHMP) study[J]. *Food Chemistry*, 2022, 395: 133554. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.133554.
- [44] FERREIRA A L, ALVES R, FIGUEIREDO A, et al. Human milk oligosaccharide profile variation throughout postpartum in healthy women in a Brazilian cohort[J]. *Nutrients*, 2020, 12(3): 790. DOI:10.3390/nu12030790.
- [45] ALBRECHT S, LANE J A, MARIÑO K, et al. A comparative study of free oligosaccharides in the milk of domestic animals[J]. *British Journal of Nutrition*, 2014, 111(7): 1313-1328. DOI:10.1017/S0007114513003772.
- [46] FISCHER-TLUSTOS A J, HERTOOGS K, VAN NIEKERK J K, et al. Oligosaccharide concentrations in colostrum, transition milk, and mature milk of primi- and multiparous Holstein cows during the first week of lactation[J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(4): 3683-3695. DOI:10.3168/jds.2019-17357.
- [47] LIU F, VAN DER MOLEN J, KUIPERS F, et al. Quantitation of bioactive components in infant formulas: milk oligosaccharides, sialic acids and corticosteroids[J]. *Food Research International*, 2023, 174: 113589. DOI:10.1016/j.foodres.2023.113589.
- [48] WANG Y F, ZHOU X H, GONG P M, et al. Comparative major oligosaccharides and lactose between Chinese human and animal milk[J]. *International Dairy Journal*, 2020, 108: 104727. DOI:10.1016/j.idairyj.2020.104727.
- [49] SHI Y, HAN B S, ZHANG L N, et al. Comprehensive identification and absolute quantification of milk oligosaccharides in different species[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(51): 15585-15597. DOI:10.1021/acs.jafc.1c05872.
- [50] WANG H Y, ZHANG X Y, YAO Y, et al. Oligosaccharide profiles as potential biomarkers for detecting adulteration of caprine dairy products with bovine dairy products[J]. *Food Chemistry*, 2024, 443: 138551. DOI:10.1016/j.foodchem.2024.138551.
- [51] BARILE D, MAROTTA M, CHU C, et al. Neutral and acidic oligosaccharides in Holstein-Friesian colostrum during the first 3 days of lactation measured by high performance liquid chromatography on a microfluidic chip and time-of-flight mass spectrometry[J]. *Journal of Dairy Science*, 2010, 93(9): 3940-3949. DOI:10.3168/jds.2010-3156.
- [52] GRAY T E, NARAYANA K, GARNER A M, et al. Analysis of the biosynthetic flux in bovine milk oligosaccharides reveals competition between sulfated and sialylated species and the existence of glucuronic acid-containing analogues[J]. *Food Chemistry*, 2021, 361: 130143. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130143.
- [53] ROBINSON R C, POULSEN N A, COLET E, et al. Profiling of aminoxyTMT-labeled bovine milk oligosaccharides reveals substantial variation in oligosaccharide abundance between dairy cattle breeds[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 5465. DOI:10.1038/s41598-019-41956-x.
- [54] LIU Z Q, AULDIST M, WRIGHT M, et al. Bovine milk oligosaccharide contents show remarkable seasonal variation and intercow variation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(7): 1307-1313. DOI:10.1021/acs.jafc.6b04098.
- [55] HUNDSHAMMER C, MINGE O. In love with shaping you-influential factors on the breast milk content of human milk oligosaccharides and their decisive roles for neonatal development[J]. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3568. DOI:10.3390/nu12113568.
- [56] SMILOWITZ J T, LEMAY D G, KALANETRA K M, et al. Tolerability and safety of the intake of bovine milk oligosaccharides extracted from cheese whey in healthy human adults[J]. *Journal of Nutritional Science*, 2017, 6: e6. DOI:10.1017/jns.2017.2.
- [57] WESTREICH S T, SALCEDO J, DURBIN-JOHNSON B, et al. Fecal metatranscriptomics and glycomics suggest that bovine milk oligosaccharides are fully utilized by healthy adults[J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2020, 79: 108340. DOI:10.1016/j.jnutbio.2020.108340.
- [58] 吕丽娜, 朱冰泉. 母乳主要活性成分对婴儿肠道及免疫功能影响的研究进展[J]. *中国儿童保健杂志*, 2024, 32(4): 424-428. DOI:10.11852/zgetbjzz2023-0907.
- [59] 张琦敏, 倪妮妮, 张欣, 等. 母乳成分影响婴儿肠道屏障功能的研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(9): 194-203. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190427-357.
- [60] AKKERMAN R, FAAS M M, DE VOS P. Non-digestible carbohydrates in infant formula as substitution for human milk oligosaccharide functions: effects on microbiota and gut maturation[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(9): 1486-1497. DOI:10.1080/10408398.2017.1414030.
- [61] ZHU L Y, LI H Y, LUO T, et al. Human milk oligosaccharides: a critical review on structure, preparation, their potential as a food bioactive component, and future perspectives[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(43): 15908-15925. DOI:10.1021/acs.jafc.3c04412.
- [62] 袁慧芝, 荀一萍, 蒲晓璐, 等. 母乳低聚糖与婴儿肠道菌群相关性研究进展[J]. *食品科学*, 2021, 42(13): 319-325. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200605-072.
- [63] LAURSEN M F, ROAGER H M. Human milk oligosaccharides modify the strength of priority effects in the *Bifidobacterium* community assembly during infancy[J]. *The ISME Journal*, 2023, 17(12): 2452-2457. DOI:10.1038/s41396-023-01525-7.
- [64] GAO Y N, DAVIS B, ZHU W S, et al. Short-chain fatty acid butyrate, a breast milk metabolite, enhances immature intestinal barrier function genes in response to inflammation *in vitro* and *in vivo*[J]. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2021, 320(4): G521-G530. DOI:10.1152/ajpgi.00279.2020.
- [65] WALSH C, LANE J A, VAN SINDEREN D, et al. Human milk oligosaccharide-sharing by a consortium of infant derived *Bifidobacterium* species[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 4143. DOI:10.1038/s41598-022-07904-y.

- [66] LOU Y C, RUBIN B E, SCHOELMERICH M C, et al. Infant microbiome cultivation and metagenomic analysis reveal *Bifidobacterium* 2'-fucosyllactose utilization can be facilitated by coexisting species[J]. Nature Communications, 2023, 14: 7417. DOI:10.1038/s41467-023-43279-y.
- [67] ZHANG S Q, CHEN L, HU M, et al. 2'-Fucosyllactose (2'-FL) changes infants gut microbiota composition and their metabolism in a host-free human colonic model[J]. Food Research International, 2023, 173: 113293. DOI:10.1016/j.foodres.2023.113293.
- [68] GAO H N, FANG B, SUN Z, et al. Effect of human milk oligosaccharides on learning and memory in mice with Alzheimer's disease[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(2): 1067-1081. DOI:10.1021/acs.jafc.3c05949.
- [69] WILLEMSSEN Y, BEIJERS R, GU F J, et al. Fucosylated human milk oligosaccharides during the first 12 postnatal weeks are associated with better executive functions in toddlers[J]. Nutrients, 2023, 15(6): 1463. DOI:10.3390/nu15061463.
- [70] YU Z T, NANTHAKUMAR N N, NEWBURG D S. The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose quenches *Campylobacter jejuni*-induced inflammation in human epithelial cells HEp-2 and HT-29 and in mouse intestinal mucosa[J]. The Journal of Nutrition, 2016, 146(10): 1980-1990. DOI:10.3945/jn.116.230706.
- [71] KOROMYSLOVA A, TRIPATHI S, MOROZOV V, et al. Human norovirus inhibition by a human milk oligosaccharide[J]. Virology, 2017, 508: 81-89. DOI:10.1016/j.virol.2017.04.032.
- [72] KOU R X, WANG J, LI A, et al. 2'-Fucosyllactose alleviates OVA-induced food allergy in mice by ameliorating intestinal microecology and regulating the imbalance of Th2/Th1 proportion[J]. Food & Function, 2023, 14(24): 10924-10940. DOI:10.1039/d3fo03272h.
- [73] JO S H, KIM K J, PARK S Y, et al. The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose shows an immune-enhancing effect in a cyclophosphamide-induced mouse model[J]. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2023, 33(3): 356-362. DOI:10.4014/jmb.2211.11049.
- [74] SCHNAAR R L. Gangliosides as siglec ligands[J]. Glycoconjugate Journal, 2023, 40(2): 159-167. DOI:10.1007/s10719-023-10101-2.
- [75] SCHNEIDER N, GREENSTREET E, DEONI S C L. Connecting inside out: development of the social brain in infants and toddlers with a focus on myelination as a marker of brain maturation[J]. Child Development, 2022, 93(2): 359-371. DOI:10.1111/cdev.13649.
- [76] PISA E, MARTIRE A, CHIODI V, et al. Exposure to 3'-sialyllactose-poor milk during lactation impairs cognitive capabilities in adulthood[J]. Nutrients, 2021, 13(12): 4191. DOI:10.3390/nu13124191.
- [77] OBELITZ-RYOM K, BERING S B, OVERGAARD S H, et al. Bovine milk oligosaccharides with sialyllactose improves cognition in preterm pigs[J]. Nutrients, 2019, 11(6): 1335. DOI:10.3390/nu11061335.
- [78] BAEK A, JUNG S H, PYO S, et al. 3'-Sialyllactose protects SW1353 chondrocytic cells from interleukin-1 β -induced oxidative stress and inflammation[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 609817. DOI:10.3389/fphar.2021.609817.
- [79] BAEK A, BAEK D, CHO Y, et al. 3'-Sialyllactose alleviates bone loss by regulating bone homeostasis[J]. Communications Biology, 2024, 7(1): 110. DOI:10.1038/s42003-024-05796-4.
- [80] ZHU Y Y, ZHANG J M, ZHANG W L, et al. Recent progress on health effects and biosynthesis of two key sialylated human milk oligosaccharides, 3'-sialyllactose and 6'-sialyllactose[J]. Biotechnology Advances, 2023, 62: 108058. DOI:10.1016/j.biotechadv.2022.108058.
- [81] RAJHANS P, MAINARDI F, AUSTIN S, et al. The role of human milk oligosaccharides in myelination, socio-emotional and language development: observational data from breast-fed infants in the United States of America[J]. Nutrients, 2023, 15(21): 4624. DOI:10.3390/nu15214624.
- [82] HAUSER J, PISA E, VÁSQUEZ A A, et al. Sialylated human milk oligosaccharides program cognitive development through a non-genomic transmission mode[J]. Molecular Psychiatry, 2021, 26(7): 2854-2871. DOI:10.1038/s41380-021-01054-9.
- [83] ASSALE T A, KUENZEL T, SCHINK T, et al. 6'-Sialyllactose ameliorates the ototoxic effects of the aminoglycoside antibiotic neomycin in susceptible mice[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1264060. DOI:10.3389/fimmu.2023.1264060.
- [84] HUANG X Y, LIU R, WANG J, et al. Preparation and synbiotic interaction mechanism of microcapsules of *Bifidobacterium animalis* F1-7 and human milk oligosaccharides (HMO)[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 259: 129152. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2023.129152.
- [85] HU M M, MIAO M, LI K W, et al. Human milk oligosaccharide lacto-N-tetraose: physiological functions and synthesis methods[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 316: 121067. DOI:10.1016/j.carbpol.2023.121067.
- [86] DUAR R M, CASABURI G, MITCHELL R D, et al. Comparative genome analysis of *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* strains reveals variation in human milk oligosaccharide utilization genes among commercial probiotics[J]. Nutrients, 2020, 12(11): 3247. DOI:10.3390/nu12113247.
- [87] RUIZ-MOYANO S, TOTTEN S M, GARRIDO D A, et al. Variation in consumption of human milk oligosaccharides by infant gut-associated strains of *Bifidobacterium breve*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(19): 6040-6049. DOI:10.1128/AEM.01843-13.
- [88] THONGARAM T, HOEFLINGER J L, CHOW J, et al. Human milk oligosaccharide consumption by probiotic and human-associated bifidobacteria and lactobacilli[J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(10): 7825-7833. DOI:10.3168/jds.2017-12753.
- [89] ŠULIGOJ T, VIGSNÆS L K, ABEELE P V D, et al. Effects of human milk oligosaccharides on the adult gut microbiota and barrier function[J]. Nutrients, 2020, 12(9): 2808. DOI:10.3390/nu12092808.
- [90] ELISON E, VIGSNÆS L K, KROGSGAARD L R, et al. Oral supplementation of healthy adults with 2'-O-fucosyllactose and lacto-N-neotetraose is well tolerated and shifts the intestinal microbiota[J]. British Journal of Nutrition, 2016, 116(8): 1356-1368. DOI:10.1017/S0007114516003354.
- [91] HOLSCHER H D, DAVIS S R, TAPPENDEN K A. Human milk oligosaccharides influence maturation of human intestinal Caco-2Bbe and HT-29 cell lines 1 2[J]. The Journal of Nutrition, 2014, 144(5): 586-591. DOI:10.3945/jn.113.189704.
- [92] ZHANG P, ZHU Y Y, LI Z Y, et al. Recent advances on lacto-N-neotetraose, a commercially added human milk oligosaccharide in infant formula[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(15): 4534-4547. DOI:10.1021/acs.jafc.2c01101.
- [93] FARHADIHOSSEINABADI B, SALIMI M, KAZEMI B, et al. Inducing type 2 immune response, induction of angiogenesis, and anti-

- bacterial and anti-inflammatory properties make lacto-*N*-neotetraose (LNnT) a therapeutic choice to accelerate the wound healing process[J]. Medical Hypotheses, 2020, 134: 109389. DOI:10.1016/j.mehy.2019.109389.
- [94] FARHADIHOSSEINABADI B, GHOLIPOURMALEKABADI M, SALIMI M, et al. The *in vivo* effect of lacto-*N*-neotetraose (LNnT) on the expression of type 2 immune response involved genes in the wound healing process[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 997. DOI:10.1038/s41598-020-57860-8.
- [95] HOEFLINGER J L, DAVIS S R, CHOW J, et al. *In vitro* impact of human milk oligosaccharides on Enterobacteriaceae growth[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(12): 3295-3302. DOI:10.1021/jf505721p.
- [96] IDÄNPÄÄN-HEIKKILÄ I, SIMON P M, ZOPF D, et al. Oligosaccharides interfere with the establishment and progression of experimental pneumococcal pneumonia[J]. The Journal of Infectious Diseases, 1997, 176(3): 704-712. DOI:10.1086/514094.
- [97] CHENG L H, KONG C L, WALVOORT M T C, et al. Human milk oligosaccharides differently modulate goblet cells under homeostatic, proinflammatory conditions and ER stress[J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020, 64(5): e1900976. DOI:10.1002/mnfr.201900976.
- [98] MASI A C, EMBLETON N D, LAMB C A, et al. Human milk oligosaccharide DSLNT and gut microbiome in preterm infants predicts necrotising enterocolitis[J]. Gut, 2021, 70(12): 2273-2282. DOI:10.1136/gutjnl-2020-322771.
- [99] JIN Y J, JEON H, LE LAM N, et al. Human milk oligosaccharides 3'-sialyllactose and 6'-sialyllactose attenuate LPS-induced lung injury by inhibiting STAT1 and NF- κ B signaling pathways[J]. Archives of Pharmacal Research, 2023, 46(11/12): 897-906. DOI:10.1007/s12272-023-01470-1.
- [100] KIM J Y, LEE S, KIM G, et al. Ameliorating effect of 2'-fucosyllactose and 6'-sialyllactose on lipopolysaccharide-induced intestinal inflammation[J]. Journal of Dairy Science, 2024, 107(7): 4147-4160. DOI:10.3168/jds.2024-24325.
- [101] HOLST A Q, MYERS P, RODRÍGUEZ-GARCÍA P, et al. Infant formula supplemented with five human milk oligosaccharides shifts the fecal microbiome of formula-fed infants closer to that of breastfed infants[J]. Nutrients, 2023, 15(14): 3087. DOI:10.3390/nu15143087.
- [102] MOORE R E, XU L L, TOWNSEND S D. Prospecting human milk oligosaccharides as a defense against viral infections[J]. ACS Infectious Diseases, 2021, 7(2): 254-263. DOI:10.1021/acinfedis.0c00807.
- [103] ESTORNINOS E, LAWENKO R B, PALESTROQUE E, et al. Term infant formula supplemented with milk-derived oligosaccharides shifts the gut microbiota closer to that of human milk-fed infants and improves intestinal immune defense: a randomized controlled trial[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2022, 115(1): 142-153. DOI:10.1093/ajcn/nqab336.
- [104] MONACO M H, WANG M, HAUSER J, et al. Formula supplementation with human and bovine milk oligosaccharides modulates blood IgG and T-helper cell populations, and *ex vivo* LPS-stimulated cytokine production in a neonatal preclinical model[J]. Frontiers in Immunology, 2023, 14: 1327853. DOI:10.3389/fimmu.2023.1327853.
- [105] COWARDIN C A, AHERN P P, KUNG V L, et al. Mechanisms by which sialylated milk oligosaccharides impact bone biology in a gnotobiotic mouse model of infant undernutrition[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2019, 116(24): 11988-11996. DOI:10.1073/pnas.1821770116.
- [106] AUER F, JARVAS G, GUTTMAN A. Recent advances in the analysis of human milk oligosaccharides by liquid phase separation methods[J]. Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2021, 1162: 122497. DOI:10.1016/j.jchromb.2020.122497.
- [107] 李云飞, 栾庆民, 刘峰, 等. 2'-岩藻糖基乳糖生物合成专利技术研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(5): 51-57. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.05.010.
- [108] PÉREZ-ESCALANTE E, ALATORRE-SANTAMARÍA S, CASTAÑEDA-OVANDO A, et al. Human milk oligosaccharides as bioactive compounds in infant formula: recent advances and trends in synthetic methods[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(1): 181-214. DOI:10.1080/10408398.2020.1813683.
- [109] FROHNMEYER H, ELLING L. Enzyme cascades for the synthesis of nucleotide sugars: updates to recent production strategies[J]. Carbohydrate Research, 2023, 523: 108727. DOI:10.1016/j.carres.2022.108727.
- [110] FRANCEUS J, LORMANS J, DESMET T. Building mutational bridges between carbohydrate-active enzymes[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2022, 78: 102804. DOI:10.1016/j.copbio.2022.102804.
- [111] ZHU Y Y, CAO H Z, WANG H, et al. Biosynthesis of human milk oligosaccharides via metabolic engineering approaches: current advances and challenges[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2022, 78: 102841. DOI:10.1016/j.copbio.2022.102841.
- [112] SUN X, PENG Z T, LI C, et al. Combinatorial metabolic engineering and tolerance evolving of *Escherichia coli* for high production of 2'-fucosyllactose[J]. Bioresource Technology, 2023, 372: 128667. DOI:10.1016/j.biortech.2023.128667.
- [113] ZHU Y Y, CHEN R L, WANG H, et al. Elimination of byproduct generation and enhancement of 2'-fucosyllactose synthesis by expressing a novel α 1,2-fucosyltransferase in engineered *Escherichia coli*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(12): 4915-4923. DOI:10.1021/acs.jafc.3c00139.
- [114] ZHANG Q W, LIU Z M, XIA H Z, et al. Engineered *Bacillus subtilis* for the *de novo* production of 2'-fucosyllactose[J]. Microbial Cell Factories, 2022, 21(1): 110. DOI:10.1186/s12934-022-01838-w.
- [115] LEE J W, KWAK S, LIU J J, et al. Enhanced 2'-fucosyllactose production by engineered *Saccharomyces cerevisiae* using xylose as a co-substrate[J]. Metabolic Engineering, 2020, 62: 322-329. DOI:10.1016/j.ymben.2020.10.003.
- [116] XU M Y, SUN M T, MENG X F, et al. Engineering pheromone-mediated quorum sensing with enhanced response output increases fucosyllactose production in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. ACS Synthetic Biology, 2023, 12(1): 238-248. DOI:10.1021/acssynbio.2c00507.
- [117] WANG L Y, ZHANG K, GAO S Q, et al. High-yield synthesis of 2'-fucosyllactose from glycerol and glucose in engineered *Escherichia coli*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(41): 15237-15248. DOI:10.1021/acs.jafc.3c05015.
- [118] FAIJES M, CASTEJÓN-VILATERSANA M, VAL-CID C, et al. Enzymatic and cell factory approaches to the production of human milk oligosaccharides[J]. Biotechnology Advances, 2019, 37(5): 667-697. DOI:10.1016/j.biotechadv.2019.03.014.

- [119] GAN J N, CAO C Y, STAHL B, et al. Advances and challenges for obtaining human milk oligosaccharides: extraction from natural sources and synthesis by intentional design[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2023, 141: 104203. DOI:10.1016/j.tifs.2023.104203.
- [120] 宋博, 张雨萌, 逢晓阳, 等. 膜技术在乳品加工行业中的研究进展[J]. *乳业科学与技术*, 2021, 44(6): 39-44. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.06.008.
- [121] YADAV J S S, YAN S, PILLI S, et al. Cheese whey: a potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides[J]. *Biotechnology Advances*, 2015, 33(6): 756-774. DOI:10.1016/j.biotechadv.2015.07.002.
- [122] DE MOURA BELL J M L N, COHEN J L, DE AQUINO L F M C, et al. An integrated bioprocess to recover bovine milk oligosaccharides from colostrum whey permeate[J]. *Journal of Food Engineering*, 2018, 216: 27-35. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2017.07.022.
- [123] DALLAS D C, WEINBORN V, DE MOURA BELL J M L N, et al. Comprehensive peptidomic and glycomic evaluation reveals that sweet whey permeate from colostrum is a source of milk protein-derived peptides and oligosaccharides[J]. *Food Research International*, 2014, 63: 203-209. DOI:10.1016/j.foodres.2014.03.021.
- [124] OLIVEIRA D, PURI R, FENELON M A, et al. Delactosed permeate as a dairy processing co-product with major potential value: a review[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2019, 54(4): 999-1008. DOI:10.1111/ijfs.14064.
- [125] MEHRA R, BARILE D, MAROTTA M, et al. Novel high-molecular weight fucosylated milk oligosaccharides identified in dairy streams[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(5): e96040. DOI:10.1371/journal.pone.0096040.
- [126] CHENG L H, AKKERMAN R, KONG C L, et al. More than sugar in the milk: human milk oligosaccharides as essential bioactive molecules in breast milk and current insight in beneficial effects[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(7): 1184-1200. DOI: 10.1080/10408398.2020.1754756.
- [127] SALMINEN S. Regulatory aspects of human milk oligosaccharides[J]. *Nestle Nutrition Institute Workshop Series*, 2017, 88: 161-170. DOI:10.1159/000455400.
- [128] Novel Foods and Food Allergens (NDA) EFSA Panel on Nutrition, TURCK D, CASTENMILLER J, et al. Safety of 3-FL (3-fucosyllactose) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283[J]. *EFSA Journal*, 2021, 19(6): e06662. DOI:10.2903/j.efsa.2021.6662.
- [129] Novel Foods and Food Allergens (NDA) EFSA Panel on Nutrition, TURCK D, CASTENMILLER J, et al. Safety of lacto-N-tetraose (LNT) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283[J]. *EFSA Journal*, 2019, 17(12): e05907. DOI:10.2903/j.efsa.2019.5907.
- [130] Novel Foods and Food Allergens (NDA) EFSA Panel on Nutrition, TURCK D, CASTENMILLER J, et al. Safety of 3'-sialyllactose (3'-SL) sodium salt as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283[J]. *EFSA Journal*, 2020, 18(5): e06098. DOI:10.2903/j.efsa.2020.6098.
- [131] YUE H Y, HAN Y Y, YIN B R, et al. Comparison of the antipathogenic effect toward *Staphylococcus aureus* of N-linked and free oligosaccharides derived from human, bovine, and goat milk[J]. *Journal of Food Science*, 2020, 85(8): 2329-2339. DOI:10.1111/1750-3841.15150.