

母乳低聚糖组成及其对益生菌的增殖作用

揭良, 苏米亚, 贾宏信, 陈文亮, 齐晓彦

(乳业生物技术国家重点实验室, 上海乳业生物工程技术研究中心, 光明乳业股份有限公司乳业研究院, 上海 200436)

摘要: 研究混合母乳中复杂的母乳低聚糖(human milk oligosaccharides, HMOs)组成及含量, 选择双歧杆菌Bb-12、发酵乳杆菌CECT5716 2种益生菌, 研究HMOs 2'-岩藻糖(2'-fucosyllactose, 2'-FL)对2种益生菌的增殖作用。结果表明: 2个混合样本的HMOs含量分别为10.613、5.093 g/L, 差异很大, 说明不同母乳来源的HMOs受诸多因素影响, 但含量范围一般为5~15 g/L; 2'-FL对发酵乳杆菌CECT5716和双歧杆菌Bb-12均有一定的增殖效果, 说明益生菌可以利用HMOs进行生长和增殖。

关键词: 母乳; 母乳低聚糖; 益生菌增殖; 双歧杆菌; 发酵乳杆菌

Oligosaccharide Composition of Human Breast Milk and Its Effect on Promoting the Proliferation of Probiotics

JIE Liang, SU Miya, JIA Hongxin, CHEN Wenliang, QI Xiaoyan

(Shanghai Engineering Research Center of Dairy Biotechnology, State Key Laboratory of Dairy Biotechnology, Dairy Research Institute, Bright Dairy and Food Co. Ltd., Shanghai 200436, China)

Abstract: The composition and contents of oligosaccharides in two mixed samples of human breast milk were determined and the effect of the human milk oligosaccharides (HMOs) 2'-fucosyllactose (2'-FL) on the proliferation of two probiotic strains, *Bifidobacterium* Bb-12 and *Lactobacillus fermentum* CECT5716 was evaluated in this study. The results showed that the HMOs contents of the two mixed samples were 10.613 and 5.093 g/L respectively. This significant difference indicated that HMOs contents in breast milk from different mothers are affected by many factors, generally ranging between 5 and 15 g/L. 2'-FL promoted the growth of both probiotics, indicating that the probiotics could utilize HMOs for growth and proliferation.

Keywords: human milk; human milk oligosaccharides; proliferation of probiotics; *Bifidobacterium*; *Lactobacillus fermentum*

DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.01.003

中图分类号: TS252.1

文献标志码: A

文章编号: 1671-5187(2021)01-0013-05

引文格式:

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. <http://rykj.cbpt.cnki.net>

JIE Liang, SU Miya, JIA Hongxin, et al. Oligosaccharide composition of human breast milk and its effect on promoting the proliferation of probiotics[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2021, 44(1): 13-17. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.01.003. <http://rykj.cbpt.cnki.net>

母乳低聚糖(human milk oligosaccharides, HMOs)是结构多样的非共轭低聚糖, 其结构复杂, 种类较多, HMOs结构由5种基本单糖单体组成, 单糖单体分别为D-葡萄糖、D-半乳糖、N-乙酰葡萄糖胺、L-岩藻糖和唾液酸, 聚合方式为在乳糖基础上以 β -1,3或 β -1,6键连接半乳糖 β -1,3-N-乙酰氨基葡萄糖双糖(双糖称为lacto-N-biose), 形成HMOs的核心结构, 在乳糖或核心结构

基础上可以再延伸, 进行岩藻糖化或唾液酸化^[1]。母乳中的低聚糖含量远高于牛乳, 其中被报道的HMOs超过200种, 但研究报道较多的是20多种常见HMOs^[2-3]。国外研究报道成熟期母乳中HMOs含量为5~15 g/L, 是母乳中第三大固体成分^[4-5]。HMOs按结构不同主要分为中性岩藻糖基化、中性非岩藻糖基化和酸性唾液酸化HMOs三大类, 其中中性HMOs占比最大, 2'-岩藻糖

收稿日期: 2020-10-21

基金项目: “十三五”国家重点研发计划重点专项(2018YFC1604205);

上海市科学技术委员会科研计划项目(17391901100); 上海乳业生物工程技术研究中心项目(19DZ2281400)

第一作者简介: 揭良(1990—)(ORCID: 0000-0002-3273-2316), 男, 工程师, 硕士, 研究方向为乳品科学。

E-mail: jieliangjl@163.com

(2'-fucosyllactose, 2'-FL)、乳酰-N-岩藻五糖Ⅱ (lacto-N-fucopentaose Ⅱ, LNFPⅡ) 和乳糖-N-四糖 (lacto-N-tetraose, LNT) 是含量较为丰富的中性HMOs^[6-8]。

母乳是婴儿出生后最初6个月的唯一食物,若母乳喂养不能实现时,婴儿配方乳粉作为替代品也是低聚糖的一个可能来源。低聚糖产品,如低聚半乳糖 (galactooligosaccharides, GOS) 和低聚果糖 (fructooligosaccharide, FOS) 已被引入婴儿配方乳粉中,然而它们与HMOs结构不同^[4]。相比婴幼儿配方乳粉喂养,母乳喂养婴幼儿的消化不良、便秘、过敏和炎症等问题得到显著改善^[9]。研究发现,母乳相比于配方乳粉含有较高含量的HMOs。这些HMOs不被消化,可直接到达肠道并被肠道内有益菌(双歧杆菌和乳杆菌)选择性利用,进而改善肠道健康^[10]。大量文献报道了HMOs能够改善婴幼儿的肠道环境,促进益生菌增殖,抑制致病菌的生长,减少婴幼儿便秘和胃肠炎的发生,减轻婴幼儿的过敏症状等^[11-13]。而且研究报道HMOs添加到婴儿配方乳粉中是安全的,且耐受性良好,含有HMOs婴儿配方乳粉的功效更接近母乳^[14]。因此对HMOs组分进行深入研究,对于优化和改进婴幼儿配方乳粉,更好模拟母乳功能具有重要意义。国内HMOs研究相对落后,对母乳内复杂的HMOs进行全面分析的研究还较少,现有研究还无法为我国母乳研究提供较确切且全面的HMOs数据。本研究主要分析HMOs含量和种类,并探究单类HMOs对益生菌的影响,为HMOs研究及开发适合我国婴幼儿营养特点的配方乳粉产品提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

收集中国健康、营养良好的足月儿母亲成熟乳20份,同时签署知情同意书。随机取10份混合,共得到2个混合样(混合样1、2)。

MRS培养基 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;不含碳水化合物来源的半自制MRS培养基(含1%细菌蛋白胨、0.5%酵母提取物、0.2%磷酸钾、0.5%乙酸钠、0.2%柠檬酸钠、0.02%硫酸镁、0.005%硫酸锰、0.1%吐温-80、0.003%溴甲酚红紫)、双歧杆菌Bb-12、发酵乳杆菌CECT5716 杜邦中国集团有限公司;HMOs标品(色谱纯) 英国Carbosynth公司;2'-FL(色谱纯) 美国Sigma公司;FOS和GOS(FOS、GOS比例1:9)(分析纯) 保龄宝生物股份有限公司。

1.2 仪器与设备

A35厌氧培养箱 英国Don Whitley Scientific公司;ICS-5000离子色谱仪 美国Thermo Fisher公司;TE612-L电子天平 德国Sartorius公司。

1.3 方法

1.3.1 母乳中HMOs组成和含量测定

取1 mL母乳与1 mL无水乙醇混合均匀并密封,于4℃冰箱放置60 min,取出于4℃冷冻离心机10 000 r/min离心20 min;取所有上清液,氮吹除去乙醇,再用甲醇溶液定容至50 mL容量瓶,样液经0.22 μm亲水膜过滤后进样,采用离子色谱仪进行HMOs组分检测,并以HMOs标准品作对照,外标法定量分析母乳样品HMOs组分含量^[15]。

1.3.2 HMOs对益生菌增殖的影响

为研究HMOs对双歧杆菌Bb-12和发酵乳杆菌CECT5716生长的影响,将2种菌株分别接种于MRS培养基,37℃孵育36 h后分别取100 μL至不含碳水化合物来源的半自制MRS培养基。添加碳水化合物(4个组别:2 g/100 mL 2'-FL、1 g/100 mL 2'-FL+1 g/100 mL FOS和GOS、2 g/100 mL FOS和GOS、空白对照)。每种菌株在添加不同碳水化合物的半合成培养基(10 mL)中培养,每组3个平行样,37℃厌氧培养48 h。采用分光光度计每隔8 h在600 nm波长处测定光密度(optical density, OD),记录OD_{600 nm}^[16-17]。

1.4 数据处理

采用Origin 9.0软件进行数据统计、处理和绘图。

2 结果与分析

2.1 我国母乳HMOs组成特点

由表1可知,2个混合样本的母乳HMOs含量分别为10.613、5.093 g/L,与文献报道的母乳HMOs含量一般为5~15 g/L^[18]相一致。2个混合样本总HMOs含量差异很大,说明HMOs在不同个体母乳中的含量存在很大差异。母乳HMOs种类和含量主要受乳母的先天性差异、孕龄及哺乳期的影响^[19-21]。研究表明,母乳中HMOs的先天差异可以通过乳母的分泌状态来解释,如1,2-岩藻基HMOs在分泌型母乳中大量存在,而在非分泌型母乳中则基本不存在^[19]。1,3/1,4-岩藻基HMOs含量在非分泌型母乳中较高,而在分泌型母乳中较低^[20]。正常情况下,分泌型和非分泌型母乳中HMOs的差异主要为分泌型母乳中中性HMOs含量较高。从单个种类的HMOs可以看出,受个体母乳影响的HMOs种类主要有2'-FL、3'-FL、LNFPⅠ、LNDFHⅠ和6'-SL。2个混合母乳样本中中性HMOs含量远高于唾液酸化HMOs,中性HMOs分别占2个混合母乳样本总HMOs含量的74.1%和90.3%。大量文献报道2'-FL是分泌型母乳中最主要的HMOs,2'-FL和LNFPⅠ在分泌型母乳中大量存在^[21-24]。本研究2个混合母乳样本中,混合样2中最主要的HMOs有2'-FL、3'-FL、LNT、LNFPⅡ等,2个混合样中含量最多的都是3'-FL,说明收集的母乳中有一部分是非分泌型母乳。

表1 足月母亲成熟乳HMOs组成 (n=10)
Table 1 HMOs composition of mature breast milk of mothers of term newborns (n = 10)

HMOs	混合样1	混合样2
2'-FL	1.753	0.529
3'-FL	2.810	1.562
DFLac	0.085	0.350
LNT	0.431	0.350
LNnT	0.288	0.119
LNFP I	1.783	0.244
LNFP II	0.236	0.340
LNFP III	0	0.274
LNDFH I	0.158	0.519
LNDFH II	0	0.105
DSLNT	0.321	0.206
3'-SL	0.371	0.213
6'-SL	1.493	0.130
LSTa	0.085	0.012
LSTb	0.040	0.086
LSTc	0.752	0.048
总HMOs	10.613	5.093

注: 3'-FL. 3'-岩藻基乳糖 (3'-fucosyllactose); DFLac. 乳糖二岩藻四糖 (difucosyllactose); LNnT. 乳糖-N-新四糖 (lacto-N-neotetraose); LNFP. 乳糖-N-岩藻五糖 (lacto-N-fucopentaose); LNDFH. 乳糖-N-二岩藻六糖 (lacto-N-difucohexaose); DSLNT. 二唾液酸基-乳糖基-N-四糖 (disialyl-lacto-N-tetraose); 3'-SL. 3'-唾液酸乳糖 (3'-sialyllactose); LST. 唾液酸化乳糖-N-四糖 (sialic lactose-N-tetrasaccharide)。

2.2 不同国家母乳HMOs对比

HMOs主要分为中性岩藻糖基化、中性非岩藻糖基化和酸性唾液酸化HMOs。将本研究的国内母乳和不同国家报道的母乳中上述3类主要HMOs占比进行分析和对比^[24-27]。不同国家母乳HMOs总含量不同,受较多因素,如哺乳期、胎龄、分泌状态和产妇状况等影响,但3类HMOs含量占比比较相似。

母乳中HMOs占比最高的种类为中性岩藻糖基化HMOs,平均占比均为60%以上,远远高于唾液酸化HMOs和中性非岩藻糖基化HMOs。而不同国家母乳中唾液酸化HMOs和中性非岩藻糖基化HMOs在母乳总HMOs中占比相差较大。本研究母乳中唾液酸化HMOs占比高于中性非岩藻糖基化HMOs,这和其他国家有差异。这种差异的发生除了样品收集方法和分析方法可能导致的差异外,还有可能与不同地区和国家膳食差异有关。

2.3 HMOs对双歧杆菌Bb-12和发酵乳杆菌CECT5716的增殖作用

HMOs对婴儿的健康有较多有益影响,如改善肠道微生物健康、大脑发育、免疫系统、呼吸系统和包括肾脏和肝脏在内的器官功能^[28-29]。婴儿肠道的微生物组成和多样性从出生开始持续到出生后的前2~3年,对婴幼儿的生长和发育极为重要^[27]。HMOs对改善婴幼儿肠道微生物菌群分布具有重要作用^[30-31]。本研究采用2种常见的益生菌(双歧杆菌Bb-12和发酵乳杆菌CECT5716)验证单种HMOs对益生菌的增殖效果。

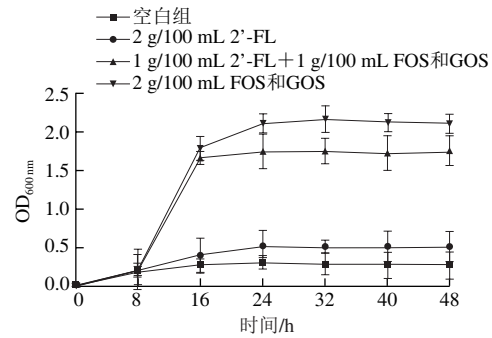


图1 HMOs对双歧杆菌Bb-12的增殖效果

Fig. 1 Effect of HMOs on the proliferation of *Bifidobacterium bifidum* Bb-12

由图1可知,相比空白组,添加2'-FL组的双歧杆菌Bb-12明显得到一定的增殖,说明双歧杆菌Bb-12可以利用HMOs来生长。但与FOS和GOS组相比,HMOs组对双歧杆菌Bb-12的增殖效果明显较弱,这可能和FOS和GOS中含有一定含量的单糖或双糖有关。FOS和GOS对益生菌的增殖效果很可能是由于其中所含的葡萄糖。HMOs目前和潜在的应用主要集中在婴儿营养方面,2'-FL对双歧杆菌Bb-12的增殖作用说明HMOs的有益健康价值不局限于婴儿。研究表明,2'-FL和LNnT大在儿童和成人中具有相似的安全性和耐受性,能显著改善他们的肠道菌群结构^[32]。HMOs对一些益生菌的增殖效果并不是直接利用HMOs产生的,而是由其他微生物代谢HMOs产生的低聚糖代谢物间接影响益生菌生长和增殖^[33]。正是这些不同微生物和HMOs之间的直接或间接相互作用促进人体的肠道健康。

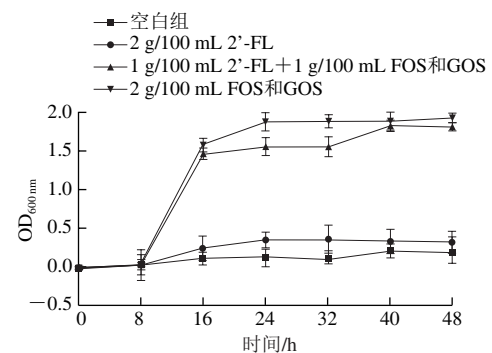


图2 HMOs对发酵乳杆菌CECT5716的增殖效果

Fig. 2 Effect of HMOs on the proliferation of *Lactobacillus fermentum* CECT5716

由图2可知,相比空白组,添加2'-FL组的发酵乳杆菌CECT5716同样也明显得到一定的增殖,说明2'-FL能被发酵乳杆菌CECT5716利用。发酵乳杆菌CECT5716于2016年新列入《可用于婴儿食品的菌种名单》,是分离自健康母乳的有益菌种,可用于婴幼儿配方乳粉。HMOs

对发酵乳杆菌CECT5716增殖的作用说明婴幼儿配方乳粉中若同时添加HMOs和发酵乳杆菌CECT5716,可实现改善肠道健康的协同作用。同样,FOS和GOS的增殖效果可能是含有一定量葡萄糖的原因。大量研究表明,含FOS或GOS的婴儿配方乳粉能促进婴儿肠道乳酸杆菌和双歧杆菌的增殖^[34-36]。因此可通过添加GOS和FOS等成分来模拟HMOs,但它们不是HMOs,并不能完全替代HMOs的功能。

3 结 论

HMOs的研究是当今母乳和新生儿营养领域研究的一大热点。过去的几十年,母乳成分和婴儿营养需求方面的研究取得了很大发展。补充HMOs对不能母乳喂养的新生儿是一个有吸引力的选择。本研究对HMOs组成进行检测和分析,为避免单个母乳样本差异性带来的影响,将不同乳母的母乳样本进行混合。2个混合样本的HMOs含量分别为10.613、5.093 g/L,差异依然很大,说明不同乳母来源的母乳HMOs差异受诸多因素影响,但含量一般为5~15 g/L。同时研究母乳中主要的HMOs之一2'-FL对常见益生菌的增殖效果。结果表明,2'-FL对发酵乳杆菌CECT5716和双歧杆菌Bb-12都有一定的增殖效果,说明一些益生菌可以利用HMOs进行生长和增殖,尽管FOS和GOS也有一定增殖效果,且已经应用在婴幼儿配方乳粉中,但它们不是HMOs,并不能完全替代HMOs的功能。未来的研究应该建立样本量较大的我国HMOs大数据库,并充分分析各种因素对HMOs的影响,为实现母婴的个体化营养提供参考。同时随着分析分离技术和合成水平的提升,研究母乳中不同单种HMOs的功能特点,如2'-FL、3'-FL、LNFP I、LNDFH I和6'-SL等各种肠道菌的影响。尽管在过去几年研究获得较大突破,特别是对于HMOs的安全性和功能,但实现各种HMOs在食品中的应用仍有许多关键问题需要解决,如HMOs的选择和组合依据、每日所需量等。我国母乳研究领域HMOs数据有限,有必要提供新的和全面的数据,更深刻地认识中国母乳的特点及其对婴幼儿健康的影响。

参考文献:

- [1] NINONUEVO M R, PARK Y, YIN H, et al. A strategy for annotating the human milk glycome[J]. Food Science and Agricultural Chemistry, 2006, 54(2): 7471-7480. DOI:10.1021/jf0615810.
- [2] TANNOK G W, LAWLEY B, MUNRO K, et al. Comparison of the compositions of the stool microbiotas of infants fed goat milk formula, cow milk-based formula, or breast milk[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(9): 3040-3048. DOI:10.1128/AEM.03910-12.
- [3] MORO G. A mixture of prebiotic oligosaccharides reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age[J]. Archives of Disease in Childhood, 2006, 91(10): 814-819. DOI:10.1136/adc.2006.098251.
- [4] BODE L. Human milk oligosaccharides at the interface of maternal-infant health[J]. Breastfeeding Medicine, 2018, 13(1): 70-93. DOI:10.1089/bfm.2018.29073.ljb.
- [5] TESTSUYA Y, TAKUYA A, HATANO H. *In vitro* assessment of oligosaccharides assimilation by intestinal anaerobic bacteria[J]. Milk Science, 2015, 64(3): 87-98. DOI:10.11465/milk.64.87.
- [6] HONG Q, RUHAAK L R, TOTTE S M, et al. Label-free absolute quantitation of oligosaccharides using multiple reaction monitoring[J]. Analytical Chemistry Research, 2014, 86(5): 2640-2647. DOI:10.1021/ac404006z.
- [7] VERARDO G, DUSE I, CALLEA A. Analysis of underivatized oligosaccharides by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry with post-column addition of formic acid[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2010, 23(11): 1607-1618. DOI:10.1002/rcm.4047.
- [8] GABRIELLI O, ZAMPINI L, GALEAZZI T, et al. Preterm milk oligosaccharides during the first month of lactation[J]. Pediatrics, 2011, 128(6): 1520-1531. DOI:10.1542/peds.2011-1206.
- [9] BODE L. Human milk oligosaccharides: every baby needs a sugar mama[J]. Glycobiology, 2012, 22(9): 1147-1162. DOI:10.1093/glycob/cws074.
- [10] CRESI F. Metabolism and biological functions of human milk oligosaccharides[J]. Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents, 2012, 26(3): 35-47. DOI:10.1128/9781555815462.ch10.
- [11] NEWBURG D S, RUIZ G M, MORROW A L. Human milk glycans protect infants against enteric pathogens[J]. Annual Review of Nutrition, 2005, 25(1): 37-58. DOI:10.1146/annurev.nutr.25.050304.092553.
- [12] YAN Jingyu, DING Junjie, LIANG Xinmiao, et al. Chromatographic methods for the analysis of oligosaccharides in human milk[J]. Analytical Methods, 2017, 9(7): 1071-1077. DOI:10.1039/C6AY02982E.
- [13] MANTOVANI V, GALEOTTI F, MACCARI F, et al. Recent advances on separation and characterization of human milk oligosaccharides[J]. Electrophoresis, 2016, 37(11): 1514-1524. DOI:10.1002/elps.201500477.
- [14] HAHN W H, KIM J, SONG S, et al. The human milk oligosaccharides are not affected by pasteurization and freeze-drying[J]. Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, 2019, 32(3): 985-991. DOI:10.1080/14767058.2017.1397122.
- [15] KOTTLER R, MANK M, HENNIG R, et al. Development of a high throughput glycoanalysis method for the characterization of oligosaccharides in human milk utilizing multiplexed capillary gel electrophoresis with laser-induced fluorescence detection[J]. Electrophoresis, 2013, 34(3): 2323-2336. DOI:10.1002/elps.201300016.
- [16] BAO Y, CHEN C, NEWBURG D S. Quantification of neutral human milk oligosaccharides by graphitic carbon high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. Journal of Biochemistry and Analytical Studies, 2013, 433(6): 28-35. DOI:10.1016/j.ab.2012.10.003.
- [17] 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): 13-58. DOI:10.3390/nu11061358.
- [18] 魏远安, 张丽君, 郑惠玲, 等. 中国母乳低聚糖的研究进展和现状[J]. 乳业科学与技术, 2016, 39(3): 33-38. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2016.03.008.
- [19] KUNZ C, MEYER C, COLLADO M C, et al. Influence of gestational age, secretor and Lewis blood group status on the

- oligosaccharide content of human milk[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2016, 64(5): 789-798. DOI:10.1097/MPG.0000000000001402.
- [20] WEI Yuan'an, ZHENG Huiling, WU Shaohui, et al. Change in composition and content of oligosaccharides in human milk from Chinese lactating mothers[J]. Food Science, 2017, 91(10): 814-819. DOI:10.3390/nu8060346.
- [21] XU G, LEBRILL A. Absolute quantitation of human milk oligosaccharides reveals phenotypic variations during lactation[J]. Journal of Nutrition Official Organ of the American Institute of Nutrition, 2017, 21(8): 117-124. DOI:10.3945/jn.116.238279.
- [22] MOTTRAM L, WIKLUND G, LARSON G, et al. FUT2 non-secretor status is associated with altered susceptibility to symptomatic enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in Bangladeshis[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 106-119. DOI:10.1038/s41598-017-10854-5.
- [23] SMILOWITZ J T, SULLIVAN A, BARILE D, et al. The human milk metabolome reveals diverse oligosaccharide profiles[J]. Journal of Nutrition, 2013, 143(11): 1709-1718. DOI:10.3945/jn.113.178772.
- [24] LARSSON M W, LIND M V, LAURSEN R P, et al. Human milk oligosaccharide composition is associated with excessive weight gain during exclusive breastfeeding: an explorative study[J]. Frontiers in Pediatrics, 2019, 7(2): 297-312. DOI:10.3389/fped.2019.00297.
- [25] ALDERETE T L, AUTRAN C, BREKKE B E, et al. Associations between human milk oligosaccharides and infant body composition in the first 6 mo of life[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2015, 102(6): 15-22. DOI:10.3945/ajcn.115.115451.
- [26] AZAD M B, RABREOTSON B, ATAKORAT F, et al. Human milk oligosaccharide concentrations are associated with multiple fixed and modifiable maternal characteristics, environmental factors, and feeding practices[J]. Journal of Nutrition, 2018, 4(1): 17-24. DOI:10.3390/nu12030826.
- [27] MCJARROW P, RADWAN H, MA L, et al. Human milk oligosaccharide, phospholipid, and ganglioside concentrations in breast milk from United Arab Emirates mothers: results from the MISC cohort[J]. Nutrients, 2019, 11(10): 240-256. DOI:10.3390/nu11102400.
- [28] JANSTSCHER K E, BODE L. Human milk oligosaccharides and their potential benefits for the breast-fed neonate[J]. Minerva Pediatrica, 2012, 64(1): 83-99. DOI:10.1016/j.cell.2010.05.005.
- [29] OLIVEROS E, RAMIREZ M, VAZQUEZ E, et al. Oral supplementation of 20-fucosyllactose during lactation improves memory and learning in rats[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2016, 31(6): 20-27. DOI:10.1016/j.jnutbio.2015.12.014.
- [30] THURL S, MUNXRTT M, BOEHM G, et al. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk[J]. Nutrition Reviews, 2017, 12(1): 920-933. DOI:10.1093/nutrit/nux044.
- [31] SAMUEL T M, BINIA A, CASTRO C A D, 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]. Entific Reports, 2019, 9(1): 117-145. DOI:10.1038/s41598-019-48337-4.
- [32] GYORGY P, NORRIS R F, ROSE C S. Bifidus factor. I. A variant of *Lactobacillus bifidus* requiring a special growth factor[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1954, 48(1): 193-201. DOI:10.1016/0003-9861(54)90323-9.
- [33] MARK A U, STEPHANIE G, LORNA A, et al. Human milk oligosaccharides in premature infants: absorption, excretion, and influence on the intestinal microbiota[J]. Pediatric Research, 2015, 78(6): 670-710. DOI:10.1038/pr.2015.162.
- [34] WANG Naiqiang, LIU Hui, LI Guoqing, et al. The application of fructooligosaccharides in medical foods[J]. Fine and Specialty Chemicals, 2013, 3(6): 261-268. DOI:10.4172/2157-7110.1000433.
- [35] ROSA M L, BOTTARO G, GULINO N, et al. Prevention of antibiotic-associated diarrhea with *Lactobacillus sporogens* and fructo-oligosaccharides in children. A multicentric double-blind vs placebo study[J]. Minerva Pediatrica, 2003, 55(5): 447-452. DOI:10.1097/mpg.0b013e31826865cb.
- [36] WISE A, ROBERTSON B, CHOUDHURY B, et al. Infants are exposed to human milk oligosaccharides already *in utero*[J]. Frontiers in Pediatrics, 2018, 40(2/3): 297-314. DOI:10.3389/fped.2018.00270.