

婴幼儿配方粉模拟母乳组成的多组学评价

刘言¹, 张明辉¹, 赵军英¹, 茹元朴¹, 杨宝雨¹, 刘妍¹, 刘茜¹, 范小菲²,
李梓绮³, 乔为仓¹, 陈历俊^{1*}

(¹北京三元食品股份有限公司 国家母婴乳品健康工程技术研究中心 北京市乳品工程技术研究中心
母乳研究技术创新中心 北京 100163

²东北农业大学 食品学院 哈尔滨 150006

³北京林业大学 生物科学与技术学院 北京 100089

摘要 基于中国母婴营养健康研究队列开发的母乳多组学检测技术,对比分析母乳及不同品牌婴幼儿配方粉中的脂质、糖和蛋白组学,探究婴幼儿配方粉重要营养组成的差异。结果表明:母乳中性甘油酯(94种)、磷脂(224种)、低聚糖(152种)和乳脂脂肪球膜蛋白(1043种)的种类数显著高于婴幼儿配方粉($P<0.05$)。婴幼儿配方粉中磷脂(256.77 mg/L)、低聚糖(10150.60 mg/kg)和总唾液酸(521.30 mg/100 g)含量与母乳存在显著差异($P<0.05$)。婴幼儿配方粉与母乳乳脂脂肪球膜蛋白的种类和丰度差异较大,仅还原了10种母乳乳脂脂肪球膜蛋白。未来婴幼儿配方粉的研发不仅需在重要营养分子种类的丰富度上模拟母乳,而且其含量也需相应地提高,使之更接近母乳组成。

关键词 母乳; 婴幼儿配方粉; 脂质组学; 蛋白组学; 糖组学

文章编号 1009-7848(2024)12-0387-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.12.035

母乳(Human milk)是新生儿营养和生物活性化合物的最佳来源,是婴儿最好的食物。在婴幼儿配方粉的母乳化研究进程中,母乳一直被认为是黄金标准^[1]。母乳脂质是仅次于乳糖的第二大组分,含量约为2%~5%。脂质以乳脂肪球(Milk fat globule, MFG)的形式分泌,其疏水核心富含甘油三酯和胆固醇酯,外层被磷脂、糖脂、蛋白质及其它生物活性分子组成的膜结构覆盖。该膜主要结合多种脂肪酶,有利于脂肪的吸收和利用,称为乳脂球膜(Milk fat globule membrane, MFGM)^[2-3]。母乳脂质主要包括甘油酯(98%~99%)和极性脂质(Phospholipids, PLs, 0.26%~1.00%)。极性脂质包括甘油磷脂和鞘脂,甘油酯包括甘油三酯(Triglycerides, TAGs)、甘油二酯(Diglycerides, DAGs, 甘油三酯中一分子脂肪酸被“-H”取代)、甘油单酯(甘油三酯中两分子脂肪酸被“-H”取代)3

个亚类。根据脂肪酸组成的不同,3种甘油酯亚类又含有百余种不同的分子种类。甘油磷脂包括磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine, PE)、磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)、磷脂酰肌醇(Phosphatidylinositol, PI)、磷脂酰甘油(Phosphatidylglycerol, PG)和磷脂酸(Phosphatidic acid, PA)6个亚类,根据每一亚类所含脂肪酸酰基又分为不同分子种类。鞘脂主要包括鞘磷脂(Sphingomyelin, SM)和神经酰胺(Ceramides, Cer),根据脂肪分子结构不同分为不同亚类^[4]。研究表明母乳脂质组成影响婴幼儿生长发育,生命早期的脂质营养及代谢通过编程作用影响近远期健康水平^[5]。

母乳低聚糖(Human milk oligosaccharides, HMOs)是母乳中仅次于乳糖和脂肪的第三大组分,是3~10个单糖由共价键连接组成的短链聚合物。HMOs由5种单糖组成——D-葡萄糖、D-半乳糖、N-乙酰氨基葡萄糖、L-岩藻糖和唾液酸(Sialic acids, SA),其中N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid, Neu5Ac)是SA的主要形式之一。唾液酸是9-碳单糖的衍生物,具有多种生理功能,如促进胎儿及婴儿大脑发育,增强婴儿认知能力,抗病毒和促进矿物质和维生素吸收等^[6]。母乳中含

收稿日期: 2023-12-13

基金项目: 中央引导地方科技发展专项资金(桂科ZY22096025);
国家自然科学基金项目(32272316);北京市科技
专项(Z201100002620005)

第一作者: 刘言,女,硕士

通信作者: 陈历俊 E-mail: chenlijun@sanyuan.com.cn

有丰富的唾液酸成分,大多数唾液酸是以与低聚糖结合的形式存在。为了更好的模拟母乳成分,目前婴配粉的研发已将低聚糖和唾液酸作为产品配方优化的重要参数^[7-8]。

在MFGM外表面上分布着25%~70%的结构膜蛋白,称为乳脂球膜蛋白(Milk fat globule membrane protein, MFGMP)。这些膜蛋白在乳中含量较低,占乳中总蛋白的1%~2%,却具有重要的生物学意义。尤其是在新生儿的各种细胞过程和防御机制中发挥重要作用,主要包括抗癌、抗菌和调节细胞免疫等生理功能。质谱技术是目前蛋白质鉴定的常用工具,四极杆-静电场轨道阱(Q Exactive Orbitrap, QE)是一种新型四极杆和轨道阱杂交的高分辨质谱仪,它可将高选择性四极杆的离子过滤同Orbitrap高分辨准确质量数(HR/AM)测量技术相结合,大大提高了质谱检测的分辨率、扫描速度和灵敏度,非常适合低丰度的复杂蛋白质的分析^[9]。

本文通过脂质组学、蛋白组学、糖组学等多组学、高通量检测技术,基于点多中心母婴营养队列研究,对母乳和不同婴配粉采用统一的检测平台、评价方法,通过多组学分析对比母乳和婴配粉的重要营养组成,旨在为未来婴配粉更好地模拟母乳提供理论依据,奠定婴配粉母乳模拟化的基础,同时为新生儿家庭科学选择婴配粉提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

母乳,初乳(0~5 d)、过渡乳(10~15 d)及成熟乳(>30 d),国家母婴乳品健康工程技术中心;婴配粉,1段(适用0~6个月婴儿),北京三元食品股份有限公司;甘油磷脂和鞘脂标准品(纯度>99.0%),包括PE36:2/PE31:1、PI34:1/PI31:1、PC36:2/PC31:1、PG34:1/PG31:1、SM42:1:2/SM35:1和Cer42:2:2(C24:1)/Cer42:2(C24:0),美国Avanti Polar Lipids公司;甘油三酯标准品(TAG52:2和d5-TAG54:3,纯度>99.0%),瑞典Larodan AB公司和上海ZZBIO公司;唾液酸标准品(*N*-乙酰神经氨酸,HPLC,纯度 \geq 97%),Sigma公司;*N*-羟乙酰神经氨酸(HPLC,纯度 \geq 98.2%),源叶生物;低

聚糖标准品,包括3'-半乳糖基乳糖(3'-GL,纯度>98.90%)、4'-半乳糖基乳糖(4'-GL,纯度>98.90%)和6'-半乳糖基乳糖(6'-GL,纯度>99.50%),英国Carbosynth公司;3'-唾液酸乳糖(3'SL,纯度>95.00%)、6'-唾液酸乳糖(6'SL,>95.00%)、6'-唾液酰基-N-乙酰乳糖胺(6'SLN,>95.00%)、二唾液酸基乳糖(DSL,纯度>90.00%)、2'-岩藻糖基乳糖(2'FL,纯度>95.00%)、3'-岩藻糖基乳糖(3'FL,纯度>95.00%)、乳糖-N-新四糖(LNnT,纯度>95.00%),上海Glycosci公司;Bradford蛋白定量试剂盒,碧云天生物技术公司;固相萃取柱(ProE-lut Silica,1g/6 mL),Dikma科技公司;微滤膜(陶瓷,0.1 μ m),德国Atech Innovations GmbH公司;二氯甲烷、三氯甲烷、乙腈、甲醇、甲酸铵、甲酸、乙酸、乙酸铵和异丙醇(质谱级),美国Fisher Scientific公司;二硫苏糖醇(DTT)、碘代乙酰胺(IAA)、胰蛋白酶、2-邻氨基苯甲酰胺、2-甲基苯二甲胺硼烷络合物、醋酸钠、硫酸、盐酸、三氟乙酸、三氯乙酸、醋酸钠(分析纯),德国Sigma公司;试验用水为超纯水。

1.2 设备与仪器

超高效液相色谱/四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS/MS),配备ESI电喷雾离子源和Pearlview2.2、MultiQuant3.0.2和MSDIAL3.20数据处理系统,美国AB SCIEX公司;Dionex ICS-6000离子色谱,配备四元梯度泵、脉冲安培检测器,Thermo Scientific公司;分析柱Dionex CarboPac PA20(3 mm \times 150 mm;填料:树脂)、保护柱Dionex CarboPac PA20(3 mm \times 30 mm;填料:树脂)、Cleanert IC-A前处理小柱(1cc 50/pkg)、0.22 μ m滤膜,Agela公司;UPLC系统配备脱气器(SRD-3600)、加载泵(HPG-3400RS)、自动进样器(WPS3000TRS)、柱式烘箱(TCC-3000RS)和荧光检测器(FLD-3400RS Dual-PMT),德国Dionex Softron GmbH公司;Acquity UPLC[®] Glycan BEH酰胺柱(2.1 mm \times 150 mm,1.7 μ m,130Å),美国Waters公司;UltiMate 3000纳升液相色谱仪、Q Exactive Orbitrap高分辨质谱仪、Nanodrop2000微量分光光度计、D-37520 Osterode微量高速离心机,美国Thermo Fisher公司;KQ-500DE型超声波清洗仪,昆山市超声仪器有限公司;3K-15型

冷冻离心机,德国 Sigma 公司;Himac CP 80 MX 型超速真空离心机,日本 HITACHI 公司;TRID2.5 型真空冷冻干燥机,美国 LABCONCO 公司;HH-6B 型恒温水浴锅,常州荣华仪器制造有限公司;AL104 电子分析天平,梅特勒-托利多仪器有限公司;81M 型涡旋振荡器,德国 IKA 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 脂质组学分析 采用已建立的 UPLC-Q-TOF-MS/MS 脂质组学方法^[10]对婴配粉及母乳中甘油酯、甘油磷脂、鞘脂等进行定性和绝对定量分析。

1.3.2 糖组学分析 采用已建立的低聚糖检测方法对婴配粉及母乳中的低聚糖种类进行定性^[11-13],利用已建立的超高效液相-荧光检测器法定量婴配粉及母乳的低聚糖含量^[14-15]。利用已建立的高效阴离子交换色谱-脉冲安培法检测婴配粉及母乳中的唾液酸种类及其含量^[16]。

1.3.3 蛋白组学分析 运用已建立的纳升高效液相色谱与静电场轨道阱组合式高分辨质谱技术测定母乳及婴配粉中乳脂肪球膜蛋白质的种类和数量^[9,17]。

1.4 数据处理

每个试验样本重复测定 3 次,测定结果以平均值±标准差表示。使用 SPSS 22.0 版软件的 ANOVA(方差分析), $P < 0.05$ 认为具有统计学显著性差异。使用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 母乳及婴配粉的脂质组学分析

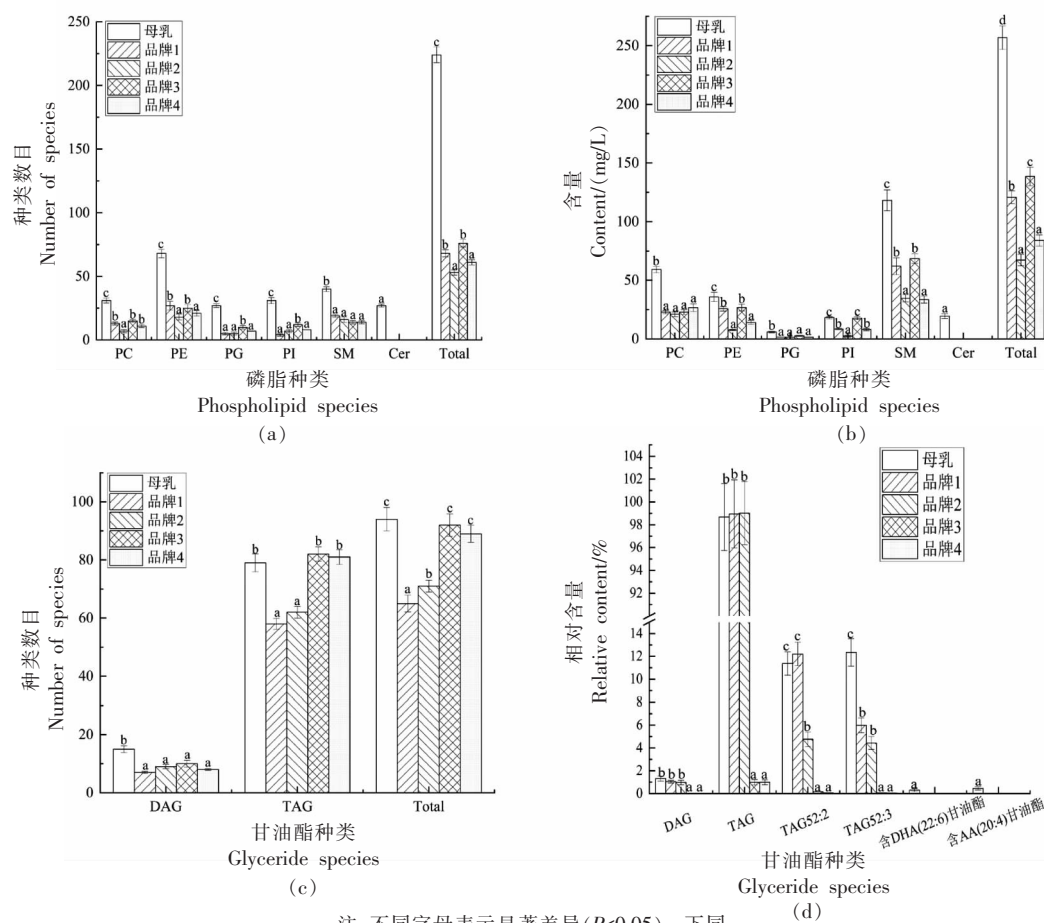
如图 1a 所示,母乳中的磷脂种类数 PE(68) > SM(40) > PC(31) ≥ PI(31) ≥ PG(27) ≥ Cer(27),这与 Zhao 等^[4]和 Liu 等^[8]的研究结果相一致,PE、SM 和 PC 是母乳中最主要的磷脂亚类。对不同品牌婴配粉的磷脂定性分析结果表明,母乳中的磷脂种类总数(224)和各磷脂亚类的种类数均显著高于不同品牌婴配粉中的磷脂种类数($P < 0.05$),这表明婴配粉在磷脂种类丰富度上还有待提高,尤其是 1 段婴配粉(适用 0~6 个月婴儿),因为该阶段的婴儿营养获取来源有限。如图 1b 所示,不同品牌婴配粉中的磷脂总量和各磷脂亚类含量均低于母乳,其中母乳中的磷脂总含量为(256.77±11.92)

mg/L,高于品牌 1(120.80 mg/L±5.98 mg/L)、品牌 2(67.28 mg/L±4.98 mg/L)、品牌 3(138.54 mg/L±13.61 mg/L)和品牌 4(83.96 mg/L±4.85 mg/L)。不同品牌婴配粉中,品牌 3 婴配粉相较于其他品牌婴配粉在磷脂的种类(76 种)和总含量(138.54 mg/L±13.61 mg/L)上更接近母乳,可能是品牌 3 婴配粉中添加的 MFGM 提高了奶粉中的磷脂含量,这与 Liu 等^[9]报道的结果相一致。由此可见,在未来婴配粉的配方开发上,可以考虑丰富磷脂的配料来源,提高婴配粉中的磷脂种类及其含量,使之更接近母乳,从而为婴幼儿提供更全面的磷脂补充。

如图 1c 和图 1d 所示,母乳中的 DAG(15 种)和甘油酯(94 种)的总种类数均显著高于婴配粉($P < 0.05$),这表明婴配粉在甘油酯种类的丰富度上还有待提高。TAG 是母乳及婴配粉中的主要甘油酯,其母乳中相对含量可达 98.68%,TAG 中的主要分子种类 TAG 52:2 和 TAG 52:3 在母乳和不同品牌婴配粉中的相对含量差异较明显,其中品牌 2 相较于其它品牌婴配粉对母乳的模拟更接近。母乳中含长链多不饱和脂肪酸的二十二碳六烯酸(DHA, C22:6)和花生四烯酸(AA, C20:4)甘油酯分别为 0.3%和 0.46%,而在商业婴配粉中均未检测出。根据相关研究,DHA 和 ARA 有助于婴儿大脑和视觉功能的发育^[20]。DHA 和 ARA 可分别由其 C18 前体 α -亚麻酸(C18:3 n-3)和亚油酸(C18:2 n-6)合成。然而,由于婴儿脂肪酸链的延伸和去饱和能力有限,内源性合成的长链多不饱和脂肪酸不足以维持其快速生长,因此有必要通过丰富的膳食为婴幼儿补充 DHA 和 ARA^[21]。据 Furse 和 Koulman^[22]报道,婴配粉中的 DHA 主要来自于甘油三酯,其含量水平远高于从婴配粉磷脂中获取的 DHA,而甘油酯和磷脂衍生的 DHA 功能不同^[18]。因此在设计婴配粉时,除考虑甘油酯中的 DHA 和 ARA 总量,还应考虑富含多不饱和脂肪酸的 DHA 和 ARA 分子种类及其含量。

2.2 母乳及婴配粉的糖组学分析

2.2.1 母乳及婴配粉的低聚糖组成分析 母乳及不同品牌婴配粉中定性到的低聚糖种类数差异较大,母乳中的低聚糖种类数(152)显著高于不同品牌婴配粉,其中品牌 2 婴配粉中的低聚糖种类数(89)最接近母乳(图 2a)。如图 2b 所示,相比较母



注:不同字母表示显著差异($P < 0.05$)。下同。

图1 母乳及不同品牌婴配粉的脂质组成分析

Fig.1 Analysis of lipid composition of human milk and different brands of infant formula

乳,在不同品牌婴配粉中均未定量到LNT、LNnT、LVFP II、LSTc和DSLNT等低聚糖种类。不同品牌婴配粉中定量到的2'-FL、3'-FL、6-SL、LVFP II、LNDHF I低聚糖含量均显著低于母乳,3'-GOS、4'-GOS、6'-GOS、3'-SL低聚糖含量均显著高于母乳($P < 0.05$)。母乳中LVFP I占主导,2'-FL次之,而婴配粉中4'-GOS占主导,这可能是由于婴配粉的配方差异或生产过程中加工工艺影响导致的组分差异^[14-15]。不同品牌婴配粉的比较上,品牌1婴配粉($6899.16 \text{ mg/kg} \pm 12.75 \text{ mg/kg}$)的总低聚糖含量显著高于其它品牌婴配粉($P < 0.05$),更接近母乳低聚糖水平($10150.60 \text{ mg/kg} \pm 21.92 \text{ mg/kg}$)。母乳中的总低聚糖水平高于婴配粉,为了模拟母乳中低聚糖的益生元作用,目前婴配粉厂商主要通过外源添加低聚半乳糖、低聚果糖和聚葡萄糖。未来在母乳低聚糖的模拟上,婴配粉的开发不仅需

要考虑低聚糖的种类和结构,还需要考虑提高低聚糖的含量水平。

2.2.2 母乳及婴配粉的唾液酸组成分析 本研究检测的婴配粉中同时定性到了Neu5Ac和N-羟乙酰神经氨酸(N-glycolyl neuraminic acid, Neu5Gc),可能与所用配料牛乳相关,相关文献表明牛乳中同时含有Neu5Ac和Neu5Gc^[23]。母乳样本中的唾液酸仅定性到Neu5Ac(图2c~图2f),未定量到Neu5Gc,这可能与调查用的样本有关,个体差异、饮食习惯和遗传因素等都有可能造成不同样本间的唾液酸组成差异^[16,24-25]。母体本身并不产生Neu5Gc,个体食用含Neu5Gc的食物,如蛋类、红肉和乳制品等,可能会造成母乳中Neu5Gc的检出^[6,25]。母乳中Neu5Ac和总唾液酸的含量均显著高于不同品牌婴配粉,可达(521.30 ± 11.30)mg/100g(图2c~2f)。品牌1婴配粉(174.23

mg/100g ± 7.78 mg/100g)相较于其它品牌婴配粉,总唾液酸的含量最高,更接近母乳中的唾液酸水平。不同品牌婴配粉中的唾液酸含量差异较大,这与产品配方以及不同阶段婴配粉的国家标准不同有关^[16]。

乳中的唾液酸主要以结合形式存在,以低聚糖结合唾液酸和蛋白质结合唾液酸为主,还有少量唾液酸以脂质结合和游离形式存在(图 2c~2f)。低聚糖结合唾液酸是母乳中的重要营养素之一,Wang 等^[26]报道了 40 多种不同的唾液酸低聚糖的

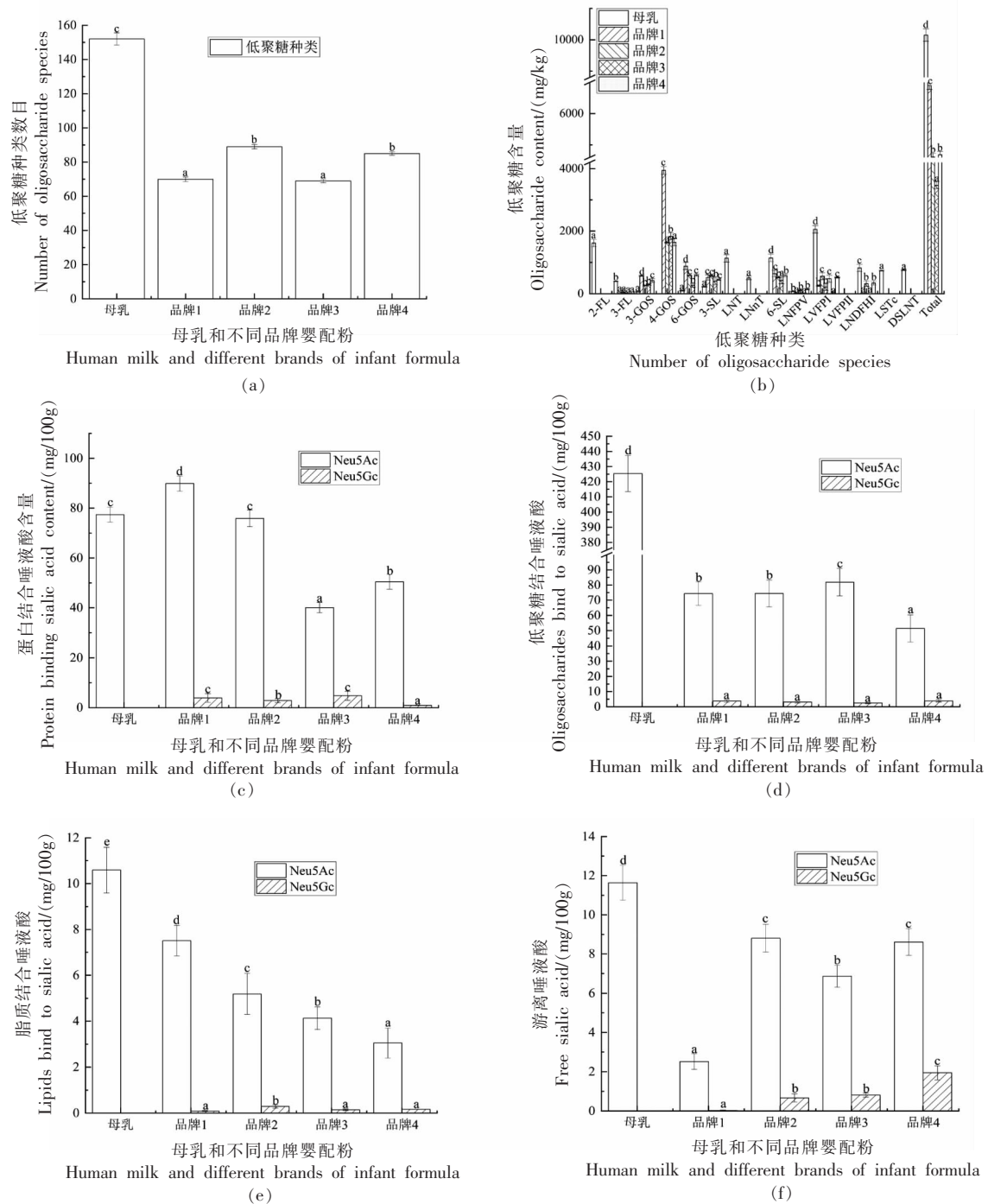


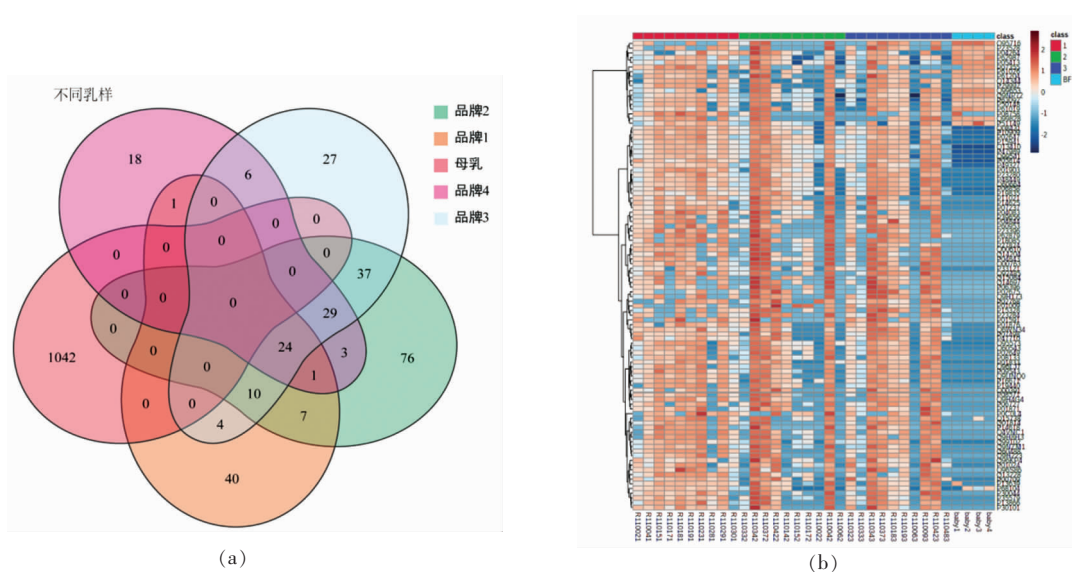
图 2 母乳及不同品牌婴配粉的低聚糖和唾液酸组成分析

Fig.2 Analysis of oligosaccharide and sialic acid composition of human milk and different brands of infant formula

结构,并且鉴定了其中的50%,主要为唾液酸乳糖-N-四糖、6'-唾液酸和二唾液酸-N-四糖。与其它婴儿配方粉相比,品牌1婴儿配方粉的蛋白结合型唾液酸含量最高(89.89 mg/100g ± 1.9 mg/100g),品牌3婴儿配方粉的低聚糖结合型唾液酸含量最高(81.93 mg/100g ± 1.71 mg/100g),品牌1婴儿配方粉的脂质型结合唾液酸 Neu5Ac 含量最高(7.51 mg/100g ± 0.09 mg/100g),品牌2婴儿配方粉的游离型唾液酸 Neu5Ac 含量最高(8.80 mg/100g ± 0.67 mg/100g)。这表明不同婴儿配方粉中的唾液酸存在形式差异较大,包括唾液酸种类和含量,可能受产品配方不同和加工工艺条件的影响较大。

2.3 母乳及婴儿配方粉的蛋白组学分析

母乳中共鉴定出 MFGMP 的种类数为 1 043 种,远高于婴幼儿配方粉(图 3a),这表明婴幼儿配方粉的蛋白种类有待提高。品牌 2 婴儿配方粉中的 MFGMP 种类数为 187 种,高于其它婴幼儿配方粉,从蛋白种类模拟的角度上来说,品牌 2 婴儿配方粉更接近于母乳。如图 3b 所示,采用热图显示母乳和婴儿配方粉之间 MFGMP 的差异变化。热图中的 0 值代表含量均值,颜色偏红说明该区域水平明显高于均值,而颜色偏蓝说明明显低于均值。图 3b 中为母乳和婴儿配方粉中前 100 种丰度差异明显的 MFGMP,母乳的 MFGMP 丰度整体显著高于婴儿



注:1.初乳,2.过渡乳,3.成熟乳,BF:婴幼儿配方粉。

图3 母乳及不同品牌婴儿配方粉的 MFGMP 种类和热图分析

Fig.3 MFGMP species and heat map analysis of human milk and different brands of infant formula

表1 婴儿配方乳粉和母乳中10种丰度较高的共同蛋白

Table 1 10 common proteins with high abundances in infant formula and human milk

序列号	基因名称	蛋白名称	长度
P50148	<i>GNAQ GAQ</i>	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 G	359
P62987	<i>UBA52 UBCEP2</i>	泛素-60S 核糖体蛋白	128
Q9NP72	<i>RAB18</i>	Ras 相关蛋白 Rab-18	206
P07355	<i>ANXA2 ANX2</i>	胎盘抗凝蛋白 IV	339
P29992	<i>GNA11</i>	鸟嘌呤结合蛋白亚基 α-11	359
P63092	<i>GNAS1</i>	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 G	394
P62815	<i>Atp6b2</i>	V 型质子 ATPase 亚基 B	511
O60814	<i>H2BFT</i>	组蛋白 H2B 1-K	126
P61019	<i>RAB2</i>	Ras 相关蛋白 Rab-2A	212
P51149	<i>RAB7A</i>	Ras 相关蛋白 Rab-7A	207

配方乳粉。婴儿配方乳粉与母乳 MFGMP 相比,有 10 种共同的蛋白丰度较高(表 1),其生理功能是结合、转运、催化活性、结构分子活性,主要类别是钙结合蛋白、核酸结合蛋白、结合活性调节剂和转运蛋白^[27-28]。婴儿配方乳粉在 MFMGP 的种类和丰度方面和母乳差异明显,仅还原了 10 种母乳 MFGMP。从生理功能角度分析,婴儿配方乳粉所含 MFGMP 功能单一,不具备和细胞外泌、免疫和糖代谢相关功能。未来仍需要改进婴配粉配方成分,使其 MFGMP 种类和丰度更接近母乳。

3 结论

本研究中检测到的母乳甘油酯的总种类为 94 种,其中 DAG 和 TAG 种类数均高于婴配粉。母乳中 TAG 是主要甘油酯,主要分子种类 TAG 52:2 和 TAG 52:3 在母乳和不同品牌婴配粉中的相对含量差异较明显。母乳中含长链多不饱和脂肪酸的 DHA(22:6)和 AA(20:4)重要甘油酯在商业婴配粉中均未检测出。母乳中的磷脂种类总数、各磷脂亚类的种类数和磷脂总含量均高于不同品牌婴配粉。母乳中的低聚糖种类数和含量显著高于不同品牌婴配粉。本研究检测的母乳样本中唾液酸主要以 Neu5Ac 形式存在,而在婴配粉中则同时存在 Neu5Ac 和 Neu5Gc,婴配粉中的唾液酸主要以低聚糖结合型唾液酸和蛋白质结合型唾液酸为主。本研究中的母乳样本共鉴定出 MFGMP 的种类为 1 043 种,婴儿配方乳粉在 MFMGP 的种类和丰度方面和母乳差异较明显,仅还原了 10 种母乳 MFGMP。在设计婴配粉时,不仅需要考 虑产品配方中添加配料的主要营养成分的种类和丰度,还需要考虑婴配粉在生产加工过程中可能引起的营养损失,未来需要不断优化婴配粉的产品配方和加工工艺,使之标准化,从而促进婴配粉的临床喂养效果更接近于母乳喂养。

参 考 文 献

- [1] 揭良, 苏米亚, 贾宏信, 等. 婴幼儿配方乳粉脂质母乳化研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2020, 43(3): 45-49.
JIE L, SU M Y, JIA H X, et al. Recent progress in infant formulas simulating the fat composition of human milk[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2020, 43(3): 45-49.
- [2] 陈桂霞, 费芯筑, 曾国章. 母乳成分分析新进展促进儿童健康[J]. 中国妇幼卫生杂志, 2018, 9(5): 4.
CHEN G X, FEI X Z, ZENG G Z. Advanced research of analysis of human milk component to improve children's health[J]. Chinese Journal of Women and Children Health, 2018, 9(5): 4.
- [3] LOPEZ C, CAUTY C, GUYOMARCH F. Organization of lipids in milks, infant milk formulas and various dairy products: role of technological processes and potential impacts[J]. Dairy Science and Technology, 2015, 95(6): 863-893.
- [4] ZHAO J Y, LIU Q, LIU Y, et al. Quantitative profiling of glycerides, glycerophosphatides and sphingolipids in Chinese human milk with ultra-performance liquid chromatography/quadrupole-time-of-flight mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2021, 346: 128857.
- [5] LIU Q, ZHAO J Y, LIU Y, et al. Advances in analysis, metabolism and mimicking of human milk lipids[J]. Food Chemistry, 2022, 393: 133332.
- [6] 茹元朴, 陈历俊, 陈树兴, 等. 唾液酸及在母婴食品中的应用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(2): 402-412.
RU Y P, CHEN L J, CHEN S X, et al. Sialic acid and its application in maternal and infant food [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(2): 402-412.
- [7] 杨宝雨, 赵军英, 乔为仓, 等. 母乳低聚糖的研究进展[J]. 中国食品学报, 2021, 21(8): 369-390.
YANG B Y, ZHAO J Y, QIAO W C, et al. Research progress in human milk oligosaccharides [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(8): 369-390
- [8] ANDERSON J W, JOHNSTONE B M, REMELY D T. Breast-feeding and cognitive development: A meta-analysis[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 1999, 70(4): 525-535.
- [9] 景萌娜, 张咚咚, 姜铁民, 等. 基于 NanoLC-Orbitrap MS 技术分析牛乳中的乳脂脂肪膜蛋白质[J]. 中国食品学报, 2018, 18(4): 244-252.
JING M N, ZHANG D D, JIANG T M, et al. Analysis of the bovine milk fat globule membrane

- protein based on NanoLC–Orbitrap MS technology[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(4): 244–252.
- [10] 陈历俊, 赵军英, 姜铁民, 等. 一种食品脂质提取及检测食品脂质的方法: ZL 201910420276.8[P]. 2019–09–17.
CHEN L J, ZHAO J Y, JIANG T M, et al. A method for extracting and detecting food lipids: ZL 201910420276.8[P]. 2019–09–17.
- [11] 陈历俊, 赵军英, 魏京华, 等. 一种检测母乳中低聚糖的方法: ZL201610556457. X[P]. 2018–01–23.
CHEN L J, ZHAO J Y, WEI J H, et al. A method for detecting oligosaccharides in human milk: ZL201610556457. X[P]. 2018–01–23.
- [12] 陈历俊, 张明辉, 乔为仓, 等. 一种定性检测母乳中性低聚糖的方法: ZL 202210758976. X[P]. 2022–09–02.
CHEN L J, ZHANG M H, QIAO W C, et al. A method for qualitative detection of neutral oligosaccharides in human milk: ZL 202210757416.2 [P]. 2022–09–27.
- [13] 陈历俊, 张明辉, 乔为仓, 等. 一种定性检测母乳中酸性低聚糖的方法: ZL 202210757416.2 [P]. 2022–09–27.
CHEN L J, ZHANG M H, QIAO W C, et al. A Method for qualitative determination of acidic oligosaccharides in human milk: ZL 202210757416.2 [P]. 2022–09–27.
- [14] YANG B Y, ZHANG M H, QIAO W C, et al. Development and validation of UPLC method for quantitative determination of major bovine milk oligosaccharides and their heat stability[J]. International Dairy Journal, 2021, 126: 105005.
- [15] HUANG X W, ZHU B L, JIANG T M, et al. Improved simple sample pretreatment method for quantitation of major human milk oligosaccharides using ultra high pressure liquid chromatography with fluorescence detection [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(44): 12237–12244.
- [16] 茹元朴, 陈君, 张明辉, 等. 高效阴离子交换色谱–脉冲安培法测定母乳及婴儿配方粉中的唾液酸[J]. 中国食品学报, 2021, 47(11): 221–226.
RU Y P, CHEN J, ZHANG M H, et al. Determination of sialic acid in breast milk and infant formula by high performance anion exchange chromatogram–pulsed amperometry[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 47(11): 221–226.
- [17] 景萌娜, 姜铁民, 刘斌, 等. 母乳和牛乳中乳脂肪球膜蛋白质的差异分析[J]. 食品科学, 2016, 37(20): 69–74.
JING M N, JIANG T M, LIU B, et al. Analysis of differential milk fat ball membrane protein in breast milk and bovine milk[J]. Food Science, 2016, 37(20): 69–74.
- [18] LIU Q, ZHAO J Y, LIU Y, et al. Study on the characteristics of glycerides and phospholipids in human milk from Tibet[J]. Food Research International, 2022, 157: 111025.
- [19] LIU Y, LIU Y, LIU Q, et al. Comparison of phospholipid composition and microstructure of milk fat globules contained in human milk and infant formulae[J]. Food Chemistry, 2023, 415: 135762.
- [20] LIEN E L, RICHARD C, HOFFMAN D R. DHA and ARA addition to infant formula: Current status and future research directions [J]. Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2018, 128: 26–40.
- [21] ZOU X Q, ZHANG S Q, CHENG Y, et al. Lipase–catalyzed interesterification of *Schizochytrium* sp. oil and medium–chain triacylglycerols for preparation of DHA–rich medium and long–chain structured lipids[J]. Journal of the American Oil Chemists’ Society, 2021, 98(3): 253–267.
- [22] FURSE S, KOULMAN A. The lipid and glyceride profiles of infant formula differ by manufacturer, region and date sold[J]. Nutrients, 2019, 11(5): 1122.
- [23] 陈海娇, 王萍, 陈越, 等. 高效液相色谱法测定母乳中唾液酸含量[J]. 食品科学, 2011, 32(16): 308–311.
CHEN H J, WANG P, CHEN Y, et al. Determination of total sialic acid content in human milk by HPLC–FLD[J]. Food Science, 2011, 32(16): 308–311.
- [24] LACOMBA R, SALCEDO J, ALEGRÍA A, et al. Determination of sialic acid and gangliosides in biological samples and dairy products: A review [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010, 51(2): 346–357.

- [25] QUIN C, VICARETTI S D, MOHTARUDIN N A, et al. Influence of sulfonated and diet-derived human milk oligosaccharides on the infant microbiome and immune markers[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2020, 295(12): 4035–4048.
- [26] WANG B, BRAND-MILLER J. The role and potential of sialic acid in human nutrition[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 57(11): 1351–1369.
- [27] ZHAO J Y, YI W, LIU B, et al. MFGM components promote gut *Bifidobacterium* growth in infant and *in vitro*[J]. *European Journal of Nutrition*, 2022, 61(1): 277–288.
- [28] CHEN J Y, LIU Y, ZHAO J Y, et al. Three urban areas of China: A cohort study of maternal–infant factors and HM protein components[J]. *Food & Function*, 2022, 13(9): 5202–5214.

Multimic Evaluation of Infant Formula Mimicking Human Milk Composition

Liu Yan¹, Zhang Minghui¹, Zhao Junying¹, Ru Yuanpu¹, Yang Baoyu¹, Liu Yan¹, Liu Qian¹, Fan Xiaofei², Li Ziqi³, Qiao Weicang¹, Chen Lijun^{*}

(¹Beijing Sanyuan Foods Co., Ltd., National Engineering Research Center of Dairy Health for Maternal and Child, Beijing Technical Innovation Center of Human Milk Research, Human Milk Research and Technology Innovation Center, Beijing 100163

²College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150006

³College of Biological Science and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100089)

Abstract Based on the multimic detection technology of human milk developed by the China maternal and infant nutrition health cohort study, the lipidomics, glycomics and proteomics of human milk and different brands of infant formula were compared and analyzed, and the differences in the important nutritional composition of simulated human milk of infant formula were explored. The species number of glycerides (94), phospholipids (224), oligosaccharides (152) and milk fat globule membrane protein (1 043) in human milk were significantly higher than those of infant formula ($P<0.05$). The contents of phospholipids (256.77 mg/L), oligosaccharides (10 150.60 mg/kg) and total sialic acid (521.30 mg/100 g) in infant formula were significantly different from those in human milk ($P<0.05$). The species and abundance of milk fat globule membrane proteins of infant formula and human milk were quite different, and only 10 kinds of human milk fat globule membrane proteins were reduced. In the future, the development of infant formula not only needs to simulate the richness of important nutritional molecules, but also needs to increase its content accordingly to bring it closer to the composition of human milk.

Keywords human milk; infant formula; lipidomics; proteomics; glycomics