

## 奶牛与水牛初乳中乳寡糖组分比较研究

孟宪璞<sup>1)</sup> 焦思明<sup>2)</sup> 秦胜旗<sup>1)</sup> 杨贤蓓<sup>1)</sup> 李建设<sup>1)</sup> 朱金花<sup>2)</sup> 王 倬<sup>2)</sup> 杜昱光<sup>2)\*</sup>

(<sup>1)</sup>首都医科大学附属北京友谊医院, 北京 100050; (<sup>2)</sup>中国科学院过程工程研究所, 北京 100190)

### 通讯作者简介

杜昱光, 男, 研究员, 博士生导师, 2013年以“杰出人才”引进中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室担任糖生物工程课题组组长。现任中国科学院过程工程研究所生物药制造与剂型工程重点实验室主任委员、中国生物工程学会糖生物工程专业委员会主任委员等职务。已主持及参加国家科技攻关项目、国家高技术研究发展计划(863)重点项目、国家自然科学基金项目、中国科学院创新重点项目等50余项。先后在国内外刊物上发表论文230余篇, 撰写中英文论著5本, 已授权发明专利30余项。主要研究方向以糖生物学及糖工程研究为基础, 揭示寡糖信号在体内的传递过程, 探索寡糖对微生物、植物、动物细胞的生长代谢调节及其抗病机理。

**摘要** 乳寡糖是由乳汁中含量丰富的固体物质组成。研究表明, 乳寡糖有提高免疫、益生元及抗感染等作用, 已发现与婴儿肠道发育、神经智力发育等多方面关系密切。水牛奶是除牛奶外的第二大奶源, 国际上公认其为营养含量高、口感好的优质乳制品, 但目前针对水牛乳寡糖的研究多以美洲水牛为研究对象, 尚无中国水牛的相关研究。本研究利用固相萃取对已脱脂和除去蛋白质的广西水牛初乳乳汁样品进行纯化, 并采用苯胺(aniline, Bn)衍生化试剂对其进行衍生化处理, 通过UPLC-ESI-Q-TOF-MS液相质谱进行优化后, 对水牛初乳中的寡糖组分进行测定并与牛乳进行了对比, 最终测得奶牛初乳中19种及水牛初乳中的9种乳寡糖组分, 并对二者的种类及含量进行比较, 发现在两种初乳的乳寡糖中, 中性糖二糖  $m/z$  385.15 和中性糖三糖  $m/z$  547.21 以及酸性糖  $m/z$  635.23 均为其主要寡糖成分, 与其他乳寡糖相比含量相对较高。总体而言水牛初乳中的中性寡糖占比比奶牛初乳高, 二者中性糖占乳寡糖总量的比例分别为88.88%和63.16%。

**关键词** 乳寡糖, 初乳, 奶牛, 水牛, UPLC-ESI-Q-TOF-MS

**学科分类号** Q53, Q592.6

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2017.0301

乳寡糖是哺乳动物乳汁中游离低聚糖, 是由乳汁中含量丰富的固体物质组成, 研究表明, 乳寡糖能够通过调节肠道菌群刺激有益菌快速生长, 从而提高新生儿免疫力、作为益生元维持肠道微生物的平衡、通过抵御病原微生物的入侵从而实现抗感染的作用, 减少新生儿腹泻、脑膜炎等疾病的发生<sup>[1-2]</sup>。由于人乳、牛乳以及其他哺乳动物中的乳寡糖具有明显的生物活性从而被广泛的研究。

在哺乳动物细胞中合成乳寡糖是一个复杂的过程, 每一个单糖是根据特定的糖基转移酶有顺序地进行添加的。它们形成以乳糖和乳糖胺为核心单元, 以半乳糖、N-乙酰氨基己糖胺、唾液酸或岩藻糖作为修饰单元, 以不同糖苷键连接的复杂化学

结构<sup>[3-4]</sup>。由于乳寡糖具有重要的生物学功能, 因此对乳寡糖复杂结构的分析研究十分必要。但因从乳汁样品中分离纯化得到的寡糖大部分为乳糖, 其余乳寡糖含量都很少且结构复杂多样, 这就给乳寡糖的糖链结构分析带来挑战。目前在糖组学研究中, 不断开发出新的方法来研究其结构和功能活性之间的关系, 而在这些方法中, 质谱因其灵敏度和快速等优势被认为是表征寡糖结构的最有效手段之一<sup>[5-6]</sup>。

\* 通讯联系人。

Tel: 010-82545070, E-mail: ygdu@ipe.ac.cn

收稿日期: 2017-07-19, 接受日期: 2017-08-28

水牛奶是除牛奶外的第二大奶源, 国际上公认其为营养含量高、口感好的优质乳制品, 其干物质含量高达 18.44%, 而普通牛奶一般是 13%, 乳脂率为 7.94%, 而普通牛奶一般是 3%~3.5%<sup>[7]</sup>. 然而, 水牛乳汁中的乳寡糖含量却鲜有人研究. 本文采用 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 液质分析方法, 比较奶牛初乳与水牛初乳中乳汁寡糖的组分及含量的异同, 同时与美洲水牛乳中的乳寡糖组成进行比较.

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与材料

水牛(地中海奶水牛)初乳由广西华胥水牛繁育有限公司提供, 牛初乳由中国农业科学院饲料所提供; SPE 固相萃取柱 Extrac Clean™ Carbo.150 mg/4 ml 购自 Grace Davison Discovery Science 公司; 质谱纯乙腈购自 Thermo Fisher 公司; 其余试剂均为分析纯, 购自国药化学试剂公司.

### 1.2 乳汁样品脂肪与蛋白质去除

取 0.5 ml 初乳样品和 0.5 ml 去离子水充分混匀, 12 000 r/min 离心 30 min, 吸取中间清液 400  $\mu$ l, 转移到 2 ml 离心管中; 加入氯仿: 甲醇(2:1) 1 600  $\mu$ l 充分混匀, 12 000 r/min 离心 30 min; 吸取上清 500  $\mu$ l, 加入无水乙醇 1 ml 充分混匀, 静置于 4℃ 冰箱 12 h, 12 000 r/min 离心 30 min 去除沉淀; 吸取上清转移到圆底烧瓶, 旋转蒸馏浓缩至干燥.

### 1.3 乳汁样品纯化

将干燥后的乳寡糖样品溶于 2 ml 水中, 上样至活化后的 SPE 柱上, 用 3 倍柱体积水清洗除杂质, 再分别用 3 ml 25%乙腈和 3 ml 25%乙腈(含 0.5%三氟乙酸)进行洗脱, 并将洗脱液收集冻干.

### 1.4 乳寡糖的衍生化修饰

将上述分别冻干的两份样品混合溶于 100  $\mu$ l 水中, 取 50  $\mu$ l 苯胺(d0 或 d5), 50  $\mu$ l 乳寡糖样品, 50  $\mu$ l NaCNBH<sub>3</sub>(1 mol/L NaCNBH<sub>3</sub> 的 30%冰醋酸溶液), 金属浴中设定 70℃, 衍生化反应 20 min 取出冷却到室温.

将衍生后的乳寡糖样品用水稀释至 2 ml, 上样至活化后的 SPE 柱上, 用 5 倍柱体积水清洗除杂质, 再分别用 3 ml 30%乙腈和 3 ml 30%乙腈(含 0.5%三氟乙酸)进行洗脱, 并将洗脱液收集冻干.

### 1.5 乳寡糖样品分析前准备

定性分析: 将冻干样品(d0 或 d5)溶于 30  $\mu$ l 液相起始流动相中, 各取 5  $\mu$ l, 共 10  $\mu$ l 进行液相质

谱分析.

定量分析: 将冻干样品(d0)溶于 30  $\mu$ l 液相起始流动相中, 取 15  $\mu$ l, 加入 0.5  $\mu$ l 环糊精(0.1 g/L), 取 10  $\mu$ l 进行液质分析.

### 1.6 UPLC-ESI-Q-TOF-MS 液相质谱分析方法

采用 Waters ACQUITY UPLC 系统(Waters Corp., Milford, MA, USA)对乳寡糖样品进行定性和定量分析, 色谱柱选用 Acquity UPLC BEH Amide column (1.7  $\mu$ m, 2.1 mm  $\times$  150 mm; Waters Corporation, Milford, MA, USA). 流动相为 10 mmol/L 甲酸铵水溶液(A)和 10 mmol/L 甲酸铵乙腈溶液(B), 流速为 0.3 ml/min. 洗脱程序为: 0~2 min (B: 100%~100%), 2~32 min (B: 100%~60%), 32~33 min (B: 60%~20%)并保持 3 min, 随后梯度用 1 min 恢复到(B: 100%), 并保持 7 min 等待下一次进样. 进样体积 10  $\mu$ l, 柱温箱温度 40℃.

质谱采集系统采用 Waters Synapt™ mass spectrometer (Waters Corp., Milford, MA, USA), 离子化采用 ESI 正离子模式. 质谱参数为: 毛细管电压 3.0 kV; 锥孔电压 60V; 源温 150℃; 脱溶剂温度 500℃. 质谱采集使用 MSE(Mass Spectrometry ElevatedEnergy)模式, 一级质谱设置参数(function 1)为:  $m/z$  100~3 000, 扫描频率: 0.25 s, 碰撞能量 3eV; 二级质谱设置参数(function 2)为:  $m/z$  100~3 000, 扫描频率: 0.25 s, 碰撞能量 20~50eV. 数据采集使用 MassLynx™ 4.1 软件 (Waters Corp., Milford, MA, USA), 数据处理采用 GlycoWorkbench.1.1.3480 糖质谱数据处理软件.

## 2 结果与讨论

### 2.1 奶牛初乳与水牛初乳中乳寡糖组成分析

采用 MassLynx™ 4.1 软件对苯胺 d0 与 d5 标记过的两种乳汁样品中的寡糖分别进行一级质谱分子离子峰的双峰衍生确认和二级质谱碎片的验证(图 1). 再通过 GlycoWorkbench 糖质谱数据处理软件定性分析后表明, 两种样品中的寡糖无论从数量和种类都存在差异, 如表 1 所示.

目前文献报道中已发现奶牛乳中含有 50 种乳寡糖, 其中的 34 种已经通过糖链连接方式、单糖类型及组成等几方面对其结构进行了确证. 相对于奶牛乳寡糖而言, 水牛乳中乳寡糖就鲜有报道, Hyeyoung Lee 等<sup>[8]</sup>研究发现, 美洲水牛乳中含有 13 种乳汁寡糖组分, 但未发现任何一种乳寡糖是以岩藻糖或 Neu5Gc 来修饰的, 唯一的酸性寡糖均是以

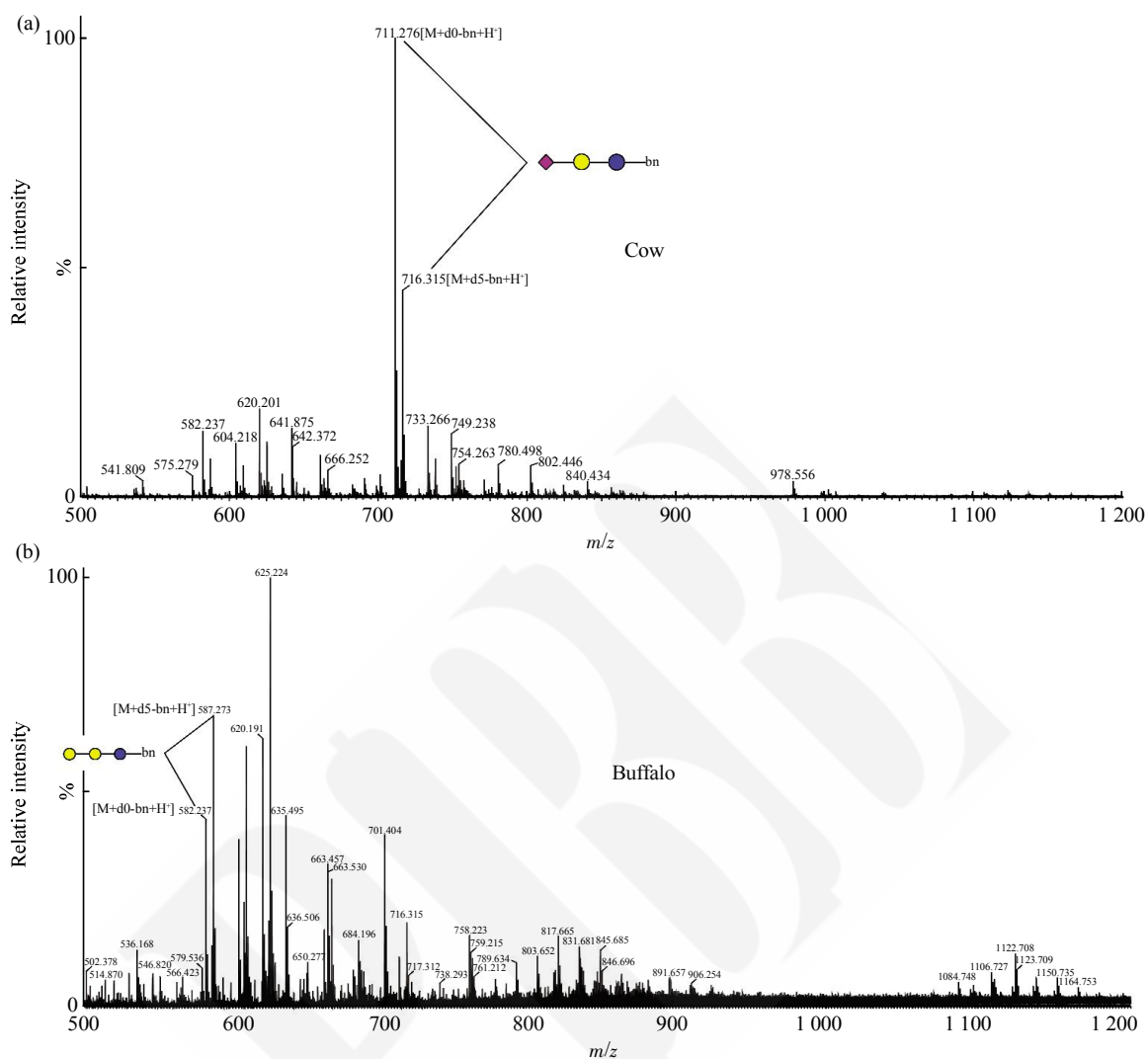


Fig. 1 Mass spectrum of milk oligosaccharide in the colostrum of cow (a) and buffalo (b) with a d0 and d5 aniline label

Table 1 Comparison of milk oligosaccharide components in the colostrum of cow and buffalo

Mass (Reduced)	RT/min	Hex	Fuc	HexNAc	Neu5Ac	Neu5Gc	P	Possible Structure	Cow	Buffalo
385.150	4.94&6.00	1	0	1	0	0	0	GalNAc $\beta$ 1,4Glc Gal $\beta$ 1,4GlcNAc	√	√
424.089	2.78	2	0	0	0	0	1	Gal $\beta$ 1,4Glc-3'-PO <sub>4</sub>	√	√
426.176	4.39&5.43	0	0	2	0	0	0	GalNAc $\beta$ 1,4GlcNAc	√	×
506.180	11.97&12.39& 12.73&13.31	3	0	0	0	0	0	Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc  Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc Gal $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc	√	√
547.210	11.72&12.25	2	0	1	0	0	0	GalNAc $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc GalNAc $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc GlcNAc $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc GlcNAc $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc HexNAc-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-Gal $\beta$ 1,4GlcNAc Gal-Gal $\beta$ 1,4GlcNAc	√	√

Mass (Reduced)	RT/min	Hex	Fuc	HexNAc	Neu5Ac	Neu5Gc	P	Possible Structure	Continued	
									Cow	Buffalo
635.230	13.84&15.42	2	0	0	1	0	0	Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal $\beta$ 1,4Glc	√	√
651.220	15.2&18.9	2	0	0	0	1	0	Neu5Gc $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc Neu5Gc $\alpha$ 2,6Gal $\beta$ 1,4Glc	√	×
667.240	15.08	4	0	0	0	0	0	Gal-Gal-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-Gal-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-Gal-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-Gal-Gal $\beta$ 1,4Glc	√	×
675.250	14.61&17.18	1	0	1	1	0	0	Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4GlcNAc Neu5Ac $\alpha$ 2,6Gal $\beta$ 1,4GlcNAc	√	×
691.250	15.8	1	0	1	0	1	0	NeuGc $\alpha$ 2,6Gal $\beta$ 1,4GlcNAc	√	×
692.270	13.6	2	1	1	0	0	0	Fuc $\alpha$ 1,2(GalNAc $\alpha$ 1,3)Gal $\beta$ 1,4Glc Fuc-HexNAc-Gal-Glc	√	×
708.260	15.39	3	0	1	0	0	0	Gal $\beta$ 1,6GlcNAc $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc Gal $\beta$ 1,4GlcNAc $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc Gal $\beta$ 1,3GlcNAc $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-HexNAc-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-HexNAc-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-HexNAc-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-HexNAc-Gal $\beta$ 1,4Glc	√	√
749.290	14.64	2	0	2	0	0	0	Gal-HexNAc-Gal $\beta$ 1,4GlcNAc HexNAc-HexNAc-Gal $\beta$ 1,4Glc	√	×
796.280	16.97	3	0	0	1	0	0	Neu5Ac $\alpha$ 2,3+Gal-Gal $\beta$ 1,3Glc Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal1,3Gal $\beta$ 1,4Glc Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc Neu5Ac $\alpha$ 2,6(Gal $\beta$ 1,3)Gal $\beta$ 1,4Glc	√	×
837.310	16.62	2	0	1	1	0	0	Neu5Ac $\alpha$ 2,6(GlcNAc $\beta$ 1,3)Gal $\beta$ 1,4Glc Neu5Ac $\alpha$ 2,3+HexNAc-Gal-Glc	√	×
870.320	19.09	4	0	1	0	0	0	Gal $\beta$ 1,6GlcNAc $\beta$ 1,6(Gal $\beta$ 1,3)Gal $\beta$ 1,4Glc Gal $\beta$ 1,4GlcNAc $\beta$ 1,6(Gal $\beta$ 1,3)Gal $\beta$ 1,4Glc	√	√
911.340	17.46&17.82 &18.75	3	0	2	0	0	0	Gal $\beta$ 1,4GlcNAc $\beta$ 1,6(GlcNAc $\beta$ 1,3)Gal $\beta$ 1,4Glc HexNAc-HexNAc-Gal-Gal $\beta$ 1,4Glc Gal-HexNAc-Gal-Gal $\beta$ 1,4GlcNAc	√	√
925.320	18.02	2	0	0	2	0	0	Neu5Ac $\alpha$ 2,8Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc	√	×
941.320	18.90&19.16	2	0	0	1	1	0	Neu5Ac $\alpha$ 2,8Neu5Gc $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc Neu5Gc $\alpha$ 2,8Neu5Ac $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc	√	×
1074.4	20.72	4	0	2	0	0	0	Gal $\beta$ 1,4GlcNAc $\beta$ 1,6(Gal $\beta$ 1,4GlcNAc $\beta$ 1,3)Gal $\beta$ 1,4Glc	√	√

Composition lists the number of hexose (Hex), fucose (Fuc), N-acetylhexosamine (HexNAc), N-acetylneuraminic acid (Neu5Ac), and N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc).

Neu5Ac 修饰的。

我们的研究中也发现类似的情况, 在奶牛初乳中发现的乳寡糖共有 19 种, 其中中性糖 12 种, 包括以岩藻糖修饰的 1 种, 酸性糖 7 种, 包括以

Neu5Ac 修饰的 5 种和以 Neu5Gc 修饰的 2 种。而地中海奶水牛初乳中总共发现 9 种乳寡糖, 其中中性糖 8 种, 未发现以岩藻糖修饰的寡糖, 酸性糖仅 1 种, 是以 Neu5Ac 修饰的三糖, 也并未发现以

Neu5Ac 修饰的乳寡糖. 这种差异可能与奶牛和水牛乳腺中分泌酶的类型及其活性有较大关系<sup>[9]</sup>. 再对地中海奶水牛与美洲水牛乳寡糖组分进行比较可见, 美洲水牛乳中  $m/z$  675.250,  $m/z$  749.290,  $m/z$  796.280,  $m/z$  1041.380,  $m/z$  1115.420,  $m/z$  1365.493 这 6 种寡糖组分未在地中海奶水牛初乳寡糖组分中

发现, 且大多为以 Neu5Ac 修饰的乳寡糖.

### 2.2 奶牛初乳与水牛初乳中乳汁寡糖组成含量比较

采用 MassLynx™ 4.1 软件对两种乳汁寡糖样品中的各种寡糖分别进行分子离子峰提取, 并通过积分面积计算各寡糖与内标物环糊精的相对含量比值, 如图 2 中所示.

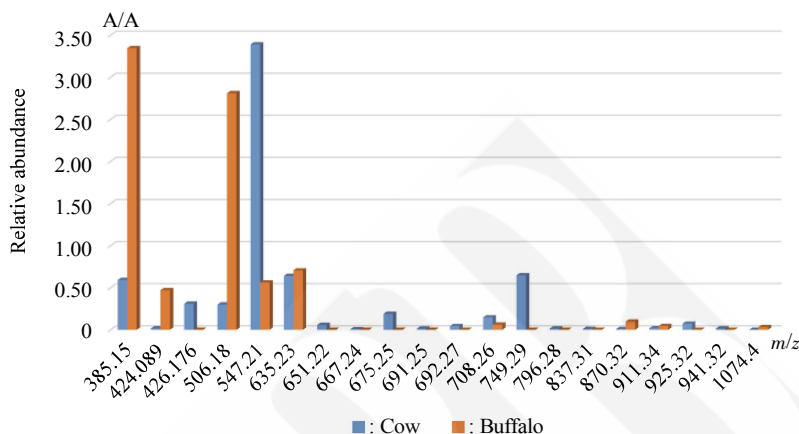


Fig. 2 Comparison of the abundance of milk oligosaccharide in the colostrum of cow and buffalo

从图 2 中可见, 两种初乳样品中都存在的乳寡糖里, 奶牛初乳中的  $m/z$  547.21、 $m/z$  708.26 的相对含量高于水牛初乳, 而水牛初乳中的  $m/z$  385.15、 $m/z$  424.089、 $m/z$  506.18、 $m/z$  870.32、 $m/z$  911.34 这几种乳寡糖组分的相对含量则明显高于奶牛初乳, 二者中的唾液酸乳糖组分  $m/z$  635.23 的相对含量基本相当.

9.96%、9.85%、9.11%和 4.77%. 水牛初乳中相对含量排名前 5 的乳寡糖分别为:  $m/z$  385.15、 $m/z$  506.18、 $m/z$  635.23、 $m/z$  547.21、 $m/z$  424.039, 其占乳寡糖总量比例分别为: 41.16%、34.57%、8.67%、6.90%和 5.78%. 通过比较可知, 两种乳寡糖中  $m/z$  385.15、 $m/z$  547.21、 $m/z$  635.23 均为其主要寡糖成分, 唾液酸乳糖的含量无论在奶牛初乳还是水牛初乳中都排在第三位, 含量相对较高. 另外经过对比后还发现  $m/z$  424.039 磷酸化修饰的乳糖在地中海奶水牛乳寡糖组分中占比远高于奶牛乳, 这种差异也许会对其生物活性有较大影响.

将两种乳寡糖中的相对含量最多的 5 种寡糖分别筛选出来进行比较, 如图 3 中所示. 奶牛初乳中相对含量排名前 5 的乳寡糖组分分别为:  $m/z$  547.21、 $m/z$  749.29、 $m/z$  635.23、 $m/z$  385.15、 $m/z$  426.176, 其占乳寡糖总量比例分别为: 52.22%、

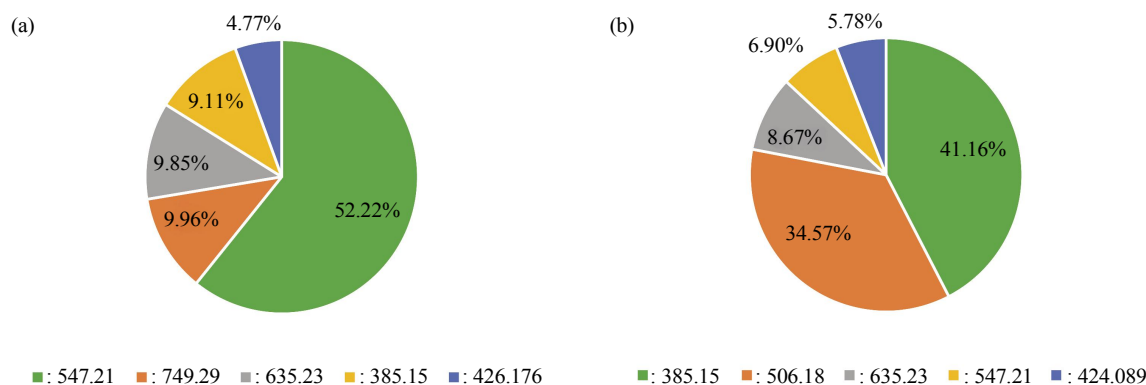


Fig. 3 Milk oligosaccharide Top 5 in the colostrum in cow (a) and buffalo (b)

### 3 结 论

本研究通过对广西地中海奶水牛乳寡糖组分研究分析, 发现了9种质核比的乳寡糖, 与文献报道的美洲水牛乳寡糖组分进行对比发现, 二者在总体乳寡糖构成方面较为一致, 均以中性糖为主要组成, 酸性糖含量相对较少, 且酸性糖中仅有以Neu5Ac修饰的乳寡糖. 二者在乳寡糖组分数量上有一定差别, 地中海奶水牛中乳寡糖组分数量略少于美洲水牛.

本研究还发现, 在广西地中海奶水牛乳初乳和奶牛乳初乳的乳寡糖中, 中性糖二糖  $m/z$  385.15 和中性糖三糖  $m/z$  547.21 以及酸性糖  $m/z$  635.23 均为其主要寡糖成分, 与其他乳寡糖相比含量相对较高. 此外, 从总体而言地中海奶水牛初乳中的中性寡糖占比比奶牛初乳高, 二者中性糖占乳寡糖总量的比例分别为88.88%和63.16%. 中性乳寡糖在人乳、牛乳、羊乳等哺乳动物乳汁中都大量存在, 但目前国内外对其活性研究的报道相对较少. 此外, 已有研究报道表明, 乳寡糖含量的高低与动物营养有着密切的关系<sup>[10]</sup>, 而中性寡糖与酸性寡糖的高低是否也与动物营养有着相应的联系, 这都有待进一步的研究. 本文研究结果中表明水牛乳寡糖中性寡糖含量占比较高, 因此对水牛乳寡糖的进一步分离纯化并开展生物学功能活性评价, 将有利于对上述问题进行更深入的探究.

### 参 考 文 献

- functional oligosaccharides for improving human health. *Advances in Nutrition*, 2011, **2**(3): 284-289
- [2] Daniela Barile, Robert A Rastall. Human milk and related oligosaccharides as prebiotics. *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, **24**(2): 214-219
- [3] Mehra R, Kelly P. Milk oligosaccharides: structural and technological aspects. *International Dairy Journal*, 2006, **16**(11): 1334-1340
- [4] Gunther Boehm, Bernd Stahl. Oligosaccharides from milk. *Nutrition*, 2007, **137**(3): 847S-849S
- [5] William R Alley, Milos V Novotny. Structural glycomic analyses at high sensitivity: a decade of progress. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 2013, **6**(1): 237-265
- [6] Kailemia M J, Ruhaak L R, Lebrilla C B, *et al.* Oligosaccharide analysis by mass spectrometry: a review of recent developments. *Analytical Chemistry*, 2014, **86**(1): 196-212
- [7] Hanh T H Nguyen, Lydia Ong, Eric Beaucher, *et al.* Buffalo milk fat globules and their biological membrane: *in situ* structural investigations. *Food Research International*, 2015, **67**: 35-43
- [8] Hyeyoung Lee, Daniel J Cuthbertson, Don E Otter, *et al.* Rapid screening of bovine milk oligosaccharides in a WheyPermeate product and domestic animal milks by accurate mass database and tandem mass spectral library. *J Agric Food Chem*, 2016, **64**(32): 6364-6374
- [9] Darius Ghaderi, Rachel E Taylor, Vered Padler-Karavani, *et al.* Implications of the presence of N-glycolylneuraminic acid in recombinant therapeutic glycoproteins. *Nature Biotechnology*, 2010, **28**(8): 863-867
- [10] Cheng L K, Wang L X, Xu Q S. Chitooligosaccharide supplementation improves the reproductive performance and milk the reproductive performance and milk. *Livestock Science*, 2015, **174**: 74-81
- [1] Angela M Zivkovic, Daniela Barile. Bovine milk as a source of

## Comparative Study on Milk Oligosaccharides in Buffalo and Cow Colostrum Milk

MENG Xian-Pu<sup>1</sup>), JIAO Si-Ming<sup>2</sup>), QIN Sheng-Qi<sup>1</sup>), YANG Xian-Bei<sup>1</sup>),  
LI Jian-She<sup>1</sup>), WEI Jin-Hua<sup>2</sup>), WANG Zhuo<sup>2</sup>), DU Yu-Guang<sup>2</sup>)\*

<sup>1</sup> Beijing Friendship Hospital Affiliated to The Capital University of Medical Sciences, Beijing 100050, China;

<sup>2</sup> Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100095, China)

**Abstract** Milk oligosaccharides, which are free oligosaccharides in the mammalian milk, is one of the main composition in milk. Recent studies suggested that milk oligosaccharides improved immune function, and showed prebiotics as well as anti-infection actives. Milk oligosaccharides is also important for the intestinal development, neural development of infants. Buffalo (*Bubalus bubalis*) milk is the second important milk source besides cow milk. It was also well accepted that buffalo milk was rich in nutritional content and was a high quality dairy product with good taste. However, researches on buffalo milk oligosaccharides was limited and only worked on American buffalo. On the other hand, milk oligosaccharides on Chinese buffalo is lacking. In the present study, colostrum milk samples from Guangxi buffalo were purified with solid phase extraction and modified by Aniline (Bn) derivative reagent. The sample was further purified by UPLC-ESI-Q-TOF-MS. The oligosaccharide components in buffalo colostrum were determined and compared with the cow colostrum milk. 19 kinds of oligosaccharides were found in cow colostrum and 9 in buffalo colostrum. Moreover, in both two kinds of colostrum, neutral disaccharide  $m/z$  385.15, neutral trisaccharide  $m/z$  547.21 and acidic oligosaccharide  $m/z$  635.23 were the main composition. In general, the proportion of neutral oligosaccharides in buffalo milk was higher than that in cow milk, with a ratio of 88.88% and 63.16%, respectively.

**Key words** milk oligosaccharides, colostrum milk, cow, buffalo, UPLC-ESI-Q-TOF-MS

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2017.0301

---

\*Corresponding author.

Tel: 86-10-82545070, E-mail: ygdu@ipe.ac.cn

Received: July 19, 2017 Accepted: August 28, 2017