

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-353-360>

Поступила 25.10.2022

Поступила после рецензирования 16.11.2022

Принята в печать 24.11.2022

© Юрова Е. А., Ананьева Н. В., 2022

<https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

Open access

ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ И ОСОБЕННОСТИ КОНТРОЛЯ ОЛИГОСАХАРИДОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ. ОБЗОР

Юрова Е. А., Ананьева Н. В.*

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

функциональные олигосахариды, аналитические методы, фрукто- и галакто- олигосахариды, высокоэффективная жидкостная хроматография, количественная идентификация

АННОТАЦИЯ

К функциональным олигосахаридам относятся различные группы углеводов, обладающих биологической активностью — способностью модулировать кишечную микробиоту за счет пребиотического, антиадгезивного и противовоспалительного действий. Уникальными свойствами олигосахаридов объясняется широкий спектр их применения в молочной промышленности: от пищевых ингредиентов для имитации пребиотической активности олигосахаридов грудного молока в детских сухих молочных смесях до структурирующих добавок, заменителей сахара и жира. При выборе олигосахаридов для включения в молочные продукты оценивают их биологическую активность и технологические свойства, которые зависят от источника и способа выделения этих соединений. Наибольшее распространение получили фруктоолигосахариды, галактоолигосахариды, ксилоолигосахариды и олигосахариды пектинового ряда. Разрабатывая рецептуры продуктов с заявленной биологической эффективностью, нельзя забывать, что потребление больших количеств веществ, обладающих пребиотическими свойствами, может привести к нарушениям работы желудочно-кишечного тракта, что требует внедрения в практику контроля количественного содержания олигосахаридов в составе продуктов. Целью данного обзора является анализ возможностей применения олигосахаридов в производстве специализированных продуктов питания на молочной основе и методов контроля качества, безопасности, эффективности включения в рацион питания такой продукции. В обзоре рассматриваются существующие методы количественной идентификации олигосахаридов, включаемых в состав молочных продуктов в качестве функциональных ингредиентов. Внимание акцентируется на ограничениях внедрения разработанных аналитических методов анализа в повседневную практику контроля олигосахаридов, что связано со сложностью и многокомпонентностью исследуемых пищевых матриц. Показана необходимость дальнейшего совершенствования методов количественной идентификации функциональных олигосахаридов в пищевых продуктах.

Received 25.10.2022

Accepted in revised 16.11.2022

Accepted for publication 24.11.2022

© Yurova E. A., Ananyeva N. V., 2022

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Review article

Open access

THE PRACTICE OF APPLICATION AND FEATURES OF THE CONTROL OF OLIGOSACCHARIDES IN THE PRODUCTION OF SPECIALIZED FOOD PRODUCTS. A REVIEW

Elena A. Yurova, Natalia V. Ananyeva*

All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

functional oligosaccharides, analytical methods, fructo- and galactooligosaccharides, high performance liquid chromatography, quantitative identification

ABSTRACT

Functional oligosaccharides include various groups of carbohydrates with the biological activity — an ability to modulate gut microbiota due to the prebiotic, anti-adhesive and anti-inflammatory activities. The unique properties of oligosaccharides explain a wide spectrum of their use in the dairy industry: from food ingredients for imitation of the prebiotic activity of human milk oligosaccharides in infant dry milk mixtures to structuring additives, replacers of sugar and fat. When choosing oligosaccharides for inclusion into dairy products, their biological activity and technological properties that depend on a source and method for extraction of these compounds are assessed. Fructooligosaccharides, galactooligosaccharides, xylooligosaccharides and pectic oligosaccharides have been most widely used. When developing recipes of products with stated biological effectiveness, it is necessary to remember that consumption of large amounts of substances with prebiotic properties can lead to the gastrointestinal disorder, which requires introducing into practice the control of the oligosaccharide quantitative content in the product composition. The aim of this review is analysis of possibilities of using oligosaccharides in production of specialized milk-based food products and methods for controlling quality, safety and effectiveness of inclusion of such products into a diet. The review considers the existing methods for quantitative identification of oligosaccharides included in the composition of dairy products as functional ingredients. The emphasis is made on the limitations of the introduction of the developed analytical methods into routine practice of the oligosaccharide control, which is linked with the complexity and multicomponent nature of the food matrix under study. The necessity of the further improvement of methods for quantitative identification of functional oligosaccharides in foods is shown.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Юрова, Е. А., Ананьева Н. В. (2022). Практика применения и особенности контроля олигосахаридов в производстве продуктов специализированного питания. Обзор. *Пищевые системы*, 5(4), 353-360. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-353-360>

FOR CITATION: Yurova, E. A., Ananyeva N. V. (2022). The practice of application and features of the control of oligosaccharides in the production of specialized food products. A review. *Food Systems*, 5(4), 353-360. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-353-360>

1. Введение

Олигосахариды (ОС) представляют собой гетерогенную группу веществ, отличающихся сложной структурой и вариабельностью строения. Разнообразие объясняется положением связывания ОН-группы, придающей α - или β -конфигурацию молекулам сахаров, а также количеством и положением моносахаридов, которые образуют линейные или разветвленные структуры. В состав олигосахаридов входит от 3 до 10 моносахаридных остатков, отличающихся стереохимически и соединенных гликозидными связями. В качестве моносахаридных единиц олигосахаридов рассматриваются фруктоза, галактоза, глюкоза, ксилоза. Множественные асимметричные центры в молекулах углеводов позволяют образовывать различные изоформы, включая энантиомеры, диастереоизомеры [1].

Структурные модификации молекул объясняют различия в проявляемых ОС свойствах, которые определяются источником и способом выделения сахаров. В многочисленных исследованиях [2,3] акцентируется внимание на биологической функциональности ОС, полученных из грудного молока и молока млекопитающих (коровьего, козьего, верблюжьего). Несмотря на то, что содержание ОС в козьем молоке (0,25–0,3 г/л) в 4–15 раз выше, чем в коровьем (0,03–0,06 г/л) или овечьем (0,02–0,04 г/л) [2], этих количеств недостаточно для реализации предлагаемых технологий выделения ОС из молочного сырья в промышленных масштабах. Самыми богатыми и доступными источниками функциональных ОС считаются растения и водоросли [4]. Разработаны технологии получения ОС путем микробиологического и ферментативного синтеза [5].

Анализ областей применения ОС показывает их растущее значение в медицине, фармацевтике, пищевой промышленности и сельском хозяйстве [6,7,8]. Проявляемый со стороны производителей пищевых продуктов интерес связан с двумя аспектами. Во-первых, ОС обладают функциональной активностью, в первую очередь пребиотическим действием, поэтому их включают в специализированные продукты, в том числе в сухие детские смеси, состав которых максимально приближен к составу грудного молока. Во-вторых, технологические свойства, такие как гелеобразующая и влагоудерживающая способность, повышенная сладость и низкая калорийность, позволяют использовать эти сахара для улучшения сенсорных и структурных характеристик пищевых продуктов.

Из-за сложности строения, структурного разнообразия, наличия сосуществующих изомеров и множества сайтов связности технологии идентификации ОС требуют особого подхода. Тем более, затруднены извлечение и количественное определение этого класса соединений из сложных пищевых матриц вследствие их многокомпонентного состава и возможного взаимодействия ингредиентов между собой. В частности, показано, что ОС могут вступать в различные реакции с участием белков или аминокислот [9].

Возможность полноценного контроля количественного содержания ОС является определяющим фактором в обеспечении безопасности и эффективности специализированных продуктов питания. Кроме того, количественная идентификация играет особую роль при определении параметров извлечения ОС из природного сырья, при разработке рецептур инновационных пищевых продуктов с функциональной активностью, а также при установлении характера деструкции и модификации сахаров в ходе технологического процесса и в условиях длительного хранения продукта.

Целью данного обзора являются изучение способов применения и анализ методов количественной идентификации олигосахаридов в составе специализированных продуктов питания на молочной основе.

2. Объекты и методы

Данное исследование представляет обзор, систематизирующий информацию об источниках и технологиях выделения ОС с акцентом на методы их количественной идентификации в составе молочных продуктов. Поиск научной литературы осуществлялся в базах данных Science Direct и Scopus по запросам: (functional oligosaccharides AND milk product), (quantity analysis AND functional oligosaccharides AND milk product), ({quantity analysis functional oligosaccharides}), (quantity analysis AND fructooligosaccharides AND milk product), (quantity analysis AND galactooligosaccharides AND milk product). Рассматривались публикации, находящиеся в открытом доступе и опубликованные с 2002 по 2022 г. Скрининг и извлечение данных осуществлялись из статей, соответствующих критериям включения и тематике исследования: разделение и очистка, синтез, анализ структуры ОС; биоактивная функция ОС, в частности влияние на кишечную микробиоту; чувствительность и стабильность ОС к технологическим параметрам производства пищевых продуктов; применение ОС как ингредиента для специализированных пищевых продуктов; количественная идентификация ОС, в том числе в естественных источниках (молоке млекопитающих и растениях) и в готовых пищевых продуктах.

3. Производство и контроль качества специализированной продукции, обогащенной олигосахаридами

3.1. Олигосахариды как ингредиенты

специализированных продуктов питания

Стабильность ОС при высоких температурах (до 100 °С) и разных уровнях активной кислотности (2,5–8,0) делают возможным включение функциональных ОС в состав молочных продуктов, в том числе кисломолочных [10,11]. Благодаря повышенной вязкости и высокой влагоудерживающей способности ОС выполняют технологические функции и могут использоваться в качестве желеобразующих агентов, модификаторов вязкости, стабилизаторов пены, заменителей жира, а также для предотвращения таяния мороженого и др. [12,13]. Более того, олигосахариды можно применять в качестве заменителей сахарозы, поскольку они имеют около 30–60% сладости сахарозы и низкую калорийность (4,2–6,3 кДж/г) [14].

В специализированных продуктах питания ОС нашли применение благодаря их биологической активности. ОС с пребиотическими свойствами в неизменном виде проходят через верхние отделы желудочно-кишечного тракта и избирательно метаболизируются кишечной микрофлорой человека, поэтому обеспечивают ряд положительных воздействий на организм. Происходит направленное изменение микробиоценоза кишечника: стимулирование роста и метаболизма полезной микрофлоры, включая бифидо- и лактобактерии, при одновременном подавлении развития и прикрепления к слизистой патогенных микроорганизмов [15]. Также активизируется работа иммунной системы, улучшается всасывание витаминов (D, E) и минеральных веществ (кальция, магния, железа), снижается уровень липопротеидов в крови. Все эти процессы способствуют проявлению противодиабетических, противовоспалительных, противоаллергических [16], антиоксидантных свойств [17].

Особое значение ОС имеют в производстве детских продуктов. Так, для коррекции состава сухих молочных смесей применяют галактоолигосахариды, фруктоолигосахариды, полифруктозу, полидекстрозу и инулин [18]. Кроме того, в коммерческих формулах для новорожденных используют синтезированные аналоги ОС грудного молока.

В зависимости от структурной конформации, ОС по-разному усваиваются в толстой кишке. Например, высокомолекулярные ОС всасываются в верхних отделах, низкомолекулярные — в нижних. Совместное использование различных видов ОС в составе пищевых продуктов позволяет достичь максимального пребиотического эффекта на всей протяженности толстой кишки. Так, галакто- и фруктоолигосахариды включают в состав сухих смесей для детского питания в соотношении 9:1, что соответствует естественному соотношению ОС в грудном молоке. Клинически доказанной эффективностью обладает комплекс коротко- и длинноцепочечных ОС в соотношении 1:1 [19]. Повышение функциональной эффективности пищевых продуктов за счет совместного применения различных видов ОС оборачивается усложнением их контроля, так как требует разработки дифференцированных подходов к количественной идентификации конкретных видов ОС.

3.2. Виды олигосахаридов

Наиболее часто в молочной промышленности используют фруктоолигосахариды и галактоолигосахариды. В качестве перспективных также рассматриваются ксилоолигосахариды и пектиновые ОС [20,21,22]. ОС различаются по сахаридным остаткам (глюкоза, фруктоза, галактоза и ксилоза), гликозидным связям ($\beta(1 \rightarrow 2)$, $\beta(1 \rightarrow 3)$, $\beta(1 \rightarrow 4)$, $\beta(1 \rightarrow 6)$) и степени гетерогенности.

Фруктоолигосахариды (ФОС) состоят из остатка сахарозы и остатков d-фруктозы, соединенных $\beta(1 \rightarrow 2)$ связями. Высокое содержание ФОС отмечается в растениях (топинамбуре, бананах, чесноке, спарже, ячмене, корне цикория, артишоках, пшенице, луке, бобовых), а также меде. ФОС со степенью полимеризации от 3 до 5 получают из свекловичного сахара с использованием фруктозилтрансфераз и других ферментов, синтезируемых плесневыми грибами, дрожжами и бактериями. Применяется технология получения ФОС в комбинации с олигофруктозой в результате гидролиза инулина, содержащегося в клубнях растений. Один из альтернативных способов получения ФОС — ферментативное трансфруктозилирование сахарозы в качестве субстрата с использованием бактериальной β -фруктозидазы [23].

ФОС нашли широкое применение благодаря пребиотическому действию, низкой калорийности, высокой растворимости, термической и кислотной стабильности, гелеобразующей способности. В пищевой промышленности используются ФОС инулинового типа, такие как 1-кестоза, нистоза и фруктофуранозилнистоза, сладость которых в 0,4–0,6 раза выше, чем у сахарозы [24].

Галактоолигосахариды (ГОС) обычно состоят из остатка глюкозы и 2–5 звеньев галактозы, соединенных гликозидными связями $\beta(1 \rightarrow 2)$, $\beta(1 \rightarrow 3)$, $\beta(1 \rightarrow 4)$, $\beta(1 \rightarrow 6)$. ГОС содержатся в таких продуктах, как бананы, артишоки, лук, чеснок и мед. В промышленных масштабах ГОС получают из подсырной сыворотки путем ферментативного трансгалактозилирования лактозы β -галактозидазой [25]. В результате синтеза получают гетерогенную смесь ГОС, которые различаются по длине цепи и типу гликозидных связей, но всегда содержат лактозу на восстанавливаемом конце молекулы [26]. В качестве источников β -галактозидаз используют *Aspergillus oryzae*, *Lactobacillus reuteri*, *Bacillus circulans*, *Kluveromyces lactis*, *Kluveromyces fragilis*, *Escherichia coli*, *Sporobolomyces singularis*.

ГОС обладают бифидогенной активностью — способствуют увеличению выработки короткоцепочечных жирных кислот, благодаря чему минимизируется риск развития колоректального рака, снижается уровень холестерина в крови. С наличием в рационе питания ГОС связывают усиление иммунного ответа у взрослых и пожилых людей [27].

Олигосахариды этой группы имеют структурное строение, близкое к строению ОС грудного молока, вследствие чего проявляют аналогичные биологические свойства и используются для адаптации состава детских сухих молочных смесей. Кроме того, ГОС не вызывают кариеса, имеют низкую калорийность [10], поэтому в составе специализированных продуктов питания могут выполнять роль заменителей сахара и жира.

Ксилоолигосахариды (КОС) включают остатки D-ксилозы, соединенные $\beta(1 \rightarrow 4)$ связями, со степенью полимеризации 2–10. КОС получают в результате гидролиза ксиланов — основных компонентов растительных гемицеллюлоз. В качестве перспективных источников для выделения КОС рассматриваются кукурузные початки, сахарный тростник, скорлупа фундука и миндаля и др.

КОС обладают более высокой пребиотической активностью по сравнению с другими пребиотиками. Помимо этого, они предотвращают канцерогенез толстой кишки и проявляют противовоспалительные, противоаллергические и антиоксидантные свойства [17]. В пищевой промышленности КОС используются в качестве желирующих агентов, модификаторов вязкости, стабилизаторов пены.

Мальтоолигосахариды (МОС) содержат остатки маннозы и глюкозы, соединенные $\alpha(1 \rightarrow 2)$, $\alpha(1 \rightarrow 4)$ связями. Присутствуют в бактериях, растениях и беспозвоночных, являются субстратом для α -глюкозидазы слизистой оболочки кишечника [28]. В промышленных объемах производятся путем мультиферментативного расщепления крахмала. Разработан способ получения МОС в результате гидролиза пуллулана, продуцируемого некоторыми грибами. МОС нашли применение в пищевой (в качестве подсластителей) и фармацевтической (в качестве стабилизаторов лекарственных средств) промышленности [5].

Изомальтоолигосахариды (ИМО) содержат от 2 до 5 остатков глюкозы, соединенных $\alpha(1 \rightarrow 4)$ связями. В небольших количествах содержатся в меде и ферментированных продуктах. Разработана промышленная технология получения многокомпонентных ИМО (изомальтозы, изомальтотриозы и панозы) из крахмала с использованием комбинации ферментов, а также изомальтулозы. ИМО обладают пребиотической активностью, выполняют функцию подсластителя с низким кариесогенным действием [1].

Олигосахариды раффинозы (ОСР) могут включать в состав глюкозу, галактозу, фруктозу. Стахиоза и другие ОСР с высокой степенью полимеризации, такие как вербаскоза и аджугоза, содержатся в бобовых культурах — сое, люпине и горохе [29]. Выполняют осмопротекторную функцию, отвечают за транспорт и хранение углерода, передачу сигналов, антиоксидантные свойства [30]. ОСР в основном используются в качестве криоконсервантов, для стабилизации белково-липидного комплекса.

Олигосахариды грудного молока (ОМ) включают глюкозу, галактозу, N-ацетилглюкозамин, фукозу, производную N-ацетилнейраминовой кислоты; ОС коровьего молока — глюкозу, галактозу, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, фукозу, сиаловые кислоты N-ацетилнейраминовой кислоты, N-гликолинейраминовою кислоту. Содержат либо лактозу, либо N-ацетиллактозамин на восстанавливаемом конце с дополнительными остатками моносахаридов, отходящими от невосстанавливаемой галактозы. В некоторых случаях содержат лакто-N-биозные или N-ацетиллактозаминовые звенья, связанные с лактозным ядром. Самая высокая концентрация ОМ обнаруживается в молозиве (20 г/л), которая сокращается до 16 г/л на 30-й день лактации и до 8 г/л через 3 месяца [31].

На практике ОМ достаточно редко получают из естественных источников вследствие низкого содержания ОС

в молочном сырье. Однако показано, что ОМ, выделенные из подсырной сыворотки, обладают пребиотической активностью, способствуют росту младенцев в первые полгода жизни [32].

Некоторые ОМ для промышленного применения производятся с помощью химического и хемоферментативного синтеза или биотехнологии. Олигосахариды 2-FL, LNnT, LNT, идентичные ОС грудного молока, выпускаются в промышленных масштабах и используются в детских молочных смесях. Исследования подтверждают эффективность их применения в составе детского специализированного питания, которая проявляется в формировании микробиоты кишечника младенцев, положительном влиянии на иммунную систему и развитии мозга [33, 34].

3.3. Особенности контроля олигосахаридов

Разрабатывая специализированные молочные продукты, содержащие функциональные ингредиенты, в том числе ОС, производители должны иметь в арсенале контроля качества и безопасности методики анализа, позволяющие подтвердить содержание этого ингредиента на должном уровне. Несмотря на то, что безопасность и эффективность применяемых ОС подтверждена клиническими исследованиями [18], чрезмерное потребление ОС может вызвать побочные эффекты, особенно при таких нарушениях работы желудочно-кишечного тракта, как синдром раздраженного кишечника и язвенный колит. При таких состояниях показаны диеты с низким содержанием FODMAPs — ферментируемых олиго-, ди- и моносахаридов и полиолов. Для обеспечения безопасности потребителей требуются дальнейшие исследования биологических эффектов ОС и строгое регулирование их содержания в пищевых продуктах.

Исследования в области разработки методов анализа ОС в составе молочных продуктов должны учитывать наличие ОС как в нативном состоянии в исходном молочном сырье, так и в виде внесенных функциональных ингредиентов. В силу большой специфики состава и строения ОС необходимы методы идентификации конкретных видов сахаров. Для ряда ОС разработаны достаточно достоверные методы анализа, например для ФОС и ОС грудного молока и молока млекопитающих. Но большинство ОС требуют дальнейшего поиска и стандартизации методов количественного определения, особенно с учетом сложности и многокомпонентности молочной основы.

В частности, структурное сходство ГОС с лактозой значительно усложняет и ограничивает возможности использования имеющихся методов анализа. Метод АОАС2001.02 считается единственным валидированным методом определения ГОС в сырье и пищевых продуктах [33]. Позволяет косвенно определить содержание ГОС путем ферментативного гидролиза до глюкозы и галактозы, которые затем количественно определяют с помощью высокоэффективной анионообменной хроматографии с импульсным амперометрическим детектированием (HPLC-RID). Однако наличие высоких уровней лактозы резко снижает точность метода.

Lin et al. [36] предпринимали попытки усовершенствовать этот метод. Для этого содержание галактозы и глюкозы, полученных в ходе ферментативного гидролиза ГОС, определяли в одном и том же хроматографическом цикле. Такой подход исключил необходимость использования поправочного коэффициента. В результате стало возможным учитывать степень конверсии лактозы при расчете содержания ГОС по предложенной формуле. Однако эти достижения не позволяют значительно расширить область применения метода и использовать его для анализа ОС в составе молочных продуктов.

Одна из основных проблем, на которую указывают многие авторы при анализе ОС, — отсутствие доступных коммерческих стандартных образцов для определения конкретных видов ОС. Множество гликозидных связей и трудности экстракции для получения ОС с ненарушенной структурой препятствуют развитию технологий химического синтеза аналитических стандартов высокомолекулярных ОС. В поисках выхода из сложившейся ситуации изучаются возможности извлечения и очистки стандартов ОС в аналитических лабораториях с помощью твердофазной экстракции, высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) или их комбинации [37]. Так, например, Li et al. [38] извлекли и очистили стандарты КОС (степень полимеризации 2–6; чистота > 99%) с использованием твердофазной экстракции с последующей хроматографией гидрофильного взаимодействия (HILIC). Полученные стандарты позволили с высокой степенью селективности разделить высокополярные образцы. Для улучшения пикового разрешения короткоцепочечных КОС и ускорения элюирования длинноцепочечных КОС применяли линейное градиентное элюирование 50–75% ацетонитрила. Температура колонки и скорость потока были изменены для улучшения базового разделения, формы пика и разрешения. Исследования в этом направлении требуют дальнейшей проработки, поскольку уровень чистоты синтезируемых таким способом препаратов все еще несопоставим с коммерческими стандартами.

В случае отсутствия аналитических стандартов определять содержание ОС можно в относительных величинах, используя такие показатели, как высота масс-спектрального пика или площадь хроматографического пика. В качестве альтернативы разработаны стратегии дериватизации, позволяющие сравнивать относительное содержание изотопически меченых ОС на основе интенсивности их уникальных масс-спектральных пиков. Некоторые примеры таких подходов включают дериватизацию с восстановительным концом пар образцов гликанов с помощью пары тяжелых/легких меток или серии изобарических реагентов. Так, Sabater et al. [26] определяли содержание ГОС в процентах от общего содержания углеводов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием рефрактометрического детектора (HPLC-RID) и метода внешней калибровки. В качестве универсальных стандартов для трисахаридов применялись рафиноза, тетрасахаридов — истахиоза.

Продолжительность процедуры и сложная подготовка образцов, в том числе твердофазная экстракция и дериватизация, стали решающими факторами при определении направлений дальнейшего развития методов анализа ОС. Усилия были направлены на упрощение предварительной обработки образцов, ускорение процессов извлечения аналита и повышение чувствительности методов. Выбор адекватной обработки образца и способа экстракции очень важен для селективного и эффективного извлечения анализируемых веществ, для уменьшения влияния матрицы и повышения чувствительности метода. Такие компоненты специализированных молочных продуктов, как жиры, белки, карбоновые кислоты или полифенолы, усложняют количественное определение ОС. Поэтому они должны быть предварительно удалены из анализируемых образцов. Как один из способов исключения белковой фракции молочных продуктов рассматривается добавление солей цинка и вольфрама в кислой среде с последующим центрифугированием [39]. Alfonso-Muniozguen et al. [40] показали, что фильтрация позволяет получать углеводы высокой чистоты из сложных пищевых матриц и удалять нерастворимые вещества, способные вызывать закупоривание колонок для HPLC. При подготовке образцов для анализа методами HPLC

и анионно-обменной хроматографии ОС экстрагируют с помощью органических растворителей (ацетонитрильные хромофоры, метанол и этанол) в сочетании с центрифугированием и ультрафильтрацией.

Еще одним этапом предварительной обработки образцов является фракционирование, позволяющее обогащать образцы без потери анализируемого вещества. С этой целью используют мембранное фракционирование, включая ультра- и нанофильтрацию, диализ, а также фракционирование углеводов [41].

Анализ ОС осложняется и на этапе детектирования. В основном сахара (за исключением содержащих отрицательно заряженные и легко ионизируемые кислотные группы) не имеют заряда и не содержат хромофоров и флуорофоров, следовательно, не поглощают ультрафиолетовые и видимые длины волн. Поэтому большинство детекторов, обычно используемых совместно с высокоэффективной жидкостной хроматографией, таких как ультрафиолетовый детектор, детектор с фотодиодной матрицей и детектор флуоресценции, неэффективны при анализе ОС [43].

3.4. Методы количественной оценки олигосахаридов

Жидкостная хроматография считается наиболее эффективным методом количественной и качественной идентификации сахаров. Этот метод рекомендован АОАС International в качестве стандартного метода для анализа углеводов [42]. Анализ выполняется относительно быстро, дает точные результаты, применяется в широком диапазоне концентраций.

Рефрактометрический детектор (RID) часто используется при анализе углеводов в сочетании с хроматографическими методами разделения, такими как хроматография исключения и молекулярно-ситовая хроматография, поскольку методы работают с изократическим потоком подвижной фазы [44]. Принцип работы RID основан на измерении показателя преломления элюированного образца по отношению к эталонной ячейке. Детектор RID чувствителен как к изменениям температуры, так и давления. Основным недостатком RID является невозможность его использования в градиентном режиме из-за высокой чувствительности к изменениям состава подвижной фазы, которые могут привести к сдвигам базовой линии [45]. Для обнаружения ОС применяется RID с колонкой из силикагеля, связанного с амином, и подвижной фазой вода-ацетонитрил.

Следуя тенденциям совершенствования методов анализа, исследователи пытались упростить подготовку образцов для изучения методом HPLC-RID и подобрать соответствующие стандартные образцы. Rodríguez-Gómez et al. [39] разработана упрощенная подготовка образцов молока и молочных продуктов для определения ФОС. Для исключения белка и жира использовали осаждающий раствор, состоящий из 495 мМ дигидрата ацетата цинка, 18 мМ фосфотунгстинового гидрата и 8% ледяной уксусной кислоты, который добавляли в гомогенизированные образцы в соотношении 5:1. Линейность калибровочной кривой оценивали с использованием теста несоответствия с доверительным уровнем 95%, при котором для всех стандартов было получено значение $P > 95\%$. Точность метода находилась в допустимых пределах для валидации биоаналитического метода ($\leq 15\%$). Процент извлечения для всех анализируемых веществ был близок к 100, предел обнаружения составил 60 мкг/мл. Среди преимуществ данного метода стоит отметить минимальные подготовительные манипуляции, низкий расход реагентов, высокую селективность.

Центрифугирование и ультрафильтрацию для удаления липидов и белков при определении содержания коммерче-

ских препаратов 2>-FL и 3>-FL методом HPLC-RID в составе ультрапастеризованного молока, йогурта, детских смесей предложили использовать Christensen et al. [48]. Благодаря улучшению разрешения за счет оптимизации состава подвижной фазы, объема впрыска и температуры колонки авторы достигли высоких уровней предела обнаружения: в цельном молоке — 0,1 мг/мл для 2'-FL, 0,2 мг/мл для 3'-FL; в детских смесях — 0,6 мг/мл для обоих видов ОС. Метод характеризовался высокой чувствительностью, показателем линейности $R^2 > 0,9995$ и достаточной степенью извлечения: для 2'-FL — 88–105%, 3'-FL — 94–112%.

Для обнаружения ОС с использованием HPLC в качестве детектора можно применять испарительное рассеяние света (ELSD). Этот метод подходит для углеводов, которые нельзя обнаружить с помощью других детекторов без процесса дериватизации. Метод HPLC-ELSD основан на измерении рассеянного света на твердых частицах анализируемого вещества, образующихся после испарения растворителя. Возможность идентифицировать соединения менее летучие, чем подвижная фаза, обеспечивается рассеиванием фотонов. Jalaludin et al. [47] оценили преимущества и недостатки метода. Из плюсов можно выделить нечувствительность HPLC-ELSD к абсорбции, флуоресценции, электрохимическим свойствам анализируемого вещества и колебаниям температуры, совместимость с градиентным элюированием, среди минусов — необходимость применения нелетучих аналитов и летучих подвижных фаз, в качестве которых наиболее часто рассматривают смеси ацетонитрил–вода или этанол–вода. Важно, что состав подвижной фазы может влиять на отклик детектора: чем выше содержание органики, тем выше отклик. Получаемая нелинейная (сигмоидальная или экспоненциальная) кривая отклика калибровки является еще одним недостатком метода, но количественная оценка может быть достигнута за счет использования полиномиального порядка или билогарифмической калибровочной линии [48].

Данные Zhuang et al. [37] подтверждают более высокую чувствительность HPLC-ELSD по сравнению с HPLC-RID, а также стабильность исходного уровня благодаря совместности с градиентным элюированием и независимости от температуры. Последующие работы исследователей позволили увеличить чувствительность метода. Например, Nao et al. [49] для этих целей использовали слабоосновную (pH менее 12) подвижную фазу, что улучшало разделение анализируемого вещества благодаря уменьшению хвостов пика, увеличению разрешения пика, поддержанию нейтрального заряда анализируемых веществ и устранению совместного вымывания солей. Среди преимуществ разработанного метода помимо чувствительности можно отметить скорость (продолжительность < 10 мин) и точность (степень извлечения 98,59–103,67%).

Кроме более низкой чувствительности по сравнению с HPLC-ELSD применение HPLC-RID может быть ограничено низкой растворимостью ОС с высокой молекулярной массой в органических растворителях. Такой проблемы не возникает при использовании метода HPAEC-PAD. Charoenwongpaiboon et al. [50] показали, что HPAEC-PAD при количественном определении ФОС в составе молочных продуктов превосходит HPLC-ELSD, поскольку обладает более высокой чувствительностью, широким диапазоном и способен выявлять отдельные конституциональные изомеры. Однако сравнительные данные использования HPLC-ELSD и HPAEC-PAD подтверждают целесообразность внедрения HPLC-ELSD для анализа ОС с низкой и средней молекулярной массой вследствие более короткого времени выполнения анализа. Совершенствуя метод HPAEC-PAD, Cürten et al. [51]

смогли оптимизировать процесс определения КОС, сократив продолжительность анализа. Подобранные температуры и скорости потока колонки наряду с градиентным элюированием 200 мМ раствора гидроксида натрия, 100 мМ раствора гидроксида натрия, 500 мМ ацетатом натрия позволили обеспечить разделение КОС на ксилобиозу, ксилотриозу, ксилотетраозу и ксилопентозу. Предел количественного определения составил 1,05–5,49 мг/л, стандартное отклонение < 1,733.

Ультрафиолетовое и флуоресцентное детектирование может использоваться для определения углеводов только после предварительной химической дериватизации. В качестве реагентов при этом наиболее часто применяют 1-фенил-3-метил-5-пиразолон и этиловый эфир аминобензойной кислоты, которые способны количественно реагировать с углеводами в мягких условиях. В хроматографическом цикле HPLC обычно используют колонку C18 и подвижную фазу, состоящую из смеси фосфатного буфера-ацетонитрила или триэтиламинфосфатного буфера с ацетонитрилом. Castells et al. [52] для образования родственных производных задействовал 1-(4-метоксифенил)-3-метил-5-пиразолон и 4-(3-метил-5-оксо-2-пиразон-1-ил) бензойную кислоту. Однако флуоресцентное и ультрафиолетовое детектирование не нашло широкого применения для определения ОС, поскольку оно ограничено относительно низкой чувствительностью обнаружения, требует длительной подготовки образца и может привести к изменениям в химической структуре сахаров [53].

Нативные ОС в молоке млекопитающих часто анализируются с помощью жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии (MS). Метод позволяет провести первоначальное обнаружение, качественную и количественную идентификацию всех видов ОС в рамках одного анализа. Lee et al. [54] с использованием наножидкостной хроматографии в сочетании с высокочувствительной квадрупольно-времяпролетной масс-спектрометрией с высоким разрешением и чувствительностью создали базы данных и библиотеки ОС, которые включают точную массу, время удерживания и тандемные масс-спектры.

Несмотря на практику активного применения HPLC для разделения ОС, Kailemia et al. [55] показали, что хроматография гидрофильного взаимодействия более совместима с MS, что делает этот способ более подходящим для структурного анализа. Авторы продемонстрировали эффективность применения методов лазерной десорбции/ионизации с матрицей (MALDI) и ионизации электрораспылением (ESI) при анализе ОС. Метод характеризуется меньшей фрагментацией ОС во время ионизации по сравнению с ранее использовавшимися способами, такими как бомбардировка быстрыми атомами (FAB). При этом метод MALDI обеспечивает большую чувствительность к ОС с большей массой и лучшую устойчивость к загрязнителям.

Однако различия в эффективности ионизации осложняют количественное определение ОС методом MALDI. Интенсивность анализируемых веществ зависит от распределения образца, облучаемого лазером. Wang et al. [56] пришли к выводу, что равномерная сокристаллизация смесей аналита и матрицы, нанесенных на пластину MALDI, является необходимым условием для количественного исследования ОС и обеспечения точности и воспроизводимости метода.

Эффективность использования лазерной десорбции для контроля качества и безопасности пищевых продуктов с ак-

центом на углеводный состав доказана Qu et al. [57]. Авторы разработали стратегию обнаружения олиго- и полисахаридов, используя их в качестве маркеров для выявления фальсификации крахмального сиропа. Дополнительные спектры, показывающие диагностические фрагментации изомеров ОС, могут выявлять фальсификацию кукурузным и инвертным сиропом.

Sabater et al. [58] предложили использовать газовую хроматографию с пламенно-ионизационным детектором для количественного определения ГОС в детских сухих смесях. Предварительно образцы ГОС подвергались дериватизации до триметилсилилированных оксимов. Авторы продемонстрировали, что гидролиз мальтодекстринов α -амилоглюкозидазой снижает помехи и улучшает разрешение пиков, что позволяет проводить количественную оценку ГОС со степенью полимеризации до 7.

Применение газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией и времяпролетной масс-спектрометрией с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией для определения ОС неприемлемы, что подтверждается результатами исследований Rodríguez-Gómez et al. [39].

Несмотря на то что капиллярный электрофорез обладает рядом преимуществ (минимальное количество используемых реагентов, высокое пиковое разрешение и чувствительность), отсутствие в молекуле ОС хромоформов значительно ограничивает применение этого метода. Необходимость сложной очистки образца и дериватизации также не позволяет активно внедрять этот метод в повседневную практику. Как пример, капиллярный электрофорез с детектором на фотодиодной матрице использовался для анализа кос-, манно- и целлоолигосахаридов [59]. ОС были разделены и проанализированы без предварительной дериватизации. Электрофоретическую подвижность веществ регулировали с использованием высококонцентрированного фонового электролита для улучшения пикового разрешения между целевыми аналитами. Однако такой способ отличается значительной продолжительностью анализа.

4. Выводы

Благодаря биологической активности и технологическим свойствам, функциональные ОС имеют большой потенциал в качестве ингредиентов, позволяющих адаптировать углеводный компонент продуктов специализированного питания с улучшенными функциональными свойствами на молочной основе. Следует учитывать, что, отдавая предпочтение тому или иному способу количественного определения ОС для подтверждения безопасности и эффективности таких продуктов, придется столкнуться с рядом проблем: для HPLC необходимы сверхчистые органические растворители, что не соответствует принципам «зеленой химии»; применение HILIC ограничено различиями в растворимости молекул ОС; HPAEC-PAD характеризуется значительной продолжительностью анализа; ГХ требует предварительной дериватизации образцов. Для внедрения в повседневную практику контроля молочных продуктов методы количественного определения ОС нуждаются в дальнейшем совершенствовании для обеспечения простоты проведения, исключения трудоемких этапов подготовки образца, сокращения расхода реагентов, повышения чувствительности и снижения стоимости проводимых анализов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК/ REFERENCES

- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J. et al. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14, 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Oliveira, D. L., Wilbey, R. A., Grandison, A. S., Roseiro, L. B. (2015). Milk oligosaccharides: A review. *International Journal Dairy Technology*, 68(3), 305–321. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12209>
- Meyrand, M., Dallas, D. C., Caillat, H., Bouvier, F., Martin, P., Barile, D. (2015) Comparison of milk oligosaccharides between goats with and without the genetic ability to synthesize α 1-casein. *Small Ruminant Research*, 113(2–3), 411–420. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.03.014>
- Van Laere, K. M. J., Hartemink, R., Bosveld, M., Schols, H. A., Voragen, A. G. J. (2000). Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48(5), 1644–1652. <https://doi.org/10.1021/jf990519i>
- Braga, A., Gomes, D., Rainha, J., Cardoso, B. B., Amorim, C., Silvério, S. C. et al. (2022). Tailoring fructooligosaccharides composition with engineered *Zymomonas mobilis* ZM4. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(12), 4617–4626. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12037-3>
- Carneiro, S. B., Duarte, F. I. C., Heimfarth, L., Quintans, J. S. S., Quintans-Júnior, L. J., da Veiga Júnior, V. F. (2019). Cyclodextrin–drug inclusion complexes: In vivo and In vitro approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), Article 642. <https://doi.org/10.3390/ijms20030642>
- Ibrahim, O. O. (2018). Functional oligosaccharides: Chemicals structure, manufacturing, health benefits, applications and regulations. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*, 4(4), 65–76. <https://doi.org/10.17756/jfcn.2018-060>
- Teng, P.-Y., Kim, W. K. (2018). Review: Roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, Article 245. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00245>
- Daniels, B., Coutsoudis, A., Autran, C., Mansen, K.A., Israel-Ballard, K., Bode, L. (2017). The effect of simulated flash heating pasteurisation and Holder pasteurisation on human milk oligosaccharides. *Paediatrics and International Child Health*, 37(3), 204–209. <https://doi.org/10.1080/20469047.2017.1293869>
- González-Delgado I., López-Muñoz M.-J., Morales G., Segura Y. (2016). Optimisation of the synthesis of high galacto-oligosaccharides (GOS) from lactose with β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *International Dairy Journal*, 61, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.06.007>
- Guimarães, J. T., Silva, E. K., Arruda, H. S., Freitas M. Q., Pastore G. M., Meireles M. A. A. et al. (2020). How does the degree of inulin polymerization affect the bioaccessibility of bioactive compounds from sorpson whey beverage during in vitro gastrointestinal digestion? *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105511. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105511>
- De Paulo Farias, D., de Araújo, F. F., Neri-Numa, I. A., Pastore, G. M. (2019). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.004>
- Ledomado, L. S., Silva, R., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Ramos, G. L. P. A., Freitas, M. Q. et al. (2021). Technological benefits of using inulin and xylooligosaccharide in dulce de leche. *Food Hydrocolloids*, 110, Article 106158. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106158>
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT – Food Science and Technology*, 50(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.014>
- Wilson, B., Whelan, K. (2017). Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32(Suppl 1), 64–68. <https://doi.org/10.1111/jgh.13700>
- Nieto-Domínguez, M., de Eugenio, L. I., York-Durán, M. J., Rodríguez-Colinas, B., Plou, F. J., Chenoll, E. et al. (2017). Prebiotic effect of xylo-oligosaccharides produced from birchwood xylan by a novel fungal GH11 xylanase. *Food Chemistry*, 232, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.149>
- de Freitas, C., Terrone, C. C., Forsan, C. F., Milagres, A. M. F., Brienza, M. (2022). Oligosaccharides from Lignocellulosic Biomass and Their Biological and Physicochemical Properties. Chapter in a book: Hemicellulose Biorefinery: A Sustainable Solution for Value Addition to Bio-Based Products and Bioenergy. Clean Energy Production Technologies. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3682-0_9
- Closa-Monasterolo, R., Gispert-Llaurado, M., Luque, V., Ferre, N., Rubio-Torrents, C., Zaragoza-Jordana, M. et al. (2013). Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: results from a randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*, 32(6), 918–927. DOI: 10.1016/j.clnu.2013.02.009
- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., Hinrichs, W. L. J. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 130, 405–419. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.02651
- Babbar, N., Baldassarre, S., Maesen, M., Prandi, B., Dejonghe, W., Sforza, S. et al. (2016). Enzymatic production of pectic oligosaccharides from onion skins. *Carbohydrate Polymers*, 146, 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.011>
- Moreno, F. J., Corzo, N., Montilla, A., Villamiel, M., Olano, A. (2017). Current state and latest advances in the concept, production and functionality of prebiotic oligosaccharides. *Current Opinion in Food Science*, 13, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.02.009>
- Balthazar, C. F., Silva, H. L. A., Vieira, A. H., Neto, R. P. C., Cappato, L. P., Coimbra, P. T. et al. (2017). Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Research International*, 91, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.008>
- Singh, S. P., Jadaun, J. S., Narnoliya, L. K., Pandey, A. (2017). Prebiotic oligosaccharides: Special focus on fructooligosaccharides, Its biosynthesis and bioactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183(2), 613–635. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2605-2>
- Sánchez-Martínez, M. J., Soto-Jover, S., Antolíns, V., Martínez-Hernández, G.B., López-Gómez, A. (2020). Manufacturing of short-chain fructooligosaccharides: From laboratory to industrial scale. *Food Engineering Reviews*, 12, 149–172. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09209-0>
- Chanalía, P., Gandhi, D., Attri, P., Dhanda, S. (2018). Purification and characterization of β -galactosidase from probiotic *Pediococcus acidilactici* and its use in milk lactose hydrolysis and galactooligosaccharide synthesis. *Bioorganic Chemistry*, 77, 176–189. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.01.006>
- Sabater, C., Olano, A., Corzo, N., Montilla, A. (2019). GC–MS characterisation of novel artichoke (*Cynara scolymus*) pectic-oligosaccharides mixtures by the application of machine learning algorithms and competitive fragmentation modelling. *Carbohydrate Polymers*, 205, 513–523. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.054>
- Fehlbaum, S., Prudence, K., Kieboom, J., Heerikhuisen, M., van den Broek, T., Schuren, F. H. J. et al. (2018). In vitro fermentation of selected prebiotics and their effects on the composition and activity of the adult gut microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), Article 3097. <https://doi.org/10.3390/ijms19103097>
- Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Luo, L., Pan, Y. (2012). Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). *Aquaculture*, 342–343, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.009>
- den Ende, W. V. (2013). Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, 4, Article 247. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00247>
- Sengupta, S., Mukherjee, S., Basak, P., Majumder, A. L. (2015). Significance of galactinol and raffinose family oligosaccharide synthesis in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, Article 656. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00656>
- Davis, J. C. C., Lewis, Z. T., Krishnan, S., Bernstein, R. M., Moore, S. E., Prentice A. M. et al. (2017). Growth and morbidity of gambian infants are influenced by maternal milk oligosaccharides and infant gut microbiota. *Scientific Reports*, 7, Article 40466. <https://doi.org/10.1038/srep40466>
- Bych, K., Mikš, M. H., Johanson, T., Hederes, M. J., Vignsnaes, L. K., Becker, P. (2019). Production of HMOs using microbial hosts – from cell engineering to large scale production. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 130–137. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.003>
- Weinborn, V., Li, Y., Shah, I. M., Yu, H., Dallas, D. C., German, J. B. et al. (2020). Production of functional mimics of human milk oligosaccharides by enzymatic glycosylation of bovine milk oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 102, Article 104583. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104583>
- Bering, S. B. (2018). Human milk oligosaccharides to prevent gut dysfunction and necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Nutrients*, 10(10), Article 1461. <https://doi.org/10.3390/nu10101461>
- Blanco-Morales, V., López-García, G., Cilla, A., Garcia-Llatas, G., Barberá, R., Lagarda, M. J. et al. (2018). The impact of galactooligosaccharides on the bioaccessibility of sterols in a plant sterol-enriched beverage: adaptation of the harmonized INFOGEST digestion method. *Food & Function*, 9(4), 2080–2089. <https://doi.org/10.1039/c8fo00155c>
- Lin, H., Li, S., Xu, C., Pang, M., Wang, S. (2018). Simultaneous determination of galactose, glucose, lactose and galactooligosaccharides in galactooligosaccharides raw materials by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Food Chemistry*, 263, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.092>
- Zhuang, D., Qin, J., Wang, H.-Y., Zhang, Y., Liu, C.-Y., Ding, Q.-Q. et al. (2019). Oligosaccharide-based quality evaluation of *Actinotoluidis* rhizome and a strategy for simplifying its quality control. *BMC Chemistry*, 13(1), Article 92. <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0605-8>
- Li, F., Wang, H., Xin, H., Cai, J., Fu, Q., Jin, Y. (2016). Development, validation and application of a hydrophilic interaction liquid chromatography–evaporative light scattering detection based method for process control of hydrolysis of xylans obtained from different agricultural wastes. *Food Chemistry*, 212, 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.118>
- Rodríguez-Gómez, R., Jiménez-Díaz, I., Zafra-Gómez, A., Morales, J.C. (2015). Improved sample treatment for the determination of fructooli-

- gosaccharides in milk related products by liquid chromatography with electrochemical and refractive index detection. *Talanta*, 144, 883–889. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.07.042>
40. Alfonso-Muniozguren, P., Serna-Galvis, E. A., Bussemaker, M., Torres-Palma, R. A., Lee, J. (2021). A review on pharmaceuticals removal from waters by single and combined biological, membrane filtration and ultrasound systems. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, Article 105656. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105656>
 41. Sousa, Y. R. F., Araújo, D. F. S., Pulido, J. O., Pintado, M. M. E., Martínez-Férez, A., Queiroga, R. C. R. E. (2019). Composition and isolation of goat cheese whey oligosaccharides by membrane technology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.181>
 42. Zaky, A. S., Pensupa, N., Andrade-Eiroa, Á., Tucker, G. A., Du, C. (2017). A new HPLC method for simultaneously measuring chloride, sugars, organic acids and alcohols in food samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.010>
 43. Wang, R., Chen, Z. (2017). A covalent organic framework-based magnetic sorbent for solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons, and its hyphenation to HPLC for quantitation. *Microchimica Acta*, 184, 3867–3874. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2408-8>
 44. Galant, A. L., Kaufman, R. C., Wilson, J. D. (2015). Glucose: Detection and analysis. *Food Chemistry*, 188, 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.071>
 45. Hu, L.-J., Li, X.-F., Hu, J.-Q., Ni, X.-J., Lu, H.-Y., Wang, J.-J. et al. (2017). A Simple HPLC–MS/MS method for determination of tryptophan, kynurenine and kynurenic acid in human serum and its potential for monitoring antidepressant therapy. *Journal of Analytical Toxicology*, 41(1), 37–44. <https://doi.org/10.1093/jat/bkw071>
 46. Christensen, A. S., Skov, S. H., Lendal, S. E., Hornshøj, B. H. (2020). Quantifying the human milk oligosaccharides 2'-fucosyllactose and 3-fucosyllactose in different food applications by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *Journal of Food Science*, 85(2), 332–339. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15005>
 47. Jalaludin, I., Kim, J. (2021). Comparison of ultraviolet and refractive index detections in the HPLC analysis of sugars. *Food Chemistry*, 365, Article 130514. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130514>
 48. Downes, K., Terry, L. A. (2010). A new acetonitrile-free mobile phase method for LC–ELSD quantification of fructooligosaccharides in onion. *Talanta*, 82(1), 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.04.003>
 49. Hao, Q., Nan, T., Zhou, L., Kang, L., Guo, L., Yu, Y. (2019). Rapid simultaneous quantification of fructooligosaccharides in *Morinda officinalis* by ultra-high performance liquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 42(13), 2222–2223. <https://doi.org/10.1002/jssc.201801287>
 50. Charoenwongpaiboon, T., Sitthiyotha, T., Na Ayutthaya, P. P., Wangpaiboon, K., Chunsriviro, S., Prousoontorn, M. H. et al. (2019). Modulation of fructooligosaccharide chain length and insight into the product binding motif of *Lactobacillus reuteri* 121 inulosucrase. *Carbohydrate Polymers*, 209, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.078>
 51. Cürten, C., Anders, N., Juchem, N., Ihling, N., Volkenborn, K., Knapp, A. et al. (2017). Fast automated online xylanase activity assay using HPAEC–PAD. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 57–69. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0712-0>
 52. Castells, C. B., Arias, V. C., Castells, R. C. (2012). Precolumn derivatization of reducing carbohydrates with 4-(3-Methyl-5-oxo-2-pyrazolin-1-yl) benzoic acid. Study of reaction, high-performance liquid chromatographic separation and quantitative performance of method. *Chromatographia*, 56(3–4), Article 153. <https://doi.org/10.1007/BF02493204>
 53. Kurzyna-Szklarek, M., Cybulska, J., Zdunek, A. (2022). Analysis of the chemical composition of natural carbohydrates – An overview of methods. *Food Chemistry*, 394, Article 133466. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133466>
 54. Lee, H., Cuthbertson, D. J., Otter, D. E., Barile, D. (2016). Rapid screening of bovine milk oligosaccharides in a whey permeate product and domestic animal milks by accurate mass database and tandem mass spectral library. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 64(32), 6364–6374
 55. Kailemia, M. J., Ruhaak, L. R., Lebrilla, C. B., Amster, I. J. (2014). Oligosaccharide analysis by mass spectrometry: A review of recent developments. *Analytical Chemistry*, 86(1), 196–212. <https://doi.org/10.1021/ac403969n>
 56. Wang, J., Zhao, J., Nie, S., Xie, M., Li, S. (2022). MALDI mass spectrometry in food carbohydrates analysis: A review of recent researches. *Food Chemistry*, 399, Article 133968. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133968>
 57. Qu, L., Jiang, Y., Huang, X., Cui, M., Ning, F., Liu, T. et al. (2019). High-throughput monitoring of multiclass syrup adulterants in honey based on the oligosaccharide and polysaccharide profiles by MALDI mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(40), 11256–11261. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05317>
 58. Sabater, C., Prodanov, M., Olano, A., Corzo, N., Montilla, A. (2016). Quantification of prebiotics in commercial infant formulas. *Food Chemistry*, 194, 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.127>
 59. Hiltunen, S., Sirén, H., Heiskanen, I., Backfolk, K. (2016). Capillary electrophoretic profiling of wood-based oligosaccharides. *Cellulose*, 23, 3331–3340. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1011-1>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Юрова Елена Анатольевна — кандидат технических наук, заведующая лабораторией технохимического контроля и арбитражных методов анализа, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-916-651-02-37 E-mail: e_yurova@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3369-5673</p> <p>Ананьева Наталья Валентиновна — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, лаборатория технохимического контроля и арбитражных методов анализа, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-916-076-60-68 E-mail: n_ananyeva@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6113-9207 * автор для контактов</p>	<p>Elena A. Yurova, Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of technochemical control and arbitration methods of analysis, All-Russian Research Institute of Dairy Industry 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7-916-651-02-37 E-mail: e_yurova@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3369-5673</p> <p>Natalia V. Ananyeva, Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Laboratory of technochemical control and arbitration methods of analysis, All-Russian Research Institute of Dairy Industry 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7-916-076-60-68 E-mail: n_ananyeva@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6113-9207 * corresponding author</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>