

УДК 543.545

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УГЛЕВОДОВ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ И ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

© 2023 г. Л. А. Карцова^a, А. В. Малюшевская^{a, *}, Е. А. Колобова^{a, b}

^aСанкт-Петербургский государственный университет

Университетский просп., 26, Петродворец, Санкт-Петербург, 198504 Россия

^bВсероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова МЧС России
ул. Академика Лебедева, 4/2, Санкт-Петербург, 194044 Россия

*e-mail: malushevskaa@gmail.com

Поступила в редакцию 18.07.2022 г.

После доработки 28.07.2022 г.

Принята к публикации 28.07.2022 г.

В обзоре обсуждаются достоинства и ограничения хроматографических и электрофоретических подходов при определении нейтральных углеводов в различных объектах со сложной матрицей, возможность реализации многообразия режимов жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза (в зонном и мицеллярном вариантах), особенности их сочетания с различными вариантами дериватизации, детектирования и пробоподготовки. Обсуждаются условия косвенного детектирования сахаров при введении в подвижную фазу или фоновый электролит различных поглощающих добавок, лигандообменного капиллярного электрофореза и внутрикапиллярного комплексобразования, определение углеводов методами анионообменной и гидрофильной хроматографии.

Ключевые слова: капиллярный электрофорез, высокоэффективная жидкостная хроматография, нейтральные углеводы, дериватизация, косвенное детектирование, лигандообменный капиллярный электрофорез.

DOI: 10.31857/S0044450223020044, EDN: CDPKAN

Углеводы – обширный класс органических веществ, в молекулах которых содержатся гидроксильные и карбонильные группы. Название этого класса соединений происходит от слов “гидраты углерода” (К. Шмидт, 1844 г.): первые из известных науке углеводов описывались брутто-формулой $C_n(H_2O)_m$. Углеводы подразделяют на свободные и связанные, т.е. конъюгаты, соединенные с молекулами других классов соединений. Свободные углеводы, в свою очередь, включают моносахариды (альдозы и кетозы), дисахариды, олигосахариды (восстанавливающие и невосстанавливающие) и полисахариды (гомо- и гетеро-) (рис. 1).

Выделяют и функциональные производные углеводов, выполняющие различные функции в живом организме: дезокси-, amino- и сульфосахара, фосфорные эфиры моносахаридов, глюконовые кислоты, полиолы и иминосахара и т.д., основой которых служат нейтральные природные моносахариды. Из моносахаридов наиболее распространены пентозы и гексозы. В метаболизме живых существ важнейшую роль в развитии, роста, функционирования или выживания организма играют олигосахариды. Они могут быть мише-

нями для распознавания патогенными токсинами и микроорганизмами, подвержены большей внутри- и межвидовой изменчивости из-за взаимодействий хозяина и патогена в ходе эволюции [2, 3]. Неотъемлемыми компонентами многих биологических объектов являются и полисахариды (крахмал, целлюлоза, хитин, инулин и др.).

К связанным углеводам традиционно относят гликопротеины и гликолипиды [2]. Гликопротеины – углеводы, ковалентно связанные с белком в результате реакции гликозилирования, одной из наиболее частых посттрансляционных модификаций в эукариотических клетках [4]. Отдельную группу гликопротеинов представляют протеогликанов. Белковая часть этих молекул гликозилирована. Помимо протеогликанов также выделяют гликозаминогликаны, состоящие из неразветвленной гетерополисахаридной основы, O-гликозилированной серином или триптофаном [5]. К этому классу углеводов относят, например, хондроитин, гепарин и дерматан.

Гликолипиды имеют в структуре как гидрофильные, так и гидрофобные группы, составляют основу клеточных мембран, проявляя поверх-

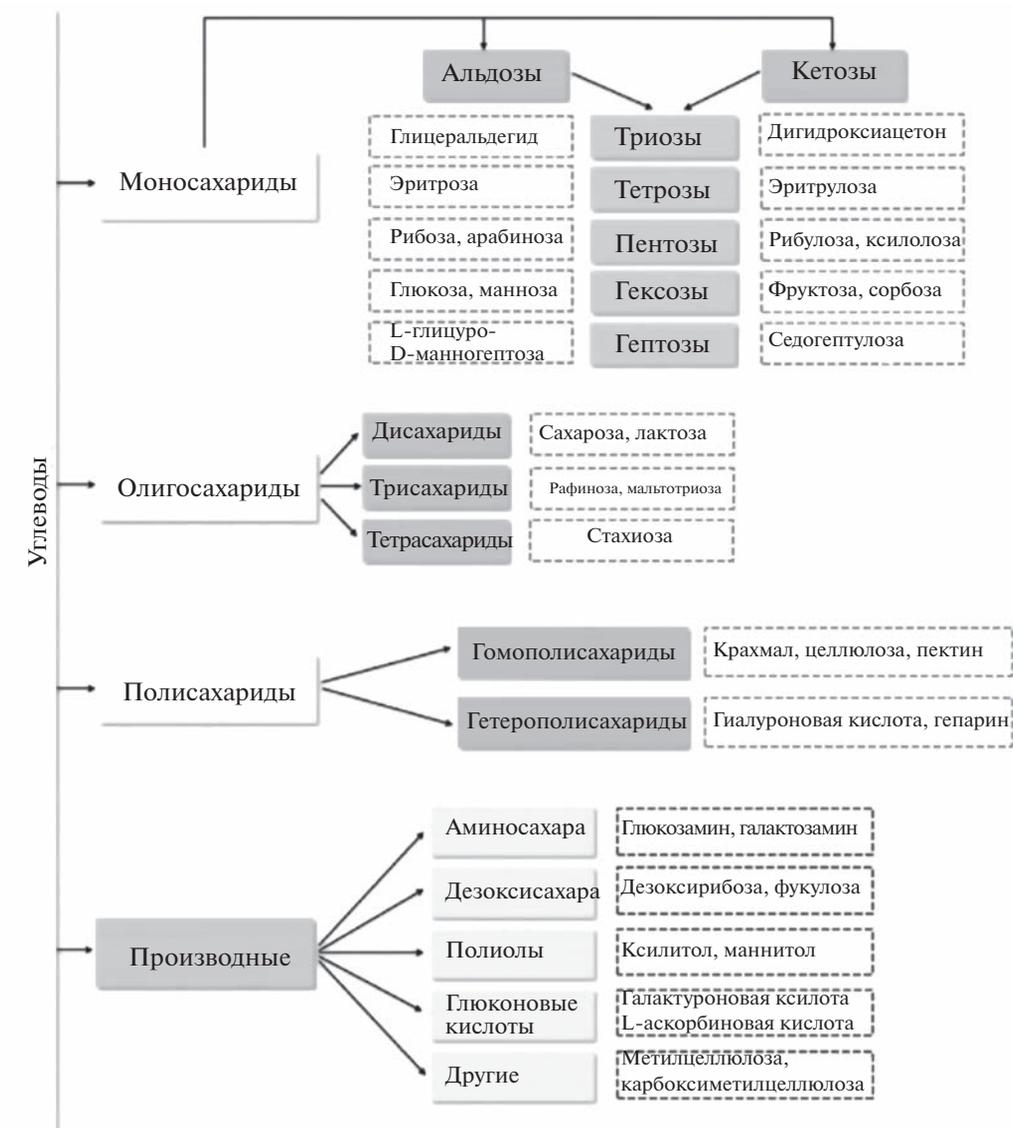


Рис. 1. Общая схема классификации углеводов [1].

ностную активность на границах раздела, обладают такими уникальными свойствами, как низкая токсичность, высокая способность к биологическому разложению, пенообразующая способность и т.д. Выявлен их большой потенциал в медико-биологической области [6].

Особенности структур углеводов приходится учитывать при выборе аналитического метода их определения. Они могут существовать в растворах в виде нескольких равновесных изомерных структур, имеют хиральные центры; в составе их молекул отсутствуют хромофорные группы. Ввиду разнообразия углеводов в живых организмах используют различные методы их определения: химические (титриметрия, гравиметрия, коло-

метрия), физические (поляриметрия, рефрактометрия, денситометрия, ЯМР- и масс-спектрометрия), ферментативные, методы иммуноанализа [7–10]. Несмотря на множество подходов, предложенных для определения сахаров, наиболее востребованы хроматографические и электрофоретические методы, позволяющие разделять сложную многокомпонентную смесь на отдельные аналиты.

Данный обзор посвящен обсуждению возможностей и ограничений различных вариантов жидкостной и газовой хроматографии, а также режимов капиллярного электрофореза при определении нейтральных углеводов.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УГЛЕВОДОВ

Жидкостная хроматография. Поскольку нейтральные углеводы являются гидрофильными соединениями, прямое разделение высокополярных моно- и олигосахаридов предпочтительнее проводить в режиме гидрофильной хроматографии (HILIC – hydrophilic interaction chromatography) [11–14] с применением следующих детектирующих систем: рефрактометрический [15], испарительный светорассеивающий [16, 17] или масс-спектрометрический (МС) [18]. Для этой цели используют полярные колонки с амино-, циано- и диольными группами. Так, при определении олигосахаридов на основе ксилозы, хитозана и альгиновой кислоты на различных типах колонок (Silica, Diol, TSK Amide80, XAmide, Click Maltose, Click β -CD и Click TE-Cys) применяли испарительный светорассеивающий детектор [17]. В работе [19] определяли нейтральные углеводы – полиолы и фосфаты сахаров – в экстракте листьев *Arabidopsis thaliana* с использованием масс-селективного детектора на основе ионной ловушки с электроспрей-ионизацией, а методом HILIC в сочетании с tandemной масс-спектрометрией проводили определение углеводов в экстрактах семян *Moringa oleifera* [18], а также в образцах *Streptococcus thermophilus* после их ферментации [20]. Авторами работы [21] предложена и валидирована HILIC-МС/МС-методика определения лактулозы и маннитола в моче. Соотношение концентраций этих анализов использовано в качестве независимого диагностического показателя (*двойной сахарный тест*) проницаемости кишечника [22].

Вариант HILIC с МС-детектированием применяется и при исследовании профилирования углеводов. Так, в работе [23] на полимерной колонке Aminex HPX-87H, модифицированной аминогруппами, в сочетании с времяпролетной масс-спектрометрией с электроспрей-ионизацией (ESI-TOF) проведено профилирование целлюлозной биомассы после предварительной термохимической обработки для выбора гликозилгидролазы с целью превращения в биотопливо или биохимические продукты.

Проблему размывания хроматографических пиков сахаров на классических полярных неподвижных фазах в условиях HILIC можно преодолеть применением монолитных колонок, обладающих большей удельной поверхностью. Так, авторам работы [24] удалось достичь высокой эффективности при разделении моно- и дисахаридов (рибозы, седогептулозы, глюкозы, сахарозы, мальтозы, трегалозы и раффинозы) в экстрактах растений с использованием силикагелевой монолитной колонки. Пределы обнаружения (ПО) составили 470 аттомоль для сахарозы, трегалозы и

невосстанавливающих дисахаридов. Мальтоза не определялась при концентрации ниже 16 нг/л.

Перспективным направлением при разделении углеводов является использование ионных жидкостей (ИЖ), которые могут быть иммобилизованы на поверхности неподвижной фазы и обеспечить определение моно- и олигосахаридов с высокой эффективностью. Так, достигнуто разделение глюкозы и ксилозы [25] с использованием различных неподвижных фаз на основе имидазолиевых ИЖ и диоксида кремния. Ионные жидкости применяются и для модификации сорбента при твердофазной экстракции углеводов [26] с последующим их определением методом HILIC с рефрактометрическим детектированием. Пределы обнаружения глюкозы, ксилозы, фруктозы и рибозы лежат в диапазоне 0.45–3 мкг/мл. В работе [27] предложена модификация поверхности аминированной полимерной колонки с использованием диглицидилового эфира 1,4-бутандиола, что обеспечило селективное разделение 9 сахаров в течение 12 мин.

Другим режимом жидкостной хроматографии, успешно зарекомендовавшим себя при разделении заряженных аналитов, является высокоэффективная анионообменная хроматография (HPLC – high-performance anion-exchange chromatography), позволяющая определять углеводы без предварительной дериватизации, например моносахариды или N-гликаны, при высоких значениях pH ($\text{pH} > 11$) элюента [28]. Обычно HPLC комбинируют с амперометрическим [29, 30] или рефрактометрическим детектированием [31]. Амперометрическое детектирование широко применяется для обнаружения N-гликопротеинов и реализовано, например, при определении нейтральных углеводов (арабинозы, рамнозы, галактозы, глюкозы, ксилозы и маннозы) в образцах водоросли *Chlorella sorokiniana*; ПО аналитов составили 0.07–0.12 ppm [32]. Рефрактометрическое детектирование применяли при обнаружении лактулозы и маннитола в образцах мочи [33].

Вариант HPLC мало совместим с масс-спектрометрией с электроспрей ионизацией (ESI-MS). Основной проблемой является сильнощелочная среда элюента. Применение обессоливающих мембран позволяет предварительно удалить из пробы мешающие компоненты [32]. Определение глюкозы, фруктозы и сахарозы в образцах меда проводили с использованием HPLC-МС с обессоливающей мембраной, достигнутые значения ПО составили 1.49, 1.19 и 0.46 пмоль соответственно [33].

Несмотря на отсутствие хромофорных групп в молекулах углеводов, их определение возможно и с использованием спектрофотометрического детектирования. В сильнощелочной среде определяемые нейтральные сахара (глюкоза, сахароза и фруктоза) в результате фотоокисления образуют

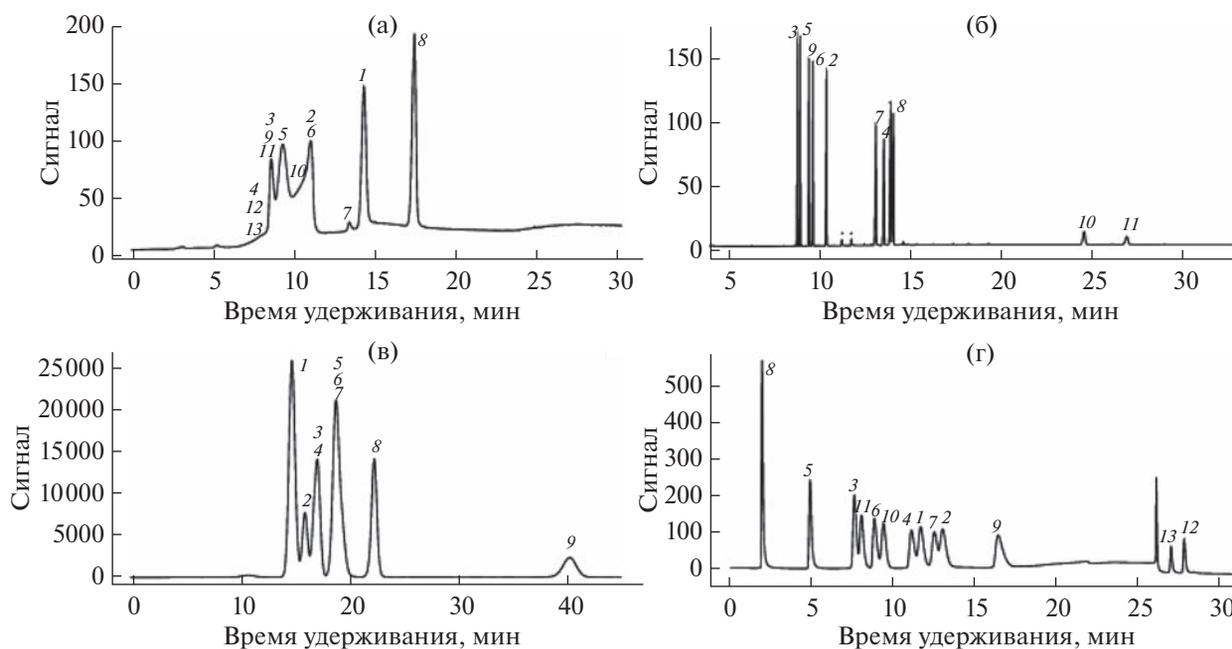


Рис. 2. Хроматограммы модельной смеси моносахаридов, полученные различными методами: А – ВЭЖХ с использованием Prevail™ Carbohydrate колонки; В – ВЭЖХ с использованием Shodex Pb²⁺ колонки; С – ГХ алдитолацетат-derivатов; D – НРАЕС-РАD. Аналиты: 1 – глюкоза, 2 – сиалоза, 3 – рамноза, 4 – галактоза, 5 – фукоза, 6 – арабиноза, 7 – манноза, 8 – мио-инозитол, 9 – рибоза, 10 – глюкозамин, 11 – галактозамин, 12 – глюкоуроновая кислота, 13 – галактуроновая кислота [41].

производные малонового альдегида, поглощающие свет в УФ-области спектра ($\lambda_{\text{max}} = 266 \text{ nm}$), что использовано при определении сахаров в составе фруктовых соков [34].

Наиболее распространенный обращенно-фазовый режим высокоэффективной жидкостной хроматографии (**ОФ ВЭЖХ**) мало приемлем для разделения высокополярных нейтральных углеводов без предварительной их дериватизации с получением более гидрофобных производных [35–39]. Удерживание углеводов на таких колонках можно увеличить за счет образования ионных пар между молекулами сахаров и добавками аминов, например диэтаноламином, введенными в состав подвижной фазы. Показано, что при анализе смесей гликанов эффективность оказалась сопоставимой со значениями, достигнутыми в условиях гидрофильной хроматографии [40]. В работе [41] сопоставлены результаты разделения углеводов на различных колонках в режиме **ОФ ВЭЖХ** с рефрактометрическим детектированием или детектором заряженных аэрозольей, методами **НРАЕС** с амперометрическим детектированием и газовой хроматографии (**ГХ**) с пламенно-ионизационным детектированием после дериватизации алдитолацетатом (рис. 2).

Показано, что полное разделение модельной смеси достигается в условиях **НРАЕС** или после дериватизации методом **ГХ**, что успешно реализовано при определении углеводов в экстрактах

водорослей [41]. Для совместного определения аналитов различной природы и полярности в биологических объектах успешно зарекомендовала себя двумерная жидкостная хроматография, основанная на последовательном разделении сложных смесей с использованием двух хроматографических колонок [42]. Применение различных стационарных фаз для каждой колонки позволяет разделять и идентифицировать большее количество аналитов. Проблемой является поиск условий кондиционирования каждой из колонок, выбор подходящей подвижной фазы, разбавление образцов при последовательном прохождении через колонки. Так, двумерную **ВЭЖХ** применяли при определении низкомолекулярных гепаринов [43, 44]. Исходный анализируемый образец после обработки ферментом гепариназой был разделен на отдельные фракции. Анализ проводили методом **УВЭЖХ-МС** с использованием двух колонок: анионообменной (Ultisil XB-SAX) и эксклюзионной (Waters SEC VEN).

Газовая хроматография. Газовая хроматография является еще одним широко востребованным методом определения углеводов в биологических образцах в силу ее высокой эффективности, экспрессности и возможности совмещения с различными типами детекторов. В подавляющем большинстве случаев необходимо предварительное получение производных углеводов, что обусловлено их низкой летучестью и высокой поляр-

ностью [45]. Наиболее распространенными дериватами углеводов, определяемых методом ГХ, являются ацетаты, триметилсилиловые эфиры и триметилсилилоксимы [46]. Так, разработан [47] способ определения сахарозы в меде, включающий дериватизацию образца уксусным ангидридом с использованием N-метилимидазола в качестве катализатора, концентрирование аналита методом твердофазной микроэкстракции с использованием полиакрилатного волокна с последующим ГХ-МС-анализом. Пределы обнаружения составили 0.3 мас. %. Силилирование позволяет увеличить летучесть исследуемых соединений с использованием одностадийной процедуры дериватизации и провести их определение в биологическом образце (схема 1) [48].

Авторам работы [49] удалось успешно разделить фруктозу, ксилозу, арабинозу, фукозу, маннозу и галактозу, извлеченных из экстрактов *A. asphodeloides* и *G. ganoderma*. Помимо триметилсилильных производных для дериватизации при ГХ-анализе применяют производные пентаацетата альдонитрила, например, при определении глюкозы и галактозы в плазме крови человека (схема 2) [50]. Микроволновая обработка на этапе дериватизации позволила сократить ее продолжительность с 60 до 3–5 мин.

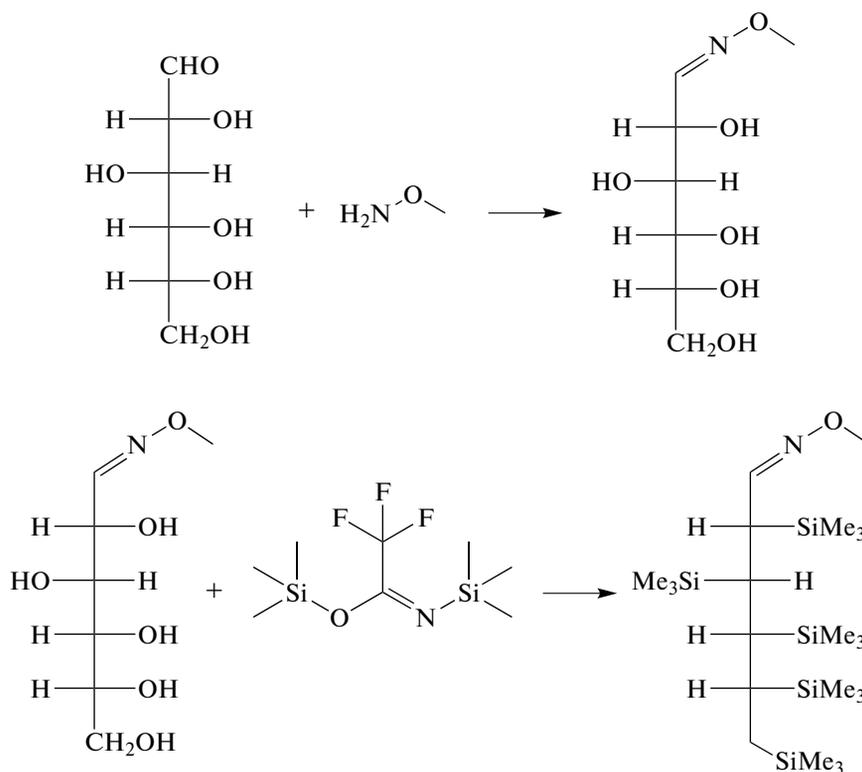


Схема 1. Схема дериватизации углевода с использованием метоксиамин и N,O-бис(триметил)силитрифторацетамида [48].

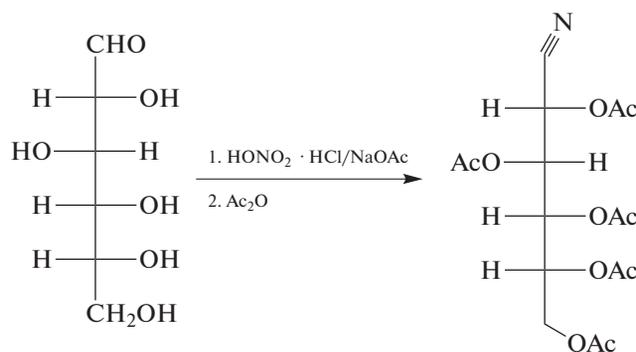


Схема 2. Схема дериватизации углевода с получением пентаацетата альдонитрила [50].

Триметилсилилирование остается наиболее распространенным вариантом получения производных для ГХ-анализа смесей углеводов, обеспечивая определение как нейтральных углеводов,

так и других классов органических соединений. Это, в свою очередь, позволяет в условиях газохроматографического анализа осуществлять метаболическое профилирование, например, при поиске возможных маркеров рака легких у мышей [51]. Выявлены [51, 52] возможности различных силилирующих агентов при определении моно- и дисахаридов в пищевых продуктах. Отмечено, что наиболее предпочтителен N,O-бис(триметил)силилтрифторацетамид за счет сокращения времени анализа и снижения количества возможных побочных продуктов. Разработаны также автоматизированные системы получения триметилсилильных производных, которые применялись при определении нейтральных сахаров (арабинозы и фруктозы) наряду с органическими кислотами и аминокислотами в образцах вина [53].

Газовая хроматография, несмотря на необходимость предварительного получения соответствующих производных, является одним из наиболее эффективных методов определения нейтральных углеводов благодаря высокой чувствительности и эффективности. Однако способы дериватизации не являются селективными по отношению к углеводам, поэтому в многокомпонентной смеси нельзя исключить наложения нескольких сигналов. Применение масс-спектрометрического детектирования позволяют существенно улучшить идентификацию [54, 55].

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА

Капиллярный электрофорез (КЭ) хорошо зарекомендовал себя как эффективный метод разделения, в первую очередь, заряженных частиц. Поскольку pK_a нейтральных углеводов в общем случае выше 12, их электрофоретическое разделение возможно лишь при высоких значениях pH фонового электролита (ФЭ) для перевода данных аналитов в анионную форму.

Так, моно- и дисахариды разделены с использованием в качестве ФЭ раствора гидроксида натрия с амперометрическим [56] и кондуктометрическим [57] детектированием. Сообщается [58] о селективном электрофоретическом определении углеводов в образцах красного и белого вина с масс-спектрометрическим детектированием. Применение спектрофотометрических детекторов для прямого обнаружения сахаров ограничено, поскольку в составе молекул этих аналитов отсутствуют хромофорные группы. Однако установлено, что при высоких значениях pH в ячейке детектирования происходит их фотоокисление с образованием малонового альдегида и других низкомолекулярных соединений, поглощающих свет при 268 нм [59–62], что обеспечивает возможность определения сахаров в соках и винах с пределами

обнаружения 0.02–0.05 мМ, а также в растительных волокнах [63] и олигомерах целлодекстринов [64].

Сообщается [65] о целевом электрофоретическом профилировании углеводов в водных экстрактах сосны и ели в зависимости от времени экстракции с прямым УФ-детектированием. Основываясь на миграции модельных соединений (фурфурол, инозитол, сахароза, глюкоза, полидактин и глюкуроновая кислота), на электрофореграммах выделили три группы аналитов: производные фурана и сахароспирты, моно- и дисахариды и уроновые кислоты. Определению сахаров в виноградных листьях и почках методом капиллярного зонного электрофореза с использованием 130 мМ раствора NaOH (pH 13.0) в качестве фонового электролита посвящена публикация [66].

Другой подход к определению углеводов методом КЭ – косвенное детектирование [67] с введением в ФЭ поглощающих в УФ-области спектра добавок: сорбиновой [68–70], 1-нафтилуксусной [71, 72], бензойной [73], 3,5-динитробензойной [74], 2,6-пиридиндикарбоновой кислот (ПДКК) [75–77], триптофана [77, 78], глицилглицина [79]. При таком подходе возможно также детектирование неорганических анионов, карбоновых и аминокислот, что может оказаться как достоинством предлагаемого варианта анализа, так и ограничением, затрудняя определение минорных концентраций углеводов [76] (рис. 3). Для сахаров пределы определения составили десятки мкг/мл.

Предложен [77] экспрессный электрофоретический вариант анализа смеси сахаров, содержащей девять моно- и олигосахаридов, в сильнощелочном (pH > 12) растворе с косвенным УФ-детектированием (280 нм). Пределы обнаружения составили несколько фемтомолей. Для сокращения времени анализа и увеличения селективности разделения нейтральных углеводов применяют различные катионные детергенты: цетилтриметиламмония бромид [75] или гидроксид [76, 77], миристилтриметиламмония бромид [72], гексадиметрина бромид [69, 70]. Модифицируя стенки капилляра, они ослабляют и обращают электроосмотический поток (ЭОП). Интересный вариант с использованием имидазолиевых ионных жидкостей предложен для определения моно- и дисахаридов (глюкозы, фруктозы и сахарозы) в овощных соках [81]. Так, 1-додецил-3-этилимидазолия хлорид использовали не только для обращения ЭОПа, но и в качестве поглощающей добавки ($\lambda_{det} = 207$ нм) для обеспечения режима косвенного детектирования.

Поиск новых хромофорных добавок в фоновый электролит весьма актуален при решении задач обнаружения и определения нейтральных углеводов косвенным детектированием. Идеальный хромофорный агент должен характеризоваться высо-

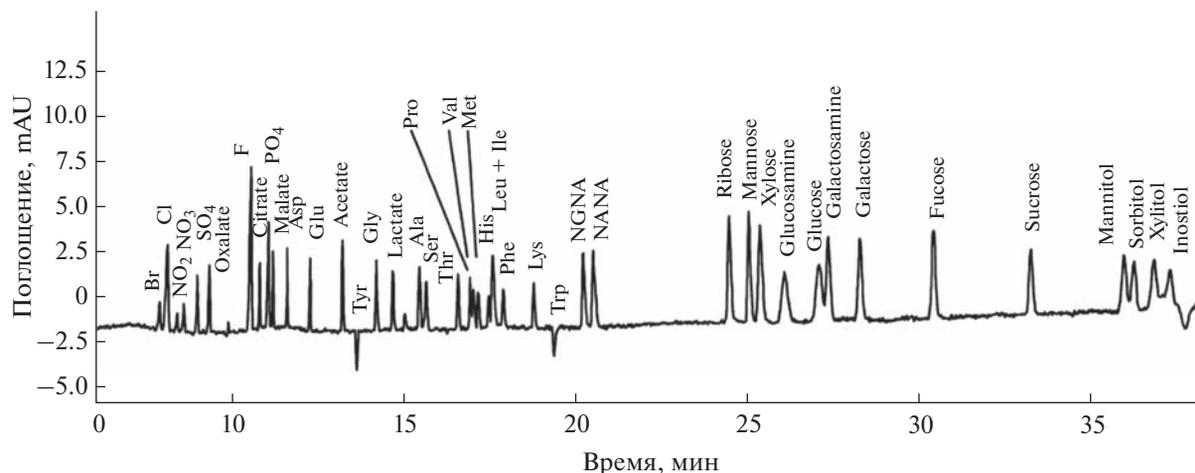


Рис. 3. Разделение неорганических и органических анионов, аминокислот и углеводов. Условия: кварцевый капилляр $L_{\text{tot}} = 112.5$ см ($L_{\text{eff}} = 104$ см), внутренний диаметр 50 мкм; фоновый электролит: 20 мМ 2,6-пиридинкарбоновая кислота, 0.5 мМ ЦТАБ (цетилтриметиламмоний бромид), рН 12.1; 15°C; напряжение –30 кВ; гидродинамический ввод пробы в течение 6 с, давление – 50 мбар; детектирование: 350 нм; 230 нм. Концентрации: Cl^- – 110 мг/л, углеводы – 200 мг/л, остальные – 50 мг/л [75].

ким коэффициентом поглощения и обладать электрофоретической подвижностью, близкой к подвижности определяемых аналитов.

Весьма успешными при определении сахаров в различных объектах являются подходы, основанные на процессах комплексообразования с компонентами фонового электролита, например боратами, что обеспечивает перевод углеводов в анионную форму и расширяет аналитические возможности метода КЭ. При использовании таких фоновых электролитов сахара могут быть превращены *in situ* в анионные боратные комплексы. Их стабильность обусловлена положением гидроксильных групп, участвующих в комплексообразовании: для циклических аналитов только вицинальные группы с *цис*-конфигурацией могут формировать стабильные комплексы; для полиолов предпочтительнее *цис*-1,2-диоли [82, 83]. Устойчивость подобных комплексов возрастает при увеличении числа гидроксильных групп и зависит от рН ФЭ. Существенно, что УФ-поглощение таких комплексов заметно увеличивается при 195 нм, что обеспечивает их обнаружение [74].

Хорошо известно, что полиолы образуют хелатные комплексы и с ионами металлов [84]. Лигандообменный КЭ с участием ионов меди(II) реализован при анализе красного вина, цветочного меда и грейпфрутового сока [79, 85]. Предложены варианты разделения и обнаружения нейтральных углеводов за счет комплексообразования с солями меди(II) в режиме лигандообменного капиллярного электрофореза (ЛОКЭ) [72, 86]. В аммиачных растворах ион Cu^{2+} координирует четыре молекулы аммиака и две молекулы воды

($[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})_2]^{2+}$). Хелатирование с углеводами возможно только при высоких значениях рН фонового электролита. Формирующиеся связи металл–лиганд обладают повышенным поглощением в УФ-диапазоне, которое bathochromно смещено по сравнению с первоначальным комплексом. Таким образом достигнуто разделение трех сахаров (сахарозы, рибозы и глюкозы) с высокой эффективностью (200 тыс. т.т./м) при прямом детектировании при длине волны 245 нм [86, 87]. Установлено, что чувствительность в режиме ЛОКЭ ограничена разницей в поглощении между хелатным комплексом углеводов–Cu(II) и $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4(\text{OH}_2)_2]^{2+}$, а пределы обнаружения оказались в три раза выше по сравнению с косвенным детектированием [72].

В условиях ЛОКЭ возможно совместное с углеводами обнаружение и определение неорганических катионов и аминокислот (рис. 4) [86]. Более подробно особенности метода ЛОКЭ и его аналитические возможности обсуждаются в обзоре [87].

Перспективными способами электрофоретического определения углеводов являются варианты с применением внутрикапиллярной дериватизации [88–93]. Так, предложен [88] подобный подход, основанный на взаимодействии аналитов с флуоресцентным агентом 7-амино-1,3-нафталиндисульфоновой кислотой. В качестве модельных аналитов выбраны ксилоза, фуккоза, глюкоза, N-ацетилглюкозамин и лактоза. В качестве внутрикапиллярного дериватирующего реагента для определения глюкозы в плазме крови применяли *n*-гидразинбензолсульфоновую кислоту [89]. Предел обнару-

жения составил 31.2 мкМ. В работе [90] внутри-капиллярная дериватизация олигосахаридов

проведена с использованием 1-фенил-3-метил-пиразолона (схема 3).

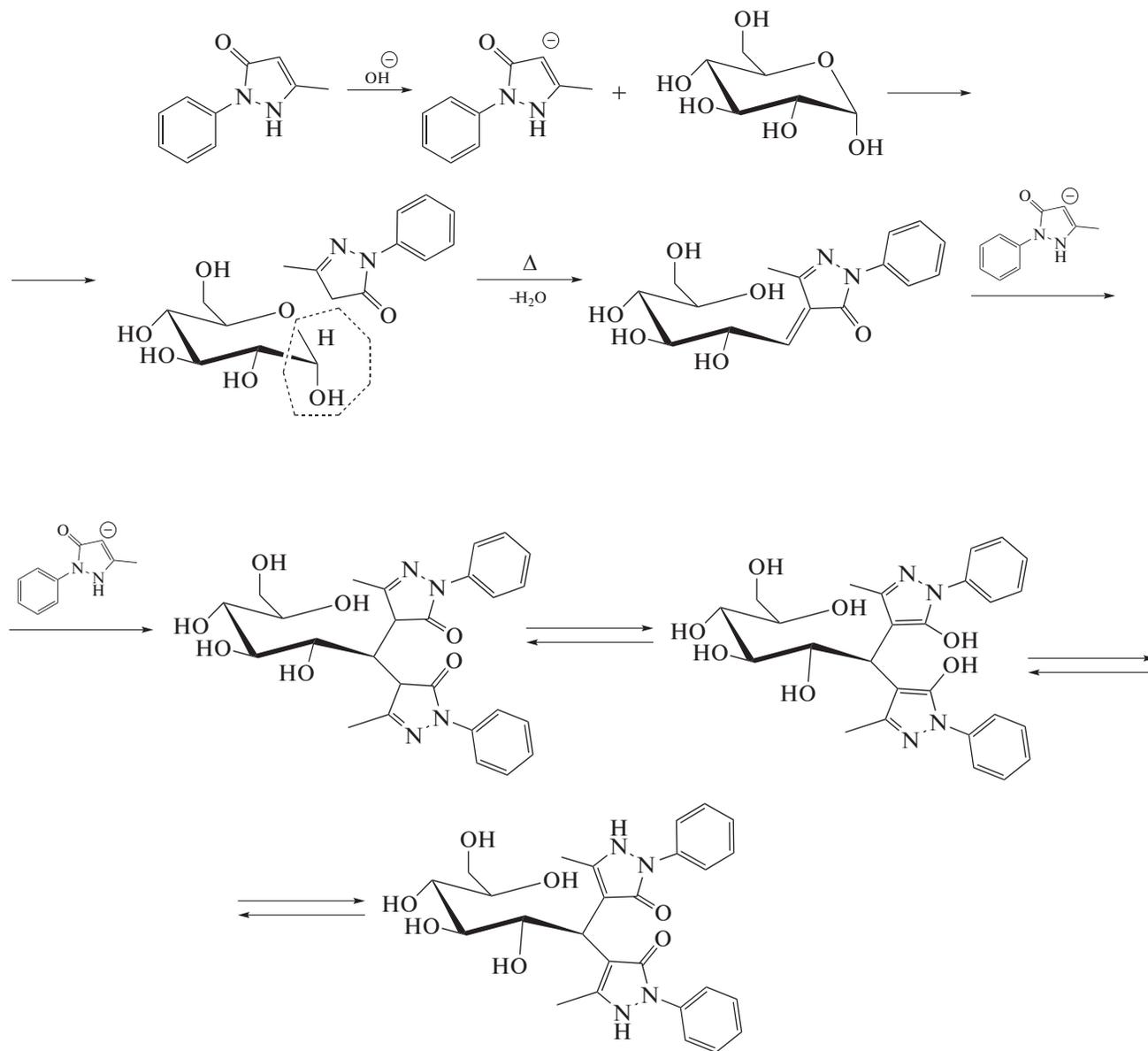


Схема 3. Схема дериватизации углеводов с использованием 1-фенил-3-метил-5-пиразолона [90].

Предложена система мониторинга уровня глюкозы в крови человека с использованием микроципового электрофореза. Сочетание восстановительного аминирования глюкозы флуоресцентным 2-аминоакридоном и образования комплекса глюкоза–борат обеспечило высокоселективное обнаружение глюкозы в такой сложной матрице, как образцы крови [92]. Обсуждаются [93] условия внутрикапиллярной дериватизации и последующего прямого УФ-детектирования (270 нм) в соках лимона, ананаса, апельсина и пробе коньяка нейтральных углеводов: ксилита, D-(–)-маннита, са-

харозы, D-(+)-фукозы, D-(+)-целлобиозы, D-(+)-галактозы, D-(+)-глюкозы, L-рамнозы, D-(+)-маннозы, D-(–)-арабинозы, D-(+)-ксилозы и D-(–)-рибозы. Воспроизводимость времен миграции составила от 0.3 до 1.1%. При этом не требовалось другой пробоподготовки, кроме разбавления анализируемой пробы.

Метод капиллярного электрофореза применяется и при разделении производных углеводов после дериватизации на стадии пробоподготовки. В качестве фонового электролита преимущественно применяют боратные буферные раство-

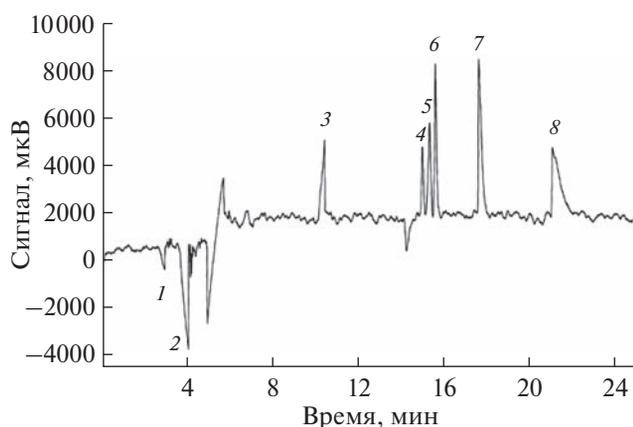


Рис. 4. Совместное определение сахаров, неорганических катионов и аминокислот в условиях ЛОКЭ. Условия: кварцевый капилляр $L_{\text{tot}} = 73$ см ($L_{\text{eff}} = 50$ см), внутренний диаметр 50 мкм; фоновый электролит: 7.5 мМ CuSO_4 , 500 мМ NH_3 , pH 11.6; 25 кВ; 245 нм. Аналиты: 1 – K^+ , 2 – Na^+ , 3 – глутамин, 4 – сахароза, 5 – рибоза, 6 – глюкоза, 7 – аспартат, 8 – глутамат [86].

ры, обеспечивая дополнительное комплексообразование с аналитами, что, в свою очередь, приводит к увеличению селективности разделения [94]. В ряде исследований разделение дериватов проводили в режиме мицеллярной электрокинетической хроматографии (МЭКХ) с использованием в качестве псевдостационарной фазы додецилсульфата натрия [94], холевой кислоты [95], цетилтриметиламмония бромида при определении фруктозы, глюкозы, мальтозы, мальтотриозы, лактозы и сахарозы в злаках и молочных продуктах [96]. В работе [94] удалось достичь разделения глюкозы и фруктозы в форме 4-аминобензонитрильных производных методом МЭКХ, что в условиях зонного варианта КЭ оказалось невозможным.

Основные реагенты дериватизации и условия разделения производных рассмотрены в следующем разделе.

ПРОБОПОДГОТОВКА

При выполнении пробоподготовки природного объекта к хроматографическому или электрофоретическому определению углеводов требуется учитывать природу и концентрацию соответствующих моносахаридов, наличие различных изомерных структурных форм и конъюгатов и др. [97–99]. Основные этапы включают извлечение из матрицы растворимых полисахаридов, их гидролиз, дериватизацию с последующим хроматографическим или электрофоретическим анализом. Гидролиз полисахаридов проводят обычно с использованием серной или трифторуксусной

кислот. Ускорению гидролиза способствует микроволновая обработка.

Наиболее распространенными приемами пробоподготовки для очистки образца со сложной матрицей являются фильтрация, экстракция, хроматографическое разделение и химическая либо биологическая обработка пробы. В подавляющем большинстве случаев для извлечения и очистки нейтральных углеводов применяют различные варианты экстракции: жидкостная, твердофазная, сверхкритическая флюидная или жидкостная экстракция под давлением. В случае жидкостной экстракции наиболее часто в качестве экстрагентов используют воду и низкомолекулярные спирты [100] либо такие органические растворители, как диметилсульфоксид [101]. Имеются публикации, где роль экстрагента выполняют ионные жидкости [102]. Эффективность экстракции возрастает с применением микроволнового излучения [103]. Применение сверхкритической жидкостной экстракции для выделения углеводов пока остается ограниченным, поскольку их растворимость в наиболее распространенном в этом методе пробоподготовки сверхкритическом CO_2 оказывается достаточно низкой. Предприняты попытки увеличить их растворимость добавлением смеси этанол–вода для выделения из образца углеводов, синтезированных бактериями–пробиотиками [104, 105]. Для жидкостной экстракции под давлением чаще всего в качестве экстрагента используют воду, обеспечивая разделение углеводов на фракции в зависимости от их молекулярной массы [106–109]. Так, с помощью жидкостной экстракции под давлением получены фракции образцов меда, содержащих ди- и трисахариды [108]. Твердофазная экстракция по-прежнему остается наиболее востребованным вариантом пробоподготовки. Для этой цели используют обращенно-фазовые (C8 и C18) картриджи, ионообменные сорбенты либо графитированный углерод [110–112].

В работе [113] предложено частично заполнять кварцевый капилляр карбоксилированными одностенными углеродными нанотрубками при электрофоретическом определении глюкозы, мальтозы и фруктозы. Наночастицы удерживают примесные компоненты матрицы. Электрофоретическое разделение углеводов осуществляли с использованием 200 мМ боратного буферного раствора (pH 9.5; 15 кВ). Перед вводом анализируемого образца в капилляр в течение 60 с вводили суспензию углеродных нанотрубок (50 мг/л в 300 мМ боратном буферном растворе).

Среди хроматографических методов для пробоподготовки образцов, содержащих углеводы, наибольшее распространение получила эксклюзионная хроматография. Время элюирования различных компонентов зависит от соотношения

Таблица 1. Определение нейтральных углеводов с применением различных вариантов гидролиза

Вариант гидролиза	Аналиты	Литература
Гидролиз трехфторуксусной кислотой	Нейтральные и кислые углеводы	[116], [117]
Метанолиз	Гетерополисахариды	[118]
Гидролиз неорганическими кислотами (H ₂ SO ₄ или HCl)	Нейтральные углеводы	[119]
Формолиз	Нерастворимые в воде полисахариды	[120]

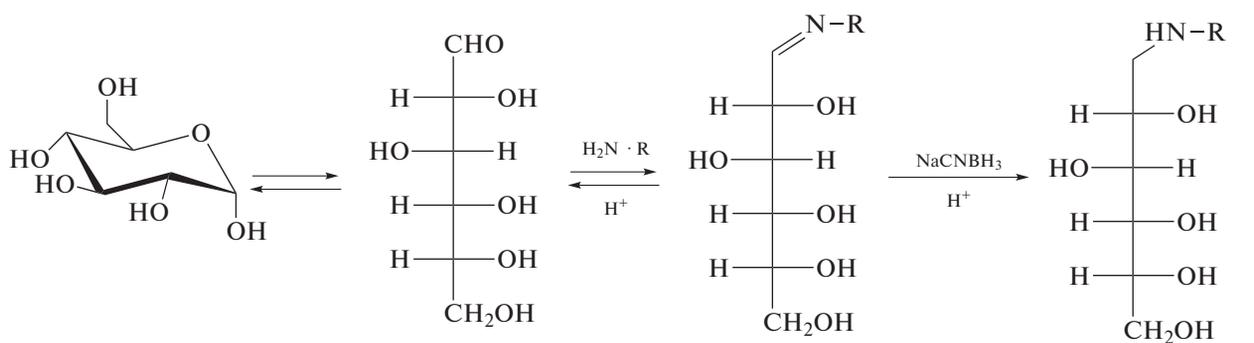
между размером их молекул и размером пор выбранной стационарной фазы. Это может быть полезно в случае необходимости выделять моно- или олигосахариды из образца, содержащего углеводы с различной степенью поликонденсации [114]. Биологическая обработка образцов для анализа смесей углеводов применяется реже, однако описано использование дрожжей для удаления моносахаридов из образцов меда, в которых требовалось установить содержание олигосахаридов [115].

В качестве методов пробоподготовки с применением химических реагентов обычно рассматриваются варианты разложения проб под действием кислот и органических растворителей (табл. 1). Кислотный гидролиз применяется для разрушения полисахаридов и их определения в образцах почвы [116, 117]. Для определения содержания ксилозы, рамнозы, маннозы, фукозы и галактозы полисахариды, присутствующие в образцах почвы, гидролизовали при 100°C в течение 4 ч до моносахаридов путем добавления трифторуксусной кислоты непосредственно в почву. Полученные моносахариды количественно дериватизировали этиловым эфиром 4-аминобензойной кислоты с восстановительным аминированием цианоборгидридом натрия и разделяли методом мицеллярной электрокинетической хроматографии с УФ-детектированием при 300 нм [117].

Метанолиз является более мягким способом расщепления полисахаридов и предложен, например, для определения компонентов лигноцеллюлоз в различных растительных объектах [118].

Формолиз обычно используется при определении сложных углеводов, нерастворимых в горячей воде [120].

Необходимым этапом пробоподготовки является дериватизация, позволяющая изменить свойства углеводов и обеспечить их обнаружение выбранным методом. Предложено немало дериватизирующих агентов [121, 122] с введением в состав молекул углеводов хромофорных или флуорофорных групп. При этом желательно, чтобы реакция протекала с участием одной функциональной группы аналита, исключая тем самым образование нескольких продуктов. Более того, выбранный вариант получения производных должен быть воспроизводимым и характеризоваться высокой конверсией. Весьма распространена дериватизация путем восстановительного аминирования. В таких реакциях подходящие хромофоры или флуорофоры, несущие первичную аминогруппу, взаимодействуют с карбонильной группой восстанавливающих сахаров в присутствии цианоборогидрида натрия (схема 4) [123].



D-глюкоза, конформация “кресла” D-глюкоза, ациклическая форма Основание Шиффа Вторичный амин

R – хромофор или флуорофор

Схема 4. Схема восстановительного аминирования сахаров на примере глюкозы [123].

Таблица 2. Реагенты дериватизации и условия хроматографического и электрофоретического определения нейтральных углеводов

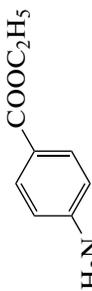
Реагент дериватизации	Метод	Аналиты	Образец	ПО	Литература
 Этил- <i>p</i> -аминобензоат	КЗЭ-УФ (305 нм); ФЭ: 450 мМ боратный буферный р-р, рН 9.94	Целлобиоза, ксилоза, глюкоза, манноза, арабиноза и галактоза	Бумага	35–72 мг/л	[124]
	КЗЭ-УФ 305 нм; ФЭ: 450 мМ боратный буферный р-р, рН 9.7	Ликсоза, ксилоза, рибоза, арабиноза, гулоза, талоza, глюкоза, манноза, идоза, аллоза, альтроза, галактоза	Смесь стандартов	–	[125]
	КЗЭ-УФ 280 нм; ФЭ: 500 мМ боратного буферного р-ра, 20% MeOH, 0.001% гексадимет- ринбромид; рН 10.0	Галактоза, фукоза, арабиноза, манноза, фруктоза, глюкоза, лактоза, рибоза, сорбоза, ксилоза, мелибиоза, целлобиоза, ликсоза, мальтоза, рамноза, мальтотетроза, генциобиоза	Гидролизат листьев плюща	1 ppm	[131]
	ОФ ВЭЖХ-УФ (254 нм)	Мелибиоза, лактоза, изомальтоза, генциобиоза целлобиоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, манноза, арабиноза, рибоза, ксилоза, фукоза, рамноза	Смесь стандартов	–	[132]
	НРАЕС амперометрическ. детектирование	Фукоза, рамноза, арабиноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, фруктоза, рибоза	Смесь стандартов	0.1–0.2 мкг/мл	[133]
	ОФ ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием (250–350 нм)			0.3–1.0 мкг/мл	

Таблица 2. Продолжение

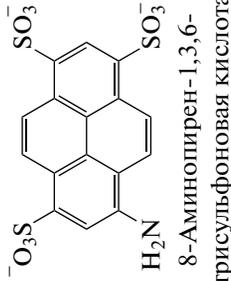
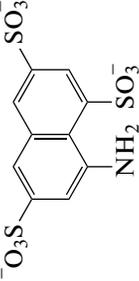
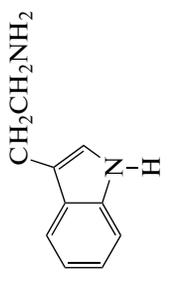
Реагент дериватизации	Метод	Аналиты	Образец	ПО	Литература
 <p>8-Аминопирен-1,3,6-трисульфоновая кислота</p>	<p>КЗЭ флуориметрическое детектирование (экс: 488 нм; эм: 520 нм); ФЭ: 100 мМ боратный буферный р-р; рН 10.2</p> <p>КЗЭ, флуориметрическое детектирование (экс: 488 нм; эм: 520 нм); ФЭ: 25 мМ ацетатный буферный р-р (рН 2.4) + 0.4% полиэтиленоксида; МС-детектирование; ФЭ: 0.3 об. % муравьиной кислоты, рН 2.4</p>	<p>Рамноза, манноза, глюкоза, фруктоза, ксилоза, фукоза, галактоза</p> <p>Профилирование олигосахаридов</p>	<p>Смесь стандартов</p> <p>Грудное молоко</p>	<p>–</p> <p>–</p>	<p>[134]</p> <p>[135]</p>
 <p>8-Аминонафталин-1,3,6-трисульфоновая кислота</p>	<p>КЗЭ, флуориметрическое детектирование (экс: 488 нм; эм: 520 нм); ФЭ: 240 мМ боратный буферный р-р, рН 9.0</p> <p>КЗЭ, флуориметрическое детектирование (экс: 370 нм; эм: 520 нм) и УФ-детектирование (214 нм); ФЭ: 200 мМ фосфатный буферный р-р, рН 2.0</p>	<p>Манноза, глюкоза, фукоза галактоза, ксилоза</p> <p>Глюкоза, мальтоза, олигосахариды</p>	<p>Гидрилизаты б'-сиалил-N-ацетиллактозамина и гликаны бычьего фетуина</p> <p>Смесь стандартов</p>	<p>50 пМ</p> <p>–</p>	<p>[136]</p> <p>[137]</p>
 <p>Триптамин</p>	<p>КЗЭ-УФ, КЗЭ-МС полиакриламидное покрытие; ФЭ: уксусная кислота (0.15 мМ) – муравьиная кислота (0.06 мМ)</p> <p>МЭКХ-УФ (220 нм); ФЭ: 25 мМ холевая кислота, 100 мМ борат, 2% 1-пропанола, рН 9.7</p>	<p>Глюкоза, мальтоза и неразветвленные мальтоолигосахариды</p> <p>Рамноза, целлюлоза, ксилоза, арабиноза, глюкоза, манноза, фукоза, галактоза, целлобиоза, мелибиоза</p>	<p>Декстрин-15</p> <p>Экстракты растений</p>	<p>–</p> <p>50 пМ</p>	<p>[138]</p> <p>[95]</p>

Таблица 2. Продолжение

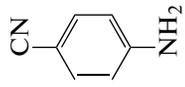
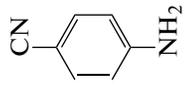
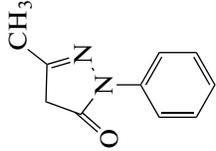
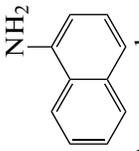
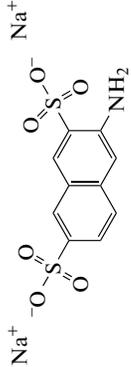
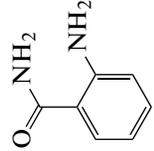
Реагент дериватизации	Метод	Аналиты	Образец	ПО	Литература
 2-Аминобензойная кислота	КЗЭ-УФ (214 нм); ФЭ: 150 мМ борат натрия, 50 мМ фосфат натрия, рН 7	Рибоза, фукоза, глюкоза, манноза, галактоза	Смесь стандартов	–	[126] [139]
	ОФ ВЭЖХ флуориметрическое детектирование (экс: 360 нм; эм: 425); МС-детектирование	Глюкоза, галактоза, манноза, ксилроза, рибоза, фукоза, рамноза	Гликаны улитки	–	[127]
 2-Аминобензонитрил	НРАЕС-УФ (328 нм)	Ксилроза, галактоза, глюкоза, арабиноза	Растения	–	[128]
	ОФ ВЭЖХ флуориметрическое детектирование (экс: 360 нм; эм: 425)	Галактоза, глюкоза, манноза, фукоза	Клетки яичника китайского хомячка	–	[140]
	ОФ ВЭЖХ флуориметрическое детектирование (экс: 360 нм; эм: 425)	26 моноолигосахаридов	Гликаны улитки	65 фМ	[141]
 2-Аминобензонитрил	КЗЭ-УФ (280 нм); ФЭ: 500 мМ борат, 5% <i>n</i> -пропанола, 5% метанола, 0.001% гексаниме-тринбромид, рН 10.5	Галактоза, фукоза, арабиноза, манноза, фруктоза, глюкоза, лактоза, рибоза, сорбоза, ксилроза, мелибиоза, целлобиоза, ликсоза, мальтоза, рамноза, мальтотетроза, генциобиоза	Гидролизат листьев плюща	0.6 ppm	[131]

Таблица 2. Окончание

Реагент дериватизации	Метод	Аналиты	Образец	ПО	Литература
 1-Фенил-3-метил-5-пиразолон	ОФ ВЭЖХ; HPLC-УФ (248 нм); светорассеивающий детектор	Манноза, рибоза, мальтоза, лактоза, глюкоза, галактоза, ксилоза	Смесь стандартов	2.01–3.89 мкг/мл 38.32–43.26 мкг/мл	[142]
	ОФ ВЭЖХ-УФ (245 нм)	Манноза, рибоза, рамноза, глюкоза, ксилоза, галактоза, арабиноза, фукоза	Профилирование агроиндустриальных выбросов	1.17–4.83 мкг/мл	[129]
 1-Аминонафталин	ОФ ВЭЖХ-УФ (245 нм)	26 моно- и олигосахаридов	Гликаны улитки	65 фМ	[142]
	HPLC-МС	Манноза, рибоза, рамноза, глюкоза, ксилоза, галактоза, фукоза	Экстракты растений	0.06–0.20 нг/мл	[143]
 2-Аминоантрацен	ОФ КЭХ с УФ-детектированием 214 нм; ФЭ: 17.5 мМ борная кислота, рН 10, 65% ацетонитрила	Профилирование олигосахаридов	Пиво	–	[144]
	ОФ КЭХ-УФ (214 нм); ФЭ: 10 мМ дигидрофосфат натрия, рН 6.0, 80% ацетонитрила				
 3-Амино-2,7-нафталиндисульфоновая кислота	ОФ ВЭЖХ флуориметрическое детектирование (экс: 260 нм, эм: 440 нм)	Глюкоза, галактоза, манноза, ксилоза, арабиноза	Морская вода	1.2–10.8 нМ	[145]
 2-Аминобензамид					

В качестве дериватирующих реагентов, участвующих в восстановительном аминировании, применяют аминокислоты и их эфиры [124–128]. Для электрофоретического разделения необходимо получать дериваты, имеющие ионогенную аналитическую форму. Так, в работе [128] в качестве реагента для дериватизации используют сульфатированные ароматические амины. В ряде публикаций для получения производных используют конденсацию между карбонильной группой восстанавливающих углеводов и активными атомами водорода 1-фенил-3-метил-5-пиразолона, что успешно применяется как в хроматографическом [129], так и в электрофоретическом анализе [90]. Фенилгидразины применяют в качестве агентов для дериватизации восстанавливающих сахаров с образованием производных, обеспечивающих высокую чувствительность и при МС- и УФ-детектировании [130].

Некоторые примеры агентов дериватизации и условия их использования представлены в табл. 2.

* * *

Рассмотрены возможности и ограничения определения нейтральных углеводов в объектах природного происхождения методами хроматографии и электрофореза. Низкие константы ионизации, отсутствие хромофорных групп в составе молекул сахаров, наличие в водных растворах нескольких равновесных изомерных структур — главные проблемы при определении этих аналитов. Один из важнейших этапов пробоподготовки углеводов к анализу различными физико-химическими методами — получение соответствующих производных. Доминирующими тенденциями в выборе стратегии при определении сахаров в объектах со сложной матрицей является применение различных методов ГХ и ВЭ-ЖХ с масс-спектрометрическим детектированием и с получением производных. Значительная роль при решении этих задач отводится методам анионообменной и гидрофильной хроматографии. Электрофоретические методы имеют свою нишу за счет их высокой эффективности, возможности онлайн концентрирования и внутрикапиллярной дериватизации. При этом методы капиллярного электрофореза (зонный и мицеллярный варианты) могут выступать и в качестве референтных по отношению к хроматографическим. Поиск новейших и высокоселективных дериватирующих агентов — одна из приоритетных задач при разработке как электрофоретических, так и хроматографических способов определения нейтральных углеводов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (номер гранта 19-13-00370).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Wieczinska P., Zurawska A., Falkowski P., Jeong D.Y., Szafran M.* Sweet ceramics: How saccharide-based compounds have changed colloidal processing of ceramic materials // *J. Korean Ceram. Soc.* 2020. V. 57. № 3. P. 231.
<https://doi.org/10.1007/S43207-020-00036-X>
2. *Gerwig G.J.* The Art of Carbohydrate Analysis. Groningen: Springer, 2021.
<https://doi.org/10.1007/978-3-030-77791-3>
3. *Varki A.* Biological roles of oligosaccharides: All of the theories are correct // *Glycobiology.* 1993. V. 3. № 2. P. 97.
<https://doi.org/10.1093/GLYCOB/3.2.97>
4. *Varki A.* Biological roles of glycans // *Glycobiology.* 2017. V. 27. № 1. P. 3.
<https://doi.org/10.1093/GLYCOB/CWW086>
5. *Gandhi N.S., Mancera R.L.* The Structure of glycosaminoglycans and their interactions with proteins // *Chem. Biol. Drug Des.* 2008. V. 72. № 6. P. 455.
<https://doi.org/10.1111/J.1747-0285.2008.00741.X>
6. *Cortés-Sánchez A., Hernández-Sánchez H., Jaramillo-Flores M.E.* Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: New trends and possible therapeutic alternatives // *Microbiol. Res.* 2013. V. 168. № 1. P. 22.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.07.002>
7. *Niaz K., Khan F., Shah M.A.* Analysis of carbohydrates (monosaccharides, polysaccharides) / *Recent Advances in Natural Products Analysis* / Eds. Nabavi S.M., Saedi M., Nabavi S.F., Silva A.S. Amsterdam: Elsevier, 2020. P. 621.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00018-4>
8. *Geijtenbeek T., Torensma R., van Vliet S., van Duinhoven G., Adema G., Kooyk Y., Figdor C.* Identification of DC-SIGN, a novel dendritic cell-specific ICAM-3 receptor that supports primary immune responses // *Cell.* 2000. V. 100. P. 575.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80693-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80693-5)
9. *Kapaev R., Egorova K., Toukach P.* Carbohydrate structure generalization scheme for database-driven simulation of experimental observables, such as NMR chemical shifts // *J. Chem. Inf. Model.* 2014. V. 54. № 9. P. 2594.
<https://doi.org/10.1021/ci500267u>
10. *Varki A., Freeze H.H., Manzi A.E.* Preparation and analysis of glycoconjugates / *Current Protocols in Molecular Biology.* Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2009. P. 1.
<https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1700s88>
11. *Карцова Л.А., Бессонова Е.А., Сомова В.Д.* Гидрофильная хроматография // *Журн. аналит. химии.* 2019. Т. 74. № 5. P. 323. (*Kartsova L.A., Bessonova E.A., and Somova V.D.* Hydrophilic interaction chromatography // *J. Anal. Chem.* 2019. V. 74. № 5. P. 415.
<https://doi.org/10.1134/S1061934819050058>
<https://doi.org/10.1134/S0044450219050050>
12. *Nagy G., Peng T., Pohl N.L.B.* Recent liquid chromatographic approaches and developments for the separation and purification of carbohydrates // *Anal. Methods UK.* 2017. V. 9. № 24. P. 3579.
<https://doi.org/10.1039/c7ay01094j>

13. Ikegami T., Horie K., Saad N., Hosoya K., Fiehn O., Tanaka N. Highly efficient analysis of underivatized carbohydrates using monolithic-silica-based capillary hydrophilic interaction (HILIC) HPLC // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 391. № 7. P. 2533. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2060-6>
14. Tang K., Liang L., Cai Y., Mou S. Determination of sugars and alditols in tobacco with high-performance anion-exchange chromatography // *J. Sep. Sci.* 2007. V. 30. P. 2160. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700044>
15. Захарова А.М., Гринштейн И.Л., Карцова Л.А. Определение углеводов и подсластителей в пищевых продуктах и биологически активных добавках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // *Журн. аналит. химии.* 2013. V. 68. № 12. P. 1208. (Zakharova A.M., Grinshtein I.L., and Kartsova L.A. Determination of sugars using ligand-exchange capillary electrophoresis // *J. Anal. Chem.* 2010. V. 68. № 12. P. 1081. <https://doi.org/10.1134/S1061934813100122> <https://doi.org/10.7868/s0044450213100149>
16. Fu Q., Liang T., Zhang X., Du Y., Guo Z., Liang X. Carbohydrate separation by hydrophilic interaction liquid chromatography on a “click” maltose column // *Carbohydr. Res.* 2010. V. 345. № 18. P. 2690. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.09.033>
17. Fu Q., Liang T., Li Z., Xu X., Ke Y., Jin Y., Liang X. Separation of carbohydrates using hydrophilic interaction liquid chromatography // *Carbohydr. Res.* 2013. V. 379. P. 13. <https://doi.org/10.1016/J.CARRES.2013.06.006>
18. Liu J., Li J., Yi D., Liu Y., Liu R., Xue Y., Huang Q., Liu S., Jiang Y. Non-derivatization strategy for the comprehensive characterization of neutral monosaccharide isomers and neutral disaccharide isomers using hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to quadrupole/time-of-flight mass spectrometry // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2021. V. 1185. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122972>
19. Antonio C., Larson T., Gilday A., Graham I., Bergström E., Thomas-Oates J. Hydrophilic interaction chromatography/electrospray mass spectrometry analysis of carbohydrate-related metabolites from *Arabidopsis thaliana* leaf tissue // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2008. V. 22. № 9. P. 1399. <https://doi.org/10.1002/rcm.3519>
20. Pismennõi D., Kiritsenko V., Marhivka J., Küt M.L., Vilu R. Development and optimisation of HILIC-LC-MS method for determination of carbohydrates in fermentation samples // *Molecules.* 2021. V. 26. № 12. P. 3669. <https://doi.org/10.3390/molecules26123669>
21. Gervasoni J., Primiano A., Graziani C., Scaldaferrì F., Gasbarrini A., Urbani A., Persichilli S. Validation of UPLC-MS/MS Method for determination of urinary lactulose/mannitol // *Molecules.* 2018. V. 23. № 10. P. 2705. <https://doi.org/10.3390/molecules23102705>
22. Grootjans J. Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut // *World J. Gastrointest. Surg.* 2010. V. 2. № 3. P. 61. <https://doi.org/10.4240/wjgs.v2.i3.61>
23. Vismeh R., Humpala J.F., Chundawat S.P.S., Balan V., Dale B.E., Jones A.D. Profiling of soluble neutral oligosaccharides from treated biomass using solid phase extraction and LC-TOF MS // *Carbohydr. Polym.* 2013. V. 94. № 2. P. 791. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.005>
24. Ikegami T., Horie K., Saad N., Hosoya K., Fiehn O., Tanaka N. Highly efficient analysis of underivatized carbohydrates using monolithic-silica-based capillary hydrophilic interaction (HILIC) HPLC // *Anal. Bioanal. Chem.* 2008. V. 391. № 7. P. 2533. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2060-6>
25. Bi W., Zhou J., Row K.H. Separation of xylose and glucose on different silica-confined ionic liquid stationary phases // *Anal. Chim. Acta.* 2010. V. 677. № 2. P. 162. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.08.004>
26. Tian M., Bi W., Row K.H. Separation of monosaccharides by solid-phase extraction with ionic liquid-modified microporous polymers // *J. Sep. Sci.* 2011. V. 34. № 22. P. 3151. <https://doi.org/10.1002/jssc.201100546>
27. Chikurova N.Yu., Shemiakina O., Shpigun O.A., Chernobrovkina A.V. Multicomponent Ugi reaction as a tool for fast and easy preparation of stationary phases for hydrophilic interaction liquid chromatography. Part I: The influence of attachment and spacing of the functional ligand obtained via the Ugi reaction // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1666. Article 462804. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.462804>
28. Maier M., Reusch D., Bruggink C., Bulau P., Wührer M., Mølhøj M. Applying mini-bore HPAEC-MS/MS for the characterization and quantification of Fc N-glycans from heterogeneously glycosylated IgGs // *J. Chromatogr. B.* 2016. V. 1033–1034. P. 342. <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2016.08.001>
29. Corradini C., Cavazza A., Bignardi C. High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed electrochemical detection as a powerful tool to evaluate carbohydrates of food interest: Principles and applications // *Int. J. Carbohydr. Chem.* 2012. V. 2012. P. 1. <https://doi.org/10.1155/2012/487564>
30. Tommaso R., Cataldi I., Margiotta G., Iasi L., di Chio B. Determination of sugar compounds in olive plant extracts by anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection // *Anal. Chem.* 2000. V. 72. P. 3902. <https://doi.org/10.1021/ac000266o>
31. Sequeira I.R., Kruger M.C., Hurst R.D., Lentle R.G. A simple, robust, and convenient HPLC assay for urinary lactulose and mannitol in the dual sugar absorption test // *Molecules.* 2022. V. 27. № 9. P. 2677. <https://doi.org/10.3390/molecules27092677>
32. de Souza M.F., Pereira D.S., Freitas S.P., Bon E., Rodrigues M.A. Neutral sugars determination in *Chlorella*: Use of a one-step diluted sulfuric acid hydrolysis with reduced sample size followed by HPAEC analysis // *Algal Res.* 2017. V. 24. P. 130. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2017.03.019>

33. *Bruggink C., Maurer R., Herrmann H., Cavalli S., Hoefler F.* Analysis of carbohydrates by anion exchange chromatography and mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2005. V. 1085. № 1. P. 104.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.03.108>
34. *Schmid T., Baumann B., Himmelsbach M., Klampfl C.W., Buchberger W.* Analysis of saccharides in beverages by HPLC with direct UV detection // *Anal. Bioanal. Chem.* 2016. V. 408. № 7. P. 1871.
<https://doi.org/10.1007/s00216-015-9290-1>
35. *Gonzalez N.M., Fitch A., Al-Bazi J.* Development of a RP-HPLC method for determination of glucose in *Shewanella oneidensis* cultures utilizing 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatization // *PLoS ONE.* 2020. V. 15. № 3. Article e0229990.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229990>
36. *Bai W., Fang X., Zhao W., Huang S., Zhang H., Qian M.* Determination of oligosaccharides and monosaccharides in Hakka rice wine by precolumn derivation high-performance liquid chromatography // *J. Food Drug Anal.* 2015. V. 23. № 4. P. 645.
<https://doi.org/10.1016/J.JFDA.2015.04.011>
37. *Rakete S., Glomb M.A.* A novel approach for the quantitation of carbohydrates in mash, wort, and beer with RP-HPLC using 1-naphthylamine for precolumn derivatization // *J. Agric. Food Chem.* 2013. V. 61. № 16. P. 3828.
<https://doi.org/10.1021/JF400463R>
38. *Wu W., Hamase K., Kiguchi M., Yamamoto K., Zaitzu K.* Reversed-phase HPLC of monosaccharides in glycoproteins derivatized with aminopyrazine with fluorescence detection // *Anal. Sci.* 2000. V. 16. № 9. P. 919.
<https://doi.org/10.2116/analsci.16.919>
39. *Nakamura A., Hatanaka C., Nagamatsu Y.* Ultraviolet spectrometric determination of neutral monosaccharides by HPLC with ethanalamine // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2000. V. 64. № 1. P. 178.
<https://doi.org/10.1271/bbb.64.178>
40. *Melmer M., Stangler T., Premstaller A., Lindner W.* Comparison of hydrophilic-interaction, reversed-phase and porous graphitic carbon chromatography for glycan analysis // *J. Chromatogr. A.* 2011. V. 1218. № 1. P. 118.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2010.10.122>
41. *Templeton D.W., Quinn M., van Wychen S., Hyman D., Laurens L.M.L.* Separation and quantification of microalgal carbohydrates // *J. Chromatogr. A.* 2012. V. 1270. P. 225.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.10.034>
42. *Stoll D.R., Carr P.W.* Two-dimensional liquid chromatography: A state of the art tutorial // *Anal. Chem.* 2017. V. 89. № 1. P. 519.
<https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.6B03506>
43. *Chen L., Zhu W., Yan N., Guo Y., Yi L., Ouyang Y., Zhang Z.* Analysis of heparinase derived LMWH products using a MHC 2D LC system linked to Q-TOF MS // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2022. V. 212. Article 114616.
<https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2022.114616>
44. *Chen L., Ouyang Y., Yan N., Guo Y., Yi L., Sun Y., Liu D., Zhang Z.* Comprehensive analysis of heparinase derived heparin-products using two-dimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry // *J. Chromatogr. A.* 2021. V. 1643. Article 462049.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2021.462049>
45. *Ruiz-Matute A.I., Brokl M., Soria A.C., Sanz M.L., Martínez-Castro I.* Gas chromatographic–mass spectrometric characterisation of tri- and tetrasaccharides in honey // *Food Chem.* 2010. V. 120. № 2. P. 637.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.10.050>
46. *Ruiz-Matute A.I., Hernández-Hernández O., Rodríguez-Sánchez S., Sanz M.L., Martínez-Castro I.* Derivatization of carbohydrates for GC and GC-MS analyses // *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 2011. V. 879. № 17–18. P. 1226.
<https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2010.11.013>
47. *Wang H., Geppert H., Fischer T., Wieprecht W., Möller D.* Determination of sucrose in honey with derivatization/solid-phase microextraction and gas-chromatography/mass spectrometry // *J. Chromatogr. Sci.* 2015. V. 53. № 9. P. 1427.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/bmv044>
48. *Morvai-Vitányi M., Molnár-Perl I., Knausz D., Sass P.* Simultaneous GC derivatization and quantification of acids and sugars // *Chromatographia.* 1993. V. 36. № 1. P. 204.
<https://doi.org/10.1007/BF02263864>
49. *Xia Y.G., Sun H.M., Wang T.L., Liang J., Yang B.Y., Kuang H.X.* A modified GC-MS analytical procedure for separation and detection of multiple classes of carbohydrates // *Molecules.* 2018. V. 23. № 6. P. 1284.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES23061284>
50. *Silva F.O.* Microwave-assisted derivatization of glucose and galactose for gas chromatographic determination in human plasma // *Clin. Chem.* 2006. V. 52. № 2. P. 334.
<https://doi.org/10.1373/CLINCHEM.2005.062109>
51. *Li Z., Wang J., Huang C., Zhang S., Yang J., Jiang A., Zhou R., Pan D.* Gas chromatography/time-of-flight mass spectrometry-based metabonomics of hepatocarcinoma in rats with lung metastasis: Elucidation of the metabolic characteristics of hepatocarcinoma at formation and metastasis // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2010. V. 24. № 18. P. 2765.
<https://doi.org/10.1002/RCM.4703>
52. *Rojas-Escudero E., Alarcón-Jiménez A.L., Elizalde-Galván P., Rojo-Callejas F.* Optimization of carbohydrate silylation for gas chromatography // *J. Chromatogr. A.* 2004. V. 1027. P. 117.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.131>
53. *Zarate E., Boyle V., Rupprecht U., Green S., Villas-Boas S.G., Baker P., Pinu F.R.* Fully automated trimethylsilyl (TMS) derivatisation protocol for metabolite profiling by GC-MS // *Metabolites.* 2017. V. 7. № 1. P. 1.
<https://doi.org/10.3390/METABO7010001>
54. *Becker M., Liebner F., Rosenau T., Potthast A.* Ethoximation-silylation approach for mono- and disaccharide analysis and characterization of their identification parameters by GC/MS // *Talanta.* 2013. V. 115. P. 642.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.05.052>
55. *Xia Y.G., Sun H.M., Wang T.L., Liang J., Yang B.Y., Kuang H.X.* A modified GC-MS analytical procedure for separation and detection of multiple classes of carbohydrates // *Mol. A J. Synth. Chem. Nat. Prod.*

- Chem. 2018. V. 23. № 6. P. 1284.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES23061284>
56. *Weber P.L., Lunte S.M.* Capillary electrophoresis with pulsed amperometric detection of carbohydrates and glycopeptides // *Electrophoresis*. 1996. V. 17. № 2. P. 302.
<https://doi.org/10.1002/elps.1150170204>
57. *Carvalho A., da Silva F.J.A., do Lago C.L.* Determination of mono- and disaccharides by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection // *Electrophoresis*. 2003. V. 24. № 12–13. P. 2138.
<https://doi.org/10.1002/elps.200305408>
58. *Klampfl C.W., Buchberger W.* Determination of carbohydrates by capillary electrophoresis with electrospray-mass spectrometric detection // *Electrophoresis*. 2001. V. 22. № 13. P. 2737.
[https://doi.org/10.1002/15222683\(200108\)22:13<2737::AID-ELPS2737>3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/15222683(200108)22:13<2737::AID-ELPS2737>3.0.CO;2-Z)
59. *Schmid T., Himmelsbach M., Oliver J.D., Gaborieau M., Castignolles P., Buchberger W.* Investigation of photochemical reactions of saccharides during direct ultraviolet absorbance detection in capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 2015. V. 1388. P. 259.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2015.02.030>
60. *Schmid T., Himmelsbach M., Buchberger W.* Investigation of photochemical reaction products of glucose formed during direct UV detection in CE // *Electrophoresis*. 2016. V. 37. № 7–8. P. 947.
<https://doi.org/10.1002/elps.201500283>
61. *Sarazin C., Delaunay N., Costanza C.V. Eudes, Mallet J.M., Gareil P.* New avenue for mid-UV-range detection of underivatized carbohydrates and amino acids in capillary electrophoresis // *Anal. Chem*. 2011. V. 83. № 19. P. 7381.
<https://doi.org/10.1021/ac2012834>
62. *Rovio S., Yli-Kauhala J., Sirén H.* Determination of neutral carbohydrates by CZE with direct UV detection // *Electrophoresis*. 2007. V. 28. № 17. P. 3129.
<https://doi.org/10.1002/elps.200600783>
63. *Rovio S., Simolin H., Koljonen K., Sirén H.* Determination of monosaccharide composition in plant fiber materials by capillary zone electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 2008. V. 1185. № 1. P. 139.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2008.01.031>
64. *Alinat E., Jemmali S., Delaunay N., Archer X., Gareil P.* Analysis of underivatized cellodextrin oligosaccharides by capillary electrophoresis with direct photochemically induced UV-detection // *Electrophoresis*. 2015. V. 36. № 14. P. 1555.
<https://doi.org/10.1002/elps.201400605>
65. *Kaijanen L., Metsämuuronen S., Reinikainen S.P., Pieterinen S., Jernström E.* Profiling of water-soluble carbohydrates in pine and spruce extracts by capillary zone electrophoresis with direct UV detection // *Wood Sci. Technol*. 2015. V. 49. № 4. P. 795.
<https://doi.org/10.1007/s00226-015-0729-5>
66. *Zhao L., Chanon A.M., Chattopadhyay N., Dami I.E., Blakeslee J.J.* Quantification of carbohydrates in grape tissues using capillary zone electrophoresis // *Front. Plant. Sci*. 2016. V. 7. P. 818.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00818>
67. *Lagane B., Treilhou M., Couderc F.* Capillary electrophoresis: Theory, teaching approach and separation of oligosaccharides using indirect UV detection // *Biochem. Mol. Biol. Educ*. 2000. V. 28. № 5. P. 251.
[https://doi.org/10.1016/S1470-8175\(00\)00031-X](https://doi.org/10.1016/S1470-8175(00)00031-X)
68. *Xu X., Kok W.T., Poppe H.* Sensitive determination of sugars by capillary zone electrophoresis with indirect UV detection under highly alkaline conditions // *J. Chromatogr. A*. 1995. V. 716. № 1–2. P. 231.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(95\)00552-X](https://doi.org/10.1016/0021-9673(95)00552-X)
69. *Zemann A., Nguyen D.T., Bonn G.* Fast separation of underivatized carbohydrates by coelectroosmotic capillary electrophoresis // *Electrophoresis*. 1997. V. 18. № 7. P. 1142.
<https://doi.org/10.1002/ELPS.1150180720>
70. *Zemann A.J.* Sub-minute separations of organic and inorganic anions with co-electroosmotic capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 1997. V. 787. № 1–2. P. 243.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)00645-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)00645-6)
71. *Lee Y.H., Lin T.I., Luh T.Y.* Determination of carbohydrates by high-performance capillary electrophoresis with indirect absorbance detection // *J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl*. 1996. V. 681. № 1. P. 87.
[https://doi.org/10.1016/0378-4347\(95\)00503-X](https://doi.org/10.1016/0378-4347(95)00503-X)
72. *Ramírez S.C., Carretero A.S., Blanco C.C., de Castro M.H.B., Gutiérrez A.F.* Indirect determination of carbohydrates in wort samples and dietetic products by capillary electrophoresis // *J. Sci. Food Agric*. 2005. V. 85. № 3. P. 517.
<https://doi.org/10.1002/JSFA.2010>
73. *Warren C.R., Adams M.A.* Capillary electrophoresis for the determination of major amino acids and sugars in foliage: Application to the nitrogen nutrition of sclerophyllous species // *J. Exp. Bot*. 2000. V. 51. № 347. P. 1147.
<https://doi.org/10.1093/JEXBOT/51.347.1147>
74. *Stroka J., Dossi N., Anklam E.* Determination of the artificial sweetener Sucralose® by capillary electrophoresis // *Food Addit. Contam.* 2003. V. 20. № 6. P. 524.
<https://doi.org/10.1080/0265203031000070803>
75. *Soga T., Heiger D.N.* Simultaneous determination of monosaccharides in glycoproteins by capillary electrophoresis // *Anal. Biochem*. 1998. V. 261. № 1. P. 73.
<https://doi.org/10.1006/abio.1998.2727>
76. *Soga T., Serwe M.* Determination of carbohydrates in food samples by capillary electrophoresis with indirect UV detection // *Food Chem*. 2000. V. 69. № 3. P. 339.
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00044-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00044-3)
77. *Soga T., Ross G.A.* Simultaneous determination of inorganic anions, organic acids, amino acids and carbohydrates by capillary electrophoresis // *J. Chromatogr. A*. 1999. V. 837. № 1–2. P. 231.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)00092-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)00092-8)
78. *Lu B., Westerlund D.* Indirect UV detection of carbohydrates in capillary zone electrophoresis by using tryptophan as a marker // *Electrophoresis*. 1996. V. 17. № 2. P. 325.
<https://doi.org/10.1002/ELPS.1150170207>
79. *Алексеева А.В., Карцова Л.А., Казачищева Н.В.* Определение сахаров методом лигандообменного

- капиллярного электрофореза // Журн. аналит. химии. 2010. Т. 65. № 2. P. 205. (Alekseeva A.V., Kartsova L.A., Kazachishcheva N.V. Determination of sugars using ligand-exchange capillary electrophoresis // J. Anal. Chem. 2010. V. 65. № 2. P. 202.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934810020176>
80. Gürel A., Hızal J., Öztekin N., Erim F.B. CE determination of carbohydrates using a dipeptide as separation electrolyte // Chromatographia. 2006. V. 64. № 5–6. P. 321.
<https://doi.org/10.1365/s10337-006-0032-6>
81. Vaher M., Koel M., Kazarjan J., Kaljurand M. Capillary electrophoretic analysis of neutral carbohydrates using ionic liquids as background electrolytes // Electrophoresis. 2011. V. 32. № 9. P. 1068.
<https://doi.org/10.1002/elps.201000575>
82. Hoffstetter-Kuhn S., Paulus A., Gassmann E., Widmer M.H. Influence of borate complexation on the electrophoretic behavior of carbohydrates in capillary electrophoresis // Anal. Chem. 1991. V. 63. № 15. P. 1541.
https://doi.org/10.1021/AC00015A009/ASSET/AC00015A009.FP.PNG_V03
83. Schmitt-Kopplin P., Fischer K., Freitag D., Kettrup G. Capillary electrophoresis for the simultaneous separation of selected carboxylated carbohydrates and their related 1,4-lactones // J. Chromatogr. A. 1998. V. 807. № 1. P. 89.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(98\)00056-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(98)00056-9)
84. Angyal S.J. Complexing of carbohydrates with copper ions: A reappraisal // Carbohydr. Res. 1990. V. 200. P. 181.
[https://doi.org/10.1016/0008-6215\(90\)84189-2](https://doi.org/10.1016/0008-6215(90)84189-2)
85. Алексеева А.В., Карцова Л.А. Возможности лигандообменного капиллярного электрофореза при определении биологически активных веществ // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 7. P. 764. (Alekseeva A.V., Kartsova L.A. Potencies of ligand-exchange capillary electrophoresis in the determination of biologically active compounds // J. Anal. Chem. 2011. V. 66. № 7. P. 651.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934811070021>
86. Bazzanella A., Bachmann K. Separation and direct UV detection of sugars by capillary electrophoresis using chelation of copper(II) // J. Chromatogr. A. 1998. V. 799. № 1–2. P. 283.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(97\)01039-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(97)01039-X)
87. Алексеева А.В., Карцова Л.А. Лигандообменный капиллярный электрофорез // Журн. аналит. химии. 2011. Т. 66. № 7. P. 677. (Kartsova L.A., Alekseeva A.V. Ligand-exchange capillary electrophoresis // J. Anal. Chem. 2011. V. 66. № 7. P. 563.)
<https://doi.org/10.1134/S1061934811050066>
88. Čokrtová K., Mareš V., Křížek T. On-capillary fluorescent labeling of saccharides for capillary electrophoresis // Electrophoresis. 2022.
<https://doi.org/10.1002/elps.202200136>
89. Wang X.Y., Chen Y., Li Z., Wang Z. Analysis of carbohydrates by capillary zone electrophoresis with on-capillary derivatization // J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2002. V. 25. № 4. P. 589.
<https://doi.org/10.1081/JLC-120008813>
90. Taga A., Suzuki S., Honda S. Capillary electrophoretic analysis of carbohydrates derivatized by in-capillary condensation with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone // J. Chromatogr. A. 2001. V. 911. № 2. P. 259.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00516-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00516-7)
91. Wang X.Y., Chen Y., Li Z., Wang Z. Analysis of carbohydrates by capillary zone electrophoresis with on-capillary derivatization // J. Liquid Chromatogr. Relat. Technol. 2002. V. 25. I. 4. P. 589.
<https://doi.org/10.1081/JLC-120008813>
92. Maeda E., Kataoka M., Hino M., Kajimoto K., Kaji N., Tokeshi M., Kido J., Shinohara Y., Baba Y. Determination of human blood glucose levels using microchip electrophoresis // Electrophoresis. 2007. V. 28. P. 2927.
<https://doi.org/10.1002/elps.200600795>
93. Rovio S., Yli-Kauhaluoma J., Sirén H. Determination of neutral carbohydrates by CZE with direct UV detection // Electrophoresis. 2007. V. 28. № 17. P. 3129.
<https://doi.org/10.1002/elps.200600783>
94. Schwaiger H., Oefner P.J., Huber C., Grill E., Bonn G.K. Capillary zone electrophoresis and micellar electrokinetic chromatography of 4-aminobenzonitrile carbohydrate derivatives // Electrophoresis. 1994. V. 15. № 7. P. 941.
<https://doi.org/10.1002/ELPS.11501501138>
95. Andersen K.E., Bjerregaard C., Sørensen H. Analysis of reducing carbohydrates by reductive tryptamine derivatization prior to micellar electrokinetic capillary chromatography // J. Agric. Food Chem. 2003. V. 51. № 25. P. 7234.
<https://doi.org/10.1021/jf030329e>
96. Jager A.V., Tonin F.G., Tavares M.F.M. Comparative evaluation of extraction procedures and method validation for determination of carbohydrates in cereals and dairy products by capillary electrophoresis // J. Sep. Sci. 2007. V. 30. P. 586.
<https://doi.org/10.1002/jssc.200600370>
97. Soria A.C., Brokl M., Sanz M.L., Martínez-Castro I. Sample preparation for the determination of carbohydrates in food and beverages / Comprehensive Sampling and Sample Preparation. V. 4 / Ed. Pawliszyn J. Amsterdam: Elsevier, 2012. P. 213.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.10135-8>
98. Sanz M.L., Martínez-Castro I. Recent developments in sample preparation for chromatographic analysis of carbohydrates // J. Chromatogr. A. 2007. V. 1153. № 1–2. P. 74.
<https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2007.01.028>
99. Бирюлин С.И., Посокина Н.Е., Тришканева М.В. Выделение углеводов из растительного сырья и их идентификация с применением капиллярного электрофореза // Овощи России. 2019. Т. 5. С. 84.
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-5-84-87>
100. Norikoshi R., Imanishi H., Ichimura K. A simple and rapid extraction method of carbohydrates from petals or sepals of four floricultural plants for determination of their content // J. Japan. Soc. Hort. Sci. 2008. V. 77. № 3. P. 289.
101. Wanek W., Heintel S., Richter A. Preparation of starch and other carbon fractions from higher plant leaves for stable carbon isotope analysis // Rapid Commun. Mass Spectrom. 2001. V. 15. № 14. P. 1136.
<https://doi.org/10.1002/RCM.353>

102. *Hassan E.S.R.E., Mutelet F., Moïse J.C.* From the dissolution to the extraction of carbohydrates using ionic liquids // *RSC Adv.* 2013. V. 3. № 43. P. 20219. <https://doi.org/10.1039/C3RA42640H>
103. *Fishman M.L., Chau H.K., Cooke P.H., Yadav M.P., Hotchkiss A.T.* Physico-chemical characterization of alkaline soluble polysaccharides from sugar beet pulp // *Food Hydrocoll.* 2009. V. 23. № 6. P. 1554. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2008.10.015>
104. *Montañés F., Fornari T., Stateva R.P., Olano A., Ibáñez E.* Solubility of carbohydrates in supercritical carbon dioxide with (ethanol + water) cosolvent // *J. Supercrit. Fluids.* 2009. V. 49. № 1. P. 16. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2008.11.014>
105. *Montañés F., Olano A., Reglero G., Ibáñez E., Fornari T.* Supercritical technology as an alternative to fractionate prebiotic galactooligosaccharides // *Sep. Purif. Technol.* 2009. V. 66. № 2. P. 383. <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2008.12.006>
106. *Guan J., Yang F.Q., Li S.P.* Evaluation of carbohydrates in natural and cultured *Cordyceps* by pressurized liquid extraction and gas chromatography coupled with mass spectrometry // *Molecules.* 2010. V. 15. № 6. P. 4227. <https://doi.org/10.3390/molecules15064227>
107. *Cai K., Hu D., Lei B., Zhao H., Pan W., Song B.* Determination of carbohydrates in tobacco by pressurized liquid extraction combined with a novel ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction method // *Anal. Chim. Acta.* 2015. V. 882. P. 90. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2015.03.013>
108. *Ruiz-Matute A.I., Ramos L., Martínez-Castro I., Sanz M.L.* Fractionation of honey carbohydrates using pressurized liquid extraction with activated charcoal // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56. № 18. P. 8309. <https://doi.org/10.1021/JF8014552>
109. *Al-Suod H., Ratiu I.A., Górecki R., Buszewski B.* Pressurized liquid extraction of cyclitols and sugars: Optimization of extraction parameters and selective separation // *J. Sep. Sci.* 2019. V. 42. № 6. P. 1265. <https://doi.org/10.1002/JSSC.201801269>
110. *de Villiers A., Lynen F., Crouch A., Sandra P.* Development of a solid-phase extraction procedure for the simultaneous determination of polyphenols, organic acids and sugars in wine // *Chromatographia.* 2004. V. 59. № 7–8. P. 403. <https://doi.org/10.1365/S10337-004-0204-1>
111. *Megherbi M., Herbreteau B., Faure R., Dessalces G., Grenier-Loustalot M.F.* Solid phase extraction of oligo- and polysaccharides; Application to maltodextrins and honey qualitative analysis // *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 2008. V. 31. № 7. P. 1033. <https://doi.org/10.1080/10826070801924915>
112. *Barnes J., Tian L., Loftis J., Hiznay J., Comhair S., Lauer M., Dweik R.* Isolation and analysis of sugar nucleotides using solid phase extraction and fluorophore assisted carbohydrate electrophoresis // *MethodsX.* 2016. V. 3. P. 251. <https://doi.org/10.1016/J.MEX.2016.03.010>
113. *Morales-Cid G., Simonet B.M., Cárdenas S., Valcárcel M.* On-capillary sample clean up method for the electrophoretic determination of carbohydrates in juice samples // *Electrophoresis.* 2007. V. 28. P. 1557. <https://doi.org/10.1002/elps.200600518>
114. *Hernández O., Ruiz-Matute A.I., Olano A., Moreno F.J., Sanz M.L.* Comparison of fractionation techniques to obtain prebiotic galactooligosaccharides // *Int. Dairy J.* 2009. V. 19. № 9. P. 531. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2009.03.002>
115. *Ruiz-Matute A.I., Soria A.C., Martínez-Castro I., Sanz M.L.* A new methodology based on GC-MS to detect honey adulteration with commercial syrups // *J. Agric. Food Chem.* 2007. V. 55. № 18. P. 7264. <https://doi.org/10.1021/JF070559J>
116. *Amelung W., Cheshire M.V., Guggenberger G.* Determination of neutral and acidic sugars in soil by capillary gas-liquid chromatography after trifluoroacetic acid hydrolysis // *Soil Biol. Biochem.* 1996. V. 28. № 12. P. 1631. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00248-9](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00248-9)
117. *Santos S.M., Duarte A.C., Esteves V.I.* Development and application of capillary electrophoresis based method for the assessment of monosaccharide in soil using acid hydrolysis // *Talanta.* 2007. V. 72. P. 165. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.10.009>
118. *Xiao W., Chen X., Zhang Y., Qu T., Han L.* Product analysis for microwave-assisted methanolysis of lignocellulose // *Energy and Fuels.* 2016. V. 30. № 10. P. 8246. <https://doi.org/10.1021/ACS.ENERGYFUELS.6B01186>
119. *Arnous A., Meyer A.S.* Quantitative prediction of cell wall polysaccharide composition in grape (*Vitis vinifera* L.) and apple (*Malus domestica*) skins from acid hydrolysis monosaccharide profiles // *J. Agric. Food Chem.* 2009. V. 57. № 9. P. 3611. <https://doi.org/10.1021/JF900780R>
120. *Olennikov D.N., Rokhin A.V., Tankhaeva L.M.* Lamiaceae carbohydrates. V. Structure of glucoarabinogalactan from *Scutellaria baicalensis* // *Chem. Nat. Compd.* 2008. V. 44. № 5. P. 560. <https://doi.org/10.1007/S10600-008-9148-2>
121. *Harvey D.J.* Derivatization of carbohydrates for analysis by chromatography; electrophoresis and mass spectrometry // *J. Chromatogr. B.* 2011. V. 879. P. 1196. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.11.010>
122. *Yu R.B., Dalman N.A.V., Wuethrich A., Quirino J.P.* Derivatization of carbohydrates for analysis by liquid chromatography and capillary electrophoresis / *Carbohydrate Analysis by Modern Liquid Phase Separation Techniques* / Ed. El Rassi Z. Amsterdam: Elsevier, 2021. P. 1. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821447-3.00019-6>
123. *Campa C., Rossi M.* Capillary electrophoresis of neutral carbohydrates mono-, oligosaccharides, and glycosides / *Capillary Electrophoresis* / Ed. Schmitt-Kopplin P. Groningen: Springer, 2008. P. 247. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-376-9_11
124. *Dupont A.L., Egasse C., Morin A., Vasseur F.* Comprehensive characterisation of cellulose- and lignocellulose-degradation products in aged papers: Capillary zone electrophoresis of low-molar mass organic acids, carbohydrates, and aromatic lignin derivatives // *Carbohydr. Polym.* 2007. V. 68. № 1. P. 1. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.07.005>

125. *Sjöberg J., Adorjan I., Rosenau T., Kosma P.* An optimized CZE method for analysis of mono- and oligomeric aldose mixtures // *Carbohydr. Res.* 2004. V. 339. № 11. P. 2037.
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.06.003>
126. *Sato K., Sato K., Okubo A., Yamazaki S.* Optimization of derivatization with 2-aminobenzoic acid for determination of monosaccharide composition by capillary electrophoresis // *Anal. Biochem.* 1998. V. 262. № 2. P. 195.
<https://doi.org/10.1006/abio.1998.2798>
127. *Windwarder M., Figl R., Svehla E., Moscai R., Farcet J.-B., Staudacher E., Kosma P., Altmann F.* ‘Hypermethylation’ of anthranilic acid-labeled sugars confers the selectivity required for liquid chromatography-mass spectrometry // *Anal. Biochem.* 2016. V. 514. P. 24.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.09.008>
128. *Lorenz D., Janzon R., Saake B.* Determination of uronic acids and neutral carbohydrates in pulp and biomass by hydrolysis, reductive amination and HPAEC-UV // *Holzforschung.* 2017. V. 71. № 10. P. 767.
<https://doi.org/10.1515/hf-2017-0020>
129. *Vojvodić-Cebin A., Komes D., Ralet M.C.* Development and validation of HPLC-DAD method with pre-column PMP derivatization for monomeric profile analysis of polysaccharides from agro-industrial wastes // *Polymers.* 2022. V. 14. № 3. P. 544.
<https://doi.org/10.3390/polym14030544>
130. *Lattová E., Perreault H.* Method for investigation of oligosaccharides using phenylhydrazine derivatization / *Glycomics* / Eds. Packer N.H., Karlsson N.G. Groningen: Springer, 2009. P. 65.
https://doi.org/10.1007/978-1-59745-022-5_5
131. *Nguyen D.T., Lerch H., Zemann A., Bonn G.* Separation of derivatized carbohydrates by co-electroosmotic capillary electrophoresis // *Chromatographia.* 1997. V. 46. № 3. P. 113.
<https://doi.org/10.1007/BF02495320>
132. *Kwon H., Kim J.* High performance liquid chromatography of mono- and oligosaccharides derivatized with p-aminobenzoic ethyl ester on a c18-bonded silica column // *J. Liq. Chromatogr.* 1995. V. 18. № 7. P. 1437.
<https://doi.org/10.1080/10826079508010422>
133. *Blanco D., Muro D., Gutiérrez. M.D.* A comparison of pulsed amperometric detection and spectrophotometric detection of carbohydrates in cider brandy by liquid chromatography // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 517. № 1–2. P. 65.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.04.056>
134. *Evangelista R.A., Liu M.S., Chen F.T.A.* Characterization of 9-aminopyrene-1,4,6-trisulfonate derivatized sugars by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection // *Anal. Chem.* 1995. V. 67. № 13. P. 2239.
<https://doi.org/10.1021/ac00109a051>
135. *Albrecht S., Schols H.A., van den Heuvel E.G.H.M., Voragen A.G.J., Gruppen H.* CE-LIF-MSn profiling of oligosaccharides in human milk and feces of breast-fed babies // *Electrophoresis.* 2010. V. 31. № 7. P. 1264.
<https://doi.org/10.1002/elps.200900646>
136. *Chen F.T.A., Dobashi T.S., Evangelista R.A.* Quantitative analysis of sugar constituents of glycoproteins by capillary electrophoresis // *Glycobiology.* 1998. V. 8. № 11. P. 1045.
<https://doi.org/10.1093/GLYCOB/8.11.1045>
137. *Chiesa C., Horváth C.* Capillary zone electrophoresis of malto-oligosaccharides derivatized with 8-aminonaphthalene-1,3,6-trisulfonic acid // *J. Chromatogr. A.* 1993. V. 645. № 2. P. 337.
[https://doi.org/10.1016/0021-9673\(93\)83394-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(93)83394-8)
138. *Larsson M., Sundberg R., Folestad S.* On-line capillary electrophoresis with mass spectrometry detection for the analysis of carbohydrates after derivatization with 8-aminonaphthalene-1,3,6-trisulfonic acid // *J. Chromatogr. A.* 2001. V. 934. № 1–2. P. 75.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)01274-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)01274-2)
139. *Sato K., Sato K., Okubo A., Yamazaki S.* Determination of monosaccharides derivatized with 2-aminobenzoic acid by capillary electrophoresis // *Anal. Biochem.* 1997. V. 251. № 1. P. 119.
<https://doi.org/10.1006/ABIO.1997.2266>
140. *Saddic G.N., Dhume S.T., Anumula K.R.* Carbohydrate composition analysis of glycoproteins by HPLC using highly fluorescent anthranilic acid (AA) tag / *Post-translational Modifications of Proteins* / Ed. Kannicht C. Groningen: Springer, 2008. P. 215.
https://doi.org/10.1007/978-1-60327-084-7_15
141. *Stepan H., Staudacher E.* Optimization of monosaccharide determination using anthranilic acid and 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone for gastropod analysis // *Anal. Biochem.* 2011. V. 418. № 1. P. 24.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.07.005>
142. *Wang W., Wang Y., Chen F., Zheng F.* Comparison of determination of sugar-PMP derivatives by two different stationary phases and two HPLC detectors: C18 vs. amide columns and DAD vs. ELSD // *J. Food Compos. Anal.* 2021. V. 96. Article 103715.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103715>
143. *Fan B., Li T., Song X., Wu C., Qian C.* A rapid, accurate and sensitive method for determination of monosaccharides in different varieties of *Osmanthus fragrans* Lour by pre-column derivatization with HPLC-MS/MS // *Int. J. Biol. Macromol.* 2019. V. 125. P. 221.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.033>
144. *Rajendiran V., El Rassi Z.* Reversed-phase capillary electrochromatography of pre-column derivatized mono- and oligosaccharides with three different ultraviolet absorbing tags // *J. Chromatogr. A.* 2022. V. 1671. Article 463025.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463025>
145. *Alyuruk H., Kontas A., Altay O.* A comparative study of two HPLC methods for dissolved monosaccharide analysis in seawater using 2-amino benzamide and 2-amino pyrazine as pre-column derivatization reagents // *Talanta.* 2021. V. 234. Article 122629.
<https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2021.122629>