

GC/MS 법에 의한 요쿠르트 제품의 구성 단당류의 조성 비교분석에 관한 연구

南相奎 · 鄭元朝*

인하대학교 이과대학 화학과

(1999. 8. 24 접수)

GC/MS Determination of Monosaccharides in Yoqurt Products

Sang kyu Nam and Won Jo Cheong*

Department of Chemistry, Inha University, Incheon 402-751, Korea

(Received August 24, 1999)

요 약. 요쿠르트는 항암 및 다양한 건강증진 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 요쿠르트 유산균에 의하여 생성되는 다당류(polysaccharides)가 그러한 효과를 나타내는 것으로 믿어진다. 본 연구에서는 시중에 판매되는 요쿠르트 제품중 주요한 몇 가지를 선택하여 그 속에서 다당류를 추출하고 완전산분해하여 단당류 조성을 결정하였다. 요쿠르트 제품을 원심분리 후, 거르고 1M 황산으로 완전 산기수분해한 후 중화시켜 당 용액을 얻어내었다. 이 당용액으로부터 일정량을 분취하여 증발건조시킨 후 TMSI(trimethylsilylimidazole)로 유도체화시켜 GC/MS로 분석하였다. 이번 연구에서 요쿠르트의 단당류는 fructose와 glucose 그리고 galactose로 구성되어있음을 확인하였으며, 요쿠르트 제품에 따라 각기 다른 단당류 조성비 결과를 주었다.

ABSTRACT. Yoqurt products are known to be effective for enhancing health and preventing diseases such as cancers. Such effects are generally believed to be due to actions of polysaccharides in yoqurt products. In this study we have determined compositions of monosacchrides in hydrolysates of commercial yoqurt products as the first step of understanding structures of polysaccharides. The yoqurt products were ultracentrifuged, filtered, hydrolyzed in 1M sulfuric acid and neutralized. A portion of the solution was taken and evaporated to dryness, derivatized with TMSI (trimethyl- silylimidazole) and analyzed by GC/MS. We found that the monosaccharides were fructose, glucose, and galactose. Their compositions were variant among several yoqurt products.

서 론

유산균의 일종인 비피더스균은 항암 및 비타민 B₁, B₂, B₆, B₁₂ 합성 등 다양한 건강 증진 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.^{1,2} 특히 발암 물질로 알려져 있는 니트로소아민(nitrosamine)이 비피더스균에 의해 분해됨으로써 항암효과를 나타낸다는 사실이 밝혀졌다.² 유산균에 의하여 생성되는 다당류가 그러한 효과를 내는 것으로 믿어지고 있으며, 프락토올리고당, 갈락토실락토오스 같은 올리고당이 장내 비피더스균의 증식을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 유산균은 생육배지 내의 탄수화물을 이용하여 다양한 종류의 다당류를 생성하게 되는데, 유산균에 의하여 생성되는 다당류는 혈장

대용품으로 사용될 뿐만 아니라, 항암 효과가 있고 인체내의 생리효과를 고양, 증진시킨다는 보고에 따라 관심의 대상이 되어왔다.^{3,5} Knabe⁵는 한 유산균이 생성하는 다당류는 glucose와 galactose가 2:1로 구성된 중성당이며 이 다당류를 분리 정제하여 그것의 제암효과를 관찰하였다. 다른 유산균들은 glucose만으로 구성된 dextran을 생성하거나 또는 glucose와 galactose의 에 glucosamine, galactosamine, rhamnose, mannose, galacturonic acid 등으로 이루어진 다당류를 생성하기도 한다. Dextran 자체는 중성의 호모다당류로서 제암 효과가 인정되지 않았지만 그의 유도체인 diethylaminoethyl-dextran이나 dextran sulfate는 어떤 종류의 암에 대해서 증식 억제효과가 인정되었다.⁶ 비피더스균

과 그 생성물의 함양 효과^{7,8}도 알려져 있지만, 아직 그것의 무엇이 어떤 메카니즘으로 함양 효과 등을 나타내는지는 명확하게 규정된 바 없으며, 이러한 다당류를 분석하는 방법은 극히 초보적인 수준에 와있는 상태이다. 주스나 야채류, 우유 등에 존재하는 다양한 saccharides를 액체 크로마토그래피법⁹⁻¹¹이나 질량 분석법^{12,13}으로 분석하는 방법은 최근까지 많이 보고되고 있으나, 요쿠르트의 경우 고분자량의 다당류나, 올리고당을 함유하고 있기 때문에 그 구조 분석에 있어 어려움이 많다. 최근에 액체 크로마토그래피법과 질량분석법을 연계하여 올리고당을 분석해낸 연구 결과가 보고된 바가 있으나,^{14,15} 아직 미진한 상태이다.

다당류의 구조는 그 구성 단위체인 단당류가 3-6개 결합된 올리고당의 구조를 밝힘으로써 확인할 수 있는데, 이 올리고당을 분석하기 위해서는 다당류를 부분산 가수분해하거나 특정한 당결합분해 효소를 이용하여 분해한 다음, 각 구성 단당류의 조성과 결합 순서, 그리고 이것들로 이루어진 올리고당들 사이의 연계순서를 밝혀내야 한다.

본 연구에서는 다당류 분석방법의 기본 단계로 국내에서 시판되고 있는 비피더스균이 함유된 요쿠르트 제품을 선정하여 그 속에서 다당류를 추출하여 완전산 가수분해하여 생성된 단당류를 GC/MS로 분석하여^{16,22} 그 조성 및 함량을 확인함으로써 시판 요쿠르트 제품별 단당류를 비교 분석하였다. 기체 크로마토그래피법으로 당을 분석하기 위해서는 휘발성을 향상시키기 위해 시료를 유도체화하여야 하는데, 유도체화 시약으로 당분자의 원래 분자구조의 변화를 일으키지 않는 것 중에서 TMS ether가 가장 많이 사용되고 있다.^{17,18,20,21} 본 연구에서도 유도체화 시약으로 TMSI(tri-methylsilylimidazole)를 사용하였으며, 내부표준물질을 이용한 정량분석을 통하여 각 요쿠르트내의 당 함유량을 결정함으로써 제품마다 그 구성비를 비교 분석하였다.

실 험

시약

단당류의 표준시료인 D(+)-Glucose, D(-)-Fructose, D(+)-Galactose, D(+)-Xylose와 이당류 α -Lactose(monohydrate)들은 Sigma Chemicals(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고, 더 이상의 정제과정 없이 사용하였다. 유도체 시약으로 사용된 TMSI(trimethyl-

silyl-imidazole)는 Fluka(Swiss)로부터 구입하였고 용매로 사용된 클로로포름과 물은 모두 HPLC용 등급으로 Fisher(Pittsburgh, PA, USA)사로부터 구입하여 사용하였다. 요쿠르트는 국내 요쿠르트 전문 업체중에 대표적인 4개 회사를 선정하여 각 회사별 하나의 제품을 선택하여 분석에 사용하였다. Xylose는 요쿠르트내의 단당류 정량 분석시에 내부표준물질로 사용하였다.

장치.

본 연구에 사용된 장비는 Shimadzu 사의 QP5050A GC/MS로서 quadrupole 형 질량분석기가 장착되어 있고, 내경이 0.25 mm, 길이가 30m인 DB-1 모세관 컬럼(J&W scientific)을 사용하였다. Injector와 GC/MS interface 온도는 각각 280°C와 300°C로 하였다. 컬럼의 온도는 최초 160°C에서 2분간 유지시킨 후, 분당 5°C씩 165°C까지 증가시킨 후 3분간 일정하게 유지시켰다. 마지막으로 온도를 280°C까지 올려 5분간 유지시켰으며 총 분석시간은 39분으로 하였다. 흐름기체인 헬륨의 전체유속은 50 mL/min으로 하였고 split ratio를 1/50로 하여 결국 컬럼내 흐름기체의 유속은 1 mL/min으로 조절하였다. 질량 scan 범위는 50~800으로 하였다. 수용액 상태의 시료는 rotary evaporator를 이용하여 건조시켰으며, 모든 시료는 Reacti-vial(Alltech)에서 유도체화시켰다.

GC분석을 위한 요쿠르트 전처리 과정.

요쿠르트 시료 원액중 50 ml를 취하여 20,000 rpm에서 30분간 원심분리시켜 먼저 원액을 당용액과 고형물질로 분리시키고 이 당용액중 10 ml를 분취하여 1 M 황산으로 85°C(물탕)에서 2시간동안 완전가수분해하였다. 가수분해된 용액을 0.1 N 수산화나트륨으로 중화시키고, 이 용액을 0.45 μ m membrane filter로 거른 후, 물로 10배 정도 묽혀 최종 용액을 얻어냈다.

TMS 유도체화 방법

표준용액. 먼저 glucose, galactose, fructose 그리고 xylose를 각각 0.1 mg씩 물 100 μ l에 녹여 실온에서 48시간동안 방치하여 anomer 평형을 이루도록 한 후, 이 혼합용액 100 μ l를 50~60°C에서 약 20분 정도 rotavapor로 건조시켜 분말 형태의 시료를 얻어내었다. 여기에 100 μ l 클로로포름을 가하여 용매화시킨 후 TMSI 50 μ l를 가하여 실온에서 3시간동안 유도체화 반응을 진행시킨 다음 질소 기체로 건조시켰다. 그 결과 결정 형태의 고체를 얻어냈으며, 이것을 GC 분석에 앞서 500 μ l 클로로포름에 녹여 최종 용액을 만들

었다. 이 용액에는 200 ng/μl의 농도로 각 단당류가 함유되어 있으며 그 중 1 μl를 GC/MS 분석 시스템에 주입하였다.

요쿠르트 시료. 완전산가수분해하여 얻어낸 최종 용액중 100 μl를 취한 후 여기에 내부표준물질인 xylose (0.1 mg/100 μl) 100 μl를 가한 다음 이 혼합용액을 50-60°C에서 rotary evaporator로 건조시켰다. 실릴유도체화 과정은 표준시료의 경우와 동일한 방법으로 실행하였으며, 1 μl를 주입하여 GC/MS로 분석하였다.

단당류 농도 계산에 대한 기본 원리.

요쿠르트내의 단당류의 농도를 결정하기 위해서 먼저 표준시료 실험을 통하여 내부표준물질인 xylose에 대한 각 단당류들의 상대반응인자비를 구하였다.

여기서 반응인자란 이미 농도를 정확히 알고있는 각 단당류들의 봉우리면적을 농도로 나눈 값을 의미하며, anomer 평형이 된 후 유도체화된 단당류들은 각기 여러 개의 GC/MS peak를 나타내게 되므로 한 단당류에 대한 면적은 각 anomer peak의 면적을 합한 값이 된다. 그런 다음 실제 시료 실험을 통하여 내부표준물질인 xylose에 대한 요쿠르트 당의 면적비를 구하여 다음의 관계식을 이용하여 각 단당류의 농도를 구하였다.

$$C_{X, \text{amp}} = C_{xylose} \times R_X / R_{RF, X}$$

여기서 C_{xylose} 는 내부표준물질인 xylose의 농도이고, $R_{RF, X}$ 는 표준시료 실험에서 얻어낸 내부표준물질에 대한 각 단당류 X의 상대반응인자비이며, R_X 는 실제 요쿠르트 시료 실험으로부터 얻어진 내부표준물질에 대한 요쿠르트 당 X의 면적비를 나타낸다. $C_{X, \text{amp}}$ 는 이들 인자로부터 계산한 시료내의 구성 단당류 X의 농도를 의미한다.

$C_{X, \text{amp}}$ 값으로부터 요쿠르트 원액속의 단당류 농도로의 환산.

내부표준물질에 의해 계산된 단당류의 농도는 시료 전처리 과정을 거쳐 묶여진 용액의 농도를 의미하기 때문에 실제 요쿠르트 원액내 농도로의 환산이 필요하다. 본 연구에서 선정된 4개의 요쿠르트 제품을 전처리한 결과, 각기 다른 부피의 당용액을 얻었다(Table 1).

요쿠르트 원액의 총 부피를 X, 원심분리시 취한 요쿠르트의 부피를 50 ml, 원심분리후 얻은 당용액의 부피를 Y, 가수분해시 분취용액의 부피를 10 ml, 가수분해후 얻은 최종부피를 Z라고 하였을 때 다음 계산식에

Table 1. The volumes (mL) of yogurt samples, sugar solutions, and final solutions of each yogurt products

시료	요쿠르트 부피 (X)	당용액 (Y)	최종용액 (Z)
A 사	155	34	43
B 사	150	35.5	42
C 사	154	34.5	46
D 사	140	32	43

의해 원액에서의 각 구성단당류들의 함량을 구하였다.

$$\text{Fructose 함량} = C_{\text{fru, amp}} \times Z \times \frac{Y}{10} \times \frac{X}{50}$$

$$\text{Galactose 함량} = C_{\text{gal, amp}} \times Z \times \frac{Y}{10} \times \frac{X}{50}$$

$$\text{Glucose 함량} = C_{\text{glu, amp}} \times Z \times \frac{Y}{10} \times \frac{X}{50}$$

여기서, $C_{\text{fru, amp}}$, $C_{\text{gal, amp}}$, $C_{\text{glu, amp}}$ 값들은 이미 내부표준물질법을 이용하여 계산한 값이다.

결과 및 고찰

표준시료의 GC/MS 분석

서로 부분입체 이성질체 관계인 galactose와 glucose 등을 포함하는 단당류혼합물에 대한 까다로운 분리 조건을 찾기위해 먼저 모든 조사대상인 단당류에 대하여 하나의 단당류로 구성된 개별적인 표준시료로 독립된 실험을 수행하였다. 그 결과 galactose가 glucose보다 먼저 용리되어 분리되는 최적 온도 조건을 찾아내 모든 분석에 적용하였다. 각각의 단당류 표준시료들은 개별실험시 역시 예상한 대로 여러 개의 부분입체 이성질체에 대응하는 peak가 나타났으며, 이 결과는 NIST library 검색을 통해 확인하였다. 한 단당류의 여러 부분입체 이성질체의 질량스펙트럼들은 그 주요 피크는 모두 동일하지만 상대적인 세기에 차이가 있다. 특히 open-chain 형태와 고리 형태를 비교하면 그 기준피크 (base peak)가 바뀌기 때문에 분명하게 확인이 가능하였다. 다만 고리 형태인 경우에 α,β-두 이성질체는 피크 세기의 순서에는 바뀐이 없고 상대적인 세기가 약간 변하는 정도이기 때문에 두 이성질체가 존재하는 것을 확인할 수 있을 뿐 둘 중에 어느 것이 α형이고 어느 것이 β형인지 분명하게 정하기는 힘들었으나,

NIST library 검색에서 더 일치하는 결과를 준 것에 근거하여 각 이성질체를 추정하였다. 물론 이 연구에서는 각 단당류에 대하여 모든 이성질체의 peak 신호를 합산하여 정량하였기 때문에 한 단당류에 대하여 각 이성질체를 명확하게 정하지 않았다고 해도 정량분석 결과에는 아무런 영향이 없다.

개별실험을 완결한 후, 표준시료 혼합용액을 만들어 동일한 온도 조건을 적용하여 분석한 결과 각 단당류들은 25분 안에 모두 분리가 되었으며 그것의 크로마토그램을 Figure 1에 도시하였다. 5탄당인 xylose가

가장 먼저 용리되었으며, 그 다음에는 ketose 형태인 fructose가, 마지막으로 aldose인 galactose, glucose의 순으로 용리되었다. Figure 1에서 보여진바와 같이 본 실험에서는 내부표준물질인 xylose의 경우 2개의 peak가 나왔으며 fructose와 galactose의 경우에는 각각 3개의 peak가, glucose는 오직 하나의 peak가 검출되었다. 물론 각 단당류에 대한 peak의 배정은 개별실험에서 얻은 머무름 시간에 바탕을 둔 것이다. Fructose 경우 galactose 보다는 부분입체 이성질체에 대한 분리능이 다소 떨어진 결과를 보여 주었으며, 이 부분입

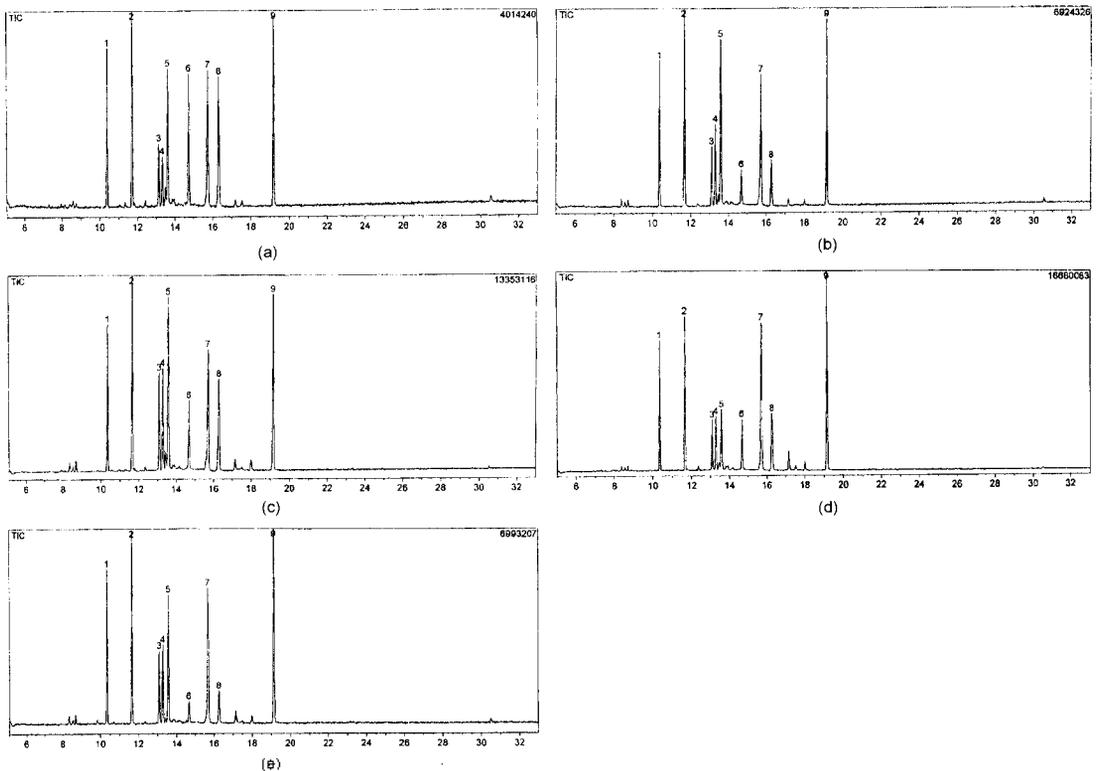


Fig. 1. (a) The total GC/MS ion chromatogram obtained for the trimethylsilylation product of the standard mixture. <Peaks> 1,2;xylose. 3,4,5;fructose. 6,7,8;galactose. 9;glucose. <m/z values> 1: m/z 333,291,259,231, 217,204,191,147,133,103,73 (basepeak), 2: m/z 333,291,259,231, 217,204,191,147, 133,103,73 (basepeak), 3: m/z 437,365,319,217(basepeak), 204,147,103,73, 4: m/z 437,365,319,217(basepeak),204,147,103,73. 5: m/z 437,319,217, 204,147,103,73(basepeak), 6: m/z 435,319,305,231, 217,204,191,147,129, 103,73(basepeak), 7: m/z 435,319,305,231,217,204(basepeak), 191,147,129,103,73, 8: m/z 435,319,305,231,217,204(basepeak),191,147,129,103,73, 9: m/z 435,319,305,231,217,204(basepeak),191,147,129,103,73(basepeak). (b) The total GC/MS chromatogram obtained for the trimethylsilylation product of the yogurt sample A. See the (a) caption for peak assignment and m/z values for each peak. (c) The total GC/MS chromatogram obtained for the trimethylsilylation product of the yogurt sample B. See the (a) caption for peak assignment and m/z values for each peak. (d) The total GC/MS chromatogram obtained for the trimethylsilylation product of the yogurt sample C. See the (a) caption for peak assignment and m/z values for each peak. (e) The total GC/MS chromatogram obtained for the trimethylsilylation product of the yogurt sample D. See the (a) caption for peak assignment and m/z values for each peak.

Table 2. The determined contents (mg/mL) of monosaccharides in the four commercial yogurt products.^a

maker	content(mg/mL)			
	fructose	galactose	glucose	total sugar
A	40.2(2.4)	16.2(2.6)	32.3(1.6)	88.8
B	34.7(3.1)	20.9(3.0)	25.7(5.5)	81.4
C	27.2(2.8)	21.5(2.8)	39.1(0.5)	87.9
D	41.9(1.5)	14.1(1.9)	31.2(2.1)	87.3
response factor ratio ^b	0.7680 (2.6)	1.4876 (0.8)	0.6030 (3.2)	

^a Relative standard deviations(%) for five measurements are given in parentheses.

^b Response factor of a component of interest divided by response factor of xylose(internal standard). Three different standard mixtures whose concentrations span the concentration range of the Yogurt samples were used, and three replicate measurements were done for each standard.

체 이성질체들간의 용리순서를 관찰한 결과 open chain 형이 가장 먼저 용리되었고, 그 뒤에 고리형 이성질체가 용리되었는데, β 형태로 추정되는 peak가 α 형태로 추정되는 peak보다 먼저 용리되는 경향을 보여 주었다.

앞의 실험 부분에서 언급하였듯이 내부표준물질을 비롯한 모든 단당류에 대한 각각의 봉우리 면적합을 구하여 각각의 농도로 나눈 반응인자를 구한 후 xylose에 대한 상대반응인자비를 구하였으며 그 값들을 Table 2에 요약하였다. 표준시료의 내부표준물질인 xylose에 대한 상대반응인자비는 표준시료의 농도에 관계없이 일정한 값을 보여주었기 때문에 실제 요쿠르트 시료의 정량분석에 적용하여 얻어낸 결과에 신뢰성이 있다고 볼 수 있다.

요쿠르트 시료의 GC/MS 분석.

4개의 요쿠르트 제품에 대하여 여러 날에 걸쳐 독립적인 실험을 실행하였다. 먼저 표준시료 실험에서 상대반응인자의 재현성을 확보한 후 각 요쿠르트에 대해 다섯 번의 반복실험을 하였고, 그 결과는 Figure 2~5에 도시하였다. 그림에서 보는바와 같이 4개의 요쿠르트에 대한 TIC(total ion chromatogram)에 나타나는 봉우리들의 위치는 표준시료의 경우와 일치한다. 단지 각 단당류에 대한 부분입체 이성질체들 간의 상대적 세기의 차이가 다소 존재하고 각 단당류의 구성농도에 차이가 있을 뿐이다.

표준시료에 대한 Mass Spectrum 분석

본 연구에서는 EI (70 eV) 이온화 방법을 사용하고

scan 모드로 질량 스펙트럼을 얻어내었다. Xylose의 경우 tetrakis(trimethylsilyl)-D-xylose와, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-D-xylopyranose의 두 부분입체 이성질체에 대한 질량스펙트럼을 얻었다. Fructose의 경우, open chain 형태인 1,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethyl)-D-fructose와, β -Fructopyranose(NIST library 검색에서 가장 유력하다고 추정)를 확인하였다. 한편 α form은 Figure 1에서 보듯이 5번 peak 앞에 거의 겹쳐서 나타났지만 거의 존재하지 않음을 알 수 있으며, 4번 peak는 NIST library에는 포함되어 있지 않지만, furanose form으로 추정된다. Galactose의 경우에는 open chain 형태와 α/β pyranose 형태를 확인하였으며, Glucose의 경우에는 open chain 형태인 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethyl)-D-glucose 하나만을 확인하였다. Fructose의 경우 m/z 437,319,217,204,147,103,73 등이 주요 봉우리로 관찰되었는데 open chain 형태에서는 m/z 217인 봉우리가 base peak인 반면, 고리형에서는 m/z 73인 봉우리가 base peak로 나타나는 뚜렷한 차이를 보인다. Galactose의 경우 m/z 435,319,305,231,217,204,191,147,129,103,73 등이 주요 봉우리로 관찰되었는데, open chain 형태에서는 m/z 73이 base peak인 반면, 고리형에서는 m/z 204가 base peak로 나타난다. Glucose의 경우 주요 봉우리는 galactose의 경우와 같고, open chain(m/z 73이 base peak) 형태만 관찰되었다.

A사, B사, D사의 TIC는 서로 비슷한 경향성을 나타낸다. Fructose의 경우 모두 open chain형(Figure 2,3,5의 3번 peak)과 α 형태(Figure 2,3,5의 4번 peak)보다 β 형태(Figure 2,3,5의 5번 peak)의 상대적 세기가 큰 결과를 나타냈다. 그러나, C사의 경우에는 세 peak 사이의 상대적 세기의 차이가 거의 없음을 알 수 있다. 반면에 glucose의 상대적 세기가 나머지 세 회사의 경우와 비교해 보았을 때 큼을 알 수 있다. Table 2에서 알 수 있듯이 A사, B사, D사의 경우 fructose가 가장 많이 검출되고, C사의 경우 glucose가 가장 많이 검출되는 경향을 보여 주었다.

결 론

단당류 표준용액을 TMS로 유도체화시켜 GC/MS로 분석한 결과 5%이내의 R.S.D를 나타냈으며 실제 요쿠르트 시료의 정량분석에 적용하여 구성 단당류의 조

성과 함량을 밝혀냈다. 각 단당류의 상대반응인자비는 본 연구에서 실행한 농도범위에서 일정한 값을 나타내는 재현성을 보여 주었으며, 국내 시판되는 요쿠르트의 단당류 조성은 fructose와 glucose, 그리고 galactose로 구성되었음이 밝혀졌다.

본 연구는 과학재단의 연구비지원(과제번호 981-0305-027-2)에 의하여 수행되었음.

인 용 문 헌

- Hughes, D. B; Huber, D. G. *Food Technol.* **1991**, 1991, 74.
- 강국희; 허경택 *비파티스균과 올리고당 유한문화사*: **1994**; pp33-38.
- Whistler, R. L.; Bushway, A. A.; Singh, P. P.; Nakahara, W.; Tokuzen, R. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1976**, **32**, 235.
- Knabe, M., *Jap. J. Dairy and Food Sci.* **1981**, **30**, 219.
- Keating, K. *Cultured dairy Products Journal* **1985**, **20**, 13.
- Sanford, P. A. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* **1976**, **32**, 257.
- Fernades, C. F.; Shahani, K. M. *J. Food Protect* **1990**, **53**, 704.
- Hosono, A.; Wadijo, R.; Otani, H. *Agric. Biochem.* **1990**, **54**, 1639.
- Tisza, S.; Pass, P; Molnar-Perl, I. *J. Chromatogr.* **1994**, **676**, 461.
- Lamb, J. D.; Meyers, G. S.; Edge, N. *J. Chromatogr. Sci.* **1993**, **31**, 353.
- McFeeter, R. F. *J. Agric. Food Chem.* **1993**, **41**, 1439.
- Ahn, Y. H.; Yoo, J. S. *Rapid Comm. Mass Spectrom.* **1998**, **12**, 2011.
- Linderg, B.; Lindh, F.; Lundsten, J. *Carbohydr. Res.* **1994**, **254**, 15.
- Sakairi, M.; Kambara, H. *Anal. Chem.* **1989**, **61**, 1159.
- Schol, H. A.; Mutter, M.; Voragen, A. G. J.; Nissen, W. M. A.; van der Hoeven, R. A. M.; van Greef, J.; Bruggink, C. *Carbohydr. Res.* **1994**, **261**, 335.
- Long, A. R.; Chism, G. W. *J. Food Sci.* **1987**, **52**, 150.
- Horvath, K.; Molnar-Perl, I. *Chromatographia* **1997**, **45**, 328.
- Molnar-Perl, I.; Horvath, K. *Chromatographia* **1997**, **45**, 321.
- Asres, D. D.; Perreault, H. *Can. J. Chem.* **1997**, **75**, 1385.
- Mateo, R.; Bosch, F. *J. Chromatogr.* **1987**, **410**, 319.
- Tisza, S.; Sass, P. *J. Chromatogr. A* **1994**, **676**, 461.
- Morvai, M.; Molnar-Perl, I. *J. Chromatogr.* **1991**, **552**, 337.
- Castro, M.; Paez, M. I.; Sanz, J. *J. Chromatogr.* **1989**, **462**, 49.