

УДК 543.54

Н. І. Смик

**МЕТОД КАПЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ
НИЗЬКОМОЛЕКУЛЯРНИХ ОРГАНІЧНИХ КИСЛОТ У СОКАХ**

Проаналізовано результати застосування сучасних фізико-хімічних методів для визначення вмісту органічних кислот в продуктах харчування, зокрема, соках. Показано, що з огляду на можливість одночасного визначення кількох компонентів у пробі, мінімальну пробопідготовку, невисоку собівартість і високу швидкість аналізу,

обернено-фазовий капілярний зонний електрофорез з прямим УФ-детектуванням є найбільш придатним для цього методом. Досліджено вплив низки факторів на ефективність розділення ряду органічних кислот. Встановлені оптимальні умови їхнього визначення: 25 мМ фосфатний буфер з рН 6.25 й додаванням 0.2 мМ цетилтриметиламонію броміду, 0.25 мМ солі Mg^{2+} та 0.1 % за об'ємом ацетонітрилу, напруга 20 кВ, електрокінетичне введення проби при дії напруги 10 кВ протягом 3 с, пряме УФ детектування при $\lambda=230$ нм. Показано, що в запропонованих умовах за 12.5 хвилин досягається розділення шести низькомолекулярних органічних кислот: щавелевої, винної, яблучної, буриштинової, молочної та лимонної, наявність та співвідношення концентрацій яких дуже важливі для встановлення якості та походження фруктових соків.

Ключові слова: капілярний електрофорез, низькомолекулярні органічні кислоти, аналіз соків, пряме УФ детектування, обернено-фазовий електрофорез.

Вступ

Проблема контролю якості продукції харчової промисловості останнім часом стає все більш актуальною, у зв'язку з почастищенням випадків фальсифікації та подробиць продуктів харчування. Зокрема, наявність та кількість певних органічних кислот (ОК) в соках може бути індикатором їхньої якості і свіжості й вказувати на можливе джерело сировини, з якої вони виготовлялись. Певні ОК надходять з сировини, з якої виготовляють соки, де вони утворюються природним шляхом внаслідок протікання біохімічних процесів. Саме комбінація ОК в природних соках впливає на органолептичні властивості (смак, колір та аромат), стабільність і мікробіологічний склад цих напоїв [1, 2]. Лимонну, фумарову, яблучну та сорбінову кислоти, за дозволом міжнародної організації Food and Drug Administration [3], можна застосовувати як підкислювачі при виробництві соків, винну кислоту – як пасиватор, а пропіонову кислоту – як антимікробну добавку. Наявність і вміст молочної кислоти дозволяє слідкувати за початком та глибиною протікання процесів бродіння та ферментації [4–6]. Еволюція винної та яблучної кислот корисна для перевірки процесу дозрівання винограду [7]. Контролюючи наявність і кількісні співвідношення певних органічних кислот, можна виявляти фальсифіковану продукцію, коли дорогі натуральні складові соку замінюються на більш дешеві, синтетичні.

Отже, метод який має застосовуватись для рутинного визначення кислот в соках, повинен відповідати наступним вимогам: можливість багатокомпонентного аналізу, селективність, чутливість, простота пробопідготовки (або взагалі її відсутність), експресність, низька собівартість аналізу.

Оскільки проблема визначення ОК у фруктах, овочах, соках та винах є досить актуальною протягом довгого часу, існує багато методів її вирішення. На ранніх етапах дослідження використовували спектрофотометричні та ензимні методи. Для їх реалізації ОК виділяли з матриці шляхом іонного обміну з наступним вилученням у водну фазу, де відбувалося утворення забарвленої сполуки з органічним реагентом [8, 9] чи коферментом НАДН (нікотинамідаденіндинуклеотид, відновлена форма) або НАДФН (нікотинамід аденіндинуклеотид фосфат, у відновленій формі) [10–14]. Такі методи виявилися недостатньо вибірковими, доволі трудомісткими і обмеженими, оскільки не дають змогу визначати вміст деяких важливих кислот. Останнім часом, лише ферментативні методи застосовуються як еталонні для перевірки результатів, отриманих іншими методами [15, 16].

Більш ефективними виявилися хроматографічні методи. Існують методики ідентифікації та розділення винної, яблучної, молочної, янтарної та лимонної кислот в

соках та винах методом тонкошарової хроматографії [17, 18]. Застосування високочутливого і селективного методу газової хроматографії (ГХ) при визначенні ОК обмежується необхідністю їхнього попереднього відділення від складної матриці соку та дериватизації [19–22], що істотно збільшує час аналізу. Тому останнім часом ГХ мало використовується для визначення ОК. Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) має більш широке застосування для визначення ОК в продуктах харчування завдяки високій відтворюваності (більше 95%) і задовільній роздільній здатності [9, 23–30]. Але визначення потребує великих затрат часу та ресурсів на пробопідготовку [2, 31–34], високої кваліфікації персоналу і високовартісного обладнання. Кращої роздільної здатності без попередньої дериватизації та відділення матриці при визначенні вмісту ОК в соках можна досягти із застосуванням іонообмінної хроматографії (ІХ) [35]. Це пов'язане із використанням в ІХ кондуктометричного детектора з пригніченням електропровідності фонового розчину [36], який майже на порядок чутливіший за УФ-детектор, що зазвичай застосовують в ВЕРХ. Однак високовартісні колонки й необхідність жорсткого дотримання умов хроматографування обмежують застосування цього методу для рутинного аналізу.

В останні роки для визначення органічних кислот в найрізноманітніших матрицях, таких як клінічні зразки, об'єкти природного середовища, харчові продукти, найчастіше застосовують капілярний електрофорез як альтернативу хроматографії [37, 38]. Бурхливий розвиток цього методу для аналізу продуктів харчування підтверджується великою кількістю публікацій в провідних наукових журналах, зокрема оглядових статей [39–42] і довідників (handbook) по застосуванню методу в харчовій промисловості [43, 44]. Це обумовлено цілою низкою важливих переваг КЕ, зокрема високою роздільною здатністю, простотою автоматизації, експресністю аналізу, незначною витратою реагентів, невеликим об'ємом й мінімальною пробопідготовкою зразків, навіть з найскладнішими матрицями, та порівняно невисокою вартістю одного аналізу. Значну кількість робіт присвячено визначенню органічних кислот в соках [45–55].

Простота пробопідготовки та короткий час аналізу – це основні переваги капілярного електрофорезу, а відсутність необхідності застосування небезпечних органічних розчинників робить метод КЕ більш безпечним за ВЕРХ.

Метод КЗЕ передбачає два способи введення проби в капіляр: гідродинамічний та електрокінетичний. Гідродинамічне (під тиском або сифонуванням) введення проби забезпечує отримання більш відтворюваних результатів при аналізі складних матриць, оскільки об'єм введеної проби не залежить від складу матриці зразка. Електрокінетичне (при короткочасному збільшенні напруги) введення проби сприяє збільшенню чутливості методу.

При визначенні ОК в соках використовуються лише два типи систем детектування: кондуктометричний та УФ-спектроскопічний. Останній спосіб застосовується більш широко, в основному за рахунок його універсальності і доступності. Цей тип детектування може реалізовуватись також у двох режимах: прямий (поглинання електроліту в УФ-області менше ніж поглинання органічних кислот, тому, коли аналіт проходить через детектор, аналітичний сигнал збільшується) і непрямий (поглинання електроліту в УФ-області більше, ніж поглинання органічних кислот, тому коли аналіт проходить через детектор, поглинання зменшується і пік знаходиться в негативній області). І хоч непряме УФ детектування частіше застосовується при визначенні коротколанцюгових ОК методом капілярного зонного електрофорезу (КЗЕ), в подальшій роботі аналіз проводився із прямим детектуванням з огляду на більшу стабільність базової лінії та надійність результатів [56, 57].

Метою даної роботи був вибір методу аналізу, найбільш придатного для визначення вмісту основних низькомолекулярних органічних кислот у фруктових соках, та оптимізація умов для проведення простого й швидкого контролю якості цих продуктів.

Методика дослідження

Реагенти та процедури. Для приготування вихідних розчинів використовували реактиви марки х.ч. та ч.д.а. і бідистильовану воду. Вихідні (10 г/л) розчини лимонної, яблучної, щавелевої, бурштинової, молочної та винної кислот готували розчиненням точних наважок комерційного препарату фірми Merck (Дармштадт, Германія) у бідистильованій воді та зберігали при температурі 4.0 ± 0.5 °C протягом 1 місяця. Робочі розчини готували розбавленням вихідних бідистильованою водою безпосередньо перед проведенням експерименту. Для приготування основного електроліту застосовували натрій гідроген- і дигідрогенфосфат (Na_2HPO_4 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), хлоридну кислоту ($w(\%) = 37$) та твердий натрій гідроксид фірми Merck (Дармштадт, Германія). Поверхневоактивні речовини цетилтриметиламонію бромід (ЦТАБ), тетрадецилтриметиламонію бромід (ТТАБ) та гексадиметрину бромід (ГДБ) фірми Sigma (США) використовували як модифікуючу добавку, робочі розчини (10 ммоль/л) готували раз на тиждень. Використовували щойно приготовлений електроліт, який перед застосуванням фільтрували крізь мембранний фільтр з отворами 0.45 мкм. Зразки перед аналізом розбавляли бідистильованою водою і фільтрували через фільтр з отворами 0.5 мкм.

Обладнання. Кислотність середовища контролювали на іономірі EM-74 із використанням скляного H^+ -селективного та аргент-хлоридного електродів. Електрофоретичне розділення проводили на приладі Agilent 1600 фірми Agilent Tehnology з УФ детектором. Збір та обробку даних проводили з використанням відповідного програмного забезпечення Agilent ChemStation Software. Для експерименту використовували капіляр з плавленого кварцу загальною довжиною 56 см з внутрішнім діаметром 50 мкм. Довжина від місця введення проби до віконця детектора становить 50 см.

Умови проведення електрофоретичного розділення та визначення. Новий капіляр перед першим використанням промивали послідовно водою (10 хв), 1 М NaOH (10 хв), 0.01 М NaOH (10 хв), H_2O (30 хв) та основним електролітом (30 хв). На початку кожного робочого дня капіляр перед використанням промивали розчином 0.01 М NaOH (10 хв), H_2O (30 хв) та основним електролітом (30 хв). Перед кожним циклом визначень впродовж робочого дня капіляр промивали 0.01 М NaOH (5 хв), H_2O (5 хв) та основним електролітом (10 хв).

Розділення проводили при $T = 20$ °C з електрокінетичним введенням проби при $E = 10$ кВ, $t = 3$ с. Визначення проводили шляхом прямого УФ детектування при $\lambda = 230$ нм.

Зразки для аналізу. Для оптимізації умов електрофоретичного розділення проводили аналіз штучної суміші ОК, найбільш важливих при встановленні якості фруктових соків (винна, яблучна, лимонна, бурштинова та молочна кислота), із вмістом кожної кислоти 100 мг/л. Як критерій розділення використовували різницю часів міграції (t_m).

Результати та їх обговорення

Вибір основного електроліту. Для визначення ОК методом КЗЕ запропоновано значну кількість основних електролітів. Ряд із них, зокрема на основі бензойної кислоти [58], хромату [59], *n*-амінобензойної кислоти [54], фталату [60], придатні для

непрямого УФ детектування ОК. Пряме детектування можна здійснювати лише в основному електроліті, прозорому для УФ випромінювання. Найчастіше застосовують тетраборатний [50, 51, 61], фосфатний [62–64] та ацетатний [65] буферні розчини. Оскільки рухливість фосфату близька до рухливості низькомолекулярних ОК, для подальших досліджень було обрано саме цей електроліт.

Вибір оптимального рН. Величина рН основного електроліту істотно впливає на розділення в методі КЗЕ, оскільки визначає не лише швидкість електроосмотичного потоку (ЕОП), а й ефективну електрофоретичну рухливість, яка і визначає час міграції аналіту. Аналіз даних літератури [66] показує, що вплив рН на розділення ОК в кварцевому капілярі доцільно вивчати в межах рН розчину від 2.00 (дисоціація силанольних груп на поверхні кварцу) до 7.00 (повна дисоціація ОК). Було встановлено, що найбільш ефективно розділення суміші відбувається при рН буферного розчину 6.25. Оскільки за цих умов час виходу останнього компоненту не перевищував 20 хв, подальші дослідження проводили в фосфатному буфері при рН 6.25.

Вибір оптимальної концентрації буферу. Концентрація буферного розчину істотно впливає на величину заряду поверхні капіляру (ζ -потенціал), в'язкість, іонну силу та опір електропровідного середовища – параметри, що визначають як швидкість електроосмотичного потоку (ЕОП), так і величину електрофоретичної рухливості. Зокрема, при збільшенні концентрації буферного розчину розділення піків покращується, але збільшується час міграції та величина Джоулевої теплоти. Тому, було вивчено вплив (в межах 10–40 мМ) концентрації фосфатного буферу з рН 6.25 на розділення суміші ОК.

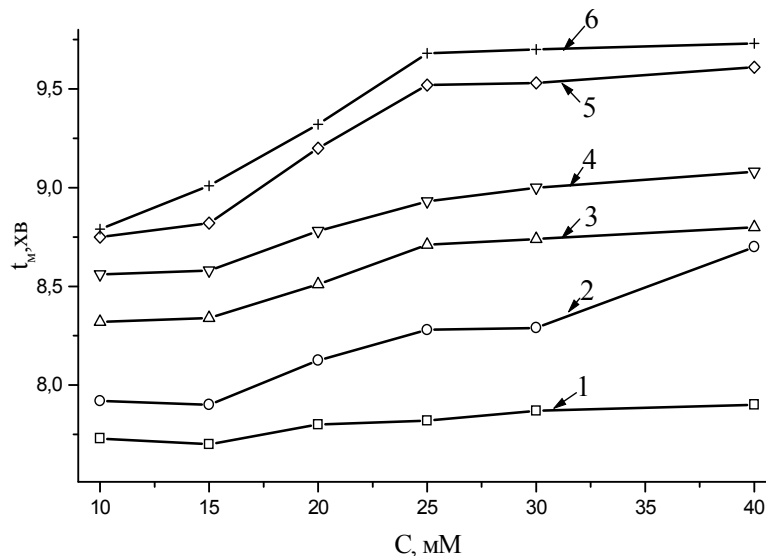


Рис. 1. Вплив концентрації фосфату на час міграції ОК: щавелева (1), винна (2), яблучна (3), бурштинова (4), молочна (5), лимонна (6). Напруга 20 кВ

З рис. 1 видно, що максимальна різниця в часі міграції компонентів спостерігається при концентрації фосфатного буферу 25 мМ. Всі подальші дослідження проводили в основному електроліті саме такого складу.

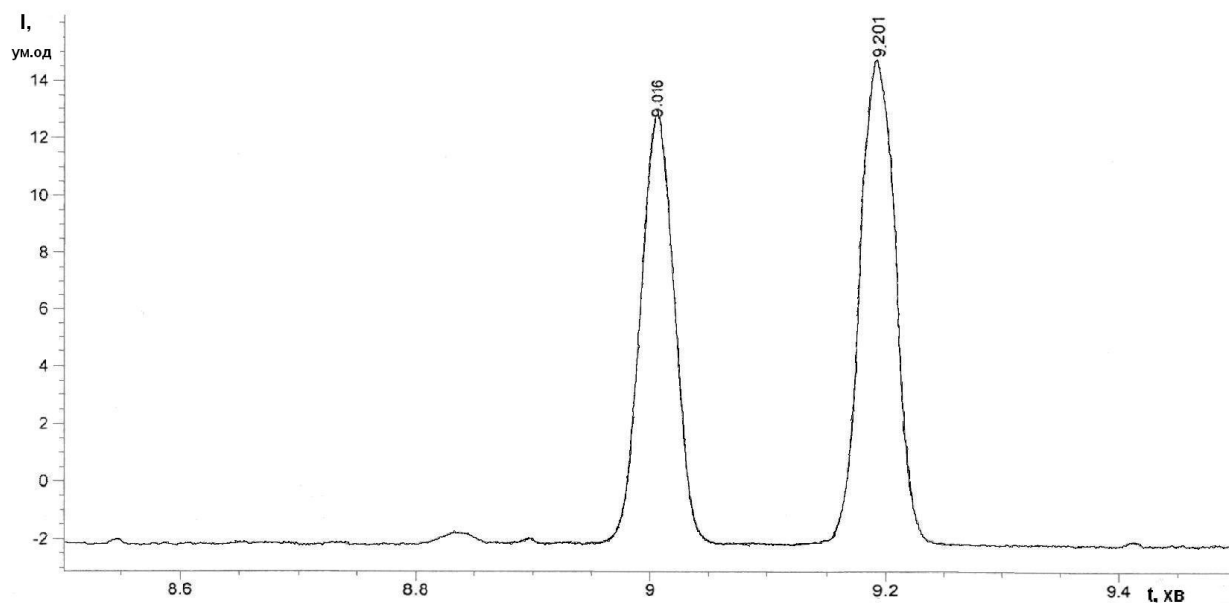
Вибір модифікаторів. В класичному варіанті КЕ застосовують кварцевий капіляр, заповнений буфером з рН > 2.00. За цих умов внутрішня поверхня капіляру набуває негативного заряду і при підключенні зовнішнього потенціалу з'являється осмотичний потік, що направлений до катоду. Тому класичний капілярний електрофорез найбільш придатний для розділення катіонів. За необхідності розділення аніонів краще застосовувати обернено-фазовий електрофорез. В представленій роботі обернення фаз досягалось додаванням до основного електроліту катіонних ПАР, які сорбуються на

зарядженій стінці капіляру подвійним шаром, змінюючи напрямок електроосмотичного потоку. Для оптимізації умов розділення ОК було досліджено вплив добавок ПАР різної природи та концентрації до основного електроліту. При порівнянні електрофореграм тестової суміші за відсутності та в присутності кПАР з різною довжиною вуглецевого радикалу ЦТАБ та ТТАБ (концентрація 0.05–1.5 мМ) й полікатіонного полімеру ГДБ (концентрація 0.1–100 мг/мл). Виявилося, що в усіх випадках необхідне обернення електроосмотичного потоку досягається, а зміна концентрації модифікаторів практично не впливає на величину потоку. З огляду на краще розділення піків, для подальшої роботи було обрано ЦТАБ з концентрацією 0.2 мМ.

Для покращення ефективності розділення ОК до основного електроліту додають невеликі кількості органічних розчинників, зокрема метанолу, 2-пропанолу або ацетонітрилу та (або) неорганічних аніонів. В даній роботі дослідження впливу органічних розчинників проводили в межах їх вмісту в основному електроліті 5–200 мл/л. Було з'ясовано, що при додаванні розчинників різною мірою збільшується час міграції різних ОК і, відповідно, покращується розділення їх піків. Найкраще співвідношення між роздільною здатністю й прийнятним часом аналізу досягається при додаванні до основного електроліту 100 мл/л ацетонітрилу. Мінімальне збільшення часу розділення суміші в присутності ацетонітрилу можна пояснити порівняно низькою в'язкістю цього органічного компоненту, а його слабкими кислотними та основними властивостями пояснюється диференціюючий вплив на ОК. Порівняння електрофореграм (рис. 2) показує, що лише за цих умов досягається розділення яблучної і бурштинової кислот.

Вивчення впливу неорганічних іонів проводили, додаючи до суміші розчини солей Mg^{2+} та Ca^{2+} в межах концентрацій 0.0 – 1.0 мМ. Введення такої добавки дуже по-різному впливає на рухливість ОК. Особливо значний вплив введення солей справляє на час міграції лимонної кислоти: при збільшенні концентрації Mg^{2+} від 0.0 мМ до 1.0 мМ час міграції зростає від 9.204 хв до 12.032 хв. Виходячи з кращого розділення піків за мінімального часу розділення, оптимальною була обрана добавка 0.25 мМ Mg^{2+} .

а



б

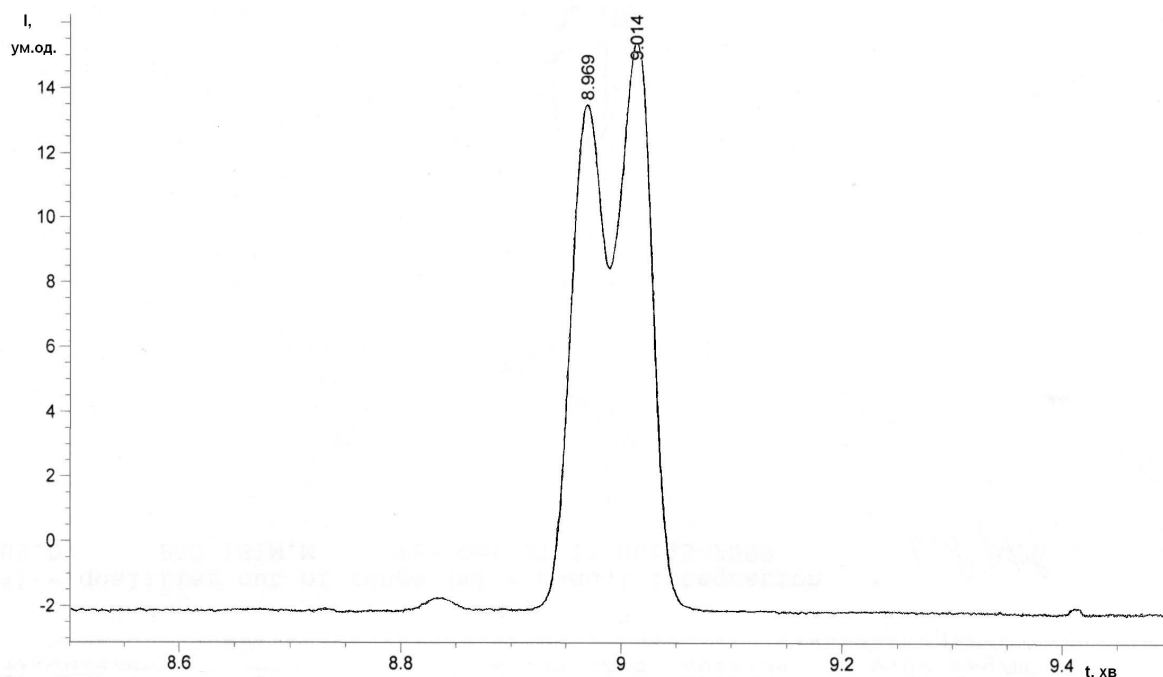


Рис.2. Электрофореграми суміші бурштинової та яблучної кислот (в порядку виходу) за відсутності (а) та в присутності (б) ацетонітрилу. Концентрації: ОК 0.10 г/л, ацетонітрил 100 мл/л. Умови: 25 мМ фосфатний буфер, рН 6.25, напруга 20 кВ

Вибір напруги. Основною силою, що забезпечує міграцію іонів в КЕ, є зміна напруженості електричного поля в капілярі, яка зростає із зростанням прикладеної до капіляру напруги. В даній роботі до капіляру довжиною 56 см прикладали напругу, що змінювалася в межах від 10 кВ до 30 кВ. Це дозволило перевірити вплив на ефективність визначення ОК напруженості поля в межах від 175 до 536 В/см.

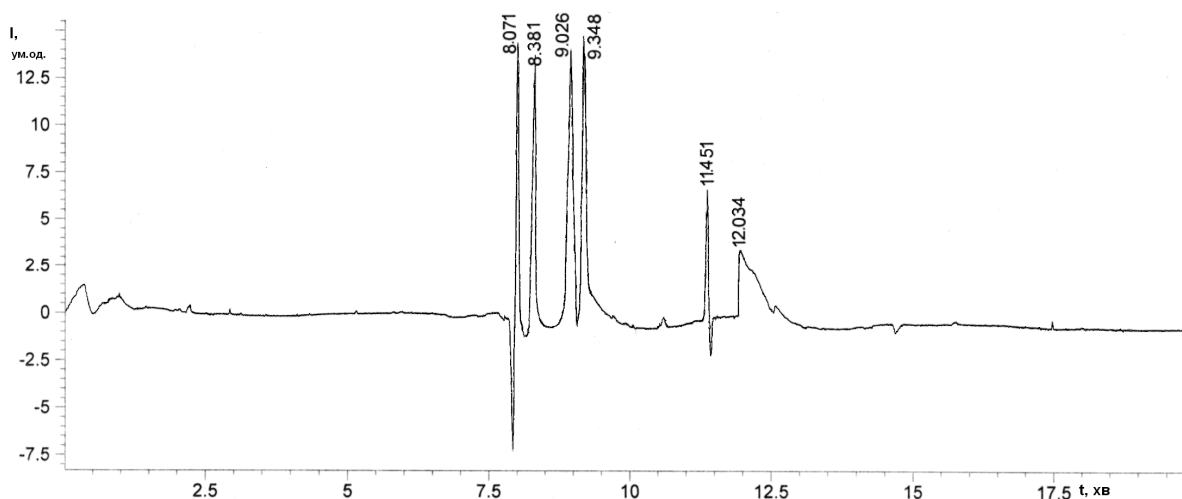


Рис.3. Электрофореграма стандартної суміші органічних кислот. Концентрації: ОК 0.10 г/л, ацетонітрил 100 мл/л, Mg^{2+} 0,25 мМ. Умови: 25 мМ фосфатний буфер, рН 6.25, напруга 20 кВ. Порядок виходу: щавелева, винна, яблучна, бурштинова, молочна, лимонна кислоти.

Виявилось, що при збільшенні напруженості поля час визначення дійсно зменшується. Але, разом з тим, збільшується і величина струму, який протікає через капіляр, що призводить до небажаного нагрівання капіляру. За прикладеної напруги більше 25 кВ виділення теплоти вже призводить до помітного погіршення

електрофореграми (уширення та спотворення форми піків) і скорочення часу життя капіляру. Тому, оптимальною було обрано напругу 20 кВ, як компроміс між максимально коротким часом аналізу й мінімально можливим струмом.

Аналіз стандартних розчинів. В оптимізованих умовах було проаналізовано стандартну суміш ОК. З рис. 3 видно, що в обраних умовах за 13 хв досягається розділення шести основних коротколанцюгових ОК, які визначають смак, колір та ступінь свіжості фруктових соків.

Висновки

Було показано переваги методу КЕ при створенні методик швидкого і дешевого аналізу продуктів харчування на вміст ОК без попередньої пробопідготовки. Оптимізовано умови для одночасного визначення вмісту щавелевої, винної, яблучної, бурштинової, молочної та лимонної кислот в соках: 25 мМ фосфатний буфер, рН 6.25, 100 мл/л ацетонітрилу, 0.25 мМ Mg^{2+} , напруга 20 кВ. Оскільки комбінація саме цих шести кислот визначає якість натуральних фруктових соків, представлений спосіб аналізу можна запропонувати для виявлення фальсифікованої та неякісної продукції зокрема.

Подяка

Автор висловлює велику подяку співробітникам та завідувачу хроматографічної лабораторії НДЦ випробувань ДП «Укрметртестстандарту» Кищенко В.А. за допомогу у підготовці та проведенні експерименту.

Список використаної літератури

1. Shui G. Separation and determination of organic acids and phenolic compounds in fruit juices and drinks by highperformance liquid chromatography / G. Shui, L. P. Leong // *J. Chromatogr. A* – 2002. – Vol. 977. – P. 89–96.
2. Soyer Y. Organic acid profile of Turkish white grapes and grape juices / Y. Soyer, N. Koca, F. Karadeniz // *J. Food Composition and Analysis*. – 2003. – Vol. 16. – P. 629–636.
3. Aurant L. Food laws and regulation. In food composition and analysis / L. Aurant, A. Woods, M. Wells. – New York.: Van Nostrand Reinhold, 1987. – 14 p.
4. Castinéira A. Analysis of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection / A. Castinéira, R. M. Pena, C. Herrero, S. Garcia-Martín // *J. Food Composition and Analysis* – 2002. – Vol. 15. – P. 319–331.
5. Esteves V. I. Using capillary electrophoresis for the determination of organic acids in Port wine / V. I. Esteves, S. S. F. Lima, D. L. D. Lima, A. C. Duarte // *Anal. Chim. Acta* – 2004. – Vol. 513. – P. 163–167.
6. Peynaud E. *Enología practica Conocimiento y elaboracio delvino* (3rd ed.) / E. Peynaud. – Madrid: Mundi-Prensa, 1999. – 243 p.
7. Berlitz H. D. *Quirmica de los alimentos* (2nd ed.) / H. D. Berlitz, W. Grosch. – Zaragoza: Acribia, 1992, – 192 p.
8. Rebelein H. Colorimetric determination of tartaric and lactic acids in wine and fruit juice / H. Rebelein // *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. – 1961. – Vol. 57. – P. 36–41.
9. Vereda E. Determination of organic acids in wines / E. Vereda, A. Garcia de Torres, A. Rivero, J. M. Cano // *A review. Quimica Analitica*. – 1998. – Vol. 17. – P. 167–175.
10. Bergmeyer H. U. *Methods of enzymatic analysis* (3rd ed.). *Metabolites 2: Tri- and dicarboxylic acids, purines, pyrimidines and derivates, coenzymes, inorganic compounds* / H. U. Bergmeyer. – Weinheim: Verlag Chemie, 1985. – 115 p.
11. Horwits W. *AOAC Inernational Associaion of Official Analytical Chemists Official methods of analysis of AOAC International*. 17th ed. / W. Horwits. – Maryland: USA, 2000. – 311 p.
12. *Methods of enzymatic bioanalysis and food analysis using test-combinations*, Biochemicals, D-68298 / Mannheim: Boehringer Mannheim GmbH., 1995. – 263 p.
13. Puchades R. Simultaneous enzymic determination of L-malic acid and L-lactic acid in wine by flow injection analysis / R. Puchades, M. A. Herrero, A. Maquieira, J. Atienza // *Food Chem*. – 1991. – Vol. 42. – P. 167–182.

14. Lima J. L. F. C. Enzymic determination of L(A)malic and L(+)-lactic acids in wine by flow injection analysis / J. L. F. C. Lima, A. O. S. S. Rangel // *Am. J. Enology and Viticulture*. – 1992. – Vol. 43. – P. 58–62.
15. Frayne R. F. Direct analysis of the major organic components in grape must and wine using high performance liquid chromatography / R. F. Frayne // *Am. J. Enology and Viticulture*. – 1986. – Vol. 37. – P. 281–287.
16. Kandl T. An improved capillary electrophoresis procedure for the determination of organic acids in grape juice and wine / T. Kandl, S. Kupina // *Am. J. Enology and Viticulture*. – 1999. – Vol. 50. – P. 155–161.
17. Bourzeix M. Identification des acides organiques et evaluation de leurs teneurs individuelles dans les jus de raisin et les vins par chromatographie et photodensitometrie / M. Bourzeix, J. Guitraud, F. Champagnol // *J. Chromatogr.* – 1970. – Vol. 50. – P. 83–91.
18. Ryan J. J. Identification and analysis of the major acids from fruit juices and wines / J. J. Ryan, J. A. Dupont // *J. Agricultural and Food Chem.* – 1973. – Vol. 21. – P. 45–49.
19. Tanner H. Qualitative and quantitative gas-chromatographic determination of the organic acids and sugar of various drinks / H. Tanner, C. Zanier // *Schweizerische Zeitschrift fuer Obst- und Weinbau*. – 1976. – Vol. 112. – P. 453–460.
20. Barden T. J. Gas chromatographic determination of organic acids from fruit juices by combined resin mediated methylation and extraction in supercritical carbon dioxide / T. J. Barden, M. Y. Croft, E. J. Murby, R. J. Wells // *J. Chromatogr. A*. – 1997. – Vol. 785. – P. 251–261.
21. Kim K. R. Trace analysis as TBDMS (tert-butyldimethylsilyl) derivatives of organic acids in aqueous samples / K. R. Kim, J. H. Kim, H. K. Park // *Taehan Hwahakhoe Chi*. – 1990. – Vol. 34. – P. 352–359.
22. Deng C. R. Determination of total organic acids in wine by interfacial derivatization gas chromatographic method / C. R. Deng // *Sepu*. – 1997. – Vol. 15. – P. 505–507.
23. Llorente M. Reverse-phase HPLC of organic acids in musts / M. Llorente, B. Villarroya, C. Gomez-Cordoves // *Chromatographia*. – 1991. – Vol. 32. – P. 555–558.
24. Escobal A. Liquid chromatographic determination of organic acids in txakoli from Bizkaia / A. Escobal, J. Gonzalez, C. Iriondo, C. Laborra // *Food Chem.* – 1997. – Vol. 58. – P. 381–384.
25. Kotani A. Determination of organic acids by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection during wine brewing / A. Kotani, Y. Muyaguchi, E. Tomita, K. Takamura, F. Kusu // *J. Agricultural and Food Chem.* – 2004. – Vol. 52. – P. 1440–1444.
26. Billingsley A. Radial compression reversed phase HPLC analysis of aliphatic acids in grape juice and wine / A. Billingsley, M. Parker, P. Bowden, A. Buglass // *J. Analysis*. – 1996. – Vol. 24. – P. 29–30.
27. Kerem Z. Rapid liquid chromatography-ultraviolet determination of organic acids and phenolic compounds in red wine and must / Z. Kerem, B. Bravdo, O. Shoseyov, Y. Tugendhaft // *J. Chromatogr. A*. – 2004. – Vol. 1052. – P. 211–215.
28. Lopez-Tamames E. Organic acids, sugars, and glycerol content in white winemaking products determined by HPLC: relationship to climate and varietal factors / E. Lopez-Tamames, M. A. Puig-Deu, E. Teixeira, S. Buxaderas // *Am. J. Enology and Viticulture*. – 1996. – Vol. 47. – P. 193–198.
29. Falque Lopez E. Simultaneous determination of the major organic acids, sugars, glycerol, and ethanol by HPLC in grape must and white wines / E. Falque Lopez, E. Fernandez-Gomez // *J. Chromatogr. Sci.* – 1996. – Vol. 34. – P. 254–257.
30. Chinnici P. Simultaneous determination of organic acids, sugars and alcohols in musts and wines by an improved ion-exclusion HPLC method / P. Chinnici, U. Spinabelli, A. Amati // *J. Liq. Chromatogr. & Relat. Technol.* – 2002. – Vol. 25. – P. 2551–2560.
31. Cunha S. C. Quantification of organic acids in grape musts and port wines / S. C. Cunha, J. O. Fernandes, M. A. Faria, I. M. P. Ferreira, M. A. Ferreira // *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*. – 2002. – Vol. 3. – P. 212–216.
32. Garcia-Romero E. Determination of organic acids in grape musts, wines and vinegars by high-performance liquid chromatography / E. Garcia-Romero, G. Sanchez-Munoz, P. J. Martin Ivarez, M. D. Cabezudo-Ibanez // *J. Chromatogr.* – 1993. – Vol. 655. – P. 111–117.
33. Hunter J. J. Preparation of grapes and extraction of sugars and organic acids for determination by high performance liquid chromatography / J. J. Hunter, J. H. Visser, O. T. De Villiers // *Am. J. Enology and Viticulture*. – 1991. – Vol. 42. – P. 237–244.
34. Linget C. On-line dialysis with HPLC for the automated preparation and analysis of aminoacids, sugars and organic acids in grape juice and wines / C. Linget, C. Netter, D. Heems, E. Verette // *Analysis*. – 1998. – Vol. 26. – P. 35–39.
35. Van Straten M. A. Analysis of Organic Acids in Aqueous Samples. Food and Beverages Analysis / M. A. Van Straten, H. A. Classens, A. Dams. – Germany: Agilent Technologies Inc., 2004. – 8 p.

36. Geng X. Determination of organic acids in the presence of inorganic anions by ion chromatography with suppressed conductivity detection / X. Geng, V. Zhang, Q. Wang, Z. K. Zhao // *J. Chromatogr. A.* – 2008. – Vol. 1192. – P. 187–190.
37. Galli V. Capillary electrophoresis for short-chain organic acids and inorganic anions in different foods / V. Galli, A. Garsia, L. Saavedra, C. Barbas // *Electrophoresis.* – 2003. – Vol. 24. – P. 1951–1955.
38. Cortacero-Ramirez S. Analysis of beer components by capillary electrophoresis methods / S. Cortacero-Ramirez, M. Hermainz-Bermudez de Castro, A. Segura-Carretero, C. Cruces-Blanco // *Trends Anal. Chem.* – 2003. – Vol. 22. – P. 440–447.
39. Castañeda G. Analytical approaches to expanding the use of capillary electrophoresis in routine food analysis / G. Castañeda, J. Rodríguez-Flores, A. Rios // *J. Sep. Sci.* – 2005. – Vol. 28. – P. 915–919.
40. Cifuentes A. Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis / A. Cifuentes // *Electrophoresis.* – 2006. – Vol. 27. – P. 283–291.
41. Huan-García A. Determination of organic contaminants in food by capillary electrophoresis / A. Huan-García, G. Font, Y. Picó // *J. Sep. Sci.* – 2005. – Vol. 28. – P. 793–801.
42. Kvasnick F. Capillary electrophoresis in food authenticity / F. Kvasnicka // *J. Sep. Sci.* – 2005. – Vol. 28. – P. 813–819.
43. Frazier R. A. Capillary electrophoresis for food analysis: Method development / A. Frazier, J. M. Ames, H. E. Nursten. – Cambridge: The Royal Society of Chemistry. – 2000. – 67 p.
44. Landers J. P. Handbook of Capillary and Microchip Electrophoresis and Associated Microtechniques. 3rd ed. / J. P. Landers. – CRC Press Taylor and Francis Group. – 2008. – 1597 p.
45. Vorarat S. Determination of alpha hydroxyl acids in fruits by capillary electrophoresis / S. Vorarat, C. Aromdee, Y. Podokmai // *Anal. Sci.* – 2002. – Vol. 17 (4). – P. 893–896.
46. Kenney B. F. Determination of organic acids in food samples by capillary electrophoresis / B. F. Kenney // *J. Chromatogr. A.* – 1991. – Vol. 546. – P. 423–430.
47. Arellano M. Simultaneous separation of organic and inorganic acids by capillary zone electrophoresis. Application to wines and fruit juices / M. Arellano, F. Couderc, P. H. Puig // *Am. J. Enology and Viticulture.* – 1997. – Vol. 48(4). – P. 408–412.
48. Arellano M. Method development and Validation for the simultaneous determination of organic and inorganic acids by capillary zone electrophoresis / M. Arellano, J. Andrianary, F. Dedieu, F. Couderc, P. Puig // *J. Chromatogr. A.* – 1997. – Vol. 765. – P. 321–328.
49. Kandl T. An improved capillary electrophoresis procedure for determination of organic acids in grape juice and wine / T. Kandl, S. Kupina // *Am. J. Enology and Viticulture.* – 1999. – Vol. 50 (2). – P. 155–161.
50. Moreno M. V. G. Method devised for determining low molecular weight organic acids in winic samples by capillary electrophoresis: validation of the method with real samples / M. V. G. Moreno, C. J. Jurado, C. G. Barroso // *Eur. Food Res. Technol.* – 2001. – Vol. 213. – P. 381–385.
51. Moreno M. V. G. Determination of organic acids by capillary electrophoresis with simultaneous addition of Ca and Mg as complexing agents / M. V. G. Moreno, C. J. Jurado, C. G. Barroso // *Chromatographia.* – 2003. – Vol. 57 (3-4). – P. 185–189.
52. Mato I. Simple determination of main organic acids in grape juices and wine by using capillary zone electrophoresis with direct UV detection / I. Mato, S. Suarez-Luque, J. F. Huidobro // *Food Chem.* – 2007. – Vol. 102. – P. 104–112.
53. De Villiers A. A robust capillary electrophoresis method for the determination of organic acids in wines / A. De Villiers, F. Lynen, A. Crouch, P. Sandra // *Eur. Food Res. Technol.* – 2003. – Vol. 217. – P. 535–540.
54. Klampfl C. W. Separation of inorganic and organic anions by capillary zone electrophoresis with simultaneous indirect UV and conductivity detection / C. W. Klampfl, M. U. Katzmayer, W. Buchberger // *Electrophoresis.* – 1998. – Vol. 19. – P. 2459–2464.
55. Santalad A. Capillary zone electrophoresis of organic acids in beverages / A. Santalad, P. Teerapornchaisit, R. Burakham, S. Srijaranai // *LWT.* – 2007. – Vol. 40. – P. 1741–1746.
56. Buchberger W. Determination of fermenting acids in silage by capillary electrophoresis / W. Buchberger, W. Klampfl, F. Eibensteiner, K. Buchgraber // *J. Chromatogr. A.* – 1997. – Vol. 766. – P. 197–203.
57. Galli V. Capillary electrophoresis for the analysis of short-chain organic acids in coffee / V. Galli, C. Barbas // *J. Chromatogr. A.* – 2004. – Vol. 1032. – P. 299–304.
58. Bianchi F. Novel approach for the rapid determination of water-soluble organic acids in wine by coelectroosmotic flow capillary zone electrophoresis / F. Bianchi, M. Careri, C. Corradini // *J. Sep. Sci.* – 2005. – Vol. 28. – P. 898–904.
59. Stathakis C. Effect of electrolyte composition in the capillary electrophoretic separation of inorganic/organic anions in the presence of cationic polymers / C. Stathakis, R. M. Cassidy // *J. Chromatogr. A.* – 1995. – Vol. 699 (1 and 2). – P. 353–361.

bromide, 0.25 mM Mg²⁺ salts and 0.1% acetonitrile, voltage 20 kV, electrokinetic sample injection at 10 kV for 3 s, direct UV detection at 230 nm. It has been shown that the separation of six organic acidis (viz. oxalic, tartaric, malic, succinic, lactic and citric) has been achieved in the proposed conditions within 12.5 min. The presence of these acids and their concentration ratio are the crucial in determining the quality and origin of the fruit juices.

Keywords: *capillary electrophoresis, short-chain organic acids, food analysis, direct UV detection, reversed-phase electrophoresis.*