

EWA CIEŚLIK, AGNIESZKA NIEDOŚPIAŁ, BARBARA MICKOWSKA

WYKORZYSTANIE ELEKTROFOREZY KAPILARNEJ W ANALIZIE ŻYWNOŚCI

S t r e s z c z e n i e

Wysokosprawna elektroforeza kapilarna (CE) jest metodą stosowaną do rozdziału, identyfikacji i ilościowego oznaczania wielu związków w produktach spożywczym. Dzięki swej różnorodności techniki elektroforezy kapilarnej mogą być wykorzystywane do oznaczania zawartości zarówno związków wielko-cząsteczkowych, np. białek czy fragmentów DNA, jak i drobnocząsteczkowych: aminokwasów, węglowodanów, witamin, flawonoidów, jonów nieorganicznych oraz kwasów organicznych.

Zastosowanie tej metody w laboratoriach kontroli żywności może znacznie ułatwić weryfikowanie deklarowanego i rzeczywistego składu produktów żywnościowych.

Słowa kluczowe: elektroforeza kapilarna, żywność

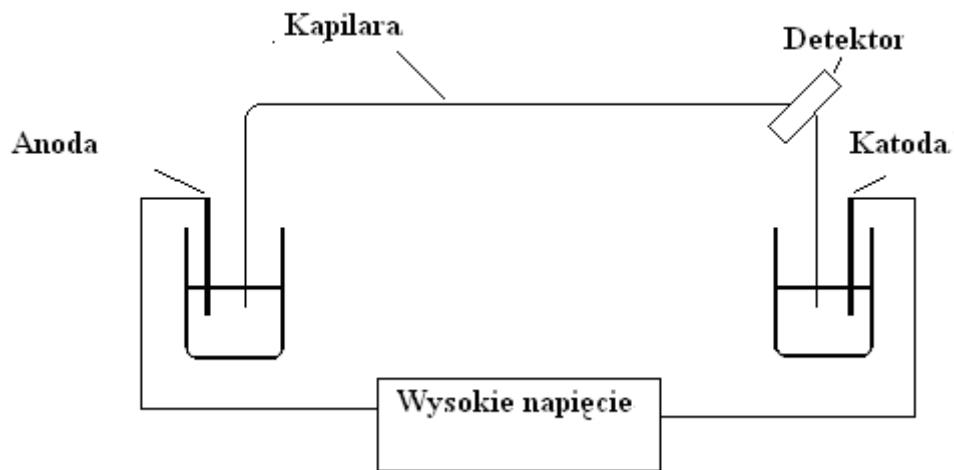
Wprowadzenie

Elektroforeza kapilarna (ang. Capillary Electrophoresis, CE) jest stosunkowo nową metodą analityczną. Została wprowadzona do praktyki laboratoryjnej na przełomie lat 80. i 90. ubiegłego stulecia i od tego czasu rozwija się, znajdując coraz szersze zastosowanie, m.in. w analizie żywności oraz zanieczyszczeń środowiska, a także w badaniach biochemicznych, farmaceutycznych i klinicznych. Najszerzy zakres zastosowań CE dotyczy substancji polarnych jonowych i niejonowych oraz niepolarnych niejonowych. Wykorzystywana jest ona do oznaczania zawartości węglowodanów, kwasów nukleinowych, oligonukleotydów, aminokwasów, peptydów, białek, leków, witamin i jonów nieorganicznych.

Proces rozdziału składników próbki przebiega w kwarcowej kapilarze wypełnionej roztworem elektrolitu podstawowego (buforem) o określonym pH. Najczęściej stosowane są kapilary o średnicy wewnętrznej w zakresie od 25 do 100 µm i długości 20 do 100 cm. Kapilary wraz z elektrodami umieszcza się w naczynkach wypełnionych

Prof. dr hab. E. Cieślik, mgr A. Niedośpiął, mgr B. Mickowska, Małopolskie Centrum Monitoringu i Atestacji Żywności, Wydz. Technologii Żywności, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, ul. Balicka 122, 30-149 Kraków

tem samym buforem, który znajduje się w kapilarze. W momencie przyłożenia wysokiego napięcia cząstki obdarzone ładunkiem przemieszczają się w kierunku elektrod z różną prędkością. Zastosowanie odpowiedniego systemu detekcji badanych substancji pozwala na rejestrację wyników analiz w formie elektroforegramu (rys. 1) [2].



Rys.1. Schemat układu pomiarowego.

Fig. 1. Schematic diagram of the measuring system.

Źródło/Source: opracowanie własne / the author's own study

Techniki elektroforetyczne

Szerokie zastosowanie elektroforezy kapilarnej wynika z występowania jej licznych odmian różniących się pod względem procesu rozdziału oznaczanych substancji. Poniżej przedstawiono podstawowe techniki.

Kapilarna elektroforeza strefowa

Proces rozdziału analizowanych związków metodą kapilarnej elektroforezy strefowej (ang. Capillary Zone Electrophoresis, CZE) uzależniony jest od różnicy stosunku ładunku do masy badanych cząsteczek. Rozdział następuje wewnątrz kwarcowej kapilary, wypełnionej odpowiednim elektrolitem pod wpływem przyłożonego napięcia. Powoduje to, że składniki próbki rozdzielają się poruszając z różną prędkością w kierunku okna detektora. Metoda ta pozwala na rozdzielenie zarówno substancji drobno-, jak i wielkocząsteczkowych, np. węglowodanów, witamin, peptydów, białek, kwasów organicznych czy jonów.

Micelarna chromatografia elektrokinetyczna

Micelarna chromatografia elektrokinetyczna (ang. Micellar Electrophoresis, MEKC) stosowana jest głównie do rozdziału składników mieszanin, których cząsteczki są obdarzone ładunkiem, jak również elektrycznie obojętnych. W metodzie tej do buforu dodaje się środek powierzchniowo czynny (surfaktant) tworzący micle w polarnej cieczy. Micle tworzą się po osiągnięciu krytycznego stężenia micelarnego (CMC), które jest charakterystyczne dla danego surfaktanta. Rozdział zachodzi w wyniku podziału analizowanych składników między micle (środowisko hydrofobowe) i bufor (środowisko hydrofilowe) - cząsteczki niepolarne wnikają w micle, natomiast polarne pozostają w buforze. Wykorzystując tę technikę można rozdzielić np.: węglowodany, witaminy, farmaceutyki, aminokwasy, peptydy, oligonukleotydy.

Żelowa elektroforeza kapilarna

W żelowej elektroforezie kapilarnej (ang. Capillary Gel Electrophoresis, CGE) rozdział substancji wielkocząsteczkowych następuje w wyniku różnicy ich wielkości. Proces ten przebiega w kapilarze wypełnionej żellem o odpowiedniej średnicy porów. Dzięki CGE możliwy jest rozdział kwasów nukleinowych, oligonukleotydów, peptydów oraz białek.

Kapilarne ogniskowanie izoelektryczne

W kapilarnym ogniskowaniu izoelektrycznym (ang. Capillary Isoelectric Focusing, CIEF) składniki mieszaniny rozdzielane są na podstawie różnicy wartości punktów izoelektrycznych (pI). W kapilarze generowany jest gradient pH, od najniższego przy wlocie do najwyższego przy wylocie kapilary. Po przyłożeniu napięcia składniki próbki poruszają się do momentu osiągnięcia strefy pH odpowiadającej pI danej substancji. Za pomocą CIEF rozdziela się głównie substancje o właściwościach amfoterycznych (aminokwasy, peptydy, białka).

Technika izotachoforezy kapilarnej

Rozdział techniką izotachoforezy kapilarnej (ang. Capillary Isotachophoresis CITP) prowadzony jest z zastosowaniem niejednorodnego elektrolitu. Badana próbka wprowadzana jest do kapilary między dwa bufory: „wiodący” o ruchliwości jonów większej niż oznaczane jony próbki i „kończący” o ruchliwości jonu mniejszej niż jony próbki. Po przyłożeniu napięcia rozdzielane jony ustawiają się za buforem „wiodącym” według malejącej ruchliwości. Wykorzystując tę technikę głównie oznacza się jony, peptydy i białka.

Elektrochromatografia kapilarna

W elektrochromatografii kapilarnej (ang. Capillary Electrochromatography, CEC) składniki jednorodnych mieszanin rozdzielane są w wyniku ich podziału pomiędzy fazę stacjonarną i ruchomą. W przypadku analitów obdarzonych ładunkiem wykorzystywana jest również ich ruchliwość w polu elektrycznym – stąd technika ta umożliwia rozdział jonów [55].

Praktyczne zastosowanie aparatury do elektroforezy kapilarnej w oznaczaniu różnych związków w produktach spożywczych

Wykorzystując aparaturę do elektroforezy kapilarnej możliwe jest oznaczanie zawartości różnych związków chemicznych o znaczeniu żywieniowym. Wśród nich są: białka i aminokwasy, węglowodany, witaminy, flawonoidy, kwasy organiczne i inne.

Białka i aminokwasy znajdujące się w produktach spożywczych należą do najważniejszych składników odżywczego żywienia. Za pomocą elektroforezy kapilarnej powszechnie oznacza się frakcje białkowe mleka krowiego, koziego i owczego (β -laktoglobulinę A, β -laktoglobulinę B, α -laktoalbuminę, albuminy i immunoglobuliny G) [13, 43]. Stosując tę technikę można stwierdzić, czy świeże mleko zawierało dodatek mleka w proszku [31]. Natomiast określając ilość kazeiny i białek serwatkowych w mleku kowim można na tej podstawie stwierdzić obecność mleka innego gatunku, np. koziego [49].

Przy użyciu metody elektroforezy kapilarnej możliwe jest również oznaczanie białek w jajach kurzych, np. albuminy i lizozymu [11]. Bietz i Schmalzried [6], stosując kapilarną elektroforezę strefową, oznaczyli gliadyny w trzech różnych gatunkach pszenicy hodowlanej. Najlepszy rozdział uzyskali z wykorzystaniem kapilary o średnicy 50 μm i długości 57 cm, natomiast jako bufor rozdzielający użyli 60 mM bufor boranowy o pH 9, który dodatkowo zawierał 20 % acetonitrylu i 1 % SDS. Detekcję analizowanych składników prowadzono przy użyciu detektora spektrofotometrycznego, stosując długość fali 200 nm.

Na podstawie oznaczenia zawartości białek w orzeszkach ziemnych można stwierdzić czy są one już dojrzałe i nadają się do spożycia [12]. Lookhart i Bean [39] wykorzystali metodę CZE do oznaczania zawartości białek w pszenicy, żywie, owsie, jęczmieniu i ryżu. Najlepsze wyniki uzyskano, stosując kwarcową kapilarę o średnicy 50 μm , jako buforu rozdzielającego użyto 50 mM kwasu iminodioctowego z dodatkiem 20 % acetonitrylu i 0,05 % HPMC. Rozdział prowadzono w temp. 45 °C, a detekcję spektrofotometryczną przy długości fali 200 nm.

Stosując metodę elektroforezy kapilarnej, możliwe jest ponadto oznaczanie zawartości aminokwasów w napojach, takich jak: soki [33], piwo [15] czy wino [42]. Przykładowo, w soku pomarańczowym oznaczono zawartość aminokwasów (argininę,

alaninę, serynę, asparaginę, tryptofan, kwas glutaminowy, fenyloalaninę, tyrozynę i prolinę). Rozdział przeprowadzono w buforze fosforanowym o pH 2,3, a detekcję spektrofotometryczną wykonano przy długości fali 185 nm [45].

Węglowodany (monosacharydy, oligosacharydy i polisacharydy) jako składniki żywności odgrywają ważną rolę fizjologiczną, przede wszystkim energetyczną, w prawidłowym funkcjonowaniu organizmów żywych. Elektroforezę kapilarną wykorzystano między innymi do oznaczania zawartości oligocukrów w ekstrakcie z zielonego groszku (sacharoza, rafinoza, stachioza, werbaskoza i ajugoza) [3], napojach (glukoza i fruktoza) [14], sokach owocowych (sacharoza, glukoza i fruktoza) [52].

Techniki elektroforezy kapilarnej są także bardzo często wykorzystywane do oznaczania zawartości witamin rozpuszczalnych w wodzie z grupy B oraz witaminy C, jak również nierozpuszczalnych w wodzie (A, D, E, K) w różnych produktach spożywczych, np. w sokach owocowych [46], drożdżach [54], owocach i warzywach [50, 20], płatkach zbożowych oraz w mieście [53]. Metodami elektroforezy kapilarnej z dobrym rezultatem określa się zawartość witamin rozpuszczalnych w tłuszczy (α-, γ-, δ- tokoferol, retinol i witamina D₃) oraz witamin rozpuszczalnych w wodzie (witaminy B₁, B₂, B₃, B₆, C, B₁₂, P, B₄ i kwas nikotynowy) w tabletach multiwitaminowych [37, 8, 18, 26, 4]. W przypadku witamin rozpuszczalnych w wodzie najlepsze rezultaty uzyskano, używając kwarcowej kapilary o średnicy 50 μm i długości 48,5 cm oraz buforu boranowego o pH 8,5, a detekcję spektrofotometryczną wykonując przy długości fali 225 nm [18].

Kolejną możliwością jest zastosowanie CE do rozdziału i ilościowego oznaczania flawonoidów. Związki te są najliczniejszą podgrupą polifenoli występujących w żywności i charakteryzują się wysokim potencjałem przeciwitleniającym. W dostępnej literaturze podano wiele przykładów z zakresu identyfikacji flawonoidów, m.in. w rzepaku, gorczyce, brokułach [7], trzcinie cukrowej [16], owocach *Crataegus pinnatifida* [38].

Cao i wsp. [9] wykorzystali elektroforezę kapilarną z elektrochemiczną detekcją (CE-ED) do oznaczenia takich flawonoidów, jak: epikatecholina, katecholina, rutyna, apigenina, luteolina i kwercetyna, m.in. w ekstrakcie z mięorzębu dwuklapowego (*Ginkgo biloba* L.). Rozdział przeprowadzono w kwarcowej kapilarze o średnicy 25 μm, buforem rozdzierającym był bufor boranowy o pH 9,0. Natomiast Delgado i wsp. [16] oznaczyli zawartość szeregu flawonoidów w miodzie metodą micelarnej chromatografii elektrokinetycznej (takich jak: eryodoctyol, naringina, hespertyna, pinobankina, pinocembryna, mircetyna, kwercetyna, kamferol, luteolina, apigenina, chryzyna, galangina, genkwanina, tectochryzyna). Do rozdziału wykorzystano kapilary o średnicy 50 μm, bufor boranowy o pH 8,5, a detekcję spektrofotometryczną wykonywano przy długości fali 340 nm. Stosując metodę kapilarnej elektroforezy strefowej istnieje również możliwość analizy flawonoidów (pinocembryny, chryzyny, galanginy) i kwa-

sów fenolowych w propolisie (kwasu 3,4-dimetoksycynamonowego, kwasu *p*-kumarowego, kwasu cynamonowego, kwasu benzoesowego, *p*-hydroksybenzoesanu metylu, *p*-hydroksybenzoesanu propylu) [10, 24]. Peng i wsp. [47], wykorzystując elektroforezę kapilarną z elektrochemiczną detekcją, oznaczyli izoflawonoidy (daidzinę, genisteinę) w produktach sojowych. Najlepszy rozdział uzyskano używając kapilarów o średnicy 25 µm i długości 70 cm oraz 100 mM bufor boranowy o pH 11,0.

Za pomocą techniki elektroforezy kapilarnej prowadzona jest analiza zawartości jonów, np. w sokach owocowych [48] oraz azotanów (III i V) w warzywach [27, 40]. Fukushi i wsp. [19], stosując technikę strefowej elektroforezy kapilarnej, oznaczyli zawartość kationów wapnia w warzywach. Jony wapnia wyekstrahowano z rozdrobnionych kawałków warzyw gotowanych przez 20 min w wodzie, którą następnie przefiltrowano przez 0,45 µm sążek, a detekcję jonów Ca²⁺ wykonano spektrofotometrycznie przy długości fali 200 nm. Istnieje także możliwość równoczesnego oznaczenia anionów organicznych i nieorganicznych w winie i piwie [28, 44]. Kuban i Karlberg [34] opracowali metodę, która umożliwia jednoczesne oznaczanie zawartości kationów i anionów w mleku. Ponadto analizy wykonywane metodą elektroforezy kapilarnej umożliwiają kontrolę ilościową i jakościową anionów oraz kationów w wodzie. Metoda ta pozwala m.in. na ustalenie autentycznego składu jonów (Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻, CO₃²⁻, Na⁺, K⁺, Ca²⁺ i Mg²⁺), których zawartość została podana na etykietach butelek wody mineralnej [36, 41]. W celu sprawdzenia przydatności do spożycia wody wodociągowej, często wykonywane jest oznaczenie zawartości następujących jonów: Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, CO₃²⁻, F⁻, PO₄³⁻, Cl⁻, SO₄²⁻, NO₃⁻ [43, 45]. Jony wapnia i magnezu były oznaczane metodą kapilarnej elektroforezy strefowej w mące pszennej. Ekstrakt jonów otrzymano przez rozpuszczenie mąki w buforze zawierającym EDTA lub EGTA i pięciominutowe odwirowanie. Całkowity czas analizy wynosił 25 min, a ilość użytej próbki wynosiła zaledwie 1 µl [29].

Dzięki zastosowaniu technik elektroforezy kapilarnej oznaczano zawartość kwasów organicznych w produktach spożywczych. Kenney [32] opisał rozdział licznych kwasów organicznych w różnych sokach, np. w sokach jabłkowych (kwas jabłkowy, octowy i mlekowy), sokach pomidorowych (kwas cytrynowy, jabłkowy, octowy i mlekowy). Najlepszy rozdział kwasów uzyskano stosując bufor o pH 7,0, natomiast po-miar był wykonany przy długości fali 254 nm.

Trevaski i wsp. [51] określili zawartość kwasu szczawiowego w warzywach. Do rozdziału jako elektrolitu użyto buforu o pH 8,7–9,2 (10 mM chromian, 10 % metanol). Natomiast Kndl i Kupina [30] opracowali metodę oznaczania zawartości kwasów: kwasu cytrynowego, winowego, jabłkowego, bursztynowego, octowego i mlekowego w winie i soku z winogron. De Vries i wsp. [17], analizując próbki piwa, określili zawartość kwasów: jabłkowego, cytrynowego, bursztynowego, pirogronowego, octowego i mlekowego. Najlepszy rozdział uzyskano z zastosowaniem buforu pod-

stawowego o pH 5,5. Wykorzystując technikę strefowej elektroforezy kapilarnej, Horie i wsp. [25] oznaczyli zawartość kwasów organicznych (kwasu glukonowego, askorbinowego, cytrynowego, jabłkowego, asparaginowego) w naparach herbaty. W trakcie produkcji soku z korzenia cykorii i buraka określano zawartość kwasu: mrówkowego, bursztynowego, winowego, jabłkowego, octowego, mlecznego i cytrynowego [30], natomiast w sosie sojowym oznaczono kwas cytrynowy, winowy, octowy, mleczowy i masłowy [35]. Ackermans i wsp. [1] oznaczyli w różnych rodzajach chleba zawartość kwasu propionowego, jako elektrolitu, stosując 5 i 10 mM Tris w zakresie pH 4,2–8,0.

Warto dodać, że elektroforeza kapilarna jest dobrym narzędziem analitycznym wykorzystywanym w badaniu biologicznych makromolekułów, takich jak kwasy nukleinowe, dzięki czemu istnieje możliwość sprawdzenia, czy sprzedawane produkty spożywcze zostały wytworzone z materiału roślinnego zmodyfikowanego genetycznie (GMO). Garcia-Canas i wsp. [22, 21] opublikowali metodę, w której uzyskali dobry rozdział fragmentów DNA (80-1000 par zasad). Użyli kwarcowej kapilary oraz buforu Tris-fosforan-EDTA o pH 7,3, który zawierał 2-hydroksyetylen celulozy. Dzięki tej technice możliwe jest wykrycie składników genetycznie zmodyfikowanej kukurydzy w mące. Pomiary wykonano przy użyciu detektora UV i LIF. Giovannoli i wsp. [23] opracowali metodę umożliwiającą określenie, czy mąka sojowa i kukurydziana pochodziły z ziaren roślin zmodyfikowanych genetycznie. Do rozdziału fragmentów DNA użyli kapilary pokrytej hydroksypropylem celulozy. Bufor separacyjny w tym rozdziale zawierał Tris, kwas fosforowy(V), EDTA oraz 2-hydroksyetylen celulozy. Do analiz porównawczych użyto produktów PCR niezmodyfikowanej genetycznie soi i kukurydzy (materiał wzorcowy) i mąki, która zawierała 1 % sekwencji transgenicznego DNA. Stosując tę metodę rozdziału możliwe jest wykrycie endogennych i transgenicznych produktów PCR sekwencji DNA.

Podsumowanie

Wysokosprawna technika elektroforezy kapilarnej jest metodą ciągle rozwijającą się. Często uważana jest za alternatywną i komplementarną w stosunku do powszechnie stosowanych metod analitycznych, takich jak wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC) czy chromatografia gazowa (GC). Stosowanie technik elektroforezy kapilarnej umożliwia wykonanie oznaczeń zawartości substancji o podobnych strukturach. Coraz częściej wykorzystuje się tę metodę do kontroli procesu technologicznego oraz do identyfikacji wielu związków znajdujących się w produktach żywnościowych.

Techniki elektroforetyczne charakteryzują się wieloma zaletami. Jako podstawowe można wymienić: niewielkie zużycie próbki oraz małe ilości elektrolitów, wysoki potencjał rozdzielczy, a także krótki czas analizy.

Literatura

- [1] Ackermans M.T., Ackermans- Loonen J.C.J.M., Beckers J.L.: Determination of propionian in bread using capillary zone electrophoresis. *J. Chrom.*, 1992, **627**, 273-279.
- [2] Altria K., D.(red.): *Capillary Electrophoresis Guidebook Principles, Operation, and Applications*. Ed. Humana Press, New York 1996.
- [3] Arentoft A.M., Michaelsen S., Sørensen H.: Determination of oligosaccharides by capillary zone electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1993, **652**, 517-524.
- [4] Aurora-Prado M.S., Silva C. A., Tavares M.F.M., Altria K. D.: Determination of folic acid in tablets by microemulsion electrokinetic chromatography. *J. Chrom. A*, 2004, **1051**, 291-296.
- [5] Avdalovic N., Poh, C.A., Rocklin R.D., Stillian J.R.: Determination of cations and anions by capillary electrophoresis combined with suppressed conductivity detection. *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 1470-1475.
- [6] Bietz J.A., Schmatzried E.: Capillary electrophoresis of wheat gliadin: initial studies and application to varietal identification. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 1995, **28**, 174-184.
- [7] Bjergegaard C., Michaelsen S., Mortensen K., Sørensen H.: Determination of flavonoids by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chrom. A*, 1993, **652**, 77-85.
- [8] Bustamante-Rangel M., Delgado-Zamarreño M.M., Sánchez-Pérez A., Carabias-Martínez R.: Microemulsion electrokinetic chromatography for the separation of retinol, cholecalciferol, δ -tocopherol and α -tocopherol. *J. Chrom. A*, 2006, **1125**, 270-273.
- [9] Cao Y., Chu Q., Fang Y., Ye J.: Analysis of flavonoids in *Ginkgo biloba* L. and its phytopharmaceuticals by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **374**, 294-299.
- [10] Cao Y.H., Wang Y., Yuan Q.: Analysis of flavonoids and phenolic acid in propolis by capillary electrophoresis. *Chrom.*, 2004, **59**, 135-140.
- [11] Chen F. T. A. & Tusak A.: Charakterization of food proteins by capillary electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1994, **685**, 331-337.
- [12] Chung S.-Y., Ullah A.H.J., Sanders T.H.: Peptide mapping of peanut proteins: identification of peptides as potential indicators of peanut maturity. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 623-628.
- [13] Cifuentes A., de Frutos M., Díez- Masa J. C.: Polymeric neworks vs cross-linked polyacrylamide bonded gels for CE separations of whey proteins. *Am. Lab.*, 1994, **26**, 46-51.
- [14] Colón L.A., Dadoo R., Zar R.N.: Determination of carbohydrates by capillary zone electrophoresis with amperometric detection at a copper microelectrode. *Anal. Chem.*, 1993, **65**, 476-481.
- [15] Cortacero-Ramirez S., Segura-Carretero A., Cruces-Blanco C., Romero-Romero M.L., Fernandez-Gutierrez A.: Simultaneous determination of multiple constituents in real beer samples of different origins by capillary zone electrophoresis. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, **380**, 831-837.
- [16] Delago C., Tomás-Barberán F.A., Talou T., Gaset A.: Capillary electrophoresis as an alternative to HPLC for the determination of honey flavonoids. *Chrom.*, 1994, **38**, 71-78.
- [17] DeViries K. J.: Determination of organic acid in beer by capillary electrophoresis. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 1993, **51**, 155-157.
- [18] Fotsing L., Fillet M., Bechet I., Hubert Ph., Crommen J.: Determination of six water-soluble vitamins in a pharmaceutical formulation by capillary electrophoresis. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1997, **15**, 1113-1123.
- [19] Fukushi K., Takeda S., Wakida S., Higashi K., Hiroy K.: Determination of free calcium in vegetables by capillary zone electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1997, **759**, 211-216.
- [20] Fukushi K., Takeda S., Wakida S.-I., Yamane M., Higashi K., Hiroy K.: Determination of ascorbic acid in vegetables by capillary zone electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1997, **772**, 313-320.

- [21] García-Cañas V., González R., Cifuentes A.: Detection of genetically modified maize by the Polymerase Chain Reaction and Capillary Gel Electrophoresis with UV detection and Laser-Induced Fluorescence. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 1016-1021.
- [22] García-Cañas V., González R., Cifuentes A.: Highly reproducible Capillary Gel Electrophoresis (CGE) of DNA fragments using uncoated columns. Detection of genetically modified maize by PCR-CGE. *J. Sep. Sci.*, 2002, **25**, 577-583.
- [23] Giovannoli C., Anfossi L., Tozzi C., Giraudi G., Vanni A.: DNA separation by capillary electrophoresis with hydrophilic substituted celluloses as coating and sieving polymers. Application to the analysis of genetically modified meals. *J. Sep. Sci.*, 2004, **27**, 1551-1556.
- [24] Hilhorst M.J., Somsen G.W., de Jong G.J.: Potential of capillary electrophoresis for the profiling of propolis. *J. High Resol. Chrom.*, 1998, **21**, 608-612.
- [25] Horie H., Yamauchi Y., Kohata K.: Analysis of organic anions in tea infusions using capillary electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1998, **817**, 139-144.
- [26] Hu Q., Zhou T., Zhang L., Li H., Fang Y.: Separation and determination of three water-soluble vitamins in pharmaceutical preparations and food by micellar electrokinetic chromatography with amperometric electrochemical detection. *Anal. Chem. Acta.*, 2001, **437**, 123-129.
- [27] Jimidar M., Hartmann C., Cousement N., Massart D.L.: Determination of nitrate and nitrite in vegetables by capillary electrophoresis with indirect injection. *J. Chrom. A.*, 1995, **706**, 479-492.
- [28] Jones W.R., Jandik P.: New methods for chromatographic separations of anions. *Am Lab*, 1990, **22**, 54-64.
- [29] Kajiwara H., Sato A., Kaneko S.: Analysis of calcium and magnesium ions in wheat flour by capillary zone electrophoresis. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 1993, **57**, 1010-1011.
- [30] Kandl T., Kupina S.: An improved capillary electrophoresis procedure for the determination of organic acids in grape juice and wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1999, **50**, 155-161.
- [31] Kanning M., Casella M. & Olieman C.: Milk and soy proteins analysis using capillary zone electrophoresis. *LC·GC Int.*, 1993, **6**, 701-706.
- [32] Kenny B. F.: Determination of organic acid in food samples by capillary electrophoresis. *J. Chrom.*, 1991, **546**, 423-430.
- [33] Klampfl Ch. W., Buchberger W., Turner M., Fritz J.S.: Determination of underivatized amino acids in beverage samples by capillary electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1998, **804**, 349-355.
- [34] Kuban P., Karlberg B.: Simultaneous Determination of small cations and anions by Capillary Electrophoresis. *Anal. Chem.*, 1998, **70**, 360-365.
- [35] Lalljie S.P.D., Vindevoge J., Sandra P.: Quantitation of organic acid in sugar refinery juices with capillary zone electrophoresis and indirect UV detection . *J. Chrom. A*, 1993, **652**, 563-569.
- [36] Li K. & Li S.F.Y.: Determination of anions in water samples by capillary zone electrophoresis with indirect UV detection. *J. Liq. Chrom.*, 1994, **17**, 3889-3910.
- [37] Lin-Chau C., Huan-Tsung Ch., Shao-Wen, S.: Cyclodextrin-modified microemulsion electrokinetic chromatography for separation of α -, γ -, δ -tocopherol and α -tocopherol acetate. *J. Chrom. A*, 2006, **1110**, 227-234.
- [38] Liu W., Chen G., Cui T.: Determination of flavones in crataegus pinnatifida by Capillary Zone Electrophoresis. *J. Chrom.*, 2003, **41**, 87-91.
- [39] Lookhart G.L., Bean S.R.: Ultrafast CE analysis of cereal storage proteins and its applications to protein characterization and cultivar differentiation. *J. Agric. Food Chem.*, 2000, **48**, 344-353.
- [40] Marshall P.A., Trencerry V.C.: The determination of nitrite and nitrate in foods by capillary ion electrophoresis. *Food Chem.*, 1996, **57**, 339-345.
- [41] Morin P., Francois, C., Dreux M.: Capillary electrophoresis of alkali and alkaline-earth cations with imidazole or benzylamine buffers. *J. Liq. Chrom.*, 1994, **17**, 3869-3888.

- [42] Nouadje G., Couderc F., Puig Ph., Hernandez L.: Combination of micellar electrokinetic chromatography and laser-induced fluorescence detection for the determination of presser amines and some principal amine acids in wine. *J. Cap Electrophoresis*, 1995, **2**, 117.
- [43] Otte J.A.H.J., Kristiansen K.R., Zakora M., Qvist K.B.: Separation of individual whey proteins and measurement of α -lactalbumin, β -lactoglobulin by capillary zone electrophoresis. *Neth Milk Dairy J.*, 1994, **48**, 81-97.
- [44] Öztekin N., Bedia Erim F.: Simultaneous determination of inorganic anions and organic acids by Capillary Electrophoresis. *Turk. J. Chem.*, 2001, **25**, 145-150.
- [45] Righetti P.G., Oliveri E., Viotti A.: Identification of maize lines via capillary electrophoresis of zeins in isoelectric, acidic buffers. *Electrophoresis*, 1998, **19**, 1738-1741.
- [47] Shihabi Z.K., Kute T.L., Hinsdale M.: Analysis of isoflavones by capillary electrophoresis. *J. Chrom. A*, 1994, **680**, 181-185.
- [46] Schiewe J., Mrestani Y., Neubert R.: Application and optimization of capillary zone electrophoresis in vitamin analysis. *J. Chrom. A*, 1995, **717**, 255-259.
- [48] Swallow K.W.: Capillary zone electrophoretic analysis of the minor anions present in orange juice and orange pulpwash. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, **42**, 2808-2811.
- [49] Tienstra P., van Riel J.A.M., Olieman C.: Determination of goat milk in cow milk with P/ACE capillary electrophoresis. Technical Information DS-832, Beckman Instruments, Inc., 1992b, Fullerton, CA, USA.
- [50] Thompson Catherine O., Trencerry V.C.: A rapid method for the determination of total L-ascorbic acid in fruits and vegetables by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Chem.*, 1995, **53**, 43-50.
- [51] Trevaskis M., Trencerry V.C.: An investigation into the determination of oxalic acid in vegetables by capillary electrophoresis. *Food Chem.*, 1996, **57**, 323-330.
- [52] Vorndran A.E., Oefner P.J., Scherz H., Bonn G.K.: Indirect UV detection of carbohydrates in capillary zone electrophoresis. *Chrom.*, 1992, **33**, 163-168.
- [53] Ward C.M., Trencerry V.C.: The determination of niacin in cereals, meat and selected foods by capillary electrophoresis and high performance liquid chromatography. *Food Chem.*, 1997, **60**, 667-674.
- [54] Ward C.M., Trencerry V.C., Pant I.: The application of capillary electrophoresis to the determination of total niacin in concentrated yeast spreads. *Food Chem.*, 1997, **58**, 185-192.
- [55] Witkiewicz Z.: Podstawy chromatografii. WNT, Warszawa 2005.

APPLICATION OF CAPILLARY ELECTROPHORESIS IN THE ANALYSIS OF FOOD PRODUCTS

S u m m a r y

The highly efficient Capillary Electrophoresis (CE) is a method used for the separation, identification, and quantitative analysis of many compounds contained in food products. Owing to the diversity of techniques offered by CE, this method can be used to determine contents of both the high-molecular compounds, such as proteins or DNA fragments, and the low-molecular compounds: amino acids, carbohydrates, vitamins, flavonoids, inorganic ions, and organic acids.

The use of this method and its techniques in food control laboratories can essentially facilitate the verification of the declared and real composition of food products.

Key words: capillary electrophoresis, food 