

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 85 (1994)
Heft: 5

Artikel: HPLC-Bestimmungsmethoden in der Qualitätskontrolle von Milch und Milchprodukten = HPLC-methods for quality assurance of milk and dairy products
Autor: Bütikofer, Ueli / Bosset, Jacques Olivier
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982773>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 27.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

HPLC-Bestimmungsmethoden in der Qualitätskontrolle von Milch und Milchprodukten

HPLC-Methods for Quality Assurance of Milk and Dairy Products

Key words: HPLC-methods, Applications, Milk, Dairy products, Review

Ueli Bütikofer und Jacques Olivier Bosset

Eidgenössische Forschungsanstalt für Milchwirtschaft, Liebefeld-Bern

Einleitung

Die praktisch unüberschaubare Menge von Veröffentlichungen und firmeneigenen Applikationsschriften zu den verschiedensten Anwendungen der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) beweist den hohen Stellenwert, den diese Analysetechnik bereits eingenommen hat. Kürzlich haben *Matissek* und *Wittkowski* (1) mit ihrem Nachschlagewerk «High Performance Liquid Chromatography in Food Control and Research» einen guten Überblick dieser Analysetechnik gegeben. Diese ist seit ca. 30 Jahren bekannt und diente anfangs vorwiegend der pharmazeutischen und medizinischen Analytik, bevor sie sich schliesslich auch in anderen Bereichen, wie z. B. in der Lebensmittelanalytik, etablierte. Ihre rapiden Fortschritte sind unter anderem auf die Neuentwicklung stabiler, leistungsfähiger und streng standardisierter Trennphasen auf «reversed phase»-Basis zurückzuführen.

Bei der Analyse von Milch und Milchprodukten trug die HPLC zum Ersatz von unexakten und / oder zeit- und arbeitsaufwendigen Bestimmungsmethoden bei. Darüber hinaus konnten damit noch nicht analysierbare Komponenten erfasst werden. Somit wurden zahlreiche neue Methoden im Rahmen der milchwirtschaftlichen Forschung, der Kontrolle und Beratung fortlaufend mit Erfolg eingeführt (2). In vielen Fällen konnten die Nachweisgrenzen erniedrigt, die Genauigkeit (oder Richtigkeit) und die Präzision verbessert sowie unerwünschte Artefakte beseitigt werden. Die Umweltbelastung liess sich durch den Einsatz von weniger giftigen Stoffen und geringeren Chemikalienverbrauch reduzieren. Schliesslich hat sich die HPLC als nahezu universell einsetzbar erwiesen, was einen bedeutenden Vorteil gegenüber anderen Analysenmethoden wie der hochspezifischen Ionenaus-

tauschchromatographie (IEC) bietet. Ziel der vorliegenden Übersicht ist, einige neue Anwendungsbeispiele bei Milch und Milchprodukten in der Forschungsanstalt für Milchwirtschaft (FAM) in Liebefeld-Bern vorzustellen. Diese Arbeit wird nach Messvorgang und -einrichtung aufgeteilt.

RP-HPLC-Analysen von Milch und Milchprodukten: Anwendungsbeispiele

Probenvorbereitung

Tabelle 1 zeigt einige typische Beispiele von Probenvorbereitungen und -behandlungen für Milch und verschiedene Milchprodukte.

Tabelle 1. Typische Beispiele zur Probenvorbereitung und -behandlung bei HPLC-Bestimmungen für Milch und verschiedene Milchprodukte

| Analyseart | Produkt | Probenmenge | Probenvorbereitung und -behandlung | Ref.-Nr. |
|--|--|-------------|--|----------|
| <i>Fettlösliche Vitamine</i> A und E | Milch, Joghurt, Käse, Rahm, Butter usw. | 10–40 g | Verseifung mit 2,5 mol/l ethanolische Kalilauge, Festphasenextraktion über Extrelut | In Vorb. |
| <i>Wasserlösliche Vitamine</i> B ₁ | Milch, Joghurt, Käse, Rahm, Butter usw. | 10–50 g | Saure Hydrolyse mit 1 mol/l Salzsäure | (3) |
| B ₂ | | | Saure Hydrolyse mit 1 mol/l Salzsäure, alkalische Oxidation (Kalium-Hexacyanoferrat) | (4) |
| B ₆ | | | Saure Hydrolyse mit 0,4 mol/l Schwefelsäure | In Vorb. |
| C | | | Ausfällung (10% Meta-Phosphorsäure) | (5) |
| <i>Konservierungsmittel</i> Sorbin- und Benzoesäure | Joghurt, Glace, Käse | 5–20 g | Alkalische Extraktion mit 0,1 mol/l Kalilauge, Ausfällung (Carrez) | (6) |
| <i>Amine</i> Biogene Amine | Käse, Schabziger, Zigerpulver | 5 g | Extraktion mit Acetonitril/Perchlorsäure Derivatisierung mit Dansylchlorid | (7) |

| Analysenart | Produkt | Proben- menge | Probenvorbereitung und -behandlung | Ref.-Nr. |
|--|---|------------------|--|-------------|
| <i>Amino- säuren</i> | | | Die Proben werden für die verschiedenen Aminosäurebestimmungen zuerst mit Hexan entfettet und lyophilisiert. | |
| Freie Amino- säuren | Käse, Milch, Joghurt | 1–20 g | Deproteinisierung mit Trichloressigsäure, Derivatisierung mit OPA und FMOC | In Vorb. |
| Totale Amino- säuren ¹ | Käse, Milch, Joghurt | 5 g | Saure Hydrolyse mit 6 mol/l Salzsäure, Derivatisierung mit OPA und FMOC | (8) |
| Tryptophan | | 20 g | Alkalische Hydrolyse mit 4 mol/l Lithium- hydroxid | In Vorb. |
| <i>Peptide</i> Peptid- mapping | Käse | 10 g | Extraktion mit Wasser und Filtration | In Vorb. |
| <i>Molken- proteine</i> β -Lactoglo- bulin α -Lactalbu- min | Milch, UF- Konzentrate, Milchpulver | 50 g | Caseinfällung bei pH 4,6 und Zentrifugation | In Vorb. |
| <i>Cholesterin und -oxide</i> | Eingesottene Butter | 2 g | Entwässern, lösen mit Hexan, Festphasen- extraktion, einengen und lösen mit Acetonitril/Ethanol | (9) |

¹ ausser Tryptophan, Cystein und Cystin
In Vorb. = In Vorbereitung

Fast jede Analysenart mit Ausnahme der Vitamine A und E (Abb. 1) sowie B₁, B₂ und B₆-Derivate (Abb. 2) verlangt eine andere Probenvorbereitung. Diese Arbeitsstufe ist jedoch relativ unabhängig von der Matrix.

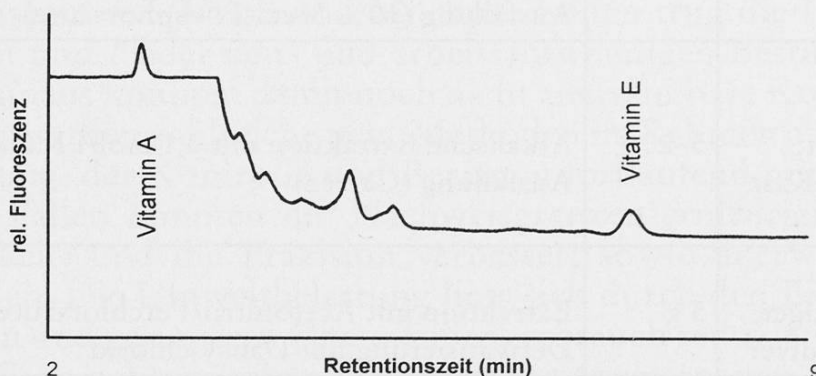


Abb. 1. HPLC-Bestimmung von Vitamin A und E in Butter

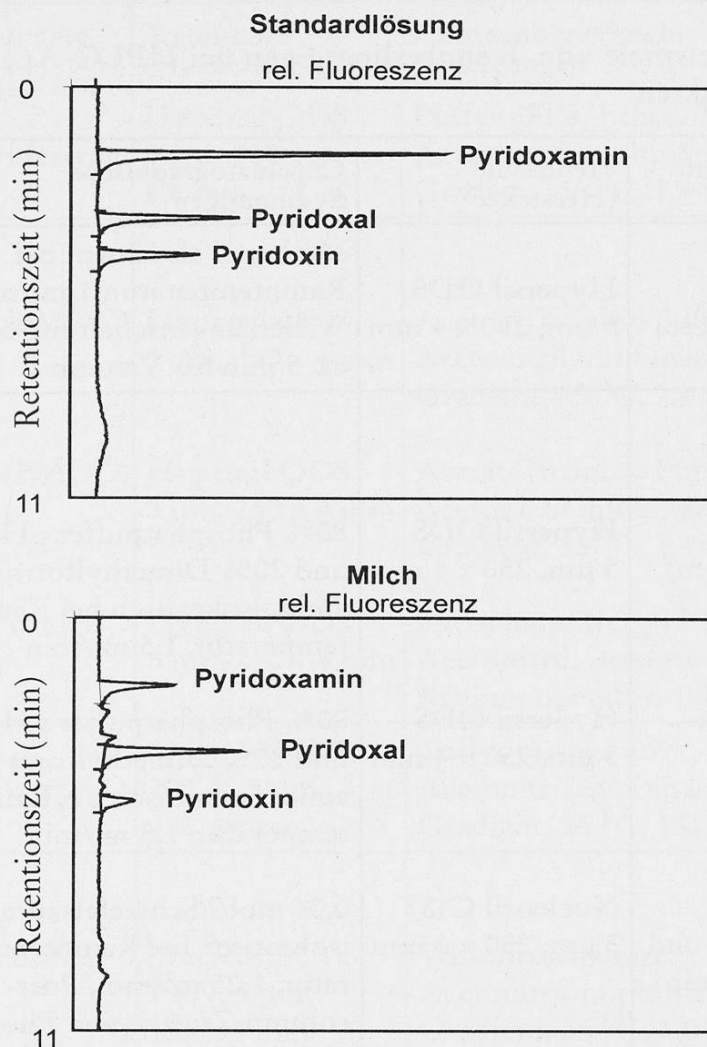


Abb. 2. HPLC-Bestimmung von Vitamin B₆

HPLC-Bedingungen

Tabelle 2 zeigt einige typische Beispiele von Chromatographie- und Detektionsbedingungen für Milch und verschiedene Milchprodukte.

Die Matrix (das Milchprodukt) spielt hier nahezu keine Rolle mehr. Mit 2 verschiedenen Typen von Trennsäulen (Hypersil ODS und Nucleosil C₁₈) und standardisierter Grösse (200–250 x 4,0 oder 4,6 mm, Partikelgrösse 5 µm) können nahezu alle Stoffklassen und Substanzen getrennt werden, was für ein Routinelabor sehr vorteilhaft ist. Massgebend sind die Zusammensetzung der Eluenten (mit oder ohne Gradient) und die Detektionsbedingungen. Abbildungen 3 und 4 zeigen Trennungen von Aminosäuren.

Tabelle 2. Typische Beispiele von Trennbedingungen bei HPLC-Analysen von Milch und Milchprodukten

| Prüfmerkmal | Komponente (Derivate) | Trennsäule (Hersteller ⁴) | Chromatographische Bedingungen | Detektionsbedingungen ¹ |
|--|--------------------------------------|---|---|---|
| <i>Fettlösliche Vitamine</i> A und E | Retinol α -Tocopherol | Hypersil ODS 5 μ m, 250 x 4 mm | Methanol als Eluent bei Raumtemperatur, 1 ml/min, Wellenlängenschaltung bei ca. 5 min für Vitamin E | Fl: 324/450 nm (Vit. A) und Fl: 283/351 nm (Vit. E) |
| <i>Wasserlösliche Vitamine</i> B ₁ | Thiamin (Thiochrom) | Hypersil ODS 5 μ m, 250 x 4 mm | 80% Phosphatpuffer pH 7,2 und 20% Dimethylformamid, isokratisch bei Raumtemperatur, 1,5 ml/min | Fl: 368/440 nm |
| B ₂ | Riboflavin | Hypersil ODS 5 μ m, 250 x 4 mm | 80% Phosphatpuffer pH 7,2 und 20% Dimethylformamid, isokratisch bei Raumtemperatur, 1,5 ml/min | Fl: 262/470 nm |
| B ₆ | Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin | Nucleosil C18 3 μ m, 250 x 4 mm | 0,04 mol/l Schwefelsäure, isokratisch bei Raumtemperatur, 1,25 ml/min, Post-column-Zugabe von Phosphatpuffer, 1,25 ml/min | Fl: 333/375 nm bei pH 6,8 |
| C | Ascorbinsäure | Nucleosil C18 5 μ m, 250 x 4 mm | wässriger Phosphatpuffer pH 2,5, isokratisch, 35 °C, 1,0 ml/min | UV: 245 nm oder ECD ² |
| C (total) | Dehydroascorbinsäure | Spherisorb ODS 5 μ m, 250 x 4,6 mm | Pentansulfonat:Methanol:Wasser:Eisessig:Triethylamin:Acetonitril, isokratisch, 35 °C, 1,0 ml/min | Fl: 350/430 nm |
| <i>Konservierungsmittel</i> Sorbin- und Benzoesäure | freie Formen | Hypersil ODS 5 μ m, 200 x 4,6 mm | Methanol:Phosphatpuffer (8:92), isokratisch, 35 °C, 1 ml/min | UV: 227, 254 nm oder 200–300 nm |

| Prüfmerkmal | Komponente (Derivate) | Trennsäule (Hersteller ⁴) | Chromatographische Bedingungen | Detektionsbedingungen ¹ |
|---|-----------------------|--|---|--|
| <i>Amine</i> Biogene Amine | Dansylderivate | Hypersil ODS 5 µm, 200 x 4,6 mm | Puffer pH 8, Ethanol: Acetonitril mit binärem Gradient, 35 °C, 1,4 ml/min | Fl: 254/485 nm UV: 254 nm für Histamin |
| <i>Aminosäuren</i> Freie Aminosäuren | (OPA/FMOC) | Hypersil ODS 5 µm, 250 x 4 mm | Acetat/Titriplex-Puffer: Acetonitril mit binärem Gradient, 35 °C, 1,4 ml/min | OPA-Derivate: Fl: 340/455 nm |
| Totale Aminosäuren ³ | (OPA/FMOC) | Hypersil ODS 5 µm, 250 x 4 mm | Acetat/Titriplex-Puffer: Acetonitril mit binärem Gradient, 35 °C, 1,4 ml/min | FMOC-Derivate: Fl: 266/313 nm |
| Tryptophan | freie Formen | Hypersil ODS 5 µm, 250 x 4 mm | Phosphatpuffer pH 3,25: Acetonitril, isokratisch bei Raumtemperatur, 1,0 ml/min | Fl: 274/356 nm |
| <i>Peptide</i> Peptid-mapping | freie Formen | Nucleosil C18, 300 Å, 5 µm, 250 x 4 mm | Trifluoressigsäure: Acetonitril mit binärem Gradient, 35 °C, 1,0 ml/min | UV: 210, 220 nm |
| <i>Molkenproteine</i> β-Lactoglobulin α-Lactalbumin | freie Formen | Nucleosil C18-PPN, 5 µm, 125 x 4 mm | Trifluoressigsäure: Acetonitril mit binärem Gradient, 35 °C, 1,0 ml/min | UV: 205 nm |
| <i>Cholesterin und -oxide</i> | freie Formen | Hypersil ODS 5 µm, 250 x 4 mm | Acetonitril:Ethanol:Wasser (4:1:1), isokratisch, 35 °C, 1,0 ml/min | UV: 204, 207, 220 und 242 nm |

¹ Bei den fluorimetrischen Bestimmungen (Fl) ist λ_1 die Excitationswellenlänge und λ_2 die Emissionswellenlänge.

² Elektrochemischer Detektor ESA Coulochem II/5200 (siehe Parametereinstellungen unter Ref. 5).

³ Ausser Tryptophan und Cystin.

⁴ Hypersil (Shandon); Nucleosil (Macherey and Nagel); Spherisorb (Bischoff/Metrohm).

Quantifizierung und Validierung

Tabelle 3 zeigt einige typische Beispiele zur Quantifizierung und Validierung von HPLC-Analysenmethoden für Milch und verschiedene Milchprodukte.

Für ihre Validierung wurden sämtliche HPLC- mit anderen Analysenmethoden verglichen und überprüft und / oder im Rahmen von echten Ringversuchen oder mindestens von Vergleichen mit externen Laboratorien getestet. Beispiele von

«peptidmapping» und Molkenproteinenbestimmungen sind in Abbildungen 5 und 6 ersichtlich.

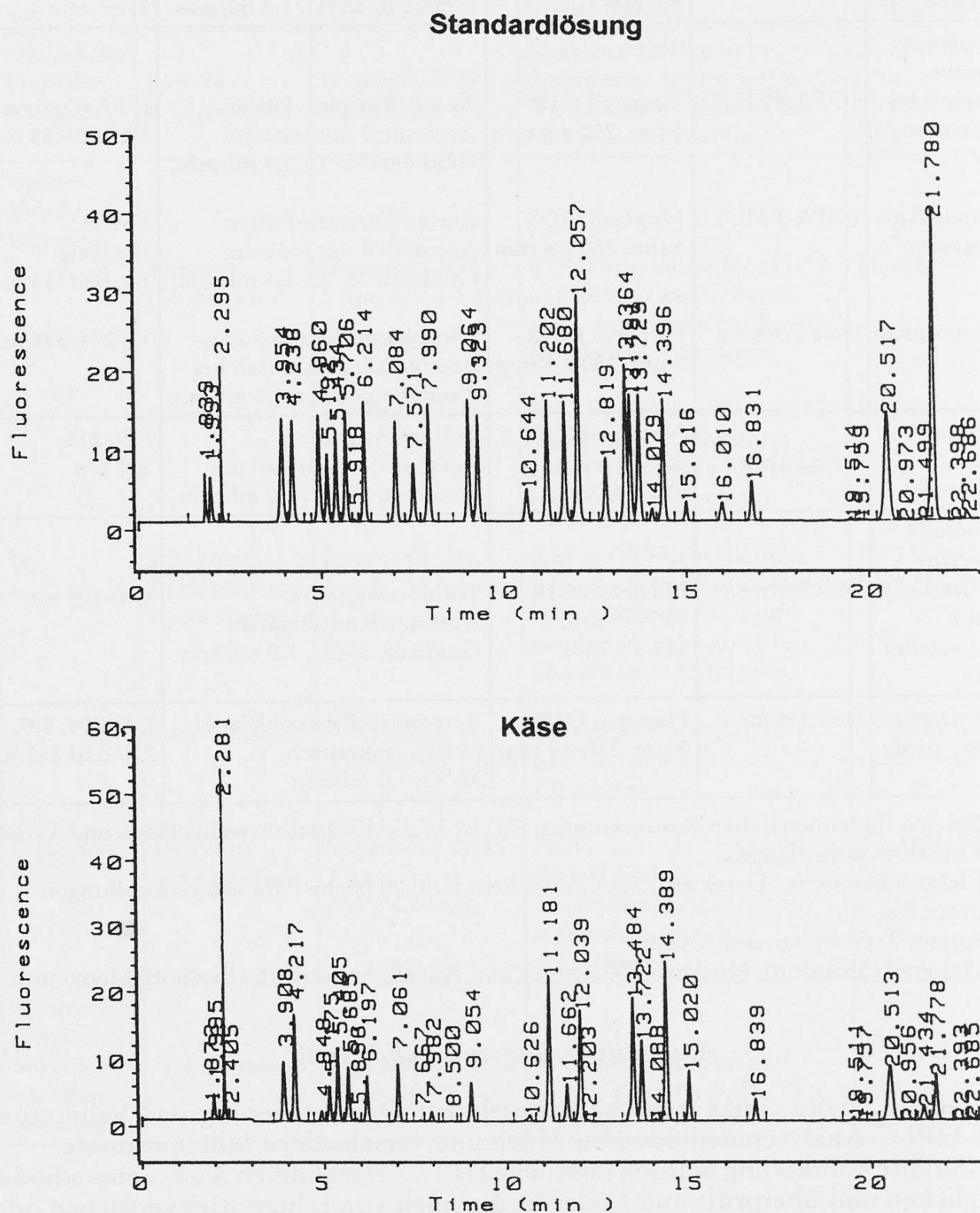


Abb. 3. HPLC-Bestimmung von den freien Aminosäuren

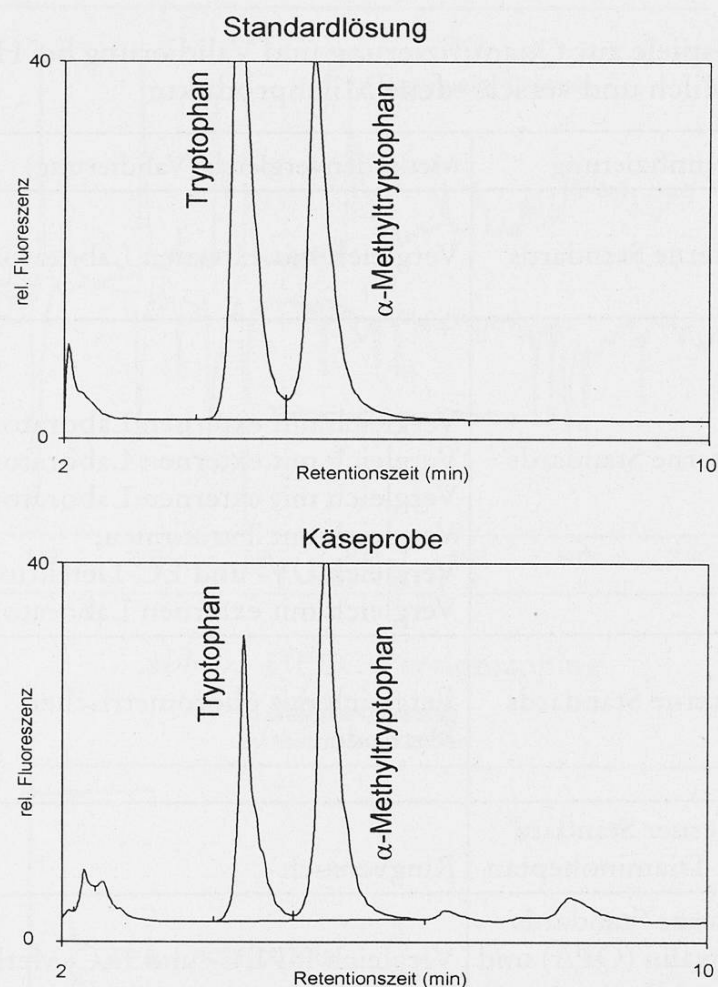


Abb. 4. HPLC-Bestimmung von Tryptophan

Liste der freien Aminosäuren in Käse mit Kurzbezeichnung und Retentionszeiten

| Reten- tionszeit | Bez. | Name der Aminosäuren | Reten- tionszeit | Bez. | Name der Aminosäuren |
|---------------------|------|----------------------------|---------------------|------|----------------------------|
| 1.839 | PSE | Phosphoserin | 10.644 | CYS | Cystin |
| 1.993 | ASP | Asparaginsäure | 11.202 | VAL | Valin |
| 2.295 | GLU | Glutaminsäure | 11.680 | MET | Methionin |
| 3.954 | ASN | Asparagin | 12.057 | NVA | Norvalin |
| 4.238 | SER | Serin | 12.819 | GABA | γ -Aminobuttersäure |
| 4.960 | GLN | Glutamin | 12.364 | TRP | Tryptophan |
| 5.192 | HIS | Histidin | 13.481 | ILE | Isoleucin |
| 5.434 | GLY | Glycin | 13.729 | PHE | Phenylalanin |
| 5.706 | THR | Threonin | 14.079 | ORN | Ornithin |
| 6.214 | CIT | Citrullin | 14.396 | LEU | Leucin |
| 7.084 | ALA | Alanin | 15.016 | LYS | Lysin |
| 7.571 | GABA | γ -Aminobuttersäure | 16.010 | ORN | Ornithin |
| 7.990 | ARG | Arginin | 16.830 | LYS | Lysin |
| 9.064 | TYR | Tyrosin | 20.517 | PRO | Prolin |
| 9.323 | AABA | α -Aminobuttersäure | 21.780 | PIP | Piperidin-4-carbonsäure |

Tabelle 3. Typische Beispiele zur Quantifizierung und Validierung bei HPLC-Analysenmethoden für Milch und verschiedene Milchprodukte

| Prüfmerkmal | Quantifizierung | Methodenvergleich (Validierung) | Abb.-Nr. |
|---|---|--|---|
| <i>Fettlösliche Vitamine</i> A und E | Externe Standards | Vergleich mit externen Laboratorien | 1 |
| <i>Wasserlösliche Vitamine</i> B ₁ B ₂ B ₆ C | Externe Standards | Vergleich mit externen Laboratorien Vergleich mit externen Laboratorien Vergleich mit externen Laboratorien Vergleich mit Titrationen, Vergleich UV- und EC-Detektion Vergleich mit externen Laboratorien | siehe Ref. (3) siehe Ref. (4) 2 siehe Ref. (5) |
| <i>Konservierungsmittel</i> Sorbin- und Benzoessäure | Externe Standards | Vergleich mit photometrischer Methode | siehe Ref. (6) |
| <i>Amine</i> Biogene Amine | Interner Standard 1,7-Diaminoheptan | Ringversuch | siehe Ref. (7) |
| <i>Aminosäuren</i> Freie Aminosäuren | Interne Standards Novalin (OPA) und Piperidin-4-carbonsäure (FMOC) | Vergleich HPLC- und IEC-Methoden Ringversuche Vergleich HPLC- und IEC-Methoden Ringversuche | 3 siehe Ref. (8) |
| Totale Aminosäuren Tryptophan | α -Methyltryptophan | Vergleich HPLC- und IEC-Methoden Ringversuche | 4 |
| <i>Peptide</i> (mapping) | Keine Quantifizierung | Vergleich mit externen Laboratorien | 5 |
| <i>Molkenproteine</i> β -Lactoglobulin α -Lactalbumin | Externer Standard Externer Standard | Vergleich mit externen Laboratorien Vergleich mit externen Laboratorien | 6 |
| <i>Cholesterin und -oxide</i> | Externe Standards | Vergleich mit TLC-Methoden | siehe Ref. (9) |

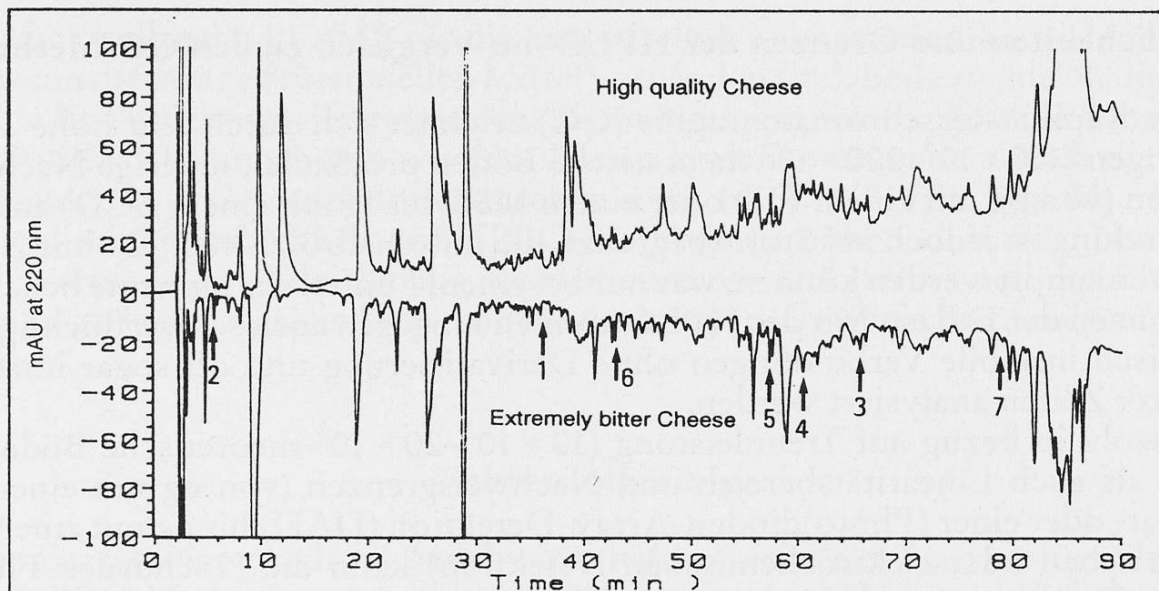


Abb. 5. HPLC-Peptidmapping

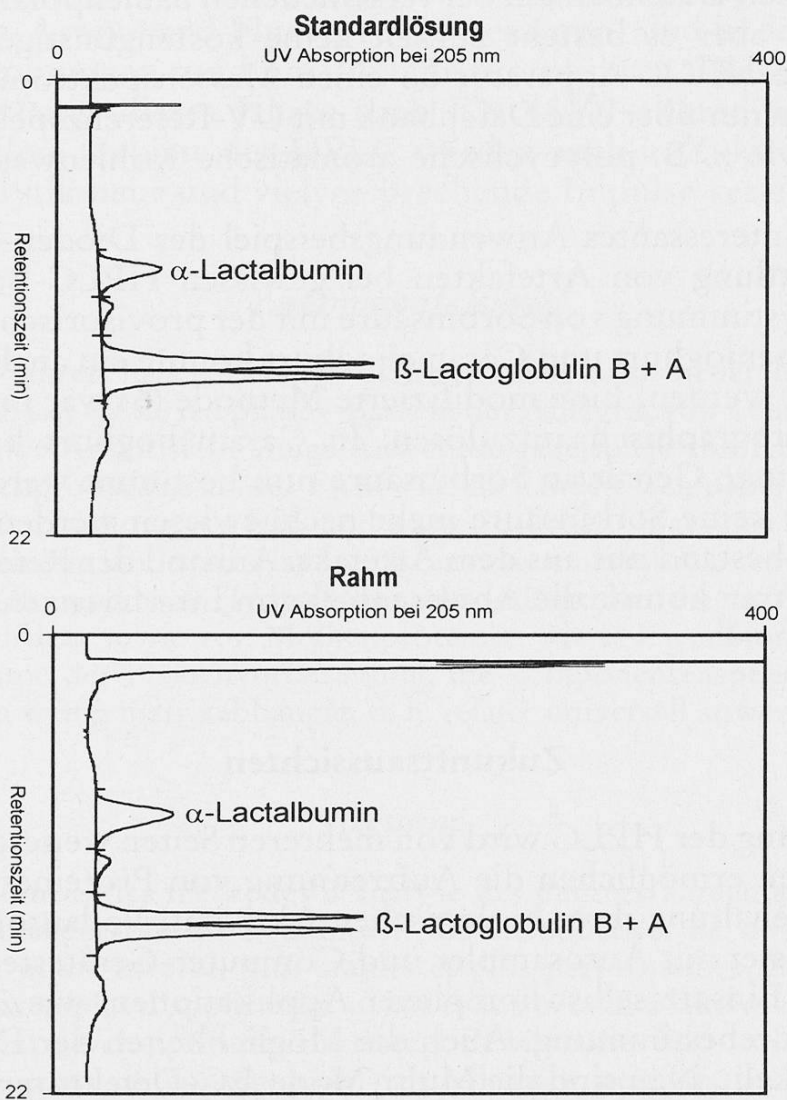


Abb. 6. HPLC-Bestimmung von Molkenproteinen

Möglichkeiten und Grenzen der HPLC- im Vergleich zu den GC-Methoden

Die Kapillar-Gaschromatographie (GC) zeichnet sich durch sehr hohe Trennleistungen ($100 \cdot 10^3$ – $200 \cdot 10^3$ theoretische Böden pro Säule), niedrige Nachweisgrenzen (von pg mit einem FID oder einem MSD bis fg mit einem ECD) aus. Ihre Anwendung ist jedoch auf Stoffe begrenzt, die unterhalb 300–400 °C ohne Zersetzung verdampft werden können, was nur bei einem Fünftel der bis heute bekannten Substanzen der Fall ist. Mit der HPLC können hingegen auch schwerflüchtige und thermisch instabile Verbindungen ohne Derivatisierung und oft sogar innerhalb kürzerer Zeiten analysiert werden.

Sowohl in bezug auf Trennleistung ($10 \cdot 10^3$ – $20 \cdot 10^3$ theoretische Böden pro Säule) als auch Linearitätsbereich und Nachweisgrenzen (von ng mit einer UV-sichtbar- oder einer (Photo)dioden-Array-Detektion (DAD) bis pg mit einer fluorometrischen oder elektrochemischen Detektion) kann die Hochdruck-Flüssig- mit der Gaschromatographie kaum konkurrieren. Im weiteren sind rein qualitative Analysen (Substanzidentifikation) sehr schwierig: Es gibt den Kovàts-Indices (mit den entsprechenden Datenbanken bei verschiedenen Säulenpolaritäten) vergleichbare Hilfsmittel, aber es besteht zurzeit keine kostengünstige und universelle Möglichkeit, eine HPLC-Apparatur an einen Massenspektrometer zu koppeln. Meist verfügt man nur über eine Datenbank mit UV-Referenzspektren, um gewisse Verbindungen, wie z. B. polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH), aufzufinden.

Als weiteres interessantes Anwendungsbeispiel des Dioden-Array-Detektors wurde die Ermittlung von Artefakten bei gewissen HPLC-Bestimmungen erwähnt. Bei der Bestimmung von Sorbinsäure mit der provisorischen FIL/IDF-Methode (10) in Birnenjoghurt und Carameljoghurt konnte ein analytischer Artefakt nicht aufgetrennt werden. Eine modifizierte Methode (6) war in der Lage, diesen Artefakt chromatographisch aufzulösen. In Carameljoghurt konnte mit dieser Methode der geringe Gehalt an Sorbinsäure nun bestimmt werden, in Birnenjoghurt konnte gar keine Sorbinsäure mehr nachgewiesen werden. Der scheinbare Sorbinsäurepeak bestand nur aus dem Artefakt. Anhand der Retentionszeiten und Absorptionsspektren konnte die Abwesenheit von Interferenzen praktisch festgestellt werden.

Zukunftsaussichten

Die Entwicklung der HPLC wird von mehreren Seiten weitergeführt. Biokompatible Materialien ermöglichen die Auftrennung von Proteinen in ihrer nativen Form unter Beibehaltung ihrer biologischen Aktivität. Vollautomatische HPLC-Systeme, ausgerüstet mit Autosampler und Computer-Gerätesteuerung, erlauben den 24stündigen Einsatz selbst komplexer Applikationen, wie z. B. der automatischen Aminosäurebestimmung. Auch die Möglichkeiten der Detektion werden sich stark entwickeln. Neu sind die Multi-Mode-EC-Detektoren für Redox-Substanzen sowie die Lichtstreuungsdetektoren für die Proteine und Lipide zu erwäh-

nen. Auch sollte die LC-MS für die analytischen Laboratorien kein Traum mehr sein, wenn die nötigen finanziellen Mittel vorhanden sind. Bedeutende Neuigkeiten sind die hochselektiven Trennphasen, die nun fast täglich für gewisse Substanzen oder Stoffklassen angeboten werden. Hinzu kommen besonders noch die neuen Trennsäulen mit kleineren Innendurchmessern (z. B. 1–2 mm: Typ Microbore), welche die Empfindlichkeit der HPLC-Methoden erhöhen, d. h. ihre Nachweisgrenzen erniedrigen. Gleichzeitig werden auch der Durchfluss und das Elutionsvolumen geringer, was die Umweltbelastung sowie allgemein die Analysenkosten reduziert.

Schlussfolgerung

Die Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Liebefeld-Bern verfügt über moderne HPLC-Methoden, um zahlreiche Komponenten in Milch und Milchprodukten zu bestimmen. Drei neue computergesteuerte HPLC-Geräte, ausgerüstet mit kühlbaren automatischen Probenwechslern, Gradientenpumpen sowie UV-sichtbar- oder Dioden-Array- und Fluoreszenzdetektoren, sind in der Lage, die oben-erwähnten Bestimmungen rund um die Uhr auszuführen. Dieses HPLC-Laboratorium wurde anfangs dieses Jahres nach EN 45001 akkreditiert. Die weiteren Fortschritte auf dem Gebiete der HPLC werden auch in Zukunft der milchwirtschaftlichen Analytik neue und vielversprechende Impulse verleihen.

Zusammenfassung

In den letzten Jahren haben sich HPLC-Methoden dank neuer leistungsfähiger und stabiler Trennsäulen auf «reversed phase»-Basis in der Analytik von Lebensmitteln durchgesetzt. Die vorliegende Arbeit stellt einige Anwendungsbeispiele von RP-HPLC-Methoden bei Milch und Milchprodukten an der FAM vor. Es handelt sich dabei um neuentwickelte Methoden für die Bestimmung von fett- und wasserlöslichen Vitaminen (A, E, B₁, B₂, B₆, C), von natürlich vorhandenen oder unerlaubten Konservierungsmitteln, von biogenen Aminen, von Aminosäuren (frei und nach Hydrolyse) und von Peptiden, die im Verlaufe der Käse- reifung freigesetzt wurden, sowie von Molkenproteinen wie α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin. Mit Ausnahme der Probenvorbereitung, die komponentenspezifisch ist, sind diese Analysenmethoden wenig matrixabhängig, d. h. relativ universell anwendbar.

Résumé

Ces dernières années, les méthodes d'analyse des denrées alimentaires par HPLC ont connu un essor considérable dû notamment à l'introduction de nouvelles colonnes de séparation de type phase inverse, plus stables et plus performantes. Le présent travail en présente quelques exemples d'application au lait et aux produits laitiers à la FAM. Il s'agit de méthodes récemment développées pour le dosage de vitamines lipo- et hydrosolubles (A, E, B₁, B₂, B₆, C), d'agents de conservation naturellement présents ou prohibés, d'amines biogènes, d'acides aminés constitutifs (après hydrolyse) ou libres, de peptides libérés lors de

l'affinage des fromages, ainsi que de protéines lactosériques telles qu' α -lactalbumine et β -lactoglobuline. A l'exception de l'étape de traitement de l'échantillon, spécifique au composant à analyser, ces méthodes de dosage sont relativement peu dépendantes de la matrice, c.-à-d. quasi universellement applicables.

Summary

In the last few years the HPLC methods of analysis of foodstuffs have progressed considerably due to the availability of new, much more efficient and stable reversed phase separation columns. The present work describes some applications of these analytical techniques to milk and dairy products by the Swiss Federal Dairy Research Institute. It deals with methods recently developed for the determination of fat and water soluble vitamins, naturally present or prohibited preservatives, biogenic amines, free and constitutive amino acids (after hydrolysis), peptides produced during cheese ripening, as well as whey proteins such as α -lactalbumin and β -lactoglobulin. With the exception of the sample preparation which is specific to the analyzed component, these methods are relatively independent of the matrix (foodstuff), i.e. universally usable.

Literatur

1. *Matissek, R. and Wittkowski, R. (ed.):* High performance liquid chromatography in food control and research. B. Behr's Verlag GmbH & Co., Hamburg 1992.
2. *Kneifel, W.:* Die HPLC im Rahmen der milchwirtschaftlichen Analytik. Deutsche Milchwirtschaft **35**, 1071–1076 (1986).
3. *Tagliaferri, E., Bosset, J.O., Eberhard, P., Bütikofer, U. und Sieber, R.:* Untersuchung einiger Kriterien zum Nachweis von Veränderungen der Vollmilch nach thermischen und mechanischen Behandlungen sowie nach verschiedenen langen Belichtungszeiten. II. Bestimmung des Vitamins B₁ mit Hilfe einer neuentwickelten RP-HPLC-Methode. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **83**, 435–452 (1992).
4. *Tagliaferri, E., Sieber, R., Bütikofer, U., Eberhard, P. und Bosset, J.O.:* Untersuchung einiger Kriterien zum Nachweis von Veränderungen der Vollmilch nach thermischen und mechanischen Behandlungen sowie nach verschiedenen langen Belichtungszeiten. III. Bestimmung des Vitamins B₂ mit Hilfe einer neuentwickelten RP-HPLC-Methode. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **83**, 467–491 (1992).
5. *Bosset, J.O., Bütikofer, U., Fuchs, Doris, Imhof, Miroslava I. et Tagliaferri, E.:* Le dosage des acides ascorbique et déhydroascorbique du lait: Survol bibliographique et comparaison de quelques méthodes titrimétriques et chromatographiques par HPLC. Trav. chim. aliment. hyg. **83**, 173–196 (1992).
6. *Bütikofer, U., Baumann, E. und Bosset, J.O.:* Eine verbesserte HPLC-Methode zur Bestimmung von Sorbinsäure in Milchprodukten unter spezieller Berücksichtigung von Artefakten. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **79**, 392–405 (1988).
7. *Bütikofer, U., Fuchs, Doris, Hurni, D. und Bosset, J.O.:* Beitrag zur Bestimmung biogener Amine in Käse: Vergleich einer verbesserten HPLC- mit einer IC-Methode und Anwendung bei verschiedenen Milchprodukten. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **81**, 120–133 (1990).

8. Bütikofer, U., Fuchs, Doris, Bosset, J.O. and Gmür, W.: Automated HPLC-amino acid determination of protein hydrolysates by precolumn derivatization with OPA and FMOc and comparison with classical ion exchange chromatography. *Chromatographia* **31**, 441–447 (1991).
9. Sallin, Christine, Baumann, E., Bütikofer, U., Sieber, R. et Bosset, J.O.: Contribution au dosage des oxystérols dans le lait et les produits laitiers: I. Possibilités et limites des techniques RP-HPLC. *Trav. chim. aliment. hyg.* **84**, 141–157 (1993).
10. Internationaler Milchwirtschaftsverband: Determination of benzoic and sorbic acid content. Provisional FIL/IDF Standard 139 (1987).

Ueli Bütikofer
Dr. Jacques Olivier Bosset
Sektion Chemie
Eidg. Forschungsanstalt für Milchwirtschaft
CH-3097 Liebefeld-Bern