

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 79 (1988)

**Heft:** 4

**Artikel:** Anwendung der Isotachophorese (Ionophorese) in der Lebensmittelanalytik = The application of isotachopheresis (ionophoresis) in analysis of food

**Autor:** Klein, H. / Stoya, W.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982595>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **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. [Voir Informations légales.](#)

### **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. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 08.02.2025

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

## Anwendung der Isotachophorese (Ionophorese) in der Lebensmittelanalytik

The Application of Isotachophoresis (Ionophoresis) in Analysis of Food

*H. Klein und W. Stoya*

Staatliches Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Südhessen,  
Hasengartenstrasse 24, D-6200 Wiesbaden  
(Leiter: Dr. F. Bert)

### Prinzip der Isotachophorese (ITP)

Die ITP ist, wie der Name bereits sagt, eine Methode der Elektrophorese (iso = gleich, tacho = Geschwindigkeit). Die Bezeichnung «Isotachophorese» ist für diese Methode zutreffend, denn am Ende der Auftrennung wandern alle Ionen mit gleicher Geschwindigkeit. Obwohl über dieses Trennverfahren eine Reihe theoretischer Abhandlungen vorliegt (1–4), erscheint eine zusammenfassende Erläuterung dieser Technik sinnvoll, zumal sie erst in den letzten Jahren Eingang in die chemische Analytik und die Lebensmitteluntersuchung gefunden hat.

Bei der ITP erfolgt die Trennung gleichsinnig geladener anorganischer oder organischer Moleküle durch ihre unterschiedliche Beweglichkeit in einem elektrischen Feld. Die Trennung geschieht trägerfrei in einer Kapillare (5, 6). Die Isotachophorese ist eine Elektrophorese mit diskontinuierlichen Elektrolyten niedriger Konzentration, worin Leitonen (*L*) mit hoher Nachfolgeionen (*T*) mit niedriger Mobilität fungieren. Entsprechend der Kohlrausch'schen Funktion können durch eine selbst wählbare Leitonenkonzentration alle übrigen Ionenarten in ihren Konzentrationen festgelegt werden (7, 8). Die Einstellung des pH-Bereichs, in dem die Trennung einer Probe stattfinden soll, erfolgt mit einem Gegenion *R* (Counter-Ion). Um dem Phänomen der Elektroendosmose entgegenzuwirken, wird die Viskosität des Leitelektrolyten meist durch Zusatz von Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), Polyvinylalkohol (PVA) und Triton X-100 erhöht.

Beim Anlegen eines Gleichstromfeldes zwischen den Elektroden wandern die negativ geladenen Ionen zur Anode. Die Wanderungsgeschwindigkeit (*v*) ist von der effektiven Mobilität (*m*) der Ionen gemäss der Formel  $v = m \cdot E$  (cm/s) abhängig, wobei *E* die Feldstärke des angelegten elektrischen Feldes ausdrückt. In diesem System werden die Nachfolgeionen bei konstanter Stromstärke gezwungen, den Leitonen unmittelbar zu folgen. Dabei kompensiert sich ihre geringe Mobilität durch einen Anstieg der elektrischen Feldstärke (*E*) über der Zone der Nachfolgeionen.

Gibt man zu Beginn der ITP ein Probengemisch zwischen die Zonen der Leit- und Nachfolgeionen auf, so ist nach Beendigung der Trennung jede Zone durch eine stufenförmige Änderung der Feldstärke charakterisiert. Die Detektion der jeweiligen Zonen erfolgt vornehmlich über UV-Absorptions-, Thermo-, Leitfähigkeits- oder potentiometrischem Detektor.

## Anwendung der ITP

### *L-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure*

L-Ascorbinsäure ist in Lebensmitteln weit verbreitet. Sie findet u. a. Anwendung als Schönungsmittel und Antioxidans bzw. als Synergist für Antioxidantien. Der Nachweis und die quantitative Bestimmung von L-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure ist für die rechtliche Beurteilung gewisser Lebensmittel und deren Qualität von grosser Relevanz. Da L-Ascorbinsäure häufig, bei gleichzeitiger Anwesenheit der verschiedensten Störsubstanzen, nur in geringen Mengen zugesetzt wird, ist die Analytik um so schwieriger.

*Baldesten, Hjalmarsson und Neumann* (9) zeigten in einer Arbeit die Möglichkeit der Trennung und quantitativen Bestimmung von Ascorbin- und Iso-Ascorbinsäure neben anderen organischen Säuren in Lebensmitteln mittels ITP auf. Diese Untersuchungen wurden in einem käuflichen Orangensaft durchgeführt. Die Ascorbinsäure wurde durch UV-Absorption bei 254 nm detektiert, wobei die quantitative Auswertung durch Messung der UV-Peakbreite in bezug auf eine Eichkurve geschah. In dem analysierten Saft betrug die Ascorbinsäuremenge 47 mg/100 ml.

*Rubach und Breyer* (10) berichten über die Anwendung der ITP zur Bestimmung von L-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure in rückverdünnten Zitrus-saftkonzentraten. Sie prüften mit dieser Analysentechnik 46 rückverdünnte Zitrus-säfte bezüglich der Gehalte an Ascorbin- und Dehydroascorbinsäure und verglichen die Werte mit der herkömmlichen enzymatischen Methode. Nach ihren Ergebnissen ist die Reproduzierbarkeit der isotachophoretischen Methode günstiger zu bewerten als die enzymatische. Da Dehydroascorbinsäure ungeladen ist und somit nicht für die ITP-Trennung geeignet ist, wurde sie mit Mercaptoethanol zu Ascorbinsäure reduziert und schliesslich gemeinsam mit der ursprünglich vorliegenden Ascorbinsäure bestimmt (Tabelle 1).

In einer weiteren Untersuchung wird von *Rubach, Breyer und Krüger* (11) mittels ITP das Verhalten von Ascorbinsäure während der Lagerung von Flaschenbier kontrolliert. Erfahrungsgemäss scheint die Zugabe von 3 bis 4 g/hl Bier auszureichen. In diesem Konzentrationsbereich war die quantitative Analyse mittels der ITP möglich, da die Auswertung der UV-Signale, nicht wie üblich über die Signalbreiten, sondern über die Peakhöhen, den sogenannten «Spikes» (12), vorgenommen wurde.

**Tabelle 1.** Zusammenstellung über einige Elektrolytsysteme und apparative Bedingungen für die ITP

Inhalts- bzw. Zusatzstoffe	Leitelektrolyt	Folgeelektrolyt	Betriebsstromstärke/ Betriebsspannung $\mu\text{A}$ / K $\text{V}$	Temperatur $^{\circ}\text{C}$	Länge der Trennkapillare mm	Gerät	Literatur
L-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure	0,05 m HCl/ $\beta$ -Alanin, 0,25% HPMC; pH 3,97	0,005 m Capronsäure	Detek. 90	-	-	-	A (9)
	0,005 m HCl/ $\beta$ -Alanin, 0,3% HPMC, pH 3,8	0,005 m Capronsäure pK 4,88	100	15	5	230 und 430	A (10)
Biogene Amine	0,005 m Ba(OH) $_2$ / 0,015 m Valin, 0,3% HPMC; pH 9,9	0,02 m Tris/ 0,005 m HCl, pH 8,3	150	21	5	230 und 430	A (15)
	0,01 m Ba(OH) $_2$ , Valin, 0,2% Triton X-100, pH 9,9	0,02 m Tris, HCl, pH 8,3	5 min 250 Detek. 100	-	20	40 Vorkapillare 200 Trennkapillare	B (18)
	0,005 m Dimethylarsensäure Natriumsalz (Trihydrat)	0,005 m L-Histidin, 0,4% HPMC, pH 4,4	100 50	20	10	630	- (16)
Chinin	0,01 m Kalium-Morpholinoethansulphonsäure (MES), 0,05% Polyvinylalkohol, pH 6,0	0,005 m Kreatinin-MES, pH 5,5	25	10	-	200	D (19)
Ethylendiamintetraacetat	0,01 n HCl/ $\beta$ -Alanin 0,05% Triton x-100, pH 3,5	0,01 m Capronsäure	150	-	20	200	B (20)
Geschmacksverstärker und Süsstoffe	0,01 n HCl, $\beta$ -Alanin, 0,05% Polyvinylalkohol, pH 3,0	0,01 n CH $_3$ COO $^-$ , Tris pH 3,0	50	-	-	250	C (24)
	0,01 n HCl/Histidin, 0,05% Polyvinylalkohol, pH 6,0	0,01 n MES/Tris; pH 6,0	50	-	-	250	C (24)
	0,007 m HCl/Glycylglycin, 0,3% HPMC, pH 2,9	0,005 m Capronsäure	250	30	-	390	A (23, 29)

Inhalts- bzw. Zusatzstoffe	Leitelektrolyt	Folgeelektrolyt	Betriebsstromstärke/ Betriebsspannung $\mu\text{A}$ / KV	Temperatur $^{\circ}\text{C}$	Länge der Trennkapillare mm	Gerät	Literatur
Glucosinolate	wie unter <sup>1)</sup>		80	15	15	230	A -
Aspartame	0,005 m Essigsäure/Tris, pH 7,7	0,005 m Histidin/Tris, pH 7,8	200	-	-	200 Vorkapillare 200 Trennkapillare	F (32)
Konservierungsstoffe	0,01 m HCl/Amediol, 0,3% HPMC; pH 9,6	0,02 m $\beta$ -Alanin/ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ; pH 10,0	150	25	5	230 und 430	A (36)
	0,005 m HCl/ $\beta$ -Alanin 0,3% HPMC; pH 3,8	0,005 m Capronsäure pH 4,88	150	-	22	230	A (39)
	0,01 m HCl, Ammediol 0,1% Triton X-100, pH 9,6	0,02 m $\beta$ -Alanin/ $\text{Ba}(\text{OH})_2$ pH 10,0	5 min 250 Detek. 100	-	20	40 Vorkapillare 200 Trennkapillare	B (18)
Pestizide (Paraquat, Diquat)	0,01 m HCl, pH 2	0,01 m Tris/HCl, pH 6,0	50	-	-	-	D (40)
	0,05% Polyvinylalkohol		250	-	-	-	
Säuren und Phosphate	0,01 m HCl, $\beta$ -Alanin 0,1% Triton X-100; pH 3,0	0,01 m Hexansäure	5 min 250 Detek. 100	-	20	40 Vorkapillare 200 Trennkapillare	B (18)
	0,01 m HCl, Tris, 0,1% Triton x-100; pH 7,5	0,01 m MES, Tris pH 7,0	5 min 250 Detek. 100	-	20	40 Vorkapillare 200 Trennkapillare	B (18)
	<sup>1)</sup> 0,007 m HCl; Glyzylglycin 0,008 m, 0,3% HPMC-0,2% Triton-x-100, pH 2,9	0,005 m Capron- <sup>1)</sup> säure bzw. 0,005 Benzoesäure	80	15	15	230	A (22, 45)
	0,005 m HCl, $\beta$ -Alanin 0,002 m; 0,3% HPMC; pH 3,5	0,005 m Capronsäure	80	15	15	230	A (44)
	0,007 m HCl, 0,005 m NaCl, 0,5% HPMC; pH 2,15	0,005 m Bernsteinsäure	90	-	-	-	A (9)

Fortsetzung Tabelle 1. Zusammenstellung über einige Elektrolytsysteme und apparative Bedingungen für die ITP

Inhalts- bzw. Zusatzstoffe	Leitelektrolyt	Folgeelektrolyt	Betriebsstromstärke/ Betriebsspannung		Temperatur °C	Länge der Trennkapillare mm	Gerät	Literatur
			μA	KV				
Tetrodotoxin	0,005 m (CH <sub>3</sub> COOK), 50% Dioxan, 0,2% Triton X-100, pH 6,0	0,01 m β-Alanin, pH 4,5	150	-	20	40 Vorkapillare	B	(55)
			75	-	20	100 Trennkapillare		
Vitamine wasserlöslich a) Nicotinsäure, Ribofl.  b) Thiamin, Vitamin B 6  c) Nicotinsäureamid	0,01 m HCl/Ammediol, 0,3% HPMC, pH 8,95  0,02 m CH <sub>3</sub> COOK/ CH <sub>3</sub> COOH, 0,3% HPMC, pH 4,95  0,02 m CH <sub>3</sub> COOK/ CH <sub>3</sub> COOH, 0,3% HPMC, pH 4,95	0,02 m β-Alanin/ Ba(OH) <sub>2</sub> , pH 10  0,02 m γ-Amino- buttersäure/ CH <sub>3</sub> COOH, pH 4,73  0,01 m β-Alanin/ HCl, pH 1,8	150	20	-	430	A	(56)
			100	17	-			
			200	7	-	230		
			150	8	-	230	A	(56)

A = Isotachophorese-Einheit «Tachophor»  
Fa. LKB (Broma, Schweden)

B = Shimadzu-Isotachophorese IP 2A (Japan)  
Shimadzu-Isotachophorese IP 1B (Japan)

C = ITP-Gerät Stankoviansky,  
Kaniansky, Comenius University  
Bratislava, CSSR

D = ITP-Ausrüstung nach Everaerts

E = CS Isotachophoretic Analyser  
Czechoslovakia

F = ZKI-001 (URVJT, Spišská Nova Ves, Czechoslovakia)

Für die Analyse der L-Ascorbinsäure in Bier wurde weiterhin von *Röben* et al. (13) eine capillar isotachophoretische Methode unter Anwendung diskreter anionischer Spacer entwickelt. Der Konzentrationsbereich bewegt sich zwischen 2 und 100 ppm. Die Aufbereitung der Bierproben ist einfach und besteht lediglich in einer Entgasung derselben. Die Abtrennung der Ascorbationen von störenden Substanzen der Matrix geschieht durch diskrete anionische Spacer, die in ihrem Mobilitätsverhalten durch die RE-Werte charakterisiert sind. Die Differenzierung des Untergrundes, die bei der «Spike-Technik» unerlässlich ist, wird durch Inkubation mit Ascorbatoxidase erreicht.

### *Biogene Amine*

Es ist bekannt, dass durch Decarboxylierung entsprechender Aminosäuren in Lebensmitteln biogene Amine entstehen. Obwohl Histamin in frischen Fischen in geringen Anteilen vorkommt, können in Fischprodukten wie Thunfisch und Hering relativ hohe Gehalte auftreten. Erhöhte Histamingehalte in Fischprodukten sind nach Angaben in der Literatur für den Menschen nicht unbedenklich (14). Daraus ergibt sich für die amtliche Lebensmittelüberwachung beim Nachweis von Aminen in Fisch, Käse usw. die Forderung nach geeigneten Methoden. Zwar existieren diesbezüglich Analysenmethoden, jedoch handelt es sich hierbei mit Ausnahme der Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie meist um halbquantitative Techniken.

*Rubach* et al. (15) trennten nach Extraktion der Fischproben mit Wasser und Einstellung mit Salzsäure auf pH 5 die vorhandenen Amine isotachophoretisch. Als Leitelektrolyt verwendeten sie 0,005 m Ba (OH)<sub>2</sub>/0,015 m Valin, 0,3 Prozent HPMC und als Folgeelektrolyt 0,02 m Tris/0,005 m HCl, pH 8,3. Die Detektion der getrennten Substanzen erfolgte mit dem Leitfähigkeitsdetektor. Bei einer mittleren Wiederfindungsrate von 99,8 Prozent und einem Variationskoeffizienten unter 2 benötigt man mit dieser Bestimmungsmethode pro Probe etwa 30 min. Mit dem gleichen Puffersystem trennten die Autoren Cadaverin, Putrescin, Spermidin, Spermin, Histamin und Tyramin.

Neuerdings entwickelten auch *Strickwerda* und *Westra* (16) eine isotachophoretische Methode zur Erfassung des Histamingehaltes in Fischen und Fischprodukten. Die Probenaufarbeitung glich im wesentlichen der Verfahrensweise der vorgenannten Arbeitsgruppe. Als Leitelektrolyt dienten in diesem Falle 0,005 m Dimethylarsensäure Natriumsalz (Trihydrat) in Wasser sowie als Terminatorelektrolyt 0,005 m L-Histidin unter Zusatz von 0,4% Hydroxypropylmethylcellulose, pH 4,4 (Tabelle 1). Für zugesetzte Mengen von 100, 120 und 200 mg/kg Histamin resultierten Wiederfindungsraten von 99,7%, 97,5% und 93,5%.

Wegen der pharmakologischen Eigenschaften der Amine besteht in gewisser Hinsicht auch in der Milchwirtschaft ein vermehrtes Interesse (17). Die Einnahme von Psychopharmaka vieler Patienten bei gleichzeitig erhöhter Aufnahme an biogenen Aminen durch Lebensmittel, wie fermentierten Milchprodukten, führt nach neueren wissenschaftlichen Erkenntnissen zu einem typischen Krankheits-symptom, dem sogenannten «cheese effect».

*Ginzinger* et al. (18) prüften daher Käse auf Histamin, Tyramin und Phenylethylamin mittels ITP, wobei diese Amine wie bei *Rubach* et al. kationisch getrennt (Tabelle 1) wurden. Der Käse wurde mit Wasser homogenisiert, das Homogenisat 1:1 mit Ethanol versetzt und der klare Überstand zur ITP verwendet.

### *Chinin*

Chinin wird nicht nur pharmazeutisch als Antimalariaarzneimittel genutzt, sondern auch in der Getränkeindustrie als Zusatz für klare Limonaden mit natürlichen Zitrusauszügen, den sogenannten Tonic Waters. Der Chiningehalt ist hierbei auf 85 mg/kg beschränkt. Ähnliche Mengen sind für derartige Produkte auch in Holland festgelegt. *Reijenga* et al. (19) prüften daher die Eignung der ITP zur Bestimmung von Chinin in unterschiedlichen Proben. Chininhaltige Getränke wurden lediglich durch Ultraschall entgast und ohne Filtration der Isotachophorese zugeführt. Die Nachweisgrenze betrug 5 mg/l bei einem Einspritzvolumen von 4  $\mu$ l. Die zulässigen Konzentrationen konnten mit genügender Genauigkeit erfasst werden.

### *Ethylendiamintetraessigsäure*

In den Vereinigten Staaten von Amerika und einigen europäischen Ländern ist der Zusatz von Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) bzw. deren Natrium- und Calciumsalze in Lebensmitteln zulässig. Die Gründe für den Zusatz von EDTA zu Lebensmitteln sind sehr mannigfaltig. Bei gekochten Garnelenkonserven und Krabbenfleisch strebt man eine Verzögerung von Zersetzungserscheinungen, bei Mayonnaise und Salat-Dressings eine Konservierung oder bei Kartoffelprodukten eine Verzögerung von Verfärbungen an. Es ist daher nicht auszuschließen, dass derartig behandelte Lebensmittel im Handel als Importware gelegentlich anzutreffen sind. Da auch in Japan EDTA als Zusatzstoff für Lebensmittel verboten ist, wurde von *Ito* et al. (20) eine isotachophoretische Methode für diese Verbindung erarbeitet. Aus Mayonnaise, Salat-Dressings oder Margarine werden störende Säuren mittels Ionenaustauschchromatographie entfernt. Ethylendiamintetraessigsäure wurde mit 0,2 n HCl eluiert und mit Eisen-II-Salzen zu einem stabilen EDTA-Fe-Komplex umgesetzt. Die Isotachophorese wurde mit Chlorid als Leitelektrolyt und 0,01 m Capronsäure als Terminatorelektrolyt durchgeführt. Im Messbereich von 100 oder 1000 ppm betrug die Wiederfindungsrate von EDTA als Dinatriumsalz mittels der Spike-Analysenmethode 90 Prozent. Die Detektionsgrenze lag bei 10 ppm, berechnet als Dinatriumsalz der EDTA.

### *Geschmacksverstärker und Süsstoffe*

Zur Geschmacksverbesserung von Suppen, Saucen, Fleischwaren usw. können Glutamat (MSG), Guanosin-5'-Monophosphat (G 5'MP) und Inosin-5'-Mono-



phosphat (I 5'MP) zugesetzt werden (21). Art und Menge des Zusatzes ist rechtlich festgelegt.

Zur Bestimmung dieser Stoffgruppe haben *Kaiser* und *Hupf* (22, 23), *Kenndler* und *Huber* (24), *Strikwerda* und *Fransen* (25) sowie *Matsushima* (26) et al. ebenfalls die ITP mit Erfolg angewandt. Gegenüber enzymatischer und chromatographischer Methoden (27, 28) hat die ITP auch hier deutliche Vorteile wie kurze Aufarbeitungszeiten des Probenmaterials und simultane Bestimmung der Substanzen. Während *Kaiser* und *Hupf* die drei Geschmacksverstärker bei pH 2,9 trennten, erzielten *Kenndler* et al. bei pH 6,0 gute Trennergebnisse. Interferenzen mit anderen Lebensmittelkomponenten waren nicht gegeben. Für alle drei Additiva betrug die Bestimmungsgrenze im Lebensmittel 10 ppm (w/w).

Die Süsstoffe Saccharin und Cyclamat werden neuerdings nicht nur in der Diabetikerdiät, sondern auch in zunehmendem Masse in der Schlankheitskost verabreicht. Die gesetzlichen Verordnungen fordern dabei einerseits eine ausreichende Kennzeichnung, andererseits den z. T. mengenmässig beschränkten Einsatz dieser Süsstungsmittel. Die bisherigen relativ umständlichen Analysenverfahren für Süsstoffe veranlassten Arbeitskreise wie *Kaiser* und *Hupf* (22, 23), *Baldesten* et al. (7) und vor allem *Rubach* und *Offizorz* (29) eine isotachophoretische Methode zu entwickeln. Zur Abtrennung von Fett bzw. zur Konzentrierung der Süsstoffe erwiesen sich vor der ITP bei geringen Gehalten Extraktssäuren (Merck, Darmstadt) als sehr effektiv. So bestimmten *Rubach* und *Offizorz* diese Zusatzmittel in den verschiedensten Lebensmitteln, wie *Kaiser* und *Hupf* bei pH 2,9 mit dem Puffersystem 0,007 m HCl/Glyzylglyzin 0,3 Prozent Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) (Leitelektrolyt) und 5 mM Capronsäure (Folgeelektrolyt) unter den in Tabelle 1 angegebenen Bedingungen. Hierbei können sie aus der Lebensmittelmatrix durch die ITP ohne Schwierigkeiten von störenden Substanzen getrennt werden.

*Rubach* und *Offizorz* ermittelten in den von ihnen untersuchten Lebensmitteln bei der isotachophoretischen Methode eine Wiederfindungsrate von 99 Prozent. Der Variationskoeffizient der Methode lag in keinem Falle über 2 Prozent. Auch *Baldesten* et al. errechneten bei der Analyse von «Assugrintabletten» einen Variationskoeffizienten von nur 1,33. Speziell mit der Bestimmung der Süsstoffe Acesulfam-K, Aspartam, Cyclamat und Saccharin in fruchtsafthaltigen Erfrischungsgetränken bemühten sich unlängst *Zache* und *Gründing* (30). Sie verglichen in dieser Versuchsreihe die ITP mit der Hochdruckflüssigkeitschromatographie. Als Leitien fungierten ebenfalls Chloridionen und als Folgeionen Benzoesäure. Mit diesem Puffersystem gelang ihnen in Fruchtsaftgetränken die Trennung von Acesulfam-K, Cyclamat und Saccharin. Aspartam konnte hiermit nicht bestimmt werden, da der pH-Wert der Leitelektrolytlösung unter dem isoelektrischen Punkt von Aspartam liegt. Die Auswertung der ITP erfolgte wie üblich über Leitfähigkeits- und UV-Detektoren. Die Probenaufbereitung besteht bei beiden Methoden lediglich in einer Abtrennung von Trubteilchen mittels Druckfiltration. Gleichartige analytische Fragestellungen werden bei unterschiedlichen Lebensmitteln in den Arbeiten von *Klein* und *Stoya* (31) sowie *Kvasnicka* (32) abgehandelt.

## Glucosinolate (*Sinalbin, Sinigrin*)

Für die Beurteilung von Senfsaaten ist die Gehaltsbestimmung der Glucosinolate Sinalbin (p-Hydroxybenzylglucosinolat) und Sinigrin (Allylglucosinolat) von Bedeutung, da diese einerseits als Rohstoffe bei der Senffabrikation eingesetzt werden und andererseits als Gewürz- und Heilmittel Verwendung finden (33). Neuere Analysemethoden zur Bestimmung von Glucosinolaten wie die Gasflüssigkeitschromatographie erfüllen zwar die Anforderungen hinsichtlich Spezifität und Empfindlichkeit, jedoch erfordern derartige Verfahren auch bei dieser Naturstoffgruppe einen erheblichen Arbeitsaufwand (34). Schneller und einfacher lassen sich diese Untersuchungen durch Isotachophorese (Abb. 1) bewerkstelligen (35). Zur Extraktion des wasserlöslichen Sinalbins und Sinigrins werden 60 mg entfettetes lufttrockenes Samenmehl in 5 ml Potter-Eveljhem-Homogenisationsgefäße gegeben, mit heissem Wasser homogenisiert und zentrifugiert. Der klare Extrakt wird unmittelbar zur ITP verwendet. Für Sinalbin und Sinigrin liegt die Nachweisgrenze bei  $2,4 \times 10^3 \mu\text{Mol}$ . Für die Praxis ist dies bedeutsam, da der Glucosinolatgehalt noch in ein bis zwei Samen quantitativ bestimmt werden kann. Eine Differenzierung beider Glucosinolate ist in diesem Zusammenhang nicht nötig, da sie jeweils als wertbestimmende Inhaltsstoffe in den betreffenden Senfsorten vorkommen.

## Konservierungsstoffe

Eine Konservierung unserer Nahrungsmittel durch Kälte, Trocknen oder Erhitzen und nachfolgendes luftdichtes Verschliessen ist nicht in jedem Falle durchführbar, so dass letztlich auf Konservierungsstoffe (Sorbinsäure, Benzoesäure u. a.) nicht verzichtet werden kann. Bei Verwendung der Konservierungsstoffe ist eine Kenntlichmachung gesetzlich gefordert. Zudem darf der Gehalt an Sorbinsäure, Benzoesäure, PHB-Ester und Propionsäure festgesetzte Höchstmengen nicht überschreiten.

In einer Arbeit von *Kaiser* und *Hupf* (22) wird über die Anwendung der isotachophoretischen Methode zur Identifizierung und quantitativen Bestimmung von Konservierungsstoffen berichtet. Sie trennten Propion-, Sorbin-, Benzoe- und Ameisensäure mit dem in Tabelle 1 genannten System. Nach Hydrolyse der PHB-Ester gelang ihnen deren Nachweis als p-Hydroxybenzoesäure. Die Probenvorbereitung bestand, im Gegensatz zu herkömmlichen Verfahren, nur aus Homogenisieren mit Wasser, Alkalischemachen mit NaOH, Zentrifugieren und Filtrieren.

*Rubach* et al. (36, 37) bedienten sich ebenfalls dieser wirkungsvollen elektrophoretischen Trennmethode. Zur Anreicherung der besagten Konservierungsstoffe aus dem Lebensmittel erwiesen sich die bereits in der Pharmakologie erprobten Extrelut-Säulen der Firma Merck, Darmstadt (38), als sehr vorteilhaft. Die Analyse erfolgte wie in den häufigsten Fällen mit der Isotachophoreseausrüstung «Tachophor» der Fa. LKB, Bromma, Schweden, wobei Trennkapillaren von 23 und 43 cm Länge eingesetzt wurden.

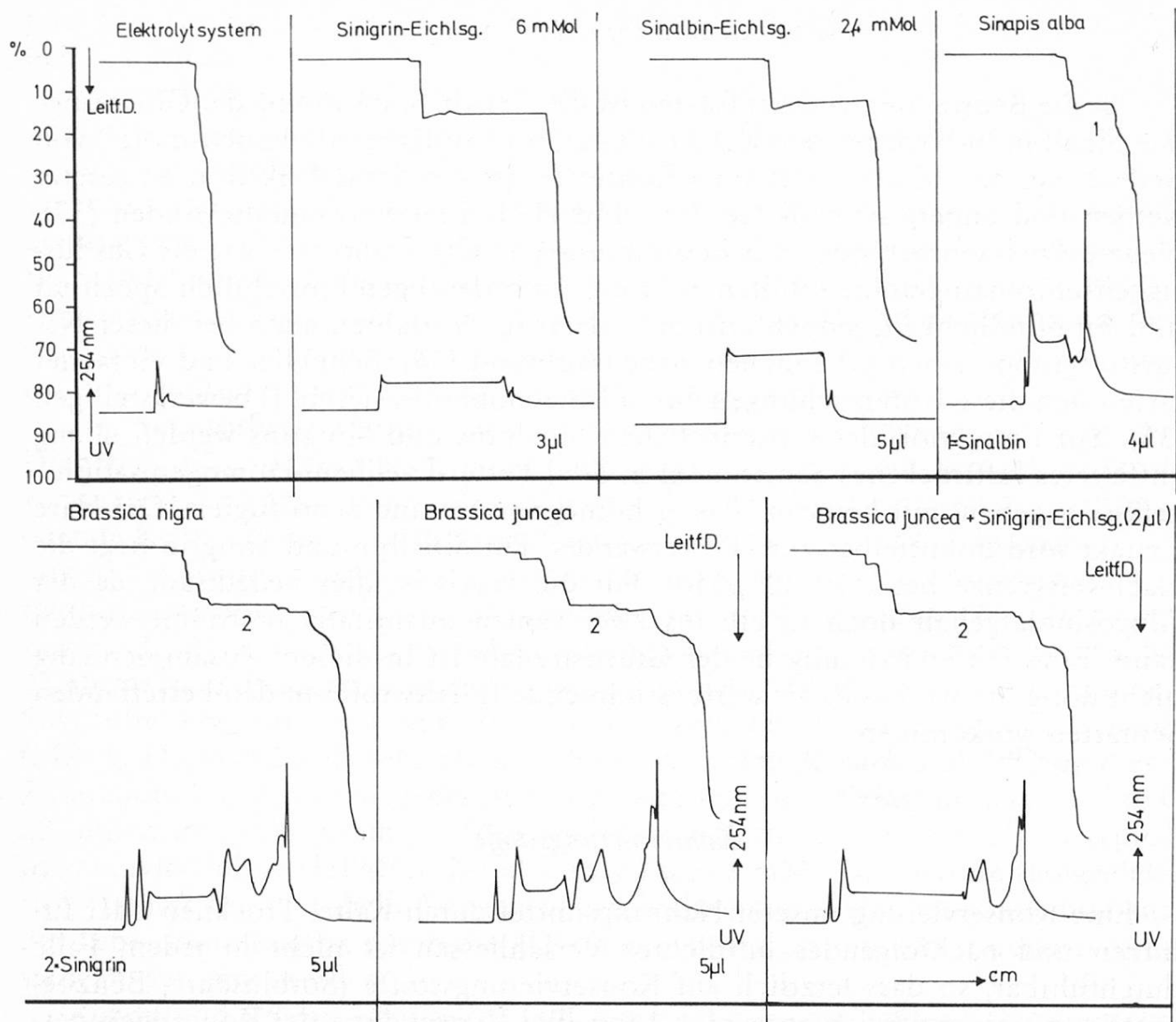


Abb. 1. Isotachophoretische Bestimmung von Sinalbin und Sinigrin in Samenextrakten von drei Senfarten sowie UV- und Leitfähigkeitsdiagramme des Elektrolytsystems und der Reinsubstanzen. (Entnommen aus: «Z. Acker- u. Pflanzenbau» 150, 353 [1981]. Mit Genehmigung des Verlages.)

Donhauser et al. (39) befassten sich eingehend mit dem Nachweis von Konservierungsmitteln in Bier. Dabei verglichen sie die Ergebnisse der Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie (HPLC) mit denen der ITP. Im Sinne des deutschen Reinheitsgebotes ist es verboten, dem Bier Konservierungsstoffe zur Steigerung der biologischen Stabilität zuzusetzen. Auch gibt es unter Umständen doch gesundheitliche Risiken, wie Allergien, Schädigungen der Darmflora und Überempfindlichkeitsreaktionen. Beim Vergleich HPLC/ITP kristallisierte sich die letztere als die günstigere Technik heraus. Im basischen Elektrolytsystem (Tabelle 1) können die Konservierungsstoffe (Benzoe- und Sorbinsäure und PHB-Ester) nebeneinander und direkt im Bier bestimmt werden. Bei allen Analysen lagen die Variationskoeffizienten der ITP (0,5–2,7 Prozent) deutlich niedriger als bei der HPLC-Methode.

Die Konservierung von Milch- und Milchprodukten ist mit Ausnahme von flüssigem Lab sowohl in der Bundesrepublik Deutschland als auch in Österreich und der Schweiz verboten. Folglich ist auch auf diesem Lebensmittelsektor eine schnelle Nachweismethode für Konservierungsmittel in Importware wünschenswert. Mit einer Shimadzu-Isotachophorese IP 2A und einem basischen Puffersystem (Leitelektrolyt pH 9,6 und Folgeelektrolyt pH 10,0) führten *Ginzinger* und *Hohenauer* (18) orientierende Analysen an konserviertem Joghurt durch. Sorbinsäure war hierin eindeutig nachweisbar.

### *Paraquat und Diquat (Pestizide)*

In einer Veröffentlichung von *Kenndler* und *Kaniansky* (40) wird über die isotachophoretische Trennung von Paraquat und Diquat mit 0,01 m wässriger Salzsäure als Leitelektrolyt und einer 0,01 m wässrigen Tris(hydroxymethylamino-methan)-lösung (pH 6) als Terminatorelektrolyt berichtet. Aufgrund einer entsprechenden Vorrichtung konnten die betreffenden Pestizide nach der Trennung mikropräparativ isoliert werden. Die sichere Identifizierung erfolgte nach dem Eindampfen durch Massenspektrometrie nach dem Direkteinlasssystem.

### *2-Pyrrolidon-5-Carbonsäure*

*Goto* und Mitarbeiter (41) befassten sich mit der Bestimmung von 2-Pyrrolidon-5-Carbonsäure in Tomaten und deren Produkten mittels ITP. Das Elektrolyt-system 0,02 m Histidin und 0,01 m HCl-pH 5,7-(Leitelektrolyt) sowie 0,01 m Glutaminsäure (Terminatorelektrolyt) erwies sich als geeignet für die Bestimmung der in Rede stehenden Säure. Nach der oben genannten Analystechnik wurde bei unreifen Tomaten ein Gehalt an 2-Pyrrolidon-5-Carbonsäure von 33 mg/100 g und während des Reifeprozesses ein solcher von  $\leq 71$  mg/100 g festgestellt. Im Tomatensaft und Püree wurden Gehalte von 113–444 mg/100 g gefunden. 2-Pyrrolidon-5-Carbonsäure entsteht in höheren Pflanzen aus Glutaminsäure durch Abspaltung von Wasser.

### *Säuren (organisch – anorganisch)*

Organische Säuren sind für isotachophoretische Untersuchungen sehr gut geeignet. Bisher wurden diese durch chromatographische Analystechniken und enzymatische Methoden bestimmt. Letztere Methode ist zwar sehr spezifisch und für die Durchführung grosser Serienuntersuchungen geeignet, jedoch gestattet sie nicht die gleichzeitige qualitative und quantitative Bestimmung mehrerer Säuren in einem Lebensmittel, wie das bei der ITP der Fall ist.

So war es bisher nicht möglich, den Gehalt der einzelnen Säuren des Bohnenkaffees vollständig quantitativ in einem Arbeitsgang zu bestimmen. Mit relativ

geringem Arbeitsaufwand konnten *Scholze* und *Maier* (42) in Röstkaffee acht Säuren, darunter China- und Chlorogensäure, mengenmässig simultan isotachophoretisch bestimmen.

Während bei der Säuredifferenzierung des Kaffees ein Kaffeeaufguss unmittelbar zur Analyse eingesetzt werden konnte, war diese mit den Aufgüssen des Kakaos nicht möglich, da in den Spektren zu viele Störpeaks auftraten. Die Vortrennung unerwünschter Substanzen geschah daher durch Ultrafiltration. Mit Hilfe der ITP wurden Äpfel-, Citronen-, Essig-, Glykol-, Milch-, Oxal-, Phosphor- und Weinsäure in Kakao- und Schokoladenprodukten quantitativ bestimmt (43). Vergleichsweise wurde von diesem Arbeitskreis auch die Kapillargaschromatographie in die Untersuchungen mit einbezogen. Bei etwa gleichem Arbeitsaufwand beider Methoden war die ITP der Gaschromatographie in der Reproduzierbarkeit überlegen (Wiederfindungsrate ITP: 93–99%; GC: 86–97%). Die Sortenanalyse fermentierter und gerösteter Kakaobohnen liess im Hinblick auf den Säuregehalt merkbare Unterschiede zwischen klassischer Kakaobohnenröstung und Dünnschichtröstung erkennen.

Der Einsatz der ITP hat sich auch in der milchwirtschaftlichen Analytik bewährt.

*Ginzinger* und *Hohenauer* (18) bestimmten mittels ITP die Hauptgruppe der organischen Säuren bei der Reifung des Emmentaler Käses. Die Propionsäuregärung und die Proteolyse durch Zunahme der Glutaminsäure konnten sie während der Reifung gut aufzeigen. Mit unterschiedlichen Puffersystemen (Tabelle 1) wurden in Joghurt, Fruchtjoghurt, Sauermilch und Käse Milchsäure, Essigsäure sowie Buttersäure ermittelt.

Milch- und Essigsäure sind ebenso bei Sauerkraut die Hauptfermentationsprodukte. Neben geringen Mengen Phosphor- und Citronensäure sind sie daher für die Sauerkrautqualität von Bedeutung. In einer neueren Arbeit (44) wird über die Untersuchung von Lake verschiedener Sauerkrautproben aus dem Handel berichtet. Die Säuredifferenzierung mittels ITP stellt hier eine wertvolle Ergänzung zu den üblichen Verfahren in der Analytik von Sauerkrautkonserven dar.

Für Weine sind neben Alkohol und Zucker die organischen Säuren wertbestimmend. Eine quantitative Ermittlung der einzelnen Säuren ist daher in der Weinanalytik wichtig. In jüngerer Zeit konnten *Kaiser* und *Hupf* (22) die Vorteile der isotachophoretischen Säuredifferenzierung aufzeigen. Mit dem Leitionensystem 7 mM HCl und Glyzylglyzin als Gegenion, pH 2,9 und Capronsäure als Terminator wurden bis zu 14 Säuren nebeneinander bestimmt. Salicylsäure, Benzoe-, Ascorbin- und Sorbinsäure wurden zugesetzt. Die Untersuchung der Weine nach amtlichen Methoden und mit der ITP erbrachten nach seinen Angaben recht gut übereinstimmende Werte. In einer neuerdings erschienenen Arbeit (45) über Säuremuster von Mosten und Weinen konnten die Vorteile der ITP ebenfalls verdeutlicht werden. Bei der Untersuchung wurde das Säurespektrum der Moste bzw. Jungweine im Hinblick auf Umwelteinflüsse als Resultat der Interaktion der Systeme Pflanze – Boden – Klima geprüft (Abb. 2). Die in der Literatur genannten Säuregehalte konnten mit der in Rede stehenden elektrophoretischen Methode bestätigt werden. Ebenso wurden von *Reijenga* et al. (46), *Farkas* et al.

(47) und *Chauvet* und *Sudraud* (48) die ITP mit Erfolg in der Weinanalytik eingesetzt. Neben organischen Säuren wurde aus Sulfit, Sulfat und Phosphat im Wein bestimmt. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit der ITP ist die Untersuchung von Landbrot in bezug auf die Verarbeitung von echtem Sauerteig oder Teigsäuerungsmittel. Da auch hier die enzymatische Säureanalyse zu zeitraubend ist, zeigten *Kaiser* und *Hupf* (22) in überzeugender Weise den Einsatz dieser Methode zur routinemässigen Bestimmung der Säuren (Milch-, Essig-, Citronen-, Weinsäure und saure Phosphate) in Landbrot und Teigsäuerungsmitteln auf. Die Aufarbeitung besteht lediglich aus einer Extraktion der Proben mit Wasser.

Zur Herstellung von Fleischerzeugnissen sind Präparate im Handel, die ausser Gewürzen bzw. Gewürzmischungen und Speisesalz auch eine Reihe von Zusatzstoffen enthalten. Als wichtigste Vertreter sind die Di-Phosphate sowie die Natrium- und Kaliumsalze der Essigsäure, Milchsäure, Weinsäure und Citronensäure zu nennen. Üblicherweise werden diese Säuren bei der Brühwurstfabrikation als Kuttersalze eingesetzt. Als Umrötehilfsmittel haben sich weiterhin Glucono-Delta-Lakton und L-Ascorbinsäure bewährt. Eine Überwachung des Zusatzes dieser Stoffe zu Fleischerzeugnissen als auch der Zusatzpräparate ist daher erforderlich. Während die Untersuchung der Fleischzusatzmittel bisher im allgemeinen sehr unbefriedigend war, leistet die ITP auch in diesem Fall gute Dienste, wie Abhandlungen von *Klein* (49) und *Arneht* (50) zeigen.

*Baldesten*, *Hjalmarsson* und *Neumann* (9) lösten mit der gleichzeitigen Trennung von Citronensäure/Isocitronensäure durch ITP ein bisher schwieriges analytisches Problem. Bei der quantitativen Analyse von Cherry-Joghurt und eines Fruchtsaftgetränkes bedienten sie sich des Chlorids als Leition und der Bernsteinsäure als Terminatorion. Da die Trennung vom pH-Wert des Leitions abhängt, ist es entscheidend, einen geeigneten pH-Wert zu wählen, der den Trennbedingungen angepasst ist. So muss z. B. bei der Trennung von Citronensäure und Isocitronensäure der pH-Wert auf annähernd 2,5 gesenkt werden.

In der neueren Literatur (51) wird auch die Analytik flüchtiger Fettsäuren in Melasse erörtert. Von den organischen Säuren der Zuckerrübe finden sich in der Melasse nur einige wieder. Oxyglutarsäure, Saccharinsäure sowie Ameisen-, Essig- und Buttersäure entstehen erst im Verlauf der Zuckerherstellung durch Saccharoseabbau infolge bakterieller Tätigkeit bzw. durch Einwirkung hoher Temperaturen und zu tiefer oder zu hoher pH-Werte (52).

Nach Ansäuern der Melasse mit  $H_2SO_4$  (25%ig) und anschliessender Destillation in einer Kjeldahlapparatur konnten *Prochazka* et al. (51) Propion-, Butter-, Valerian- und Capronsäure isotachophoretisch identifizieren und quantifizieren (Leitfähigkeitsdetektor!). Nach ihren Untersuchungen machten Ameisen- und Essigsäure 80% des Gesamtgehaltes an flüchtigen Fettsäuren aus.

Schliesslich sei im Zusammenhang mit der Säureanalytik noch eine tschechische Arbeit (53) erwähnt, die die direkte Bestimmung von organischen Säuren in Früchten durch ITP beschreibt. Die Autoren diskutieren hierin u. a. die optimalen Konditionen der Probenaufbereitung (Früchte) sowie die Vorteile der Kapillar isotachophorese.

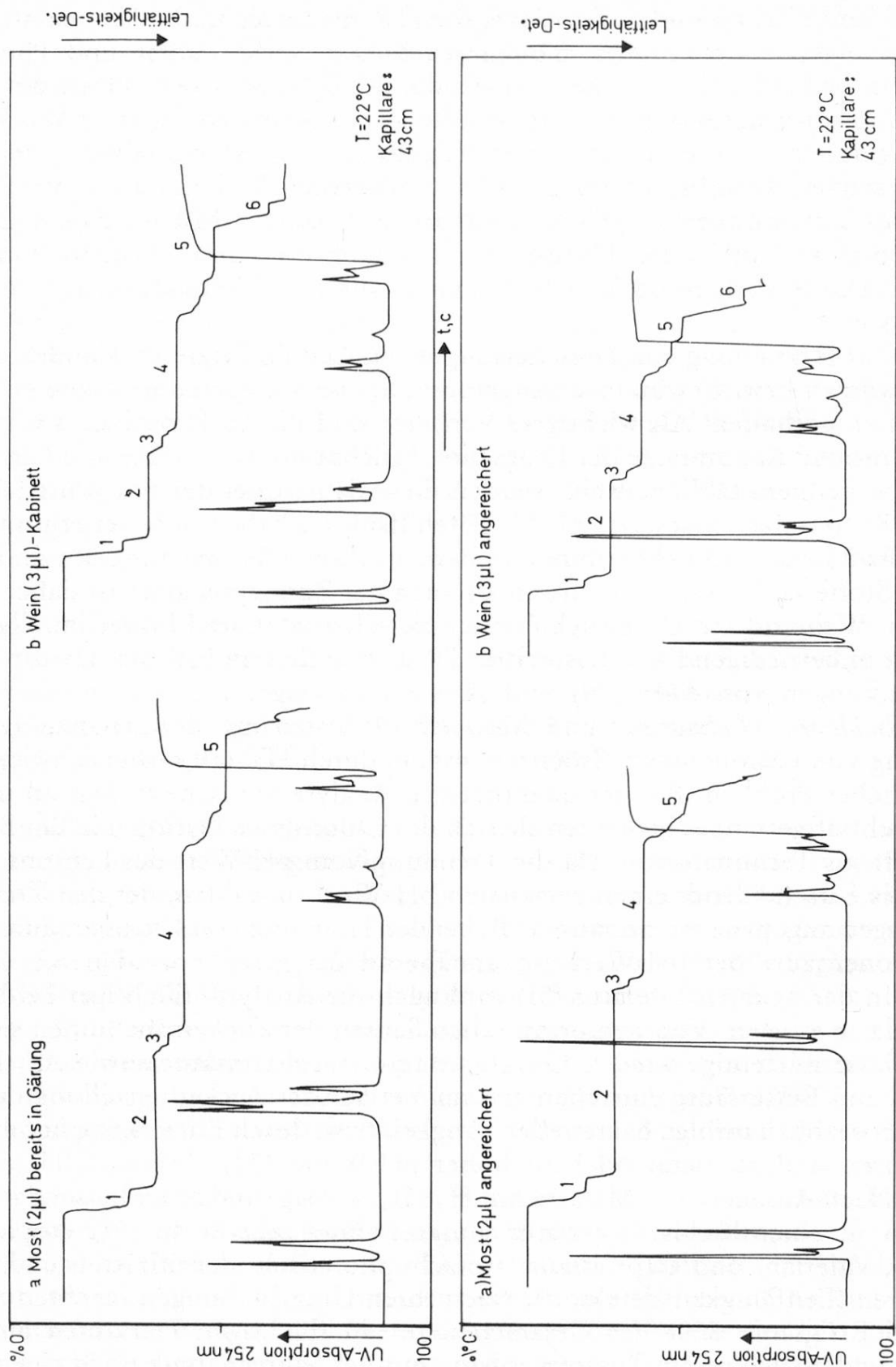


Abb. 2. Isotachophoretische Bestimmung von Säuren in Mosten und Jungweinen (1 = Phosphat, 2 = Weinsäure, 3 = Citronensäure, 4 = Äpfelsäure, 5 = Milchsäure, 6 = Bernsteinsäure). (Entnommen aus: «Die Weinwissenschaft» 39, 1 [1984]. Mit Genehmigung des Verlages.)

## *Tetrodotoxin*

Igelfische sind in Japan und China eine Lieblingsspeise. Wie häufig in der Literatur berichtet, traten in diesen Ländern wie auch in den Vereinigten Staaten, Mexiko und England (54) Vergiftungen durch derartige Fische auf. Bekanntlich handelt es sich bei diesem Fischgift um Tetrodotoxin (Perhydrochinazolin), dessen Konzentration in Ovarien und Leber besonders hoch ist. Ergänzend zu bestehenden qualitativen Analysenmethoden des TTX, wie Dünnschichtchromatographie, Celluloseacetatmembranelektrophorese, IR und NMR-Spektroskopie erarbeiteten *Kazuko et al.* (55) eine ITP-Methode zur quantitativen Bestimmung dieses Giftes in Rohextrakten von Igelfischen. Dabei dienten als Leitelektrolyt 5 mM Kaliumacetat, pH 6,0, mit 50% Dioxan, 0,2% Triton X-100 und als Nachfolgeelektrolyt 10 mM  $\beta$ -Alanin mit Essigsäure auf pH 4,5 eingestellt. Mit dieser Methode war es möglich, den TTX-Gehalt roher unfraktionierter Fischextrakte quantitativ zu ermitteln. Die Ergebnisse waren denen des Mäusebioassays ähnlich, nur mit dem Unterschied, dass die Analysenzeiten erheblich kürzer waren.

## *Vitamine — wasserlöslich*

Die wasserlöslichen Vitamine (Thiamin, Riboflavin, Nicotinsäureamid und Pyridoxin) sind u. a. wesentliche Nahrungsmittelkomponenten, die bereits in Spuren positive biologische Wirkung zeigen. Da diese Vitamine nur in geringfügigen Mengen vorkommen, bereitet ihre schnelle und genaue Bestimmung Schwierigkeiten, besonders wenn Vitamine, wie dies bei Vitamin B<sub>6</sub> der Fall ist, in mehreren biologisch aktiven Formen vorkommen. Während spektralphotometrische Methoden, gekoppelt mit spezifischen chemischen Reaktionen, meist durch Störsubstanzen beeinflusst werden, ist neben der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie die ITP aufgrund ihres hohen Auflösungsvermögens eine brauchbare Bestimmungsmethode für wasserlösliche Vitamine (Abb. 3 und 4).

So wird von *Röben* und *Rubach* (56) die Anwendung dieser Elektrophorestechnik in der neueren Literatur beschrieben. Die Analysen wurden bei 14 deutschen Multivitaminpräparaten unter Verwendung vier verschiedener Puffersysteme durchgeführt. Ihre Ergebnisse stimmten mit den deklarierten Vitamingehalten der besagten Präparate gut überein.

Erheblich schwieriger gestaltet sich die Bestimmung der o. g. Vitamine in Lebensmitteln, da diese üblicherweise einen geringeren Gehalt aufweisen. Hinzu kommen die ebenfalls im kationischen Elektrolytssystem wandernden Störsubstanzen aus der Matrix. *Offizorz* und *Rubach* (57) gelang die quantitative Bestimmung im ng-Bereich nach der sogenannten «Spike-Methode». Dabei wurden die gemessenen Spikehöhen des UV-Absorptionssignals in Extinktionswerte umgewandelt und mit den absolut eingespritzten Vitaminmengen aus Vergleichslösungen über eine Eichgerade in Beziehung gesetzt. Zudem erfolgte bei der Analyse die Abtrennung der entsprechenden Vitamine von der Matrix durch sog. Spacersubstanzen. Die Probenaufbereitung ist relativ einfach. Sie besteht in einem



Aufschluss der Vitamine durch Säure oder Enzyme, einer Extraktanreicherung an Kationenaustauschern bzw. bei eiweissärmeren Lebensmitteln und höheren Vitamingehalten (Getreideprodukte) lediglich in einer Membranfiltration der Probe. Pyridoxal konnte erst nach Reduktion mit  $\text{Na}(\text{BH})_4$  als Pyridoxol bestimmt werden. Bei einer Betriebsstromstärke von  $200 \mu\text{A}$  konnten die B-Vitamine problemlos simultan bestimmt werden.

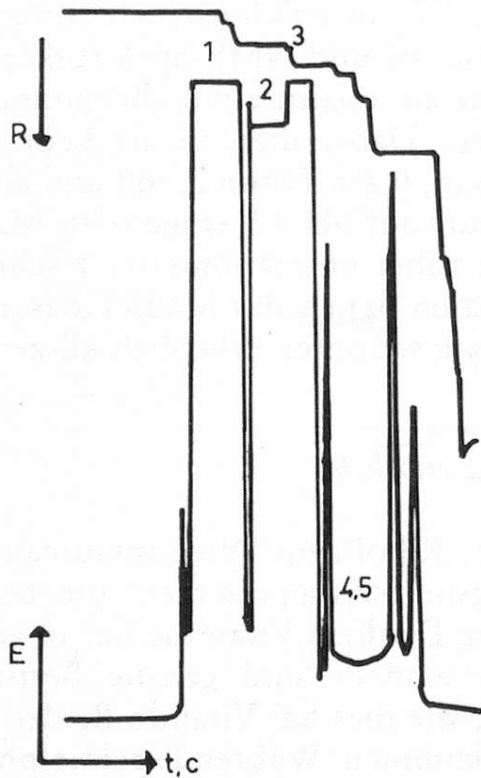


Abb. 3. Isotachopherogramm von 1 Riboflavin-5-Natriumphosphate, 2 Nicotinsäure, 3 Folsäure, 4,5 Biotin und Pantothensäure. (Entnommen aus: «Analytical and Preparative Isotachophoresis», 112–113 [1984]. Verlag Walter de Gruyter u. Co., Berlin.)

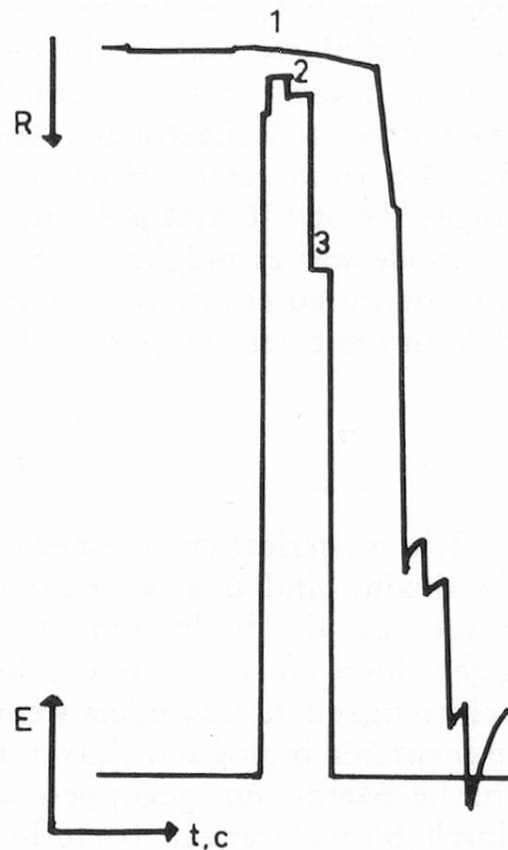


Abb. 4. Isotachopherogramm von 1 Thiamin, 2 Pyridoxamin, 3 Pyridoxol. (Entnommen aus: «Analytical and Preparative Isotachophoresis», 112–113 [1984]. Verlag Walter de Gruyter u. Co., Berlin.)

Erwähnenswert erscheinen u. E. auch einige Arbeiten über die Analytik von Futtermitteln mit ITP wie die Bestimmung von Lysin (58), Amprolium (59) und 2-Hydroxy-4-(methylthio)butanolsäure (60) im Hinblick auf das bestehende Futtermittelgesetz.

### Zusammenfassung

Es wird das Prinzip und die Anwendung der Isotachophorese in einer Literaturstudie, basierend auf 60 Literaturstellen, beschrieben. Als Anwendungen werden die Bestimmung

von Ascorbat und Dehydroascorbat, biogenen Aminen, Chinin, EDTA, Geschmacksverstärkern und Süsstoffen, Glucosinolaten, Konservierungsstoffen, Pestiziden (Paraquat und Diquat), 2-Pyrrolidon-5-Carbonsäure, organischen und anorganischen Säuren, Tetrodotoxin sowie wasserlöslichen Vitaminen in Lebensmitteln und Getränken genannt. Schliesslich wird auf Arbeiten über die Bestimmung von Lysin, Amprolium und 2-Hydroxy-4-(methylthio)butanolsäure in Futtermitteln bzw. Geflügelfutter hingewiesen.

### *Résumé*

Une étude bibliographique sur le principe et les applications de l'isotachophorèse est décrite. Elle a pour objet le dosage de l'ascorbate et du déhydroascorbate, des amines biogènes, de la quinine, de l'EDTA, des exhausteurs de la saveur et des edulcorants, des glucosinolates, des agents de conservation, des pesticides (paraquat et diquat), de l'acide pyrrolidone-2 carboxylique-5, d'acides organiques et inorganiques, de la tétrodonine, des vitamines hydrosolubles dans les denrées alimentaires et les boissons. En conclusion, certains travaux relatifs au dosage de la lysine, de l'amprolium et de l'acide hydroxy-2(méthio)-4 butyrique dans les fourrages et la nourriture destinée à la volaille sont mentionnés.

### *Summary*

A review with many references is given on the principles of isotachophoresis and its applications in the detection of ascorbate and dehydroascorbate, biogenic amines, quinine, EDTA, flavour enhancers and sweetening agents, glucosinolates, preservatives, pesticides (paraquat and diquat), 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid, organic and inorganic acids, tetrodotoxin, watersoluble vitamins in food and beverages. Conclusive publications are mentioned on the determination of lysine, amprolium and 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid in feed mixtures or poultry feeds.

### *Literatur*

1. *Kohlrausch, F.*: Über Konzentrationsverschiebungen durch Elektrolyse im Innern von Lösungen und Lösungsgemischen. *Ann. Phys.* **62**, 209–239 (1897).
2. *Arlinger, L.*: Analytical isotachophoresis – Resolution, detection limits and separation capacity in capillary columns. *J. Chromatogr.* **91**, 785–794 (1974).
3. *Moore, G. T.*: Theory of isotachophoresis. – Development of concentration boundaries. *J. Chromatogr.* **106**, 1–16 (1975).
4. *Nee, T. W.*: Theory of isotachophoresis (displacement electrophoresis, transphoresis). *J. Chromatogr.* **93**, 7–15 (1974).
5. *Bocek, P., Deml, M. und Janak, J.*: Analytische Isotachophorese. *Labor Praxis.* 18–24 (1979).
6. *Ohlenschläger, G., Berger, J. und Depner, W.*: Synopsis der Elektrophoresetechniken. 1. Auflage, S. 29. GIT Verlag Ernst Giebeler, Darmstadt 1980.
7. *Baldesten, A., Hjalmarsson, S. G. und Neumann, G.* in: Sonderdruck des Vortrages anlässlich des GDCH-Fortbildungskurses «Fruchtsäfte und fruchtsafthaltige Getränke» in Heidelberg (1977).

8. *Steble, P.*: Analytische Kapillarisotachophorese. Eine Methode zur Kontrolle der Synthese und des Reinigungsprozesses von kurzkettigen, für den Einsatz in der parenteralen Ernährung bestimmter Peptiden. Diss. Universität Hohenheim 1984.
9. *Baldesten, A., Hjalmarsson, S. G. und Neumann, G.*: Isotachophoretische Analyse einiger organischer Säuren in Lebensmitteln. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **290**, 148–149 (1978).
10. *Rubach, K. und Breyer, C.*: Bestimmung von L(+)-Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure in rückverdünnten Citruskonzentraten mittels Isotachophorese. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **76**, 228–231 (1980).
11. *Rubach, K., Breyer, C. und Krüger, E.*: Das Verhalten von Ascorbinsäure während der Lagerung von Flaschenbier. *M Schr. Brauerei.* **33**, Nr. 5, 163–166 (1980).
12. *Offizorz, P., Krüger, E. und Rubach, K.*: Prinzip und Anwendung der Kapillar-Isotachophorese in der Getränkeanalytik. *Monatsschrift für Brauwissenschaft* **37**, Nr. 4, 168–172 (1984).
13. *Röben, R., Evers, H., Krüger, E. und Rubach, K.*: Isotachophoretische Bestimmung von L-Ascorbinsäure in Bier. *Monatsschrift für Brauwissenschaft.* **37**, Nr. 10, 425–428 (1984).
14. *Askar, A. und Treptow, H.*: Biogene Amine in Lebensmitteln. Ulmer Verlag, Stuttgart 1986.
15. *Rubach, K., Offizorz, P. und Breyer, C.*: Bestimmung von Histamin in Fisch und Fischkonserven mittels Kapillar-Isotachophorese. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **172**, 351–354 (1981).
16. *Strickwerda, K. und Westra, A. M.*: Isotachophoretische Bestimmung von Histamin in Fisch und Fischerzeugnissen. *De Ware(n) Chemicus.* **16**, 48–54 (1986).
17. *Binder, E. und Brandl, E.*: Tyramin und Histamingehalt von Käse. *Wien. tierärztl. Mschr.* **71**, 14–16 (1984).
18. *Ginzinger, W. und Hobenauer, W.*: Der Einsatz der Isotachophorese in der milchwirtschaftlichen Analytik. *Milchwirtsch. Ber.* **80**, 251–255 (1984).
19. *Reijenga, J. C., Aben, G. V. A., Lemmens, A. A. G., Verheggen, T. P. E. M., De Bruijn, C. H. M. M. und Everaerts, F. M.*: Determination of quinine in beverages, pharmaceutical preparations and urine by isotachopheresis. *J. Chromatogr.* **320**, 245–252 (1985).
20. *ITO, Y., Toyoda, M., Suzuki, H. und Iwaida, M.*: Isotachophoretic determination of ethylenediaminetetraacetate in salad dressing, mayonnaise, and margarine. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **63**, 1219–1223 (1980).
21. *Belitz, H. D. und Grosch, W.*: Lehrbuch der Lebensmittelchemie, S. 332, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1982.
22. *Kaiser, K. P. und Hupf, H.*: Isotachophorese in der Lebensmittelanalytik. 2. Teil: Untersuchungen von Lebensmitteln. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **75**, 346–349 (1979).
23. *Kaiser, K. P. und Hupf, H.*: Isotachophorese in der Lebensmittelanalytik. 1. Teil: Prinzip der Isotachophorese. Nachweis und Bestimmung von Säuren. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **75**, 300–304 (1979).
24. *Kennndler, E. und Huber, J. F. K.*: Simoultaneous identification and quantitation of the food additives glutamate, guanosine-5'-monophosphate and inosine 5'-monophosphate by isotachopheresis. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **171**, 292–296 (1980).
25. *Strikwerda, K. und Franssen, R.*: The isotachophoretic determination of glutamic acid in meat and meatproducts. *De Ware(n)-Chemicus.* **14**, 174–182 (1984).
26. *Matsushima, K., Oshima, Y., Yamamoto, M. und Sugisawa, K.*: Simultaneous determination of 5-inosine monophosphate and guanosine monophosphate in foods by isotachopheresis. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.* **29**, 631–634 (1982).
27. *Bergmayer, H. U.*: Methoden der enzymatischen Analyse, 2. Aufl. Verlag Chemie, Weinheim 1970.

28. *Chauvet, S. et Desormeaux, M. N.*: Dosage du glutamate dans les potages comparaison entre une méthode enzymatique et une méthode par isotachophorèse. *Ann. fals. exp. Chim.* **76**, 23–27 (1983).
29. *Rubach, K. und Offizorz, P.*: Bestimmung der Süsstoffe Saccharin und Cyclamat mittels Capillar-Isotachophorese. *Dtsch. Lebensm.-Rdsch.* **79**, 88–90 (1983).
30. *Zache, U. und Gruending, H.*: Bestimmung von Acesulfam-K, Aspartam, Cyclamat und Saccharin in fruchtsafthaltigen Erfrischungsgetränken. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **184**, 503–509 (1987).
31. *Klein H. und Stoya, W.*: Isotachophoretische Bestimmung von Acesulfam-K in Lebensmitteln. *Ernährung (Wien)* **11**, 322–325 (1987).
32. *Kvasnicka, F.*: Analysis of the sweetener aspartame by capillary isotachophoresis. *J. Chromatogr.* **390**, 237–240 (1987).
33. *Karsten, G., Weber, U. und Stahl, E.*: Lehrbuch der Pharmakognosie, 9. Aufl., S. 482. Verlag Gustav Fischer, Stuttgart 1962.
34. *Thies, W.*: Quantitative Gas-Liquid Chromatography of glucosinolates on a microliter scale. *Fette-Seifen-Anstrichm.* **6**, 231–234 (1976).
35. *Klein, H.*: Quantitative Bestimmung von p-Hydroxybenzylglucosinolat (Sinalbin) und Allylglucosinolat (Sinigrin) in Samen von *Sinapis alba*, *Brassica juncea* und *Brassica nigra* mittels Isotachophorese. *Z. Acker- u. Pflanzenbau* **150**, 349–355 (1981).
36. *Rubach, K., Breyer, C. und Kirchhoff, E.*: Isotachophoretische Bestimmung von Konservierungsstoffen. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **170**, 99–102 (1980).
37. *Rubach, K. und Breyer, C.*: Isotachophoretische Bestimmung der Konservierungsstoffe in Backwaren und deren Zutaten. *Getreide, Mehl, Brot.* **35**, 91–93 (1981).
38. Firmenschrift «Extrelut». Neues Verfahren zur Extraktion lipophiler Stoffe. E. Merck, Darmstadt.
39. *Donhauser, S., Glas, K. und Gruber, B.*: Nachweis von Konservierungsmitteln im Bier mittels HPLC und Isotachophorese. *Monatsschr. Brauwiss.* **37**, 252–258 (1984).
40. *Kenndler, E. and Kaniansky, D.*: Off-line combination of isotachophoresis and mass spectrometry. *J. Chromatogr.* **209**, 306–309 (1981).
41. *Goto, E., Maekawa, A. and Suzuki, T.*: Determination of 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid in tomato and it's products by isotachophoresis. *Eiyo to shokuryo.* **33**, 225–229 (1980).
42. *Scholze, A. und Maier, H. G.*: Quantitative Bestimmung von Säuren in Kaffee mittels Kapillar-Isotachophorese. *Lebensmittelchem. u. gerichtl. Chemie.* **36**, 111–112 (1982).
43. *Nuyken-Hamelman, C. und Maier, H. G.*: Säuren in Kakao. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **185**, 114–118 (1987).
44. *Klein, H.*: Anwendung der Kapillar-Isotachophorese zur Bestimmung der Säuren in Sauerkraut-Lake. *Indust. Obst- u. Gemüseverw.* **67**, 31–35 (1982).
45. *Klein, H. und Stettler, H. G.*: Zur Säuredifferenzierung Rheingauer Moste und Weine des Jahres 1982 mittels Isotachophorese. *Weinwissensch.* **39**, 51–66 (1984).
46. *Reijenga, J. C., Verheggen, Th. P. E. M. and Everaerts, F. M.*: Simultaneous determination of organic and inorganic acids and additives in wines by capillary isotachophoresis using UV and a. c. conductivity detection. *J. Chromatogr.* **245**, 120–125 (1982).
47. *Farkas, J., Koval, M. und Polonsky, J.*: Bestimmung der Säuren im Wein durch Isotachophorese. *Bulletin PV (Bratislava)* **21** (I), 25–32 (1982).
48. *Chauvet, S. et Sudraud, P.*: Application de l'isotachophorèse au dosage des acides des vins. *Analisis* **11**, 243–250 (1983).
49. *Klein, H.*: Untersuchung von Hilfs- und Zusatzmitteln für die Fleischwarenfabrikation mittels Isotachophorese (Ionophorese). *Fleischwirtschaft.* **61**, 1029–1033 (1981).

50. *Arneth, W.*: Isotachophoretische Analyse von Zusatzmitteln. *Fleischwirtschaft*. **64**, 1098–1102 (1984).
51. *Prochazka, L., Kvasnicka, F. and Stechova, A.*: Determination of volatile fatty acids in molasses. *Kvasny Prum.* **32** (2), 33–36 (1986).
52. *Reiff, F.*: Die Hefen. – Technologie der Hefen, Bd. II S. 50. Verlag H. Carl, Nürnberg 1962.
53. *Bubeliniová, E. und Kovác, M.*: Bestimmung der organischen Säuren in Früchten durch Capillar-Isotachophorese. *Bulletin PV (Bratislava)* **24**, 181–184 (1985).
54. *Halstead, B. W.*: Poisonous and venomous marine animals of the world, Vol. 2. Government Printing Office, Washington, DC. 1967.
55. *Kazuko, S., Masaru, O., Tsutomu, Y. and Kimitoshi, N.*: Determination of Tetrodotoxin by Capillary Isotachophoresis. *J. Food Sci.* **48**, 665–667 (1983).
56. *Röben, R. and Rubach, K.*: Determination of watersoluble vitamins in vitamin preparations by isotachophoresis. *Aus: Analytical and Preparative Isotachophoresis*, S. 109–116. Walter de Gruyter u. Co., Berlin, New York 1984.
57. *Offizorz, P. und Rubach, K.*: Isotachophoretische Bestimmung der B-Vitamine im ng-Bereich unter Verwendung kationischer Spacerionen. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **317**, 662–663 (1984).
58. *Kvasnicka, F., Prasil, T., Zbudilova, D. and Svobodova, M.*: Determination of lysine content in feed mixtures by the capillary isotachophoresis method. *Biol. Chem. Zivocisne Vyroby-Vet.* **22**, 471–478 (1986).
59. *Krivankova, L. and Bocek, P.*: Estimation of amprolium in feed mixtures by capillary isotachophoresis. *Biol. Chem. Zivocisne Vyroby-Vet.* **21**, 143–151 (1985).
60. *Vinjamoori, D. V. and Schisla, R. M.*: Rapid method for determination of 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanoic acid in poultry feeds by capillary isotachophoresis. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **69** (3), 474–477 (1986).

Dr. W. Stoya  
Oberlinstrasse  
D-6200 Wiesbaden

Dr. H. Klein  
Steubenstrasse 34  
D-6200 Wiesbaden