

Nachweis von Tranquilizern in Nieren und Muskelfleisch = Determination of tranquilizers in kidney and meat samples

Autor(en): **Etter, R. / Battaglia, R. / Noser, J.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **75 (1984)**

Heft 4

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982715>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Nachweis von Tranquilizern in Nieren und Muskelfleisch

Determination of Tranquilizers in Kidney and Meat Samples

R. Etter, R. Battaglia, J. Noser und F. Schuppisser
Kantonales Laboratorium, Zürich

Einleitung

Tranquilizer werden in der Tierproduktion nicht nur aufgrund therapeutischer Indikationen eingesetzt, sondern prophylaktisch an Rinder und Schweine auch während der Mast und für den Transport zum Schlachthaus verabreicht (1, 2).

Die Ruhigstellung der Tiere vor Transport und Schlachtung soll helfen, das Risiko streßinduzierter Todesfälle und einer Verminderung der Fleischqualität zu senken. Bei einer Anwendung von Neuroleptika kurz vor der Schlachtung sind Rückstände im Schlachtkörper mit Sicherheit zu erwarten, wobei insbesondere in den Nieren mit hohen Konzentrationen gerechnet werden muß.

Von den in der Veterinärmedizin verwendeten Tranquilizern stehen folgende Verbindungen im Vordergrund: Xylazin (I, Rompun[®]), Azaperon (II, Stresnil[®]) und die Phenothiazinderivate Acepromazin (III, Vetranquil[®]) Propionylpromazin (IV, Combelen[®]) und evtl. Chlorpromazin (V).

Verschiedene Analysenmethoden für eines oder mehrere dieser Neuroleptika in tierischen Geweben sind beschrieben worden, die auf UV-Spektroskopie (3), Dünnschichtchromatographie (4–6) oder GC und GC-MS (4, 6–9) beruhen.

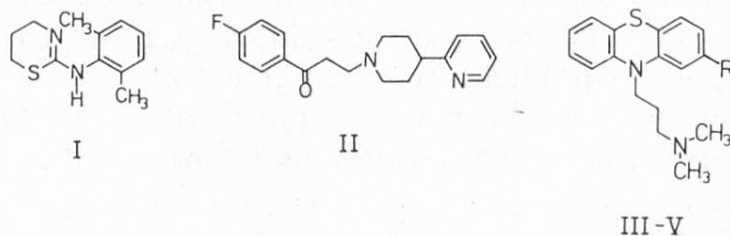


Abb. 1. I = Xylazin
II = Azaperon
III = Acepromazin ($R = -\text{COCH}_3$)

IV = Propionylpromazin ($R = -\text{COCH}_2\text{CH}_3$)
V = Chlorpromazin ($R = -\text{Cl}$)

HPLC-Methoden sind für Xylazin (10) sowie für Azaperon und seinen Hauptmetaboliten Azaperol (6, 11) bekannt.

Im folgenden beschreiben wir unsere Erfahrungen mit der simultanen Bestimmung der Psychopharmaka I–V in Schweins- und Rindsnieren sowie in Fleisch.

Methode

Prinzip

Aus der homogenisierten, basisch gestellten Probe werden basische und neutrale Substanzen mit einem organischen Lösungsmittel extrahiert, die Basenfraktionen durch eine Extraktion in Säure abgetrennt und durch RP-HPLC auf einer Phenylsäule aufgetrennt. Die Neuroleptika werden durch UV- und amperometrische Detektion nachgewiesen und anhand eines externen Standards quantifiziert.

Geräte und Reagenzien

Fleischwolf; Waring Mixer mit 500-ml-Aufsatz; Hochfrequenzhomogenisator: Polytron RE 20 N; Rotationsverdampfer; Schüttelmaschine; Zentrifuge für 100-ml- und 12-ml-Gläser; Zentrifugengläser mit Schraubverschluß und Teflonabdichtung: 100 ml und 12 ml; Soxhlet-Extraktionsapparatur mit passenden Hül- sen: Schleicher & Schüll 603 33/94; Bechergläser 400 ml; Scheidetrichter 125 ml und 250 ml; Probengläschen 1 ml; «Mikrofilter»: Pasteurpipette gestopft mit wenig Watte/Celite/Watte.

HPLC-System: Pumpe: Waters M-45; Injektor: Waters U6K mit 2-ml-Proben- schleife; Säule: Glassäule 4 x 100 mm, gepackt mit Spherisorb S 5 P als Suspen- sion in Aceton; UV-Detektor: Perkin-Elmer LC-75; amperometrischer Detektor: Bioanalytical Systems LC-4B; Schreiber: W+W 1100; HPLC-Spritze 100 μ l.

Acetonitril: Fluka, für HPLC; Dichlormethan: Siegfried, rein, gereinigt durch Extraktion mit 5 n Schwefelsäure und gesättigter Natriumhydrogencarbonatlö- sung, durch Watte filtriert; Carbonatpuffer; 1 m Natriumhydrogencarbonatlö- sung/1 m Natriumcarbonatlösung 1+1; Natriumsulfat wasserfrei: Siegfried, rein; 20%ige Paraffinlösung: 100 ml Paraffinöl, dickflüssig, Siegfried + 400 ml Petrol- ether, die Lösung wird wie Dichlormethan gereinigt; Petrolether: Siegfried, rein 30–50 °C, gereinigt wie Dichlormethan; Spherisorb S 5 P: Phase Sep (Comptro- nix AG, Horgen); übrige Lösungsmittel und Chemikalien zur Analyse.

Referenzsubstanzen: Azaperon: Referenzpräparat Janssen Pharmaceutic; Xyla- zin-Hydrochlorid: Referenzpräparat Bayer AG; Propionylpromazin: Combelen- phosphat, Referenzpräparat Bayer AG; Acepromazin: Extrahiert aus Vetranquil^R, umkristallisiert als Hydrochlorid aus Aceton; Chlorpromazin-Hydrochlorid Sieg- fried, rein.

Probenvorbereitung und Extraktion

Die Aufarbeitung nach a) wurde für Schweinsnieren optimiert und ergibt dafür gute Resultate. Sie ist jedoch für Rindsnieren und Fleisch nicht anwendbar. Diese können nach b) oder c) aufgearbeitet werden. Die Extraktion nach c) eignet sich für alle Proben und wird für Routineuntersuchungen empfohlen.

- a) Eine halbe Schweinsniere wird mit der gleichen Gewichtsmenge 1 m Essigsäure homogenisiert und während mindestens einer Nacht bei -18°C gefroren. Je 20 g des aufgetauten Homogenats (10 g Niere) werden im 100-ml-Zentrifugenglas (evtl. mit Standardzusatz) mit 12 ml 1 m Natriumcarbonatlösung versetzt (Vorsicht!) und mit 50 ml Dichlormethan intensiv geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren (5 min) werden die flüssigen Phasen vorsichtig in einen Scheidetrichter gegossen und getrennt, der feste Rückstand verbleibt im Zentrifugenglas. Die wässrige Phase und der Rückstand werden nochmals mit 40 ml Dichlormethan extrahiert und dann die organische Phase wie beschrieben abgetrennt. Die Dichlormethanphasen werden gemeinsam durch Watte in einen mit $20\ \mu\text{l}$ konz. Ammoniaklösung beschickten 250-ml-Rundkolben filtriert. Man setzt 5 ml 20%ige Paraffinlösung zu und engt im Vakuum ein.
- b) 10 g der durch den Fleischwolf gedrehten Probe (evtl. mit Standardzusatz) wird mit 2 ml Carbonatpuffer, 50 ml Dichlormethan und 30 g Natriumsulfat während 2 min im Becherglas homogenisiert (Polytron). Das Gemenge wird in eine Soxhlet-Hülse eingefüllt, Becherglas und Homogenisator gut mit Dichlormethan nachgespült und das Homogenat während drei Stunden am Soxhlet (ca. 30 Entleerungen) extrahiert. Man läßt abkühlen, gibt $20\ \mu\text{l}$ konz. Ammoniaklösung und 5 ml 20%ige Paraffinlösung zu und engt im Vakuum ein.
- c) 10 g der durch den Fleischwolf gedrehten Probe werden (evtl. mit Standardzusatz) mit 2 ml Carbonatpuffer und 50 ml Dichlormethan/Petrolether 1+1 im 100-ml-Zentrifugenglas homogenisiert und während 15 min auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Man fügt ca. 10 g wasserfreies Natriumsulfat zu, schüttelt erneut während 10 min und zentrifugiert anschließend bei ca. 3000 U/min während 5 min. Die organische Phase wird dekantiert, der Rückstand mit 50 ml Dichlormethan/Petrolether 1+1 aufgeschlämmt, nochmals 15 min geschüttelt und ebenfalls zentrifugiert und dekantiert. Die beiden organischen Phasen werden durch Watte in einen 250-ml-Rundkolben filtriert, man fügt $20\ \mu\text{l}$ konz. Ammoniaklösung und 5 ml 20%ige Paraffinlösung zu und engt im Vakuum ein.

Reinigung der Extrakte

Für Routineuntersuchungen ist die Reinigung der Extrakte nach b) in den meisten Fällen ausreichend. Mit dem arbeitsintensiveren Vorgehen nach a) wird allerdings eine etwas bessere Abtrennung von Störsubstanzen und eine doppelt so hohe Anreicherung der Wirkstoffe erzielt.

- a) Der Extrakt wird mit gesamthaft ca. 8 ml Petrolether vom Rundkolben in ein 12-ml-Zentrifugenglas transferiert und mit 800 μ l 1 n Schwefelsäure intensiv geschüttelt. Der Überstand wird nach dem Zentrifugieren verworfen. Man spült den Kolben mit 4–5 ml Dichlormethan/Petrolether 1+4 nach und überträgt die Lösung ins Zentrifugenglas. Durch Zugabe von 200 μ l 5 n Natronlauge wird basisch gestellt und nach intensivem Schütteln zentrifugiert. Man transferiert die organische Phase in ein zweites 12-ml Zentrifugenglas, gibt 200 μ l 1 n Schwefelsäure zu, schüttelt, zentrifugiert und verwirft den Überstand. Die (basische) Wasserphase im ersten Zentrifugenglas wird nochmals mit 5 ml Dichlormethan/Petrolether 1+4 extrahiert und der Überstand ins zweite Zentrifugenglas übertragen. Man mischt, zentrifugiert und saugt die organische Phase ab. Durch leichtes Erwärmen im Wasserbad wird die wässrige Lösung von organischen Lösungsmittelrückständen befreit. Man gibt 100 μ l Acetonitril, 100 μ l 1,6 n Natronlauge und 100 μ l 0,4 Natriumacetatlösung zu, vermischt und filtriert dann durch ein «Mikrofilter» in ein Probengläschen.
- b) Der Extraktionsrückstand wird mit gesamthaft ca. 8 ml Petrolether sorgfältig vom Rundkolben in ein 12-ml-Zentrifugenglas transferiert und mit 400 μ l 1 n Schwefelsäure intensiv geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren wird der Überstand verworfen. Man spült den Kolben mit 4–5 ml Dichlormethan/Petrolether 1+4 nach und überträgt die Lösung ins Zentrifugenglas. Man mischt, zentrifugiert und saugt dann die organische Phase ab. Durch leichtes Erwärmen im Wasserbad wird die wässrige Lösung von Rückständen organischer Lösungsmittel befreit. Man gibt 200 μ l Acetonitril, 200 μ l 1,6 n Natronlauge und 200 μ l 0,4 m Natriumacetatlösung zu, vermischt und filtriert dann durch ein «Mikrofilter» in ein Probenglas.

Chromatographische Bedingungen

Säule:	4 x 100mm, Spherisorb S 5 P
Mobile Phase:	Acetonitril/Wasser/2 m Natriumacetat/ 1 m Essigsäure 50 + 46 + 2 + 2
Fluß:	1 ml/min
Injektionsvolumen:	Probe: 100 μ l Externer Standard: 100 μ l Tranquilizermischung 0,25 ppm in 20% Acetonitril
UV-Detektor	
Wellenlängen:	235 nm für alle Tranquilizer 242 nm für Azaperon, Acepromazin, Propionylpromazin 250 nm für Chlorpromazin 276 nm für Acepromazin und Propionylpromazin
Detektorenempfindlichkeit:	0,01 A.u.f.s.
Amperometrischer Detektor	
Elektrode:	glassy carbon Electrode

Spannung:	ca. 1 V
Empfindlichkeit:	20 nA
Retentionszeiten:	ca. 5,5 min Xylazin
	6,4 min Azaperon
	8,2 min Acepromazin
	10,0 min Propionylpromazin
	11,7 min Chlorpromazin

Resultate und Diskussion

Die beschriebenen unterschiedlichen Extraktionsbedingungen sind im wesentlichen in der unterschiedlichen Konsistenz der homogenisierten Gewebeteile begründet. Während sich die Extraktionen nach b) und insbesondere c) (Seite 449) für alle untersuchten Gewebe eignen, läßt sich die für Schweinsnieren unter a) (Seite 449) beschriebene Arbeitsmethode für Rindsnieren und Fleisch nicht anwenden, da die entstehenden Emulsionen hochviscos, gelartig werden und sich kaum handhaben lassen.

Für die Extraktion aus der basisch gestellten Matrix (ca. pH 9,3) (12) wurden verschiedene Lösungsmittel getestet. Wir fanden Dichlormethan oder Dichlormethan/Petrolether 1+1 am besten geeignet, während beispielsweise bei Extraktionsversuchen mit Ether bedeutend größere Mengen an Verunreinigungen mit-extrahiert wurden, die sich in den folgenden Reinigungsschritten nicht mehr abtrennen ließen.

Erste Vorversuche zur Bestimmung von Azaperon hatten sehr stark schwankende Wiederfindungsraten, oft unter 20%, ergeben. Die Vermutung, daß der Grund bei Adsorptionseffekten an saurer Glasoberfläche liege, konnte durch die Beobachtung erhärtet werden, daß sich aus einem mit verdünnter Schwefelsäure gewaschenen und anschließend gut mit destilliertem Wasser gespülten Rundkolben aus einer Azaperonlösung nach dem Einengen kein Wirkstoff mehr zurückgewinnen ließ. Um derartigen Verlusten vorzubeugen, wurde der Kolben mit 20 μ l konz. Ammoniaklösung vorbehandelt.

Der Zusatz von Paraffinöl zu den Extrakten vor dem Einengen verhindert das Auskristallisieren und Festsetzen von Verunreinigungen an der Kolbenwand und erleichtert dadurch das Transferieren des Rückstandes ins Zentrifugenglas.

Die beiden Varianten zur Reinigung der Extrakte unterscheiden sich in ihrer Wirkung nur wenig. Für anfängliche Versuche zum Nachweis von Azaperon durch Trennung an octadecylsilangebundenem Säulenmaterial (Hypersil 5 H ODS, Shandon) war die aufwendigere Reinigung nach a) (Seite 450) zum Erreichen auswertbarer Chromatogramme absolut unumgänglich. Die Verwendung einer Phenylphase (Spherisorb S 5 P) erlaubte dann aber nicht nur eine einwandfreie Trennung der Substanzen I–V unter isokratischen Bedingungen, sondern ergab auch eine deutlich verbesserte Abtrennung der Begleitsubstanzen. Die Reinigung nach a) wurde für eine große Zahl von Proben beibehalten, bis sich zeigte,

daß die vereinfachte Arbeitsweise nach b) (Seite 450) für die angestrebte Nachweisgrenze von 10 ppb genügt, obwohl dadurch nur eine halb so hohe Anreicherung der Neuroleptica erreicht wird.

Detektion und Quantifizierung der Tranquilizer erfolgt mittels UV-Detektion bei 235 nm. Dadurch werden die Substanzen I–V gleichzeitig mit einer absoluten Nachweisgrenze von 2–5 ng erfaßt. Routinemäßig werden bei einem Injektionsvolumen von 100 μ l Nachweisgrenzen von 5–10 ppb bezüglich Probe problemlos erreicht. Durch Messung der einzelnen Substanzen bei ihren UV-Maxima kann die Empfindlichkeit, insbesondere aber die Selektivität erhöht werden. Optimale Wellenlängen sind:

242 nm für Azaperon, Acepromazin und Propionylpromazin,

250 nm für Chlorpromazin,

276 nm für Acepromazin und Propionylpromazin.

Zur qualitativen Absicherung der Befunde leistet ein zum UV-Detektor in Serie geschalteter elektrochemischer Detektor (13, 14) gute Dienste. Die absolute Empfindlichkeit des amperometrischen Detektors bei einer Oxidationsspannung von 1 V übertrifft diejenige des UV-Detektors um ein Mehrfaches. In den Extrakten werden die Verbindungen II–V selektiver erfaßt als mit dem UV-Detektor. Dieser Vorzug ist vor allem bei Chlorpromazin (V) deutlich, während Xylazin nicht immer genügend empfindlich nachgewiesen werden kann.

Für die Quantifizierung ist die schlechte Reproduzierbarkeit des Signals des elektrochemischen Detektors unter den angewandten Bedingungen nachteilig, da die Empfindlichkeit stark vom Zustand der Meßelektrode abhängt und die Elektrodenoberfläche durch die hohe Konzentration an oxidierbaren Substanzen in den analysierten Extrakten bei wiederholten Analysen rasch verschmutzt. Zwar kann der Verlust an Empfindlichkeit durch größere Verstärkung ausgeglichen werden, quantitative Messungen innerhalb einer Versuchsserie sind aber nur bedingt möglich. Die Empfindlichkeitsabnahme mit zunehmender Verschmutzung ist vor allem bei Xylazin und Azaperon ausgeprägt.

Chromatogramme mit UV-Detektion und elektrochemischer Detektion sind in Abbildung 2 einander gegenübergestellt.

Schweinsnieren

Die weitaus größte Zahl von Untersuchungen auf Tranquilizer wurde an Schweinsnieren durchgeführt, wobei anfänglich nur auf Azaperon geprüft wurde. Die Anwendung von phenylgebundenem Säulenmaterial anstelle von octadecylsilangebundenem Trennmaterial erlaubte dann aber den simultanen Nachweis der Verbindungen I–V. Für Schweinsnieren sind alle beschriebenen Aufarbeitungen brauchbar. Die meisten bis anhin untersuchten Nierenproben wurden durch Extraktion a) und Reinigung a) aufgearbeitet.

Aufgrund des geringsten Arbeitsaufwandes ziehen wir aber jetzt die Kombination von Extraktion c) und Reinigung b) vor. Ein gelegentlich, vor allem bei dieser Variante auftretender Störpeak, der Acepromazin oder Propionylpromazin

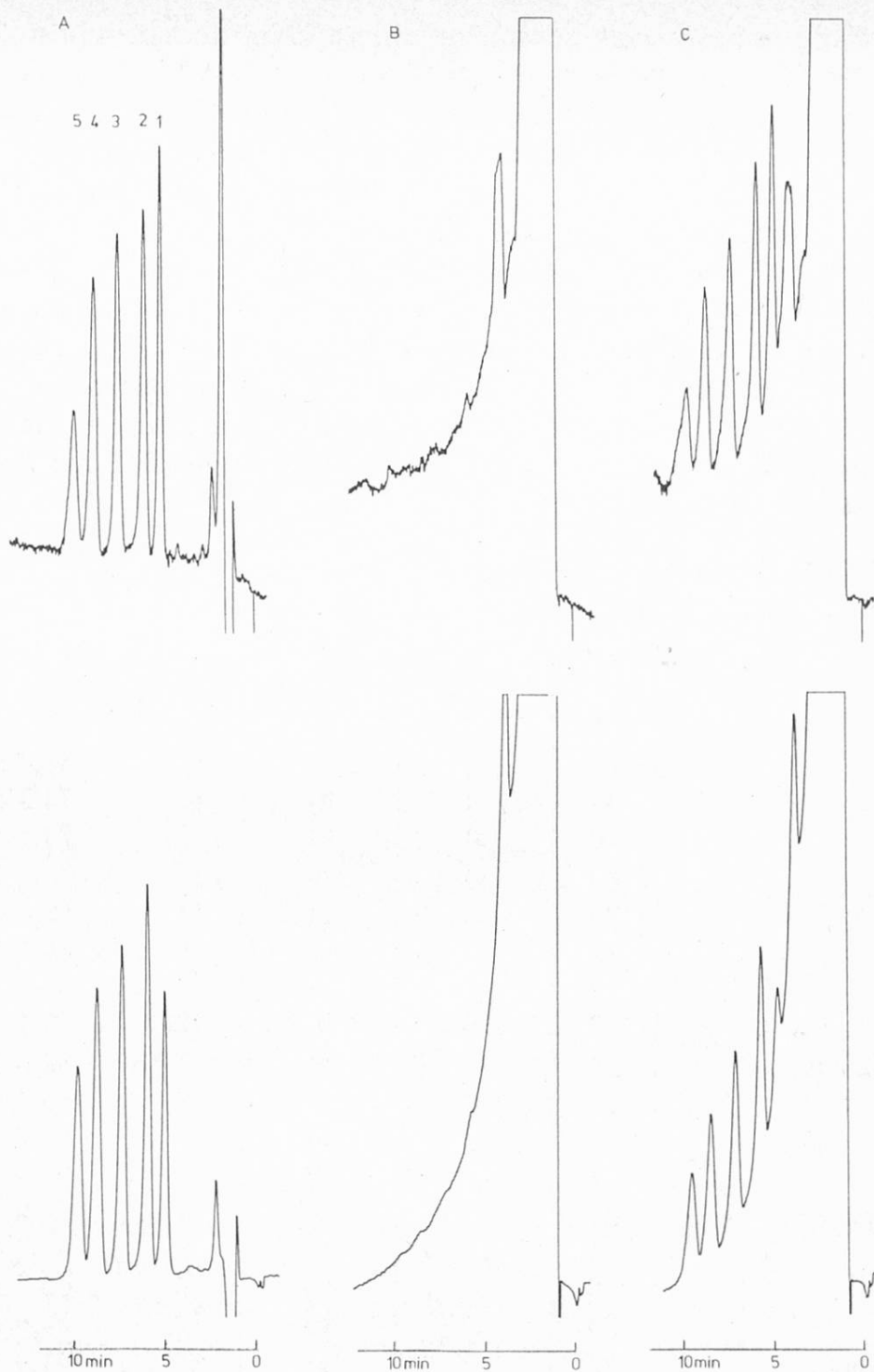


Abb. 2. HPLC-Analyse von Tranquilizern

A = Standards von Xylazin, Azaperon, Acepromazin, Propionylpromazin und Chlorpromazin, je 250 ng/ml in 20% Acetonitril

B = Nierenextrakt

C = Extrakt aus Schweinsniere mit je 25 ppb Xylazin, Azaperon, Acepromazin, Propionylpromazin und Chlorpromazin

Oben: UV-Detektor, 235 nmm, 0,01 A.u.f.s.

Unten: Amperometrischer Detektor, 0,95 V, Empfindlichkeit: 20 nA

vortäuschen könnte, läßt sich sowohl mit dem elektrochemischen Detektor als auch durch ein Chromatogramm mit UV-Detektion bei 276 nm zweifelsfrei von den erwähnten Arzneimitteln unterscheiden. Tabelle 1 vermittelt einen Überblick über die mit den verschiedenen Aufarbeitungsvarianten erreichten Wiederfindungsraten bei Zusätzen von 25 ppb und teilweise 10 ppb. Die unter der Kombination von Extraktion a) und Reinigung b) aufgeführten Daten wurden ausnahmsweise unter Verwendung eines Waters Autosamplers Wisp 710B und eines Kratos 773 UV/VIS-Detektors (235 nm) erhalten. Bei den unter diesen Bedingungen ebenfalls geprüften Zusatzmengen von 5 ppb konnten die Substanzen I–IV in allen 4 Proben erkannt werden. Sämtliche Wiederfindungsraten wurden ausgehend von verschiedenen Proben (je Einfachbestimmungen) ermittelt. Hier, wie auch in weiteren Zusammenstellungen sind auch offensichtliche Ausreißer bewußt nicht eliminiert.

Tabelle 1. Wiederfindungsraten in Schweinsnieren

Tranquilizer	Zusatz (ppb)	Extraktion	Reinigung der Extrakte	Probenzahl	Wiederfindungsrate
Xylazin	25	a)	a)	31	58,4 ± 11,3%
	25	a)	b)	19	73,3 ± 14,6%
	10	a)	b)	3	73,3 ± 8,3%
	25	c)	b)	12	59,8 ± 16,8%
Azaperon	25	a)	a)	31	58,0 ± 16,1%
	25	a)	b)	19	66,1 ± 16,5%
	10	a)	b)	3	67,7 ± 10,4%
	25	c)	b)	12	57,4 ± 16,5%
Acepromazin	25	a)	a)	31	52,0 ± 14,7%
	25	a)	b)	19	63,4 ± 18,6%
	10	a)	b)	3	66,7 ± 9,7%
	25	c)	b)	12	58,3 ± 12,8%
Propionylpromazin	25	a)	a)	31	48,0 ± 13,4%
	25	a)	b)	19	64,8 ± 23,2%
	10	a)	b)	3	65,7 ± 9,9%
	25	c)	b)	12	56,6 ± 14,2%
Chlorpromazin	25	a)	a)	31	41,9 ± 26,7%
	25	a)	b)	19	26,1 ± 23,5%
	10	a)	b)	3	31,7 ± 28,2%
	25	c)	b)	12	49,9 ± 27,8%

Die Wiederfindungsraten sind im Bereich von 10–250 ppb im wesentlichen unabhängig von der Zusatzmenge. Zur Überprüfung durch Extraktion a) und Reinigung a) wurden im Bereich von 10–15 ppb je Doppelbestimmungen mittels UV-Detektion an 3 verschiedenen Homogenaten (gesamthaft 6 Aufarbeitungen pro Konzentration) durchgeführt; im Bereich von 50–250 ppb wurden Doppelbestimmungen ausgehend von einem Homogenat durchgeführt (zwei Werte pro

Konzentration). In Abbildung 3 ist die gefundene Konzentration in Abhängigkeit der Zusatzmenge am Beispiel von Azaperon aufgezeichnet. Die Parameter für die entsprechenden linearen Regressionen lauten wie folgt:

Xylazin	$Y = 0,704X + 1,476, r = 0,9989$
Azaperon	$Y = 0,824X - 0,615, r = 0,9995$
Acepromazin	$Y = 0,617X - 0,328, r = 0,9990$
Propionylpromazin	$Y = 0,585X - 0,462, r = 0,9996$
Chlorpromazin	$Y = 0,416X - 2,793, r = 0,9943$

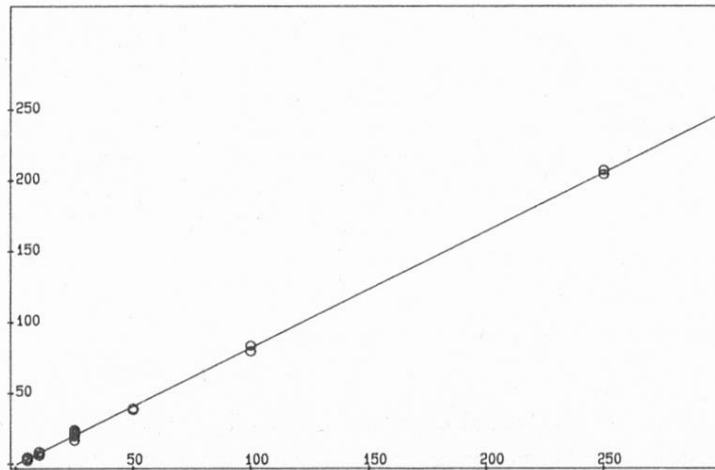


Abb. 3. Wiederfindungsraten von Azaperon in Schweinsnieren
X-Achse Azaperonzusatz zu 10 g Schweinsnieren (in ppb)
Y-Achse Gefundene Azaperonkonzentration (in ppb)

In den bisher untersuchten 150 Schweinsnieren wurde in einem Fall Azaperon in einer Konzentration von 75 ppb festgestellt.

Rindsnieren

Da sich die ursprünglich für Schweinsnieren entwickelte Aufarbeitung bei Rindsnieren nicht anwenden ließ, wurde in Anlehnung an (4) die Soxhlet-Extraktion b) (Seite 449) angewendet, wobei mit Dichlormethan anstelle des in der Literatur verwendeten Petrolethers extrahiert wurde. Spätere Versuche mit der Extraktion c) (Seite 449) ergaben dann aber deutlich höhere Wiederfindungsraten, allerdings bei größerer Streuung der Werte (Tabelle 2).

In den bisher untersuchten 14 Nierenproben wurden keine der Neuroleptika I–V nachgewiesen.

Rindfleisch

Die Aufarbeitungsmethoden wurden auch auf Rindfleisch angewandt. Aus Tabelle 3 geht hervor, daß die Wiederfindungsraten beider Aufarbeitungsvarianten bei Zusätzen von 25 ppb im gleichen Bereich liegen, die Streuungen jedoch bei der Soxhlet-Methode für alle Arzneimittel geringer sind.

In den bisher untersuchten 14 Proben wurden keine Beruhigungsmittel nachgewiesen.

Tabelle 2. Wiederfindungsraten der Tranquilizer in Rindsnieren bei 25 ppb Zusatz

Tranquilizer	Extraktion	Reinigung der Extrakte	<i>n</i>	Wiederfindungsrate
Xylazin	b)	b)	3	45,2 ± 2,3%
	c)	b)	6	67,8 ± 8,6%
Azaperon	b)	b)	3	60,9 ± 4,5%
	c)	b)	6	89,7 ± 11,3%
Acepromazin	b)	b)	3	52,8 ± 3,6%
	c)	b)	6	70,7 ± 9,0%
Propionylpromazin	b)	b)	3	52,8 ± 2,1%
	c)	b)	6	65,2 ± 9,3%
Chlorpromazin	b)	b)	3	43,3 ± 4,9%
	c)	b)	6	50,2 ± 12,5%

Tabelle 3. Wiederfindungsraten in Rindfleisch bei 25 ppb Zusatz

Tranquilizer	Extraktion	Reinigung der Extrakte	<i>n</i>	Wiederfindungsrate
Xylazin	b)	b)	6	50,8 ± 8,2%
	c)	a)	9	53,4 ± 5,7%
Azaperon	b)	b)	6	72,7 ± 9,1%
	c)	a)	9	61,2 ± 4,1%
Acepromazin	b)	b)	6	44,8 ± 10,0%
	c)	a)	9	45,8 ± 5,3%
Propionylpromazin	b)	b)	6	37,8 ± 16,8%
	c)	a)	7	34,0 ± 7,9%
Chlorpromazin	b)	b)	6	25,2 ± 14,5%
	c)	a)	9	30,0 ± 11,9%

Dank

Den Firmen Cilag AG, Schaffhausen (Azaperon), Provet AG, Lyssach (Xylazin und Propionylpromazin) und Adroka AG, Allschwil (Vetranquil) sei für die Überlassung der Wirkstoffe gedankt. Herrn *D. Fröblich* danken wir für die Bereitstellung der HPLC-Säulen.

Zusammenfassung

Der Nachweis der Tranquilizer Xylazin, Azaperon, Acepromazin, Propionylpromazin und Chlorpromazin erfolgt durch Extraktion aus der basisch gestellten Matrix mit Dichlormethan oder Dichlormethan/Petrolether 1+1. Die Wirkstoffe werden anschließend in ver-

dünnter Schwefelsäure aufgenommen, die apolaren Begleitsubstanzen durch Extraktion abgetrennt, die Arzneimittel durch HPLC an mit Phenyl beschichteter stationärer Phase aufgetrennt und mittels UV- (235 nm) oder amperometrischer Detektion anhand eines externen Standards bestimmt. Die Nachweisgrenzen liegen für Routineuntersuchungen bei 5 bis 10 ppb.

Résumé

On décrit une méthode pour la détermination des tranquillisants xylazine, azapérone, acepromazine, propionylpromazine et chlorpromazine dans des échantillons de viande et d'abats. On extrait ces substances d'échantillon homogénéisé avec un mélange de dichlorométhane et d'éther de pétrole (1+1) en milieu basique.

On reprend le résidu par de l'acide sulfurique dilué et dégraisse avec de l'éther de pétrole. La phase aqueuse est analysée par HPLC sur une phase stationnaire phénylique. Les substances sont détectées par UV (235 nm) ou par détection ampérométrique et comparées à des standards externes. La limite de détection est de 5 à 10 ppb.

Summary

A method for the simultaneous determination of the veterinary tranquilizers xylazine, azaperone, acepromazine, propionylpromazine and chlorpromazine in kidney and meat samples is described. The drug residues are extracted from the homogenised tissue under basic conditions using a mixture of dichloromethane and petroleum ether (1+1). Apolar compounds are separated by partition between aqueous sulfuric acid and petroleum ether, and the aqueous layer is analysed by rp-hplc on a phenyl-covered stationary phase using uv- (235 nm) or amperometric detection by comparison with external standards. Detection limits are 5 to 10 ppb.

Literatur

1. Referate des Symposiums über Streß beim Schwein, Beerse, 20./21. Oktober 1970, z. B.:
Callear, J. F. F.: Praktische Erfahrungen mit Stresnil bei Steigerung der Produktivität eines Schweinebetriebes in England, S. 51.
Van den Brande, M.: Die Verwendung von Stresnil beim Transport von Schlachtschweinen, S. 91.
2. *Zacharias, H.*: Sedation von Schlachtschweinen vor dem Transport und die sich daraus ergebenden veterinärmedizinischen, rechtlichen wie fleischhygienischen Fragen. Tierärztl. Umschau **30**, 598–600 (1976).
3. *Pütter, J.* und *Sagner, G.*: Chemische Rückstandsuntersuchungen an Rompun (Bay Va 1470). Veterinärmed. Nachr. 133–148 (1973).
4. *Rauws, A. G.*, *Olling, M.*, *Freudenthal, J.* and *Ten Ham, M.*: Azaperol, a new metabolite of the veterinary butyrophenone tranquilizer azaperone. Toxicol. Appl. Pharmacol. **35**, 333–339 (1976).

5. *Olling, M., Stephany, R. W., and Rawws, A. G.*: Tranquillizer residues in slaughter pigs. *Dev. Anim. Vet. Sci.* 335–336 (1980).
6. *Flückiger, P.*: Die Analyse von Azaperon (Stresnil) in Schweinenieren: Eine methodische Untersuchung. Dissertation, Universität Zürich 1981.
7. *Laitem, L., Bello, I. and Gaspar, P.*: Gas chromatographic determination of tranquillizer residues in body fluids and in the meat of slaughtered animals. *J. Chromatogr.* **156**, 327–329 (1978).
8. *Rogstad, A. and Yndestad, M.*: Analysis of xylazine in biological material by gas chromatography using packed and capillary columns. *J. Chromatogr.* **216**, 350–354 (1981).
9. *Scheutwinkel-Reich, M., Grohmann, H. G., Jordan, S., Preiss, A. M. and Stan, H.-J.*: GC and GC/MS analysis of tranquilizers in meat. *Z. Anal. Chem.* **311**, 398–399 (1982).
10. *Alvinerie, M. and Toutain, P. L.*: Determination of xylazine in plasma using high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **222**, 308–310 (1981).
11. *Hoffmann, B., Meemken, H.-A. und Groebel, W.*: Nachweis und Bestimmung von Stresnil in Schlachtschweinen. *Lebensmittelchem. gerichtl. Chem.* **36**, 104–107 (1982).
12. *Courtot, D. et Nicotra, C.*: Analyse de tranquillisants et anti-inflammatoires dans les liquides biologiques par couplage CPS-SM. *Analisis* **7**, 268–274 (1979).
13. *Wallace, J. E., Shimek, E. L., Jr., Stavchansky, S. and Harris, S. C.*: Determination of promethazine and other phenothiazine compounds by liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal. Chem.* **53**, 960–962 (1981).
14. *Murakami, K., Murakami, K., Ueno, T., Hijikata, J., Shirasawa, K. and Muto, T.*: Simultaneous determination of chlorpromazine and levomepromazine in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography using electrochemical detection. *J. Chromatogr.* **227**, 103–112 (1982).

Dr. R. Etter
Kantonales Laboratorium
Postfach
CH-8030 Zürich