

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

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 84 (1993)

**Heft:** 2

**Artikel:** Screening-Methode zur quantitativen Bestimmung von 12 Sulfonamiden in Fleisch, Leber und Niere mit HPLC und "on-line"-Nachsäulenderivatisation = Screening method the quantitative determination of 12 sulfonamides in meat, liver and kidney by HPLC and on-...

**Autor:** Guggisberg, D. / Mooser, A.E. / Koch, H.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982134>

### **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:** 26.01.2026

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

## **Screening-Methode zur quantitativen Bestimmung von 12 Sulfonamiden in Fleisch, Leber und Niere mit HPLC und «on-line»-Nachsäulenderivatisation**

Screening Method for the Quantitative Determination of 12 Sulfonamides in Meat, Liver and Kidney by HPLC and on-line Post-Column Derivatization

*D. Guggisberg, A.E. Mooser und H. Koch*  
Bundesamt für Veterinärwesen, Liebefeld-Bern

### **Einleitung**

Sulfonamide (SA) gehören in eine wichtige Klasse von antibakteriell wirksamen Arzneimitteln und sind in der Veterinärmedizin weit verbreitet. Rückstände dieser Arzneimittel, sowie deren Metaboliten, können für den Konsumenten eine potentielle gesundheitliche Gefahr darstellen.

In der Schweiz legt die Verordnung über Fremd- und Inhaltsstoffe vom 27. Februar 1986 (Ergänzung vom 29. Juni 1988) einen Toleranzwert von 0,1 mg/kg (= 100 ppb) als Summe der Muttersubstanzen und der N<sup>4</sup>-Acetylmethylmetaboliten für Sulfonamidrückstände als vorläufige Weisung fest. Damit eine möglichst grosse Anzahl von tierischen Gewebeproben auf diesen Toleranzwert überprüfbar ist, benötigten wir eine Screening-Methode mit genügender Empfindlichkeit und hohem Durchsatz.

Für die Bestimmung der Sulfonamide im Fleisch gibt es bereits eine Fülle von Publikationen und Reviews (1, 2). Obschon bereits immunologische Screening-Methoden für die Bestimmung von SA bekannt sind oder noch entwickelt werden, insbesondere mit EIA und ELISA, scheint uns doch für die Praxis und Routine die RP-HPLC mit Nachsäulenderivatisierung (NSD) am besten geeignet zu sein.

### **Literaturzusammenfassung und Methodik**

Aus der Literatur sind einige «pre-column»- oder «post-column»-Derivatisierungsmethoden für SA bekannt.

Tabelle 1. Abkürzungen

Sulfonamide	SA	Vertrieb	pKs-Wert [3, 4]
Sulfanilamid	SAA	Sigma S-9251	10,43
Sulfathiazol	STA	Sigma S-9876	7,2
Sulfapyridin	SPR	Serva 35860	
Sulfadimidin	SDD	Sigma S-6256	7,4
= Sulfamethazin			
Sulfachlorpyridazin	SCP	Sigma S-9882	5,1
Sulfamethoxazol	SMX	Sigma S-7507	5,6
Sulfadimethoxin	SDM	Sigma S-7007	6,2
Sulfacetamid	SAC	Sigma S-8627	5,38
Sulfadiazin	SDA	Sigma S-8626	6,48
= Sulfapyrimidin			
Sulfamerazin	SME	Sigma S-8876	7,0
Sulfamethoxypyridazin	SMP	Sigma S-7257	6,7
Sulfaquinoxalin	SQX	Sigma S-7382	5,5
Sulfabenzamid	SBA	Sigma S-9757	
Interner Standard			

N. Takeda et al. (5) derivatisierten spezifisch 8 SA (SDA, SME, SMZ, SMX, SDM, SQX, SMM, SIM) (Tabelle 1) mit Fluram (Fluorescamin) bei pH = 3 zu hoch fluoreszierenden Substanzen. Die Derivate werden auf einer Chemosorb 5-ODS-Säule analysiert und im Fluoreszenzdetektor beobachtet (Ex: 405 nm, Em: 495 nm).

SMZ und STA werden aus Futtermittel extrahiert, auf Lichrosorb RP-18 analysiert und bei 450 nm nach der «post-column»-Derivatisation mit p-Dimethylaminobenzaldehyd (DMBA) detektiert. Diese Methode wird von R. Shringham und R. Smallidge (6, 7) beschrieben.

Eine ähnliche, völlig automatisierte Derivatisierungsmethode wird für 13 Sulfonamide (STA, SQX, SAA, SMX, SME, SMZ, SGU, SDD, SDM, SDA, SAC, STR, SCP) und einige andere Arzneimittel von M. Aerts et al. (3, 8) für Milch, Eier und Fleisch beschrieben. Dabei wird der wässrige Gewebeextrakt dialysiert und auf eine Anreicherungssäule geleitet. Danach wird auf einer Lichrosorb RP-8-Säule analysiert. Wegen den störenden Matrixinterferenzen im UV-Bereich ist die Nachsäulenderivatisierung mit DMBA und die Detektion bei 450 nm unumgänglich.

H. Sista et al. (9) analysierten SPR mittels Fluram-Nachsäulenderivatisierung im Fluoreszenzdetektor (Ex: 395 nm, Em: 470 nm). In einer kürzlich veröffentlichten Arbeit von B. Pacciarelli et al. (10) können 12 Sulfonamide aus Muskelfleisch oder Nieren mittels Fluram-Nachsäulenderivatisierung detektiert werden.

Allgemein ist die Nachsäulenderivatisierung eine sehr elegante Methode zum Nachweis und zur Bestätigung der Sulfonamide. Beispielsweise lassen sich SA mit p-DMBA derivatisieren und bei 450 nm nachweisen (3, 6, 7). Ebenso lassen sich Sulfonamide mit Fluram derivatisieren und im Fluoreszenzdetektor nachweisen (9–11). Für die Dünnschichtchromatographie ist die «Marshall-Bratton»-Reaktion (12) bekannt, bei der das endständige aromatische Amin diazotiert wird und mit

N-(1-Naphthyl)ethylendiamindihydrochlorid weiterreagiert, um einen roten Farbstoff zu bilden (12–14).

Wir berichten im folgenden von der «Marshall-Bratton»-Reaktion als «on-line»-Nachsäulenderivatisierung der Sulfonamide. Die durch Diazotierung und Reaktion mit N-(1-Naphthyl)ethylendiamindihydrochlorid gebildeten Sulfonamidderivate werden bei 550 nm im UV-Vis-Detektor nachgewiesen und somit bestätigt. Die Diazotierung des aromatischen Amins zum Diazofarbstoff ist sehr selektiv, Matrixeffekte spielen keine Rolle. Dies gibt uns die Möglichkeit, mit hoher Empfindlichkeit im sichtbaren Bereich zu messen und dementsprechend mehrere (bis zu fünf) Fleischproben zusammenzufassen.

Für unsere Zwecke eignet sich die bereits früher publizierte Aufarbeitungsanleitung von M. Rychener et al. (15).

Die Probe wird homogenisiert und mit Aceton extrahiert. Sollen die N<sup>4</sup>-Metaboliten mitbestimmt werden, wird der Acetonextrakt in kochender verdünnter Salzsäure hydrolysiert. Anschliessend wird durch Verteilung zwischen Wasser und n-Hexan entfettet. Nach Neutralisation der Wasserphase werden die Sulfonamide mit Ethylacetat ausgezogen. Zur weiteren Reinigung wird an Kieselgel 60 in Aceton/Dichlormethan chromatographiert. Das Sulfonamid-Eluat wird mit Hochdruck-Flüssigchromatographie (HPLC) an einer Umkehrphase aufgetrennt und «on-line» derivatisiert. Zur Bestätigung der positiven Proben werden GC-MS-Analysen durchgeführt (16).

## Experimentelles

### Verwendete Geräte

- Probenzerkleinerungsgerät Moulinex
- Polytron-Stabmixer mit 12-mm-Mixerstab
- Laborzentrifuge
- Rotavap mit Vakuumkontroller (Büchi)
- pH-Meter mit Glaselektrode
- 250-ml-Scheidetrichter
- 100-ml-Spitzkolben
- Chromatographiesäule, Nutzlänge 25 cm, ID: 15 mm
- Einwegfilterchen 0,45 µm (Cellulose, 13 mm HP)
- 300 µl-Vials (HP)
- Vakuumfiltriereinrichtung mit 0,45 µm Filter (Millipore)
- 1-ml-Spritze mit Luer-Lock (Hamilton)



## Reagenzien

- Aceton, n-Hexan, Ethylacetat, Ethanol, Dichlormethan (p.a.)
- Acetatpuffer: In einem 2-l-Becherglas werden 3,85 g Ammoniumacetat in ca. 950 ml Wasser (bidest.) gelöst. Es wird mit Essigsäure (p.a.) auf pH = 4,00 eingestellt. In einem 1-l-Messkolben wird auf 1000 ml aufgefüllt und die Lösung durch ein 0,45 µ-Filter filtriert.
- Salzsäure (Merck, 37%, p.a.)
- Natronlauge (5N): 20 g Natriumhydroxid (Plätzchen p.a.) werden in Wasser zu 100 ml gelöst.
- Lösung 1): 0,8 g Natriumnitrit (Merck, p.a. Art: 6549), 150 ml Wasser, 50 ml Salzsäure (Merck, 37%, p.a.)
- Lösung 2): 4 g Ammoniumamidosulfonat (Merck, p.a. Art:1220), 200 ml Wasser
- Lösung 3): 0,8 g N-(1-Naphthyl)ethylendiamindihydrochlorid (Merck, z.a Art: 6237), 200 ml Wasser

## Referenzsubstanzen, Standardlösungen

Die Bezugsquellen und Abkürzungen der in die Analyse einbezogenen Sulfonamide können der *Tabelle 1* entnommen werden.

### Stammlösungen

50,0 mg Sulfonamid werden mit Methanol zu 50 ml gelöst (1,0 mg/ml).

### Standardlösung A

100 µl der Stammlösungen von SAC, STA, SME, SMP, SMX, SBA, SDM werden mit Methanol/Wasser (1:1) auf 10,0 ml aufgefüllt (10 ng/µl).

### Messlösung A

1 ml der Standardlösung A wird mit Acetatpuffer auf 10,0 ml aufgefüllt (1 ng/µl) (vgl. Abb. 2).

### Standardlösung B

100 µl der Stammlösungen von SAA, SDA, SPR, SDD, SCP, SBA, SQX werden mit Methanol/Wasser (1:1) auf 10,0 ml aufgefüllt (10 ng/µl).

### Messlösung B

1 ml der Standardlösung B wird mit Acetatpuffer auf 10,0 ml aufgefüllt (1 ng/µl) (vgl. Abb. 3).

### Standardlösung ISTD

100 µl der Stammlösung SBA werden mit Methanol/Wasser (1:1) auf 10,0 ml aufgefüllt (10 ng/µl).

50 µl dieser Standardlösung werden als ISTD dem Fleischextrakt zugegeben (50ppb) (vgl. Abb. 4).

### *HPLC-Bedingungen*

Apparatur:	Waters 600 E, Ofentemperatur 35 °C
Mobile Phase :	80% A, 20% B A: Acetat-Puffer: pH = 4,00 B: Acetonitril
Säule:	Stahlkartusche (HP) 250 mm, ID: 4 mm
Vorsäule:	LiChroCART 4-4, LiChrospher 100 RP-18 5 µm (Merck)
Stationäre Phase:	Spherisorb ODS2, 250 mm x 4 mm x 5 µm (HP)
Fluss:	1,0 ml/min
Einspritzvolumen:	20 µl
UV-Detektor:	Spectra Physics SC102-0100 (265 nm)
Vis-Detektor:	Spectra Physics SC102-0100 (550 nm)
Reaktionspumpe:	Merck Hitachi 655 A-13, Fluss 20 (entspricht ca. 0,2 ml/min)
Reaktionslösungen:	Lösung 1, 2, 3
Lösung 1:	0,8 g Natriumnitrit (Merck, p.a.), 150 ml Wasser, 50 ml Salzsäure (Merck, 37%, p.a.)
Lösung 2:	4 g Ammoniumamidosulfonat (Merck, p.a.), 200 ml Wasser
Lösung 3:	0,8 g N-(1-Naphthyl)ethyldiamindihydrochlorid (Merck, z.a.), 200 ml Wasser
Reaktionswege:	25 cm, 200 cm, 60 cm, ID 0,33 mm der Reaktionsweg 2 (200 cm) wird eisgekühlt
Auswertestation:	Baseline Millipore Waters, Methode ISTD

### *Durchführung*

10 g einer Fleischprobe (oder 5 Proben zu je 2 g Fleisch) werden nach der Vorschrift (15) aufgearbeitet. Vor dem Eindampfen des Eluates wird der int. Standard zugegeben (50 µl der Standardlösung SBA [10 ng/µl] entsprechen 50 ppb). Das Eluat wird am Rotavap (45 °C, 300 mbar) eingedampft und der Rückstand in 300 µl Methanol/Wasser (1:1) aufgenommen. Die Messlösung wird mit Hilfe einer 1-ml-Spritze mit Luer-Lock durch ein Einwegfilterchen (0,45 µm) in ein Micro-Vial filtriert. Von der Messlösung werden 20 µl in das HPLC-System injiziert. Die Säulentemperatur wird mittels Säulenofen konstant auf 35 °C gehalten. Nach der Auftrennung des Fleischextraktes in einzelne Komponenten auf einer Spherisorb-Säule wird der Eluent zur Reaktionspumpe geführt (Abb. 1). Von der Reaktionspumpe aus werden die drei eisgekühlten Lösungen 1, 2 und 3 über je ein T-Stück zum Eluenten gemischt, wobei der Reaktionsweg der Lösung (1) 25 cm, der Lösung (2) 200 cm und der Lösung (3) 60 cm betragen soll. Die Lösungen 1, 2 und 3 müssen vor Gebrauch neu zubereitet und während der Analyse mittels Eis gekühlt werden. Um die Blasenbildung möglichst kleinzuhalten, ist das Eintauchen der drei Lösungen in ein Ultraschallbad (für ca. 30 min vor der Analyse) zu empfehlen.

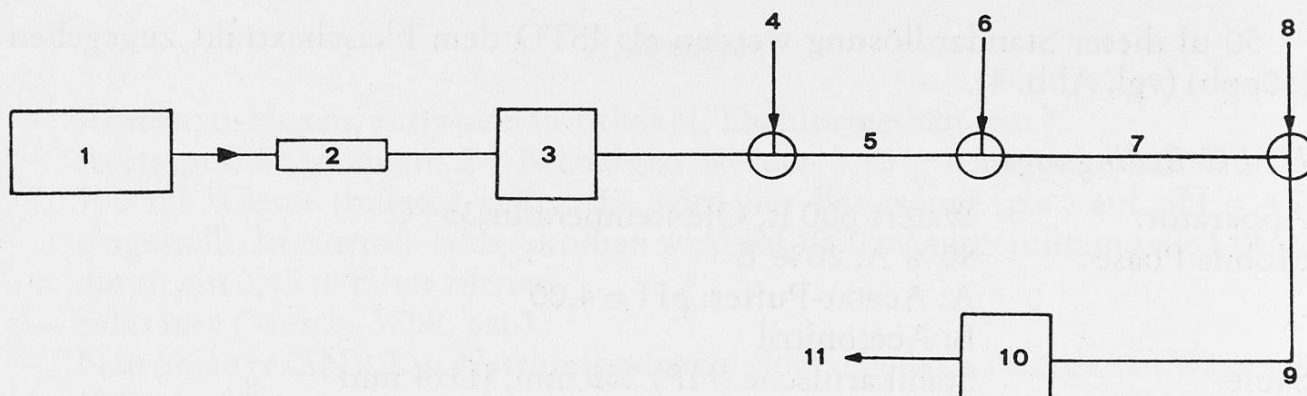


Abb. 1. Schematische Darstellung der Nachsäulenderivatisierung

- 1 = HPLC-Pumpe Waters 600 E
  - 2 = Spherisorb ODS-Säule
  - 3 = UV-Detektor (265 nm)
  - 4 = Lösung 1 (eisgekühlt)
  - 5 = Reaktionsweg 1 (25 cm)
  - 6 = Lösung 2 (eisgekühlt)
  - 7 = Reaktionsweg 2 (200 cm, eisgekühlt)
  - 8 = Lösung 3 (eisgekühlt)
  - 9 = Reaktionsweg 3 (60 cm)
  - 10 = UV/Vis-Detektor (550 nm)
  - 11 = Abfall
- 4–9 sind integriert im System Merck Hitachi 655 A-13

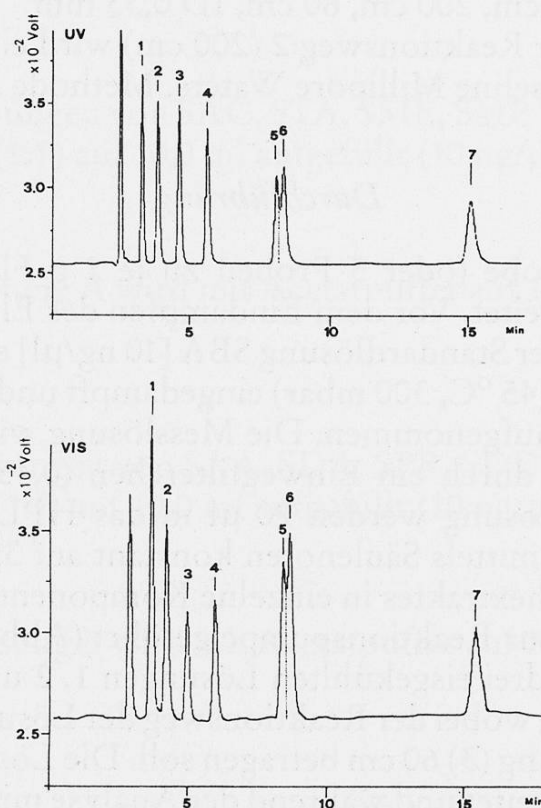


Abb. 2. Chromatogramm der Messlösung A im UV (265 nm) und VIS (550 nm)  
1 = SAC, 2 = STA, 3 = SME, 4 = SMP, 5 = SMX, 6 = SBA, 7 = SDM (je 20 ng)



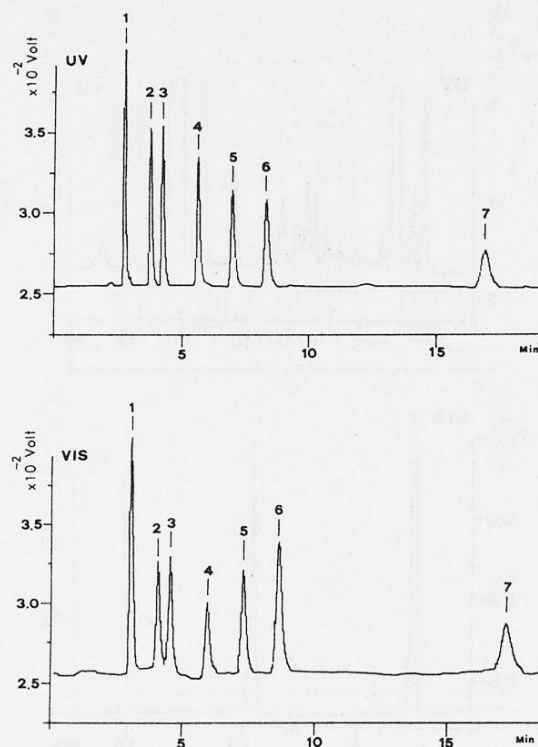


Abb. 3. Chromatogramm der Messlösung B im UV (265 nm) und VIS (550 nm)  
1 = SAA, 2 = SDA, 3 = SPR, 4 = SDD, 5 = SCP, 6 = SBA, 7 = SQX (je 20 ng)

### Resultate

Die Lösung 1 diazotiert die Sulfonamide selektiv, die Lösung 2 eliminiert das überschüssige Natriumnitrit. Der rote Farbstoff wird durch Lösung 3 erzeugt, der bei 550 nm detektiert wird (17). Die Nachsäulenderivatisierung der SA zum jeweiligen Diazofarbstoff hat einige Vorteile gegenüber der Nachsäulenderivatisierung mit Fluram. Neben dem sehr hohen Preis für Fluram ergeben die fluoreszierenden Fluram-Sulfonamid-Derivate eine recht unterschiedliche relative Absorption. Die 12 oben genannten derivatisierten Sulfonamide ergeben hingegen mit der hier beschriebenen Methode eine sehr ausgeglichene Absorption.

Die Chromatogramme (Abb. 2-6) zeigen die hohe Selektivität im sichtbaren Bereich, verglichen mit dem UV-Bereich. Sulfonamide, die im UV-Chromatogramm durch Verunreinigungen überlagert sein können, sind schwierig zu identifizieren und zu quantifizieren. Die Nachsäulenderivatisierung erleichtert die Identifikation sowie die Quantifizierung wesentlich. Ebenso entfällt das Vergleichen aufgenommener UV-Spektren mit der Spektrenbibliothek des Diodenarray-Dektors sowie das Verifizieren der SA mit einem 2. Fließmittelsystem.

Die analytische Nachweisgrenze beträgt 2 ppb. Die Wiederfindungsraten der Probenaufbereitung können der Lit. 15 entnommen werden. Die Autoren sind der Meinung, dass immer 5 verschiedene Fleischproben zu je 2 g in einem Aufarbeitungsschritt zusammengefasst werden können, um grosse anfallende Probenmen-



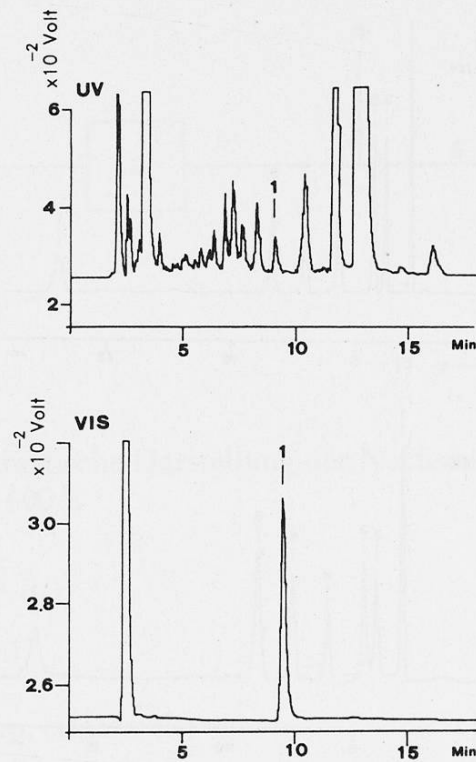


Abb. 4. Chromatogramm einer mit 50 ppb SBA (ISTD) dotierten Fleischprobe im UV (265 nm) und VIS (550 nm)  
1 = SBA (50 ppb)

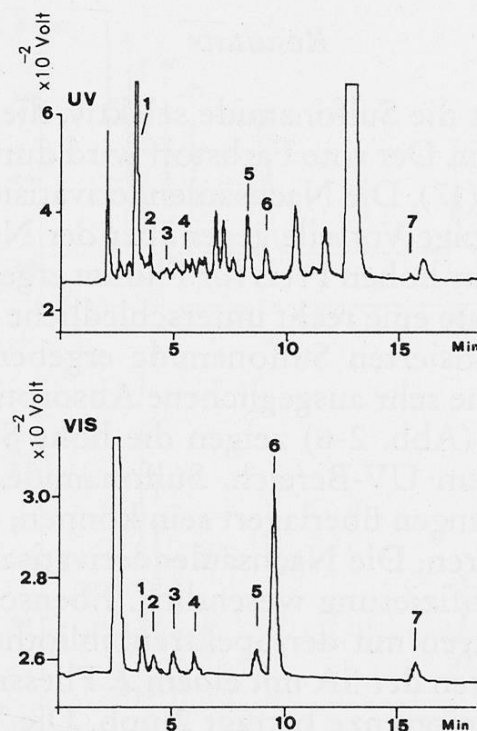


Abb. 5. Chromatogramm einer dotierten Fleischprobe (6 SA je 10 ppb, SBA 50 ppb) im UV (265 nm) und VIS (550 nm)  
1 = SAC, 2 = STA, 3 = SME, 4 = SMP, 5 = SMX, 6 = SBA, 7 = SDM

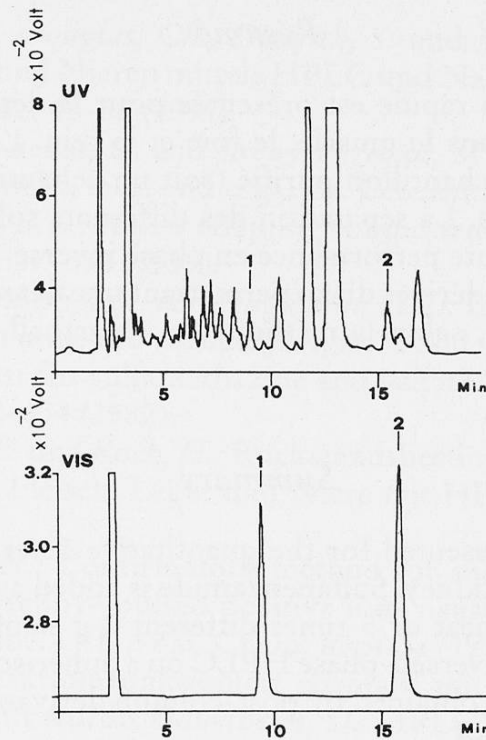


Abb. 6. Chromatogramm einer positiven Kaninchenfleischprobe (SDM >100 ppb) im UV (265 nm) und VIS (550 nm)  
1 = SBA (50 ppb), 2 = SDM (>100 ppb)

gen zeitgerecht zu verarbeiten. Würde nun bei einer Analyse ein Sulfonamid mit 10 ppb detektiert, kann der Wert von einer der fünf Fleischproben 50 ppb betragen, was der Hälfte des höchstzulässigen Toleranzwertes von 100 ppb entsprechen würde. Die Berechnung der Resultate erfolgt nach der Methode mit dem internen Standard (ISTD) Sulfabenzamid. Die Methode eignet sich für Fleisch und Fisch; sie auf geräucherten Fisch anzuwenden ist jedoch kaum möglich, da viele Störpeaks auftreten.

### *Dank*

Herrn *Marco Sievi* sei an dieser Stelle für seine experimentelle Mitarbeit gedankt.

### *Zusammenfassung*

Es wird eine Screening-Methode zur quantitativen Bestimmung von 12 Sulfonamidrückständen in Muskel, Leber und Niere beschrieben. Die aufgearbeitete Fleischprobe (bestehend aus einer 10-g-Fleischprobe oder aus 5 verschiedenen Proben zu je 2 g Fleisch) wird mit dem internen Standard Sulfabenzamid versetzt und mittels Hochdruck-Flüssigchromatographie an Umkehrphase analysiert. Danach werden die Sulfonamide durch eine «on-line»-Nachsäulenderivatisierung nach «Marshall-Bratton» als Diazofarbstoffe bei 550 nm hochspezifisch detektiert und quantifiziert.

## Résumé

Une méthode de sélection rapide est présentée pour la détermination quantitative des résidus de 12 sulfonamides dans le muscle, le foie et le rein. Le sulfabenzamide est ajouté comme standard interne à l'échantillon purifié (soit un échantillon de 10 g ou 5 différents échantillons de 2 g de viande). La séparation des différents sulfonamides est effectuée par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse. Une dérivation post-colonne a lieu avec formation de dérivés diazo permettant une détection à haute spécificité dans le domaine du VIS à 550 nm, selon la méthode de «Marshall-Bratton» adaptée pour une version «on-line».

## Summary

A screening method is presented for the quantitative determination of 12 sulfonamide residues in muscle, liver and kidney. Sulfabenzamide is added as the internal standard to the cleaned sample (either 10 g meat or 5 times different 2 g samples). The separation of the sulfonamides is achieved by reversed-phase HPLC on a Spherisorb ODS column, and highly specific detection at 550 nm is obtained by post-column derivatization as an on-line-version of the Marshall Bratton method.

## Literatur

1. Horwitz, W.: Analytical methods for sulfonamides in foods and feeds. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **64**, 104–130 (1981).
2. Guggisberg, D., Mooser, A.E. and Koch, H.: Methods for sulfonamides determination in meat. *J. Chromatogr.* **624**, 425–437 (1992).
3. Aerts, M.M.L. and Beek, W.M.J.: Sulfonamides in egg, meat and milk using post-column derivatization with dimethylaminobenzaldehyde. *J. Chromatogr.* **435**, 97–112 (1988).
4. Roth, H.J., Eger, K. und Troschütz, R.: Pharmazeutische Chemie II. Arzneistoffanalyse, 3. Auflage, Band 2, Seite 432. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1990.
5. Takeda, N. and Akiyama, Y.: Pre-column derivatization of sulfa drugs with fluorescamine and HPLC determination at their residual levels in meat and meat products. *J. Chromatogr.* **558**, 175–180 (1991).
6. Smallidge, R.L., Kentzer, E.J., Stringham, K.R., Kim, E.H., Lehe, C., Stringham, R.W. and Mundell, E.C.: Sulfamethazine and sulfathiazole determination at residue levels in swine feeds by reverse-phase liquid chromatography with post-column derivatization. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 710–717 (1988).
7. Stringham, R.W., Mundell, E.C. and Smallidge, R.L.: Use of post-column derivatization in liquid chromatographic determination of sulfamethazine and sulfathiazole in feeds and feed premixes. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **65**, 823–827 (1982).
8. Aerts, M.M.L., Beek, W.M.J., Kan, C.A. and Nouws, J.F.M.: Detection of sulfaguanidine residues in eggs with a fully automated liquid-chromatographic method using post-column derivatization. *Arch. Lebensmittelhyg.* **37**, 142–145 (1986).
9. Sista, H.S., Dye, D.M. and Leonard, J.: HPLC method for determination of sulfapyridine in human saliva using post-column, in-line derivatization with fluorescamine. *J. Chromatogr.* **273**, 464–468 (1983).



10. *Pacciarelli, B., Reber, S., Douglas, Ch., Dietrich, S. und Etter, R.*: Bestimmung von 12 Sulfonamiden in Fleisch und Nieren mittels HPLC und Nachsäulenderivatisierung. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **82**, 45–55 (1991).
11. *Diserens, J.-M., Renaud-Bezot, C. and Savoy-Perroud, M.*: Simplified determination of sulfonamides residues in milk, meat and eggs. Dt. Lebensm. Rundsch. **87**, 205–211 (1991).
12. *Bratton, C. and Marshall, E.K.*: A new coupling component for sulfanilamide determination. J. Biol. Chem. **128**, 537–550 (1939).
13. *Tishler, F., Sutter, J.L., Bathish, J.N. and Hagmann, H.E.*: Improved method for determination of sulfonamides in milk and tissues. J. Agric. Food Chem. **16**, 50–53 (1968).
14. *Parks, O.W.*: Screening test for sulfamethazine and sulfathiazole in swine liver. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **65**, 632–634 (1982).
15. *Rychener, M., Mooser, A.E. und Koch, H.*: Rückstandsbestimmung von Sulfonamiden und deren N<sup>4</sup>-Metaboliten in Fleisch, Leber und Niere mit HPLC. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **81**, 522–543 (1991).
16. *Mooser, A.E. and Koch, H.*: Confirmatory method for sulfonamide residues in animal tissues by gas chromatography- pulsed positive ion- negative ion- chemical ionization mass spectrometry. J. Assoc. Off. Anal. Chem. in press (1993).
17. Die Marshall-Bratton-Reaktion funktioniert ebenfalls mit anderen aromatischen Aminen, wie kürzlich mitgeteilt wurde: *Courtheyn, D.*: HPLC determination of clenbuterol and cimaterol using post-column derivatization. J. Chromatogr. **564**, 537–549 (1991).

Dr. D. Guggisberg  
 Bundesamt für Veterinärwesen  
 Sektion Chemie  
 Schwarzenburgstrasse 161  
 CH-3097 Liebefeld-Bern