

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

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 82 (1991)

**Heft:** 2

**Artikel:** Bestimmung von Dimetridazol und Hydroxydimetridazol in Fleisch mit HPLC-UV/VIS und GC-MS : eine Validierung zweier interner Standards = Determination of dimetridazole and hydroxydimetridazole in meat with HPLC-UV/VIS and GC-MS : a validation of two inte...

**Autor:** Rychener, M. / Mooser, A.E. / Koch, H.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982411>

### **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:** 25.01.2026

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

## Bestimmung von Dimetridazol und Hydroxydimetridazol in Fleisch mit HPLC-UV/VIS und GC-MS: Eine Validierung zweier interner Standards

Determination of Dimetridazole and Hydroxydimetridazole in Meat with  
HPLC-UV/VIS and GC-MS: A Validation of two Internal Standards

*M. Rychener, A. E. Mooser und H. Koch*  
Bundesamt für Veterinärwesen, Liebefeld-Bern

### Einleitung

Dimetridazol (1, 2-Dimethyl-5-nitroimidazol, DMZ) ist ein Tierarzneimittel, welches beim Geflügel gegen Kokzidiose und Histomoniasis sowie gegen Trichomoniasis beim Schwein eingesetzt werden kann. *Hobson-Frohock* et al. (1) und *Carignan* et al. (2) berichten, dass den Nitroimidazolen Mutagenität und leichte Karzinogenität nachgesagt wird. Nach *Carignan* (2, 3) sowie *Shaw* (4) wird DMZ im tierischen Organismus innert Stunden zu Hydroxydimetridazol (2-Hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazol, HDZ) metabolisiert.

Da in der Verordnung vom 27. Februar 1986 (Ergänzung vom 1. Juli 1990) über Fremd- und Inhaltsstoffe für beide Substanzen keine Höchstkonzentrationen festgelegt sind, gilt die Nulltoleranz. Eine Methode zur Bestimmung von Dimetridazol und dessen Metaboliten in tierischen Lebensmitteln muss daher möglichst empfindlich sein, wobei sich vor allem hochdruckflüssigchromatographische Verfahren mit elektrochemischer (2, 3) oder UV- (1, 5, 6) Detektion aufdrängen. Aufgrund des vom pH abhängigen Löslichkeitsverhaltens von Imidazolderivaten wird zur Aufbereitung der Proben empfohlen, mit Dichlormethan zu extrahieren, den sauren wässrigen Auszug basisch zu stellen und wiederum mit Dichlormethan rückzuextrahieren (1, 4). Als zusätzliche Reinigung der Probe wird von *Patel* et al. (6) Festphasenextraktion an Umkehrphase vorgeschlagen.

Als interner Standard wird, allerdings erst unmittelbar vor der Analyse mit HPLC, Metronidazol [2-(2-Methyl-5-nitro-1H-imidazol-1-yl)ethanol, MNZ] zugesetzt (1). Wünschbar wäre jedoch ein Standard, welcher bereits zu Beginn der Probenvorbereitung beigegeben werden könnte. Die vorliegende Arbeit beschreibt eine Validierung von Metronidazol und Etmidazol (1-Ethyl-2-methyl-5-nitroimidazol, EMZ) als interne Standards für die Bestimmung von Dimetridazol in Geflügelfleisch mit HPLC, einige Verbesserungen und Vereinfachungen bei der Probenvorbereitung sowie eine Bestätigungsmethode mit GC-MS.

## Material und Methoden

### *Synthese von EMZ*

5,0 g 2-Methyl-5-nitroimidazol (39,4 mMol, Aldrich, 13,625-5), 7,8 g Ethyliodid (50,0 mMol) und 5 g Natriumcarbonat werden in 30 ml Ethanol und 5 ml Wasser 1 h zum Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wird in Wasser gegossen, mit 5 n NaOH basisch gestellt und mit vier Portionen Dichlormethan ausgezogen. Die vereinten Dichlormethanphasen werden am Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand aus 15 ml absolutem Ethanol kristallisiert. Ausbeute: 2,31 g (14,9 mMol, 38%) reinweisses kristallines Material vom Smp 78,5–80 °C. UV/VIS (MeOH/Puffer pH 3,25): 312 nm. <sup>1</sup>H-NMR (60 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,48 (t, 3 H), 2,47 (s, 3 H), 4,01 (q, 2 H), 7,71 (s, 1 H) ppm. MS (EI): m/z 155 (100%, M<sup>+</sup>), 139 (4%), 109 (2%, M<sup>+</sup>-NO<sub>2</sub>), 97 (3%), 83 (14%), 69 (5%), 56 (21%).

### *Standardlösungen*

Stammlösungen: 10,0 mg DMZ (Sigma, D4025), HDZ (Sigma, M3761), MNZ (freundlicherweise von BASF (Schweiz) AG, Wädenswil, zur Verfügung gestellt) und EMZ werden je zu 100 ml in Methanol gelöst. Interne Standardlösungen (MNZ- und EMZ-Lösung): Die Stammlösungen von MNZ und EMZ werden 1:20 mit Methanol verdünnt (5 µg/ml). Testlösung: Je 0,5 ml Stammlösung von DMZ und HDZ werden mit Methanol zu 10 ml verdünnt (je 5 µg/ml). Eichstandard I: Je 1,0 ml MNZ, EMZ, DMZ und HDZ werden mit Methanol/Wasser (1:1) zu 20 ml aufgefüllt (je 5 µg/ml). Eichstandard II: Je 1,0 ml MNZ und EMZ sowie 100 µl DMZ und HDZ werden mit Methanol/Wasser (1:1) zu 20 ml aufgefüllt (5 µg/ml MNZ und EMZ, 0,5 µg/ml DMZ und HDZ); mit diesen beiden Lösungen wird vor jeder Probenserie eine Zweipunkteichung des HPLC-Systems durchgeführt.

### *Probenaufbereitung für HPLC*

10 g zu einem feinen Brät homogenisiertes Geflügelfleisch werden in eine 250-ml-Polyethylen-Zentrifugierflasche eingewogen und mit einer Spatelspitze wasserfreiem Natriumcarbonat versetzt. Es wird mit 100 ml Ethylacetat mit einem Hochfrequenz-Mixstab homogenisiert (1 min), zentrifugiert (6 min/2500 g/20 °C) und der Überstand durch ein Faltenfilter in einen 250-ml-Scheidetrichter filtriert. Das Filtrat wird zweimal mit 50 ml 0,25 n Salzsäure ausgezogen. Die Wasserphase wird mit 5 n Natronlauge (ca. 8 ml) auf pH 11–12 gestellt und im Scheidetrichter mit Portionen von 50, 40 und 30 ml Dichlormethan zurückextrahiert. Unmittelbar vor der Rückextraktion werden noch 2 Tropfen 5 n NaOH zugesetzt. Das Dichlormethan wird in einem 100-ml-Spitzkolben portionenweise eingengt (45°/600 mbar), wobei zur ersten Portion 100 µl 1 m Phosphatpuffer (pH 3) zugesetzt



werden. Schliesslich wird zur Trockene eingedampft (45 °C/50 mbar), der Rückstand in 250 µl Methanol/Wasser (1:1) durch gründliches Schwenken des Kolbens aufgenommen und mit Hilfe einer 2,5-ml-Spritze mit Luer-Lock durch ein 0,45-µ-Einwegfilterchen (13 mm) in ein 30-µl-Vial filtriert.

#### *Phosphat-Puffer (10 mMol, pH 3,25) für HPLC*

1,36 g Kaliumdihydrogenphosphat werden in etwa 950 ml bidestilliertem Wasser gelöst, das pH mit einigen Tropfen ortho-Phosphorsäure (85%) eingestellt, auf 1000 ml aufgefüllt und durch 0,45-µ-Filter filtriert.

#### *HPLC-Bedingungen*

Apparatur: HP1090 mit Diode Array Detektor und ChemStation 9000/300 (Hewlett Packard). Säule: Stahlkartusche (LiChroCART, Merck) 125 mm (+ 4 mm Vorsäule), 4 mm ID. Stationäre Phase: LiChrospher 60 RP-select B, 5 µm. Mobile Phase: Methanol/Phosphat-Puffer (25:75, 1,8 ml/min). Ofentemperatur: 40°. Einspritzvolumen: 20 µl. Chromatographiedauer: 7 min. Nachlaufzeit: 3 min. UV/VIS-Signal A: 318 (10) nm. Peakwidth: 0,025 min. Threshold: 0,1 mAU.

#### *Validierungsexperimente*

Geflügelfleisch wurde in drei Serien zu 8 Ansätzen mit 20, 40, 60...160 µl Testlösung dotiert, was Gehalte von 10, 20, 30... 80 ppb an DMZ und HDZ ergab. Je nach Validierungsexperiment wurden 100 µl der benötigten ISTD-Lösung (0,5 µg, entspricht 50 ppb) entweder unmittelbar nach der Einwaage (A) oder vor dem Eindampfen der letzten Portion Dichlormethan (B) zugesetzt. Der ersten Serie wurden als Standards EMZ und MNZ nach (A), der zweiten EMZ nach (A) und MNZ nach (B) sowie der dritten EMZ nach (B) und MNZ nach (A) zugegeben. Pro Tag wurde eine Serie aufgearbeitet und die Messlösungen kühlgehalten bis zur Analyse der gesamten 24 Ansätze mit HPLC. Ferner wurde ein Leerwert-Ansatz ausgeführt, um die Rückstandsfreiheit der Fleischprobe sicherzustellen.

#### *Probenvorbereitung und Derivatisierung für GC-MS*

Die für die HPLC verwendete Probenlösung wird mit 0,5 ml Wasser und 5 µl MNZ-Stammlösung versetzt. Nach Zugabe von 1 Tropfen Bromthymolblaulösung (1% in Ethanol) werden 3 Tropfen NH<sub>3</sub>-Lösung (10%) zugefügt und dreimal mit je 1 ml Ethylacetat extrahiert. Die Ethylacetatlösung wird mit Natriumsulfat getrocknet und vorsichtig am N<sub>2</sub>-Strom zur Trockene eingengt. Dann wird mit 25 µl N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid (MSTFA, Macherey-Nagel,

70127) versetzt, welches 5% Trimethylchlorsilan (TMCS, puriss. Fluka, 92369) enthält, und 15 min auf 60 °C erwärmt.

### *GC-MS-Apparatur*

Finnigan-MAT 5100 GC-MS-System, INCOS-Datensystem, Elektronen-Energie 70 mV, Multiplier-Spannung 1100 V, Konversions-Dynoden  $\pm 3000$  V. Reactant-Gas: Methan, Quelldruck 1,3 mbar, Quelltemperatur unreguliert (ca. 150 °C).

### *Gaschromatographie*

Trärgas: Helium (Vordruck 10 psi). Fused-silica-Säule: DB-5 (J&W Scientific), 30 m x 0,25 mm, Filmdicke 0,25  $\mu$ m. Injector-Temperatur: 270 °, Interface-Ofen: 300 °. Temperaturprogramm: 60 ° (0,5 min), von 60 ° auf 100 ° mit 20 °/min, von 100 ° auf 280 ° mit 6 °/min. Einspritzung: 1  $\mu$ l (splitless).

### *GC-MS-Datenacquisition*

Die Bestimmung in MID (multiple ion detection) durch sequentielle MID-Deskriptoren erfolgt mit einer Acquisitionszeit von 0,13 sec für das intensive Ion und je 0,26 sec für die übrigen Fragmente, bei einer Scan-Rate von 0,7 sec für drei Ionen. Die verwendeten Ionen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Die Elutionsreihenfolge ist DMZ, HDZ, MNZ, EMZ bei Retentionszeiten von ca. 8–15 min.

*Tabelle 1.* Fragmente der GC-MS-Datenacquisition

	EI-Spektren	Pos-CI-Spektren
DMZ	141 (59%) M <sup>+</sup> 95 (59%) 54 (100%)	143 (7%) 142 (100%) (M+1) <sup>+</sup> 126 (10%)
EMZ	155 (100%) M <sup>+</sup>	156 (100%) (M+1) <sup>+</sup>
HDZ, Trimethylsilyl-	214 (100%) (M-15) <sup>+</sup> 168 (56%) 167 (44%) [73 (56%)]	231 (14%) 230 (100%) (M+1) <sup>+</sup> 214 (16%)
MNZ, Trimethylsilyl-	243 (18%) M <sup>+</sup> 228 (47%) 197 (21%) 182 (42%) 167 (39%) [73 (100%)]	244 (100%) (M+1) <sup>+</sup> 198 (52%)

## Resultate und Diskussion

Die Darstellung von EMZ durch Ethylierung des käuflichen 2-Methyl-5-nitroimidazol mit Ethyliodid in Gegenwart von Natriumcarbonat verlief ohne Schwierigkeiten, und das Produkt war leicht durch Kristallisation aus Ethanol zu reinigen. Die Extraktion der Fleischproben geschah statt mit Dichlormethan aus praktischen Gründen mit Ethylacetat, da sich auf diese Weise der Fleischrückstand nach dem Zentrifugieren unten befand. Ferner wurde der Ansatz mit etwas Natriumcarbonat basisch gestellt, damit die Imidazolderivate in der ungeladenen Form vorlagen und sich im organischen Extraktionsmittel sicher lösten. Das pH der wässrigen Phase hat nach dem Einstellen mit Natronlauge wegen hydrolysierender Ethylacetatreste die Tendenz, fortlaufend zu sinken, weshalb unmittelbar vor der Rückextraktion nochmals basisch gestellt wird. Um zu vermeiden, dass das verhältnismässig leicht flüchtige Dimetridazol beim Eindampfen der Dichlormethanphase verloren ging, wurde mit Phosphatpuffer angesäuert, so dass die Analyten in die schwerflüchtige protonierte Form übergangen.

Die HPLC-Analyse im isokratischen System mit LiChrospher RP-select B, einer speziell für basische Stoffe geeigneten stationären Phase, auf welcher Amine in ionischer Form mit einer im sauren pH-Bereich gepufferten mobilen Phase aufgetrennt werden, ergab erstaunlich saubere Chromatogramme (Abb. 1). Dies zeigt, dass die gewählte Aufarbeitung erfolgreich und wirksam ist. Zusätzlich

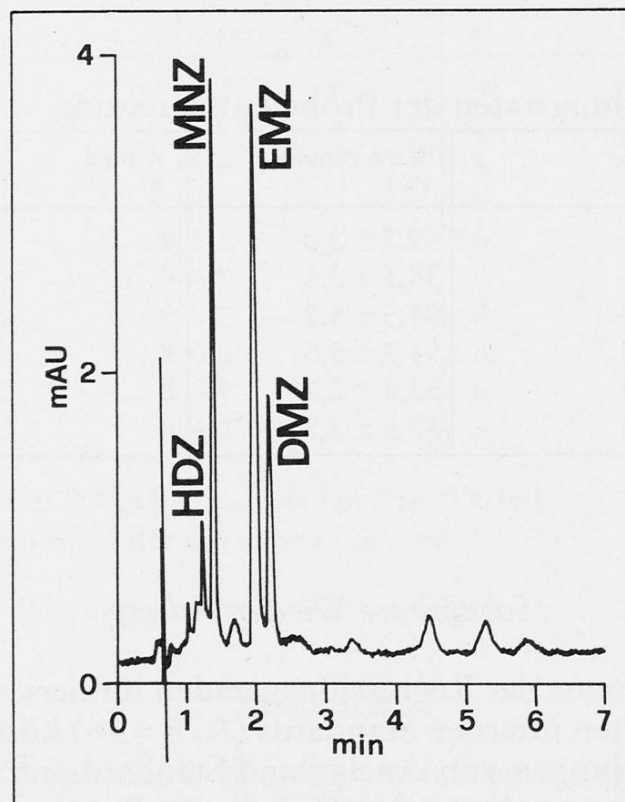


Abb. 1. Chromatogramm einer mit je 10 ppb DMZ und HDZ dotierten Geflügelfleischprobe mit je 50 ppb MNZ und EMZ als interne Standards nach (A)



können die 5-Nitroimidazole mit UV-Maxima von 312 bis 318 nm ziemlich selektiv erfasst werden. Weil in gewissen Proben spät eluierte Substanzen vorkamen, musste die Elution nach dem Erscheinen der in Betracht gezogenen Peaks noch etwa 8 min fortgesetzt werden.

Mit den Daten aus den Validierungsansätzen konnte eine Regressionsanalyse nach *Linder* und *Berchtold* (7) durchgeführt werden, so dass alle wichtigen Validierungsparameter berechnet werden konnten.

### *Wiederfindung der Probenvorbereitung*

Da die Methode für DMZ optimiert wurde, zeigt dieses wie erwartet die beste Wiederfindung (Tabelle 2). HDZ wird nur etwa zu 35% wiedergefunden. Da in Gewebeproben wegen der schnellen Metabolisierung (4) fast immer mehr HDZ als DMZ zu erwarten ist, scheinen die Wiederfindungsverhältnisse jedoch günstig, denn zum sicheren Nachweis eines Rückstands mit HPLC müssen beide Substanzen wiedergefunden werden. Wird somit in einer Probe DMZ gefunden, so ist trotz der schlechten Wiederfindung von HDZ dessen Auffinden sicher problemlos. Eine Bestätigung mit UV/VIS ist wegen starker Absorption des Eluats unterhalb von 300 nm allerdings nicht möglich. Von den beiden getesteten internen Standards verhält sich EMZ mit 50% Wiederfindung besser als MNZ.

*Tabelle 2. Wiederfindungsraten der Probenaufbereitung*

Analyt	Gehalt (ppb)	Wiederfindung (%)	Anzahl <i>n</i>	Interner Standard
EMZ	50	49,7 ± 2,0	8	MNZ (B)
MNZ	50	34,1 ± 0,6	8	EMZ (B)
DMZ	10–80	84,5 ± 5,2	8	EMZ (B)
DMZ	10–80	91,7 ± 5,5	8	MNZ (B)
HDZ	10–80	33,4 ± 2,7	8	EMZ (B)
HDZ	10–80	37,5 ± 2,5	8	MNZ (B)

### *Scheinbare Wiederfindung*

Aus dem Steigungsmass der Regressionsgeraden für Serien mit vor der Probenvorbereitung zugesetzten internen Standards (A, *n* = 16) können die aufgrund der ungleichen Wiederfindungen von Analyt und Standard auftretenden scheinbaren Wiederfindungsraten ermittelt werden (Tabelle 3). Resultate von Proben müssen mit den entsprechenden Faktoren korrigiert werden, um die tatsächlich gefundenen Mengen zu erhalten.

*Tabelle 3. Korrekturfaktoren zum Ausgleich der Wiederfindungsraten*

Analyt	Gehalt (ppb)	Scheinbare Wiederfindung (%)	Korrekturfaktor	Standard
DMZ	10–80	175,4	0,570	EMZ (A)
DMZ	10–80	222,2	0,450	MNZ (A)
HDZ	10–80	76,6	1,305	EMZ (A)
HDZ	10–80	95,2	1,050	MNZ (A)

### *Wiederholbarkeit*

Aus Tabelle 4 geht hervor, dass die relative Standardabweichung (Variationskoeffizient in %) für beide internen Standards nicht wesentlich davon abhängt, ob sie vor (A) oder nach (B) der Probenvorbereitung zugegeben werden. Mit ca. 6% Abweichung weist die Methode eine, bezogen auf die zu erwartenden Gehalte, annehmbare Wiederholbarkeit auf.

*Tabelle 4. Variationskoeffizienten bei Verwendung zweier interner Standards bei Zugabe vor (A) oder nach (B) der Probenvorbereitung*

Analyt	Gehalt (ppb)	Rel. Standardabweichung (%)	Anzahl <i>n</i>	Interner Standard
EMZ	50	4,0	8	MNZ (B)
MNZ	50	1,8	8	EMZ (B)
DMZ	10–80	5,6 <sup>1</sup>	16	EMZ (A)
DMZ	10–80	8,4 <sup>1</sup>	16	MNZ (A)
HDZ	10–80	6,3 <sup>1</sup>	16	EMZ (A)
HDZ	10–80	6,9 <sup>1</sup>	16	MNZ (A)
DMZ	10–80	6,2 <sup>2</sup>	8	EMZ (B)
DMZ	10–80	6,0 <sup>2</sup>	8	MNZ (B)
HDZ	10–80	8,1 <sup>2</sup>	8	EMZ (B)
HDZ	10–80	6,6 <sup>2</sup>	8	MNZ (B)

<sup>1</sup> Aus den auf mittleren Sollgehalt normalisierten Werten.

<sup>2</sup> Aus den Wiederfindungen der einzelnen Gehalte.

### *Linearität*

Sowohl nach dem graphischen Residuenverfahren (7) als auch durch Beurteilung der Regressionsgeraden, von welchen Abbildung 2 zwei Beispiele zeigt, kann für alle Kombinationen von Analyten, Standards und Zugabearten (A oder B) im untersuchten Konzentrationsbereich Linearität angenommen werden.



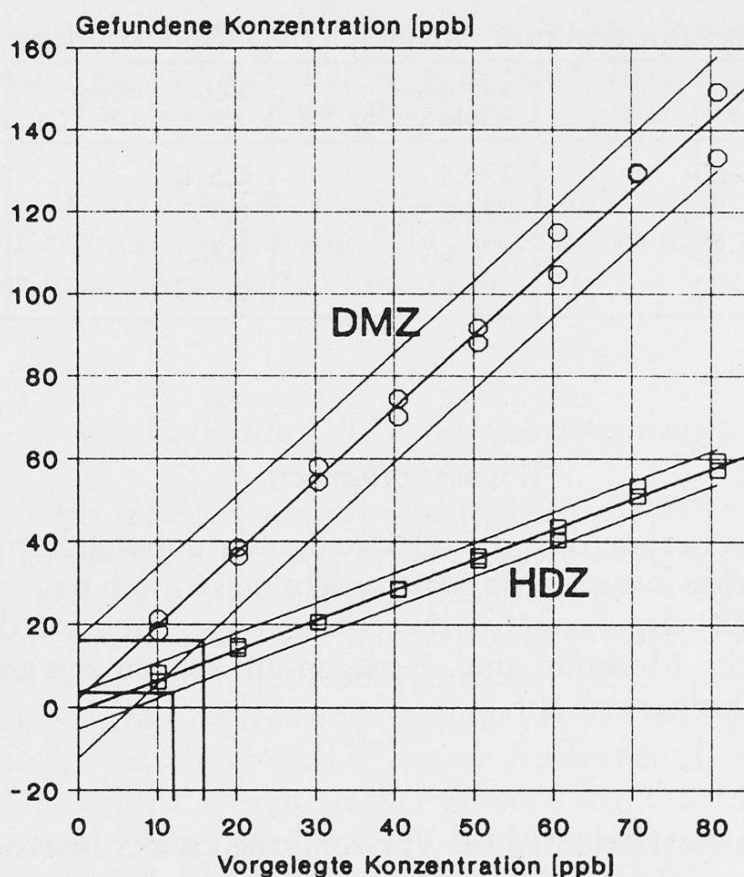


Abb. 2. Eichgeraden mit Prognoseintervallen und Wiederhol-Nachweisgrenzen von DMZ und HDZ mit EMZ als internem Standard nach (A)

### Wiederholnachweisgrenze

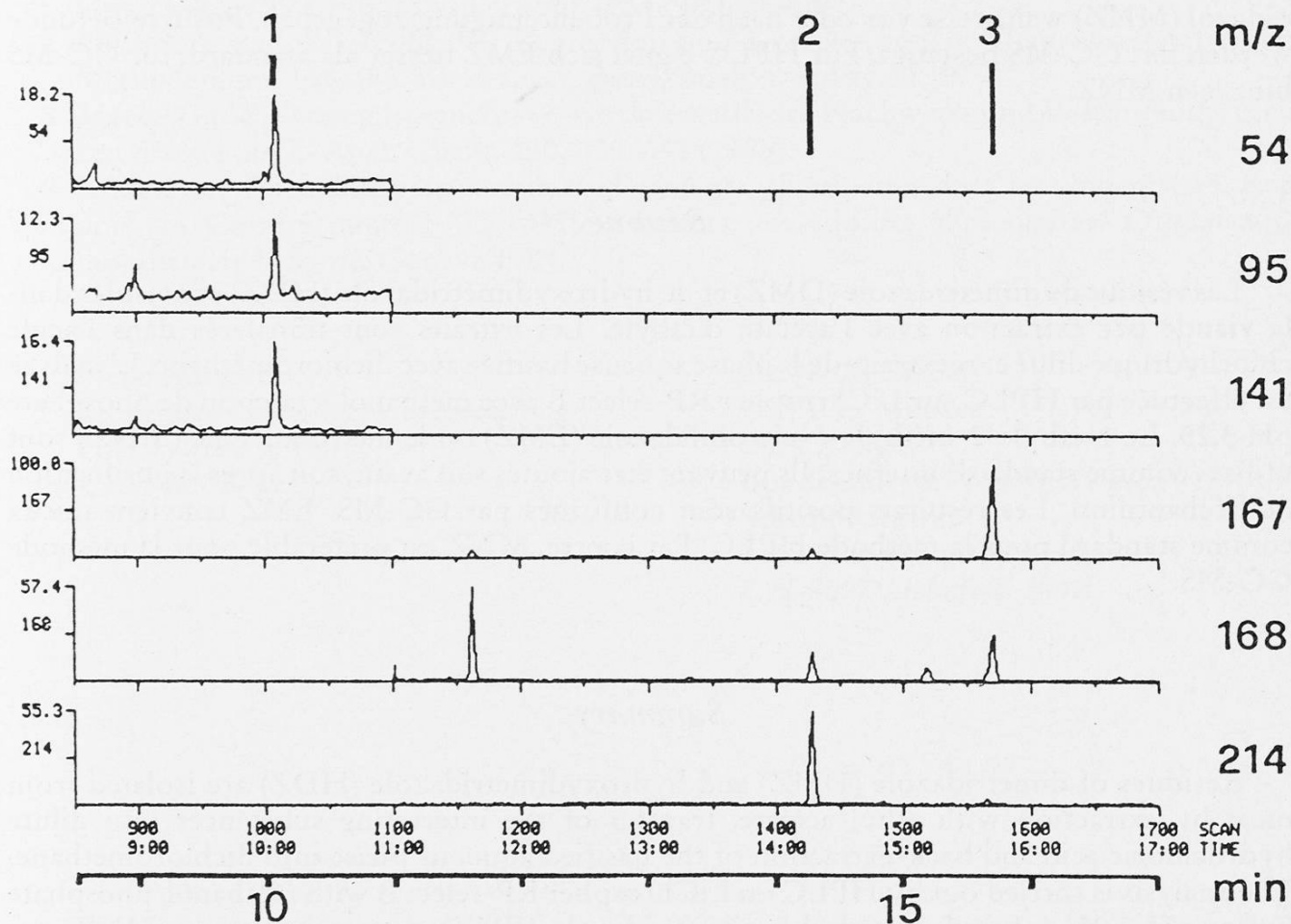
Tabelle 5 zeigt die nach dem Eichgeradenverfahren nach *Mücke* (8) berechneten Wiederholnachweisgrenzen (WNWG) im Vergleich zur dreifachen Standardabweichung (3 s). Am Beispiel von DMZ und HDZ berechnet gegen EMZ (eingesetzt nach A) sind die Prognoseintervalle bei einer Sicherheitsschwelle von 99% und die WNWG in Abbildung 2 graphisch dargestellt. Daraus ist ersichtlich, dass die Steilheit der Regressionsgeraden die WNWG beeinflusst, während die Standardabweichung von der Steilheit unabhängig ist. Für die Bestimmungsgrenze ist daher die WNWG vorzuziehen, welche bei allen Varianten in Tabelle 4 zwischen 10 und 20 ppb liegt. Wie zusätzliche Versuche zeigten, ergeben selbst Gehalte von nur 2 ppb im Chromatogramm noch erkennbare Peaks. Somit liegt die analytische Nachweisgrenze fast eine Größenordnung tiefer als die Bestimmungsgrenze.

Für die HPLC-Bestimmung können demnach sowohl EMZ als auch MNZ als interne Standards eingesetzt werden. Weil EMZ einerseits besser wiedergefunden wird und andererseits, im Gegensatz zu MNZ und den weiteren Nitroimidazolen Ipronidazol und Ronidazol (9), nicht üblicherweise als Medikament eingesetzt wird, ist ihm als Standard den Vorzug zu geben. Die Gefahr, eine in einer Probe bereits als Rückstand vorhandene Substanz als Standard einzusetzen, wird damit umgangen.

*Tabelle 5.* Aus den Regressionsgeraden berechnete Wiederholnachweisgrenzen (WNWG).

Analyt	Gehalt (ppb)	WNWG (ppb)	3s (ppb)	Anzahl <i>n</i>	Interner Standard
DMZ	10–80	16,1	13,8	16	EMZ (A)
DMZ	10–80	20,0	27,6	16	MNZ (A)
HDZ	10–80	11,4	6,0	16	EMZ (A)
HDZ	10–80	10,0	8,7	16	MNZ (A)
DMZ	10–80	14,0	7,2	8	EMZ (B)
DMZ	10–80	9,1	7,5	8	MNZ (B)
HDZ	10–80	12,3	3,6	8	EMZ (B)
HDZ	10–80	11,6	3,3	8	MNZ (B)

Für die Bestätigung mit GC-MS muss die Probe zur gleichzeitigen Bestimmung von DMZ, HDZ und MNZ silyliert werden, da sowohl HDZ als auch MNZ nicht unzersetzt chromatographiert werden. Dabei erweist sich MNZ als günstigerer



*Abb. 3.* GC-MS-Chromatogramm einer Probe mit einem gewachsenen DMZ/HDZ-Rückstand von gesamthaft 10 ppb; (1): DMZ; (2): HDZ, Trimethylsilyl-; (3): MNZ, Trimethylsilyl-

interner Standard als EMZ, da gleichzeitig der Verlauf der Silylierung überprüft werden kann. Die Bestimmung kann wahlweise mit EI oder PCI erfolgen, wobei bei HDZ das wenig intensive Molekölion im EI-Modus nicht zur Bestimmung mit MID verwendet werden kann. Als Beispiel für eine Probe mit einem DMZ/HDZ-Rückstand dient Abbildung 3.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass als interne Standards am besten EMZ vor der Probenvorbereitung für die Analyse mit HPLC zugesetzt wird, währenddem sich für die Bestätigung mit GC-MS ein Zusatz von MNZ unmittelbar vor der Derivatisierung als günstig erweist.

### *Zusammenfassung*

Rückstände von Dimetridazol (DMZ) und Hydroxydimetridazol (HDZ) in Fleisch werden isoliert durch Extraktion mit Ethylacetat, Überführen der Analyten in verdünnte Salzsäure und Rückextraktion der basisch gestellten Wasserphase mit Dichlormethan. Die Analyse erfolgt mit HPLC an LiChrospher RP-select B mit Methanol/Phosphat-Puffer pH 3,25. Als interne Standards werden 1-Ethyl-2-methyl-5-nitroimidazol (EMZ) oder Metronidazol (MNZ) wahlweise vor oder nach der Probenreinigung zugegeben. Positive Befunde werden mit GC-MS bestätigt. Für HPLC eignet sich EMZ besser als Standard, für GC-MS hingegen MNZ.

### *Résumé*

Les résidus de dimétridazole (DMZ) et de hydroxydimétridazole (HDZ) sont isolés dans la viande par extraction avec l'acétate d'éthyle. Les extraits sont transférés dans l'acide chlorhydrique dilué et réextraits de la phase aqueuse basifiée avec dichlorométhane. L'analyse est effectuée par HPLC sur LiChrospher RP-select B avec méthanol – tampon de phosphate pH 3,25. Le 1-éthyle-2-méthyle-5-nitroimidazole (EMZ) ou le métronidazole (MNZ) sont utilisés comme standards internes. Ils peuvent être ajoutés soit avant, soit après la purification de l'échantillon. Les résultats positifs sont confirmés par GC-MS. EMZ convient mieux comme standard pour la méthode HPLC. Par contre, MNZ est préférable pour la méthode GC-MS.

### *Summary*

Residues of dimetridazole (DMZ) and hydroxydimetridazole (HDZ) are isolated from meat by extraction with ethyl acetate, transfer of the interesting substances into dilute hydrochloric acid and back-extraction of the basified aqueous phase into dichloromethane. The analysis is carried out by HPLC on LiChrospher RP-select B with methanol/phosphate buffer pH 3.25. 1-Ethyl-2-methyl-5-nitroimidazole (EMZ) or metronidazole (MNZ) are added as internal standards either before or after a sample clean-up. Positive results are confirmed by GC-MS. EMZ is more suitable as standard for HPLC, whereas MNZ is preferred for GC-MS.



## Literatur

1. *Hobson-Frohock, A. and Reader, J. A.*: Determination of dimetridazol residues in poultry tissues by high-performance liquid chromatography. *Analyst* **108**, 1091–1095 (1983).
2. *Carignan, G., Skakum, W. and Sved, S.*: Dimetridazole residues in pork tissue. 1. Assay by liquid chromatography with electrochemical detector. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 1141–1145 (1988).
3. *Carignan, G., Macintosh, A. I., Skakum, W. and Sved, S.*: Dimetridazole residues in pork tissue. 2. Application of liquid chromatographic method to monitor elimination of drug and its major metabolite. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* **71**, 1146–1149 (1988).
4. *Shaw, I. C., Patel, R. K. P. and Parker, M.*: The Pharmacokinetics of dimetridazole in pigs. In: *EuroResidue, Conf. on Residues of Vet. Drugs in Food*, pp. 331–335. May 21–23, 1990, Noordwijkerhout, The Netherlands.
5. Collaborative study of a method for the determination of dimetridazole residues in chicken tissue. Analytical Methods Committee, Royal Soc. Chem., London, UK. *Analyst* **110**, 1391–1393 (1985).
6. *Patel, R. K. P., Parker, R. M., Chaplin, M. and Hassanali, H.*: High performance liquid chromatographic method for the detection of dimetridazole and hydroxydimetridazole in porcine tissue. In: *EuroResidue, Conf. on Residues of Vet. Drugs in Food*, pp. 294–298. May 21–23, 1990, Noordwijkerhout, The Netherlands.
7. *Linder, A. und Berchtold, W.*: Regression und Korrelation. In: *Elementare statistische Methoden*, pp. 151–188. Birkhäuser, Basel, Boston, Stuttgart 1979.
8. *Mücke G.*: Wie wenig ist «nichts»? – Problematik der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **320**, 639–641 (1985).
9. Evaluation des résidues de certain médicaments vétérinaires dans les aliments. 34. Rapport du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires. Organisation mondiale de la Santé, Genève 1989.

<sup>1</sup> Neue Adresse:  
Eidgenössische Getreideverwaltung  
Hallwylstrasse 15  
CH-3003 Bern

Dr. M. Rychener<sup>1</sup>  
Dr. A. E. Mooser  
Dr. H. Koch  
Bundesamt für Veterinärwesen  
Sektion Chemie  
Schwarzenburgstrasse 161  
CH-3097 Liebefeld-Bern