

Handleiding STIP-spe toxicologie extractieprocedure

Voor theoretische achtergrond informatie zie het bijgevoegde artikel
Van STIP chromatografie naar SPE extractie is een kleine stap.....

Monster: minimaal 1,0 ml te onderzoeken serummonster

Benodigheden/reagentia:

Speedisk : PolarPlus C18, 10 um (J.T. Baker art. 8153-04)

Ao reagens: (water)

A1 reagens: (Acetonitril)

A2 reagens: (Acetonitril + 3% Ammonia 25%)

Buffer PH=3.00 Merck Art 1.09434.1000

Eventueel een geschikte interne standaard opgelost in buffer PH=3.00

Gedemineraliseerd water

Spe Vacuum-Extractiebak./BIJ VOORKEUR EEN POSITIVE PRESSURE
PROCESSOR =PPP

Uitvoering:

- 1 plaats een nieuwe PolarPlus kolom op de vacuum-extractiebak
- 2 plaats een lege opvangbuis onder de kolom
- 3 breng 1,0 ml A2 reagens op de kolom en laat deze door de kolom lopen. (mag de kolom hier droogvallen?)**MISSCHIEN IS BESTE ALGEMENE OPMERKING : KOLOM MAG DROOGVALLEN MAAR NIET DROOG BLIJVEN STAAN(IK ZEG ALTIJD, "MAG DROOGSTAAN MAAR NIET EEN HELE KOFFIE PAUZE OF LUNCH" ALS KOLOM TE DROOG IS DAN KRIJG JE STAP 4 ER NIET DOOR HEEN.....**
- 4 breng 1 ml buffer PH=3,00 op en laat deze voor de helft door de kolom lopen en draai de kraan dicht. LAAT MM ERBOVENSTAAN EN ALS JE NIETS ZIET EN GEWOON DOORWERKT IS OOK GEEN PROBLEEM , HELFT LIJKT ME VEEL.
- 5 laat het restant van de buffer minimaal 2 minuten staan om te conditioneren(GEWOON VERDER GAAN IS GEEN PROBLEEM, PUNT 5+ 6 MOGEN WAT MIJ BETREFT VERVALLEN)
- 6 laat het restant door de kolom lopen en draai de kraan dicht. (droogvallen?)
- 7 breng 2 ml buffer (met daarin opgelost de interne standaard) op de kolom
- 8 voeg hieraan 1,00 ml monster toe en meng het monster met de buffer.
- 9 draai de kraan open laat het geheel langzaam door de kolom lopen.(2 ML/MIN IS CA ,DRUPPELEND, NIET SPUITEND OF SNEL LOPEND, EEN PPP IS BETER INSTELBAR DAN DIE VACUMMBAKJES. IN ONZE MAANDELIJKSE PQ METEN WE DE TIJD EN VERWERKEN IN EXEL FILE.
- 10 zuig de kolom droog m.b.v. het vacuüm. (hoelang?)ER NIETS MEER UIT KOMT, DAT IS 1-2-3 SEC.

Extractie A0 fractie

- 11 plaats een schone buis onder de kolom
- 12 breng 3 ml demiwater op de kolom en laat deze rustig doorlopen (1ml/min?) VOLGENS MIJ BESCHRIJVEN WE 2ML/MIN, WIJ WERKEN MET DRUPPELD, 1 -2 DR/SEC
- 13 zuig de kolom droog m.b.v. het vacuüm (hoelang?) ER NIETS MEER UIT KOMT, DAT IS 1-2-3 SEC.

Extractie A1 fractie(zuur + neutraal)

- 14 plaats een schone buis onder de kolom
15 breng 3 ml A1 op de kolom en laat deze rustig doorlopen (1ml/min?) VOLGENS MIJ BESCHRIJVEN WE 2ML/MIN, WIJ WERKEN MET DRUPPELD, 1 -2 DR/SEC
- 16 zuig de kolom droog m.b.v. het vacuüm (hoelang?) ER NIETS MEER UIT KOMT, DAT IS 1-2-3 SEC.

Extractie A2 fractie(alkalisch)

- 17 plaats een schone buis onder de kolom
18 breng 3 ml A2 reagens op de kolom en laat deze rustig doorlopen. (1ml/min?) VOLGENS MIJ BESCHRIJVEN WE 2ML/MIN, WIJ WERKEN MET DRUPPELD, 1 -2 DR/SEC
- 19 zuig de kolom droog m.b.v. het vacuüm (hoelang?) ER NIETS MEER UIT KOMT, DAT IS 1-2-3 SEC.

20 Damp de buizen met de A1 en de A2 fractie droog bij maximaal 40°C.
HET VERBAAST ME NOG STEEDS DAT MENSEN DURE STIKSTOF GEBRUIKEN, WE WERKEN MET PERSLUCHT.....

21 Injecteer 20 ul van de waterige A0 fractie in het STIP HPLC systeem voor de meting van salicylzuur (en wat zien we hier nog meer, paracetamol?).
KLOPT, VAN BEGIN AF AAN GEVEN WE AAN DAT PARACETAMOL SLECHT TE KWANTIFICEREN IS IN A1. NU MET A0 ZIEN WE DAT DAAR DE PARACETAMOL IN MEE GAAT. DUS PARA SALI, EN SINDS KORT WETEN WE DAT BV VIT B EN ACICLOVIR ZICH OOK IN A0 BEVINDT.....BIEDT PERSPECTIEF VOOR ANALYSES DENKEN WIJ.

- 22 Los de A1 fractie op in 100 ul eluens en injecteer 20 in het STIP HPLC systeem
23 Los de A2 fractie op in 100 ul eluens en injecteer 20 in het STIP HPLC systeem

STIP en STIP-spe zijn methoden ontstaan in het laboratorium van de ziekenhuisapotheek Noord-Oost Brabant, Deutersestraat 2, Den Bosch.
Voor meer info: C.Pijnenburg@zanob.nl