



Chromatografie

KWANTITATIEVE BEPALING VAN OP-DDD IN SERUM M.B.V. HPLC-RP EN UV-DETECTIE.

C.J. Veenstra,
Laboratorium Apotheek AZVU,
De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam.
R. Philipse,
Laboratorium St. Centrale Ziekenhuisapo-
theek,
Hervensebaan 2, 5232 JL Den Bosch.
Synoniemen:
Lysodren, mitotaan.

Metaboliëten:
OP-DDE.

Principe:
OP-DDD en metaboliët OP-DDE worden bij
pH 2.9 uit serum geëxtraheerd met
hexaan. Het residu wordt geïnjecteerd op
een HPLC-RP systeem. De detectie vindt
plaats met een UV-detector bij 230 nm.

Apparatuur:
HPLC -pomp: VARIAN 9010
Detector: variabele golflengte detector
(model 785A, Separations).
Shimadzu-integrator: attenuation 6, na 8
minuten attenuation 2.
Valco injectiekraan.
Kolom: Hibar prepacked column RT 250-4,
Lichrosorb RP-select B (5 μ), firma
Merck artno. 19608.
Guardkolom: guard-pak C18 (firma Waters
artno. p/n 85824).
Flow: 1.0 ml/min.
Golflengte: 230 nm.

Grondstoffen:
Citroenzuur.1H₂O (OPG).
Acetonitril HPLC grade (Rathburn, artno.
RH1015).
Fosforzuur 85% (Merck, artno. 573).
n-Hexaan Lichrosolv (Merck artno. 4391).
Methanol p.a. (Baker artno. 8045).
Kaliumhydroxide (EKA).

Reagentia:
10 mM citroenzuur pH 2.9 (1.92 g/l).
50% Kaliumhydroxide.

Interne standaardoplossing: ketazolam
40 ng/ μ l methanol.

Werkoplossing: OP-DDD 207 ng/ μ l en OP-
DDE 24.4 ng/ μ l methanol.

Extractievloeistof: hexaan.

Mobiele fase: acetonitril:buffer=75:25
(buffer= 1000 ml aq.dest+1 ml fosforzuur
85% (op pH 3.0 met 50% KOH).

Monster:
Bewaren bij -20 °C.

Werkwijze:
Pipetteer in verschillende extractiebui-
zen met ingeslepen stop:
a) 250 μ l standaarden (5, 10, 20 en 30
 μ l werkoplossing aan 250 μ l serum).
b) 250 μ l patiëntens serum.
Voeg vervolgens aan alle buizen toe:
15 μ l interne standaard oplossing.
50 μ l 10 mM citroenzuur pH 2.9.
5 ml extractiemiddel (hexaan).
Vibromix gedurende 1 minuut.
Centrifugeer 5 min. bij 3500 rpm.
Pipetteer de organische laag over in een
schone tepelbuis.
Damp in d.m.v. perslucht bij 37 °C en
los op in 500 μ l mobiele fase.

Inj.hoeveelheid:
25 μ l.

Berekening:
D.m.v. interne standaard methode.

Ondergrens:
OP-DDD: 0.1 mg/l (3 x ruisniveau).
OP-DDE: 0.1 mg/l.

Standaarddeviatie:
OP-DDD: 0.6 % (n=6, 16.6 mg/l).
OP-DDE: 0.8 % (n=6, 1.95 mg/l).

Recovery:
OP-DDD: 86.9 % (n=6, 16.6 mg/l).
OP-DDE: 77.4 % (n=6, 1.95 mg/l).
Ketazolam: 95.9 % (n=6).

Corr.coef:
OP-DDD: 0.999 (n=3, 0 - 40 mg/l).
OP-DDE: 0.999 (n=3, 0 - 4 mg/l).

Opmerking:
Bij een dosering van 12 en 13 gram/dag
zijn bij ons bloedspiegels gemeten va-
riërend van 10 tot 30 mg/l voor OP-DDD
en van 1 tot 4 mg/l voor OP-DDE.

Veiligheid:

OP-DDD is een cytostaticum.

Chromatogram:

HPLC chromatogram van een serum extract.

Serum concentraties: OP-DDD: 16.6 mg/l

en OP-DDE: 2.0 mg/l.

