



Themamiddag Monstervoorbewerking.

samenvatting door Rob Kaletzky
Ziekenhuis Apotheek Midden Brabant
TweeSteden ziekenhuis, Tilburg

Op 14 mei 1998 werd er traditie getrouw voorafgaande aan de algemene ledenvergadering een themamiddag gehouden. Het onderwerp van deze middag luidde: "Monstervoorbewerking". Er waren een viertal sprekers c.q. spreeksters, die verschillende aspecten van de monstervoorbewerking bespraken.

I. De analyse van monsters in het algemeen, J.R. Veraart VU Amsterdam.



De heer Veraart opende zijn presentatie met de opmerking dat onder **de analyse** niet alleen verstaan wordt het injecteren van een monster in bijvoorbeeld een HPLC, maar dat er meer aspecten zijn, die onderdeel zijn van **de analyse** als geheel. De analyse bestaat uit: het monster, de monstername, monster stabilisatie, monstervoorbehandeling, monsterbehandeling, scheiding, kwantitatieve analyse, data acquisitie, data interpretatie en uiteindelijk de besluitvorming van het resultaat.

Monstervoorbewerking bestaat uit o.a.

- centrifugeren, pH instelling, verdunning, onteiwitting, ultrafiltratie, indampen, complexvorming, denaturatie, bevriezing, hydrolyse, dialyse etc.

Voor de behandeling van het monster wordt er eerst naar de toe passen behandelingstypes gekeken.

Monsterbehandeling

- stabilisatie/ oplosbaarheid/ het ontrekken van de stof aan de biologische matrix/ het verwijderen van endogene componenten.

Voor de keuze van de behandelings-technieken moet men eerst vaststellen wat men wil bereiken met de behandeling.

Zie tabellen 1 en 2

Indien deze extractie technieken niet toereikend zijn dan zijn er nog andere oplossingen, die wel als tweede keus gezien moeten worden vanwege de moeilijkheidsgraad.

Overige extractie technieken zijn:

- terugextracties
- Ionpaar extractie
- microgolven (magnetron)

De magnetron is een nog heel onbekend fenomeen. In de farmacie nog niet doorgedrongen, maar op ander gebied (milieu) zijn er wonderlijke zaken mee te doen. Het voordeel is dat het zeer snel gaat, als voorbeeld pesticiden uit zand. De normale extractie technieken vergen enkele uren, terwijl met de magnetron in 5 minuten een volledige extractie plaats heeft gevonden. Geschikte oplosmiddelen zijn daarbij: ethanol, methanol, propanol-1 en propanol-2. Deze oplossingen zijn zeer snel opgewarmd waardoor de te onderzoeken component zijn binding met de matrix verbreekt. De uitvoering is als volgt: 10 sec. in de magnetron opwarmen - vervolgens schudden en dit driemaal herhalen. Let er op dat de tijd in de magnetron maar zeer kort is, anders kun je alles van de wanden vegen.

Scheiding van component met de matrix

- toepassing van geschikte kolommen voor direct serum injectie ISRP (internal surface reversed-phase columns).
- kolomswitching techniek, prekolom scheiding voor de matrix waarna de component over de analysekolom gevoerd wordt.

De heer Veraart gaf met zijn presentatie een uitgebreid overzicht van bestaande methodes (lees bekende), maar ook andere minder gebruikelijke methodes werden toegelicht zodat er voor de toekomst weer heel wat te experimenteren valt voor onze analyse.



II. SPE door R. Langen, TweeSteden ziekenhuis Tilburg.

De toepassing van de solid phase extractie en de valkuilen werden in deze presentatie uiteen gezet. Solid phase wordt voor 2 doeleinden toegepast:

- a. om de monstercomponent selectief te vertragen en dan te concentreren.
- b. om storende matrixcomponenten selectief te vertragen.

Bij gebruik van de solid phase kolommetjes wordt vacuüm, overdruk en/of centrifugeren toegepast om het te bepalen eluaat te verkrijgen. Het te kiezen materiaal in de kolommetjes hangt af voor welke

Tabel 1

Doel:	Techniek:
concentratie	indampen/ solid phase/ ultrafiltratie/ liquid-liquid extr./ precipitatie/ kolom switching
verwijdering hoog-moleculaire componenten	hydrolyse/ solid phase/ liquid-liquid extr./ onteiwitting/ magnetron/ ultrafiltratie/ kolom switching
verwijderen laag- moleculaire componenten	solid phase/ liquid-liquid extr./ ultrafiltratie/ kolom switching
oplosbaarheid	chemische modificatie/ complexatie/ hydrolyse/ pH instelling/ enzym inhibitie
stabilisatie	chemische modificatie/ dehydratatie/ enzym inhibitie/ covalente labelling/ bevriezen/ lyophylliseren/ hydrolyse

Tabel 2 De voor en nadelen van de diverse technieken

techniek	voordeel	nadeel
onteiwitting	snel/ efficiënte verwijdering eiwitten	occlusie van de analiet/ monster verdunning/ automatisering moeilijk
liquid-liquid	makkelijk/ veel literatuur/ specifiek/	emulsie vorming/ moeilijk te automatiseren/ afval schadelijke oplosmiddelen
solid phase	snel/ te automatiseren/ schonere monsters/ kleine biologische monsters/ hoge reproduceerbaarheid	
ultrafiltratie	geen monsterverdunning/ detectie van niet eiwit gebonden componenten	moeilijk te automatiseren/ membraan binding is mogelijk
dialyse	te automatiseren/ detectie van niet eiwit gebonden componenten	monster verdunning/ 50 % recovery/ langzaam evenwicht

Tabel 3 SPE Mechanisme en vaste fasen

mechanisme	reversed phase	normal phase
vaste fase	C18, C8, C2 Fenyl, Cyclohexyl, Cyanopropyl	Silica., Diol, Cyano, Amino, di- Amino
analyte type	niet- polaire functionele groepen: alkyl en aromaten	Polaire functionele groepen: amine en hydroxyl
matrix type	polaire oplossingen, waterige buffers	niet polaire oplossingen
eluens	polair oplosmiddel: methanol, water, acetonitril	niet polair oplosmiddel: hexaan, dichloormethaan

Tabel 4 SPE Mechanisme en vaste fasen

mechanisme	kation wisseling	anion wisseling
vaste fase	sterk (sulfonzuur) zwak (carboxylzuur)	sterk (tetra-alkylammonium)
analyte type	positief geladen functionele groep: amines	negatief geladen functionele groep: organische zuren
matrix type	waterige, lage ionsterkte	waterige, lage ionsterkte
eluens	buffers, pH >	buffers, pH <

toepassing men de extractie wil gebruiken. De volgende soort kolommetjes zijn er met hoeveelheden van 50 mg tot 1000 mg pakingsmateriaal.

Zie tabellen 3 en 4

Naast deze bekende fasen zijn er tegenwoordig ook kolommetjes met gecombineerde fasen

- a. Mixed Mode
 - kation wisseling/rev. phase
 - anion wisseling/rev. phase
- b. Polymeer Hydrophyllic-Lyophilic Balance (HLB)

Alvorens solid phase toe te passen moet men goed overdenken wat men wil bereiken. Dit alles valt onder de noemer van methode ontwikkeling.

Methode ontwikkeling

Wat wil ik bereiken met mijn extractie techniek?

- a. analyte concentrering/opzuivering
- b. matrix verwijderen

Voor welke techniek? (GC,HPLC, UV, HPCE)

- a. evalueer de analytische waarden m.b.t. detectie techniek van de te gebruiken analyse methode.
- b. karakteriseer de analyte op: de polariteit, pKA waarde, oplosbaarheid en interactie tussen de analyte, matrix, sorbent en oplosmiddel.

Dit alles leidt tot het overzicht van een voorlopige methode, waarin de volgende keuzes gemaakt zijn.

Tabel 5

selectie van	extractie techniek
	sorbent
	was en elutie vloeistof
bepaling van	extractie opbrengst
evaluatie	van de voorlopige methode

Het spreekt vanzelf dat de uitkomst niet altijd meteen het gewenste resultaat oplevert.

Voor de optimalisatie van de extractie moet men aan de volgende onderdelen denken:

- a. controleer retentie van analyte tijdens opbrengen en wassen van de kolom.
- b. stel een elutieprofiel op voor verschillende eluentia en volumina.
- c. controleer blanco en spike matrix.

De voordelen van SPE zijn al onder het artikel van Veraart vermeld. Verder dient opgemerkt te worden dat de SPE-kolom van de ene leverancier niet altijd gelijk is aan die van een andere leverancier. Verschillen in extractie opbrengsten van 100% t.o.v. 60% komen voor. Ook bij verschillende charges kunnen er afwijkingen in opbrengsten optreden. Verder is het zo dat een ontwikkelde methode met gebruikmaking van een zogenaamd 'vacuüm manifold' niet zomaar over te zetten is naar een geautomatiseerd systeem zoals de ASPEC. Een automaat is op verschillende manieren te programmeren in welke volgorde hij de aangeboden monsters afwerkt. Het bleek namelijk dat in de stand batch verwerking (60 monsters) de lange tijd van afwerking tussen opbrengen van het eerste monster vervolgens het volgende monster etc., dan het wassen van monster 1 tot 60 vervolgens elueren van monster 1 tot 60 een zeer slechte recovery opleverde bij de cannabinoïden. Van cannabis is bekend, dat het zich makkelijk hecht aan plastic. Door toevoegen van 10% 2-propanol aan het gedegluconeerde monster, waardoor de waterfase meer aantrekkelijk wordt voor het cannabis monster, en alle stappen van extractie per monster af te werken (sequentiële verwerking) ging de extractie opbrengst van 0% ! via 48% (VC=9%) tot 77% (VC=5%). Als voorbeelden van toepassingen binnen het laboratorium van het TweeStedenziekenhuis zijn o.a. β -2 agonisten (clenbuterol) en β -antagonisten in doping controle, de eerste in de klinische toepassing van astma en de tweede in de klinische toepassing bij hartritme stoornissen.

Valkuilen

- droogvallen van het kolom bed.
 - flowsnelheid: laden en elutie.
- Bij SPE moet het monster de tijd krijgen om te reageren. In het verleden zijn vele collega's teleurgesteld geraakt over deze techniek, maar dit kwam vooral door deze twee punten. Voornamelijk bij het tweede punt: de te korte tijd van laden en de te hoge snelheid van elutie heeft vaak geleid tot lage extractie opbrengsten.

Ontwikkelingen

SPE disks of microkolommen met een deeltjesdiameter van 8 - 10 μ m tussen de filters zijn nu beter te verkrijgen dan een paar jaar geleden. De voordeelclaims zijn:

- hoge extractie-efficiëntie
- verminderd risico voor channeling
- minder dood volume; lager verbruik van oplosmiddelen

De solid-phase extractie heeft toekomst, naast de nieuwste ontwikkelingen zijn ook de voordelen van het gebruik van minder schadelijke vloeistoffen en het gemak van automatisering bij deze extractie techniek een groot voordeel voor een minder belast milieu in de toekomst.

III. Derivatisering door J. Hoek, Deltalab te Poortugaal.



Hoewel zij zelf op het laboratorium zo min mogelijk derivatiseren kregen we een duidelijk overzicht van wat er mogelijk was. Het derivatiseren komt pas om de hoek kijken bij probleemgroepen van de te analyseren component. Thermolabiele groepen moeten omgezet worden naar stabiele soortgenoten. Verder maakt

Tabel 6

derivatisering	doelgroep	reagens	detectie
alkyleren	aktieve H's/ carbonzuren/ fenolen/ bep. amines	BF3- methanol/ Meth. elute tm reagens/ methyl-8 tm reagens	FID , GC-MS alkylderivaten
sileren	alcoholen/ amines/ carbonzuren/ steroiden/ fenolen/ alkaloiden	BSA/ BSTFA/ BSTFA + TMCS 1-10%	GC-MS, tbv DOA's TMS derivaat
acetyleren	hydroxyl/ prim-sec amines/ thiol/ carbonzuren	TFAA/ PFAA/ HFAA TFAI/ PFPI/ HFBI	FID/ ECD/ GC-MS trifluor azijnzuur derivaat

Tabel 7

voordelen	nadelen
geen tailende pieken	monstervoorbewerking uitgebreid en ingewikkeld
grotere gevoeligheid	overmaat reagens geeft vervuiling op de GC
componenten zijn vluchtiger	bibliotheek search is niet standaard mogelijk

Tabel 8 A. Monstervoorbewerking vette zetpillen

één fase extractie (dispersie, methanol)	- verwarmen met polair oplosmiddel - na goed roeren, afkoelen in ijsbad - vetmassa filtreren of centrifugeren
twee fasen extractie (oplosbaarheidsproblemen)	- apolair oplosmiddel om vet op te lossen (iso-octaan) - extraheren met polair oplosmiddel (methanol-water)
ontvetten van de massa (ouderwetse methode)	- vetmassa oplossen in petroleumether - affiltreren van anorganische verbindingen of zouten van organische verbindingen

Tabel 9 B. Monstervoorbewerking capsules (poeders, tabletten)

één fase extractie	- water als oplosmiddel - methanol/water als oplosmiddel - zoutzuur 0,1 M als oplosmiddel - ethanolische zoutzuur 0,1 M
---------------------------	--

Tabel 10 C. Monstervoorbewerking van crèmes met paraffine

twee fasen extractie	- dispersie in methanol, schudden met cyclohexaan of iso-octaan - waterige suspensie schudden met chloroform
dispersie van de crème	- oplossen: chloroform of methanol of mengsel - ultrasoonbad - verwarmen - koelen in ijswater - centrifugeren - filtreren door membraanfilter
dehydratie (crèmes, die water bevatten)	- dispersie in chloroform - filtreren over silicagel of natriumsulfaat

het nogal uit welke techniek je gebruikt voor de analyse.

Derivatisering voor GC analyses

Probleemgroepen: hydroxyl, primair amine, secundair amine, thiol, carbonzuur. De keuze van reagens moet vaak zelf in de praktijk uitgevonden worden.

Zie tabel 6

Bij sileren heb je als nadeel dat de overmaat van TMS vervuiling van de kolom geeft. Bij acetyleren kan door toevoegen van trifluorethaan het ontstane zure tussenproduct worden weggevangen. Resumerend zijn de volgende voor- en nadelen te noemen.

Zie tabel 7

Derivatisering voor HPLC analyses

Polaire groepen zijn voor HPLC analyses chromatografisch gezien geen probleem alleen de gevoeligheid van detectie is hier een probleem. Door gebruikmaking van fluorescentie kan vaak een factor 100 gewonnen worden. Een nadeel kan zijn dat er een tweede pomp in het systeem moet opgenomen worden om het reagens toe te voegen. Tevens wordt er als eis gesteld dat de kleppen van de pomp vanwege het reagens uit teflon moeten bestaan.

- Pre-kolom (off-line/on-line) mbv OPA- reagens en fluorescentie detectie (v.b. aminozuren).
- Post-kolom (on-line), voorbeelden vitamine B1, vitamine B6, thiamine en fluvoxamine.

In de praktijk blijkt dat bij een confirmatie van benzoyllecgonine een concentratie van 5 ng/ml in de ruis van het chromatogram ten onder gaat. Een concentratie van 25 ng/ml geeft een tailende piek. Door derivatisering met TFA ontstaat een piek die van je papier loopt. Je wint dus ontzettend in gevoeligheid. Door echter gebruik te maken van de GC-MS kun je met je massa detector en een

drugs bibliotheek toch de 5 ng/ml meten en kwalificeren. Het nadeel van de derivatisering is dat de gede-derivatiseerde component niet in de DOA bibliotheek voorkomt en je dus zelf een bibliotheek zou moeten opbouwen.

(Noot ondergetekende: juist bij confirmaties wordt derivatisering gebruikt om meer specificiteit en een betere detectie van de te onderzoeken componenten te verkrijgen).

Ook Jani kwam afsluitend met de uitspraak probeer het simpel te houden als het kan, maar probeer ook eens het uitstapje naar derivatisering.

IV. Rechtstreekse plasma injectie door K. Hoogtanders AZM te Maastricht.



De keuze voor direct plasma injecties voor HPLC komt voort uit het gegeven dat 30% van de fouten in de analyse bij de monster voorbereiding ligt en dat deze monster voorbereiding 60% van de totale analyse tijd vergt. Het voordeel van de direct plasma injectie is dan ook:

- minder tijdrovend
- minder handelingen, dus de kans op fouten is minder
- geen organische oplosmiddelen, milieu vriendelijker bepalingstechniek
- weinig monster nodig (100 µl, neonaten)

Voor de toepassing van de rechtstreekse plasma injectie is naar 3 kolommen gekeken van verschillende firma's. De HI-SEP kolom, de Biomatrix kolom en de Lichrospher ADS kolom.

Het principe van de kolommen berust op de ruimtelijke uitscheiding van grote moleculen (eiwitten e.d.) in de oplossing van de te analyseren component.

De HI-SEP kolom

Bij deze kolom is onderzoek verricht naar verschillende retentietijd mechanismen. Een van de geneesmiddelen, die hierbij gebruikt zijn, is carbamazepine. Bij de bepalingen op deze kolom kwamen de volgende nadelen naar voren:

- beperkte keuze van het eluens
- de hoeveelheid modifier
- het pH bereik

Bij grotere series neemt de kolom performance af en sterk wisselende retentietijden waren het gevolg. De kolom is duur in aanschaf en de levensduur is maar kort.

Biomatrix kolom

Deze kolom met zijn alkylketens en fenylgroepen heeft de volgende eigenschappen:

- hydrofobische retentie.
 - ionwisseling mechanisme.
 - pi-pi interactie door de fenylgroep.
- Vanwege deze eigenschappen is gekeken naar de toepassing in de STIP tox screening. De zure componenten in het standaard STIP mengsel zoals salicylzuur, amobarbital werden slecht vertraagd (stoffen met een retentie < 0,5 mg/l zijn niet te detecteren. Stoffen, die niet of nauwelijks extraheerbaar zijn kunnen eventueel gemeten worden. Het verdere voordeel van deze kolom in een kolomschakeling opstelling is wel dat er maar 1 keer geïnjecteerd hoeft te worden voor STIP, dwz er is geen zuur of basisch extract nodig. Immers er wordt met direct serum injectie gewerkt. Voor de toepassing van geneesmiddelen met een therapeutische concentratie van 5 - 100 mg/l is deze kolom geschikt. Het antibioticum cotrimoxazol is op deze kolom onderzocht.

ADS kolom

Bij deze kolom (type ISRP kolom, zie presentatie Veraart) wordt gebruik



gemaakt van het reversed-phase mechanisme. Met water was er nog een vertraging van 10 minuten, maar door toevoegen van een zeer geringe hoeveelheid methanol liep de retentie tijd al terug naar 2-3 minuten. Ion-pair mechanisme (heptaansulfonzuur als tegen ion) gaf wel voldoende vertraging om een bepaling op te zetten. Het antibioticum meropenem is op deze kolom onderzocht.

Grote series monsters (55) gaven echter problemen, het piek oppervlak nam tot 60% af. Het probleem is echter dat meropenem bij kamertemperatuur al ontleed zodat er in de tijd een afname in concentratie te verwachten is. Om dit probleem te omzeilen wordt daarvoor het monstercompartiment in de injector gekoeld en heeft de spoelfase een lagere pH. De stabiliteit van meropenem is bij - 20°C een stuk beter dan bij kamertemperatuur. Meropenem is echter pas stabiel bij - 70°C! Bij de validatie kwam deze bepaling uit op een detectiegrens van 0,6 mg/l. De interassay VC, de specificiteit, de selectiviteit t.a.v. gebruikelijke co-medicatie zag er prima uit.

Het gebruik van direct plasma injecties kent vele voordelen, maar men moet eerst een uitgebreide methode ontwikkeling uitvoeren alvorens dit tot goede resultaten leidt en alleen grote series geven in de gehele opstelling de voordelen van deze techniek.

V. Monstervoorbewerking in preparaten, O.S.N.M. Smeets (WINAp, LNA) te Den Haag.



Als laatste spreker kwam de heer Smeets van het Wetenschappelijk Instituut van de Nederlandse Apothekers (WINAp) aan het woord. De heer Smeets is inmiddels geen onbekende meer voor ons en ook deze keer wist hij ons weer belangrijke informatie te verstrekken over de praktische toepassing van analyses voor de producten in de apotheek.

Voor de analyse van producten, die gebruikt worden in farmaceutische toedieningsvormen geldt dat een monstervoorbewerking uitgevoerd wordt om een afscheiding te krijgen van een of meer stoffen en de component die moet worden bepaald. Dit geldt voor de volgende stoffen:

- hulpstoffen (matrixeffecten)
- andere werkzame componenten
- ontledingsproducten.

De vraag die dan gesteld wordt is; hoe kan ik deze storende stoffen kwijt raken en welke eenvoudige analyse kan ik gebruiken voor het bepalen van de farmaceutische component. Ook de heer Smeets kwam, gezien de ervaring met de LNA ringonderzoeken, met de opmerking "houdt het eenvoudig". In de prak-

tijk blijkt, dat vaak nog de eenvoudigste methode de beste resultaten geeft. Controleer je voorschriften en loop zeker nog heel oude voorschriften na of de toegepaste methode niet eenvoudiger kan. De volgende drie toedieningsvormen worden nader bekeken:

- A. de zetpillen (vette zetpillen)
- B. capsules, poeders, tabletten (mogelijke absorbtie problemen door de toegevoegde hulpstof SiO₂)
- C. crèmes (bevatten water en vet, zalven alleen vet)

Ook hier weer als nadeel van monstervoorbewerking de kans op fouten en de hogere kosten.

Om een analyse voorschrift op te stellen gaat men als volgt te werk:

Beslissingen

- clean-up (wel of niet)
- keuze van clean-up methode
- keuze van eindbepalingsmethode (UV, HPLC, titrimetrisch)

Belangrijke factoren

- chemische en fysische eigenschappen van het geneesmiddel
- chemische en fysische eigenschappen van de hulpstoffen
- verlangde selectiviteit en gevoeligheid (vrijgifte of stabiliteit)
- voorkeur van de onderzoekers

Let er vooral op dat de voorschriften, die vermeld staan in de Amerikaanse-, Duitse- en Japanse farmacopee niet altijd even doelmatig zijn. Dit komt omdat deze voorschriften niet opgesteld worden voor specifieke toepassingen zodat er rekening gehouden moet worden met allerlei storingen van diverse

Tabel 11

alcohol 96% dichloorethaan-water(65-25-10)	hydrocortison/salicylzuur/benzoëzuur
alcohol 96% iso-octaan/water (85-5-10)	chloorhexidine
ethylacetaat-azijnzuuranhydride(96-4)	clioquinol
alcohol 96%-water (90-10)	triamcinolonacetonide
methanol	tretinoïne

stoffen. Dit soort uitgebreide voorschriften wordt dan ook vaker gebruikt bij stabiliteitsonderzoeken voor registratie van nieuwe geneesmiddelen. Voor de "vrijgifte analyse" in de apotheek kan er een eenvoudiger analyse ontwikkeld worden, want wij weten precies welke stoffen er in het preparaat zitten en wij hoeven ons daarom alleen te richten op de ons bekende eventueel storende stoffen. Bij de zetpillen wordt het apolaire geneesmiddel in een polaire basis opgenomen of andersom om de afgifte zo goed mogelijk te maken.

Bij de analyse van zetpillen is er onderscheid te maken in twee soorten:

a. op waterige basis

- geen clean-up

b. op vette basis,

- geen clean-up
- concentratie stof in zetpil
- specifieke extinctie, ligging
- maximum

Oplosmiddel: dichloorethaan-alcohol-sterk azijnzuur.

- wel clean-up

Bij de zetpillen met waterige basis komen we polyethyleenglycolen tegen, die geen UV absorbtie hebben. Maar de zetpillen met vette basis (Witepsol) geven wel veel sto-

ring in het UV gebied van 245-220 nm. Een ontsnappingsoplossing kan zijn om de tweede afgeleide UV te meten. Het continue achtergrond signaal wordt op deze manier weggefilterd. Als voorbeeld morfine zetpillen. Indien het niet anders kan dan een monstervoorbewerking bij vette zetpillen.

Zie tabel 8

Voor de toepassing van het "ontvetten van de massa" heb je veel ervaring nodig wil je reproduceerbaar werken!

Zie tabel 9

Voor deze extractie geldt:

- krachtig schudden (hand, vortex, ultrasoon)
- eventueel verwarmen op waterbad
- filtreren of centrifugeren.

Tabletten moeten altijd goed fijn gewreven zijn. Problemen geven met name preparaten die laag gedoseerde stoffen bevatten, stoffen die moeilijk oplosbaar zijn (prednisolon, prednison) en stoffen die adsorberen aan de capsule. Bij meerdere componenten in een produkt wordt de HPLC toegepast als bepalingsmethode. De voorbewerking blijft hetzelfde.

Zie tabel 10

Op het gebied van de crèmes is er een behoorlijke standaardisatie in Nederland. Naast de hierboven beschreven basis zijn er nog twee op FNA-basis met sorbinezuur.

Hierbij kan men vrij recht toe recht aan de bepaling uit voeren. Deze twee kunnen altijd zonder clean-up en als basis hebben deze crèmes lanette of cetomacrogol. De uitvoering is als volgt:

- oplossen in geschikt oplosmiddel
 - eventueel zacht verwarmen (denk aan ontleding)
 - schudden (hand, vortex, ultrasoonbad)
 - zo nodig centrifugeren of filtreren
- De volgende oplosmiddelen kunnen hierbij gebruikt worden:

Zie tabel 11

Er is gelukkig nog heel wat mogelijk en indien men toch nog voor problemen komt te staan: één telefoontje naar het LNA en men heeft daar meteen de juiste oplossing of men kan hints geven welke weg het best te proberen is zonder al te veel werk te steken in een uitgebreide monstervoorbewerking.