



Analyse commissie

De beste HPLC-kolom ?

18 januari jl. vond in het voormalig Novon kantoor de gebruikersbijeenkomst over HPLC-kolommen plaats. Met een twintigtal mensen afkomstig uit alle windstreken van klinisch-farmaceutisch Nederland zijn ervaringen uitgewisseld over voor- en nadelen en toepassingen van bepaalde kolommen die voor de controle van farmaceutica en voor bloedspiegelbepalingen worden gebruikt. Sinds de introductie van HPLC in apothekelaboratoria rond de zeventiger jaren is er veel veranderd op het gebied van pakkingsmaterialen. Na de straight-phase kolommen met een silicafase kwamen na de zeventiger jaren de gebonden fasen (zoals octadecylsilica (ODS)) op de markt. Met behulp van deze reversed-phase (RP) kolommen konden bijna alle bepalingen op het klinisch farmaceutisch laboratorium worden bepaald. Vanaf de negentiger jaren deden meerdere verschillende fasen (zoals de CN-kolom) en de "base deactivated" kolommen hun intrede in onze laboratoria. De laatste jaren zijn veel verschillende typen kolommen, met veelal dezelfde basis, op de markt verschenen en is dus ook een grote diversiteit aan (RP-) kolommen in de verschillende laboratoria ontstaan.

Naast de enkel hier en daar gebruikte silica-, cyano- en amino-kolommen bevolken vooral de octylsilica- en de octadecylsilicakolommen onze kolommenlades.

Veel gebruikt worden Inertsil ODS kolommen. Deze kolommen verto-

nen geen silanol effecten. Basische stoffen hebben zo geen tailing effect maar hebben daarentegen wel een kortere retentietijd. De kolom geeft een relatief lage tegendruk en kan, zonder significante achteruitgang van de prestaties, voor langere tijd worden gebruikt. De kolom lijkt weinig robuust als het gaat om kleine veranderingen in eluens, waardoor gebruikers altijd zeer nauwkeurig hun eluens moeten bereiden. Als alternatief voor inertsil ODS-2 en ODS-3 zijn er de Prodigy ODS-2 en ODS-3 kolommen welke dezelfde eigenschappen als de Inertsil kolommen vertonen maar een voordeliger aanschafprijs hebben.

De ODS-3 kolom wordt door enkele ziekenhuizen als toxicologische screeningskolom gebruikt i.p.v. de Lichrospher 100 RP-18 kolommen ("STIP"-kolom). De lichrospher kolommen kunnen, net zoals bijna alle RP-kolommen, voor nagenoeg elke RP-HPLC bepaling worden gebruikt. Deze kolom wordt meestal juist met vrije silanolgroepen gebruikt voor de scheiding van meerdere basische componenten. De piekvorm kan dan vaak tegenvallen. Dit in tegenstelling tot bij de Platinum kolom die een meer symmetrische piekvorm geeft bij basische stoffen als de scheiding wordt uitgevoerd op Platinum Extended Polar Selectivity (EPS) kolommen waarbij ook bewust is gekozen voor extra silanolen. Stoffen met een lange retentietijd op Lichrospher kolommen, hebben bij gebruik van een Platinum kolom kortere elutietijden. In tegenstelling tot de meeste (base-) gedeactiveerde kolommen, die allen

een vergelijkbare selectiviteit vertonen voor polaire componenten, laat de Platinum EPS kolom een afwijkende selectiviteit zien. In het algemeen vertonen polaire componenten het grootste EPS-effect d.w.z. meer retentie.

Enkele fabrikanten brengen, als alternatief voor kolommen op polymere basis, kolommen op de markt die bij extreem hoge en lage pH's kunnen worden gebruikt. Door het eluens op b.v. een alkalische pH te brengen kunnen basische stoffen, zoals b.v. tricyclische antidepressiva's, symmetrisch worden gechromatografeerd. Scheidingskolommen die deze eigenschappen bezitten zijn o.a. de "Luna" kolom en de "X-terra" kolom.

Naast deze genoemde kolommen is er nog een breed scala aan RP-kolommen zoals Lichrosorb, Symmetry, Nucleosil etc. Zoals eerder gezegd kunnen nagenoeg al deze kolommen worden gebruikt voor de gangbare RP-HPLC bepalingen en kunnen kolommen moeilijk onderling op hun prestaties worden vergeleken. De titel "beste RP-kolom" kan daarom moeilijk aan een kolom worden toegedicht, temeer daar de ene analist de interferentie van zijn te scheiden componenten met silanolgroepen vervloekt, terwijl de andere analist hier juist dankbaar gebruik van maakt om zijn basische stoffen te scheiden. Er zijn zoals gezegd veel verschillende kolommen. Er zijn echter ook veel verschillende analisten met verschillende smaken en over smaak...