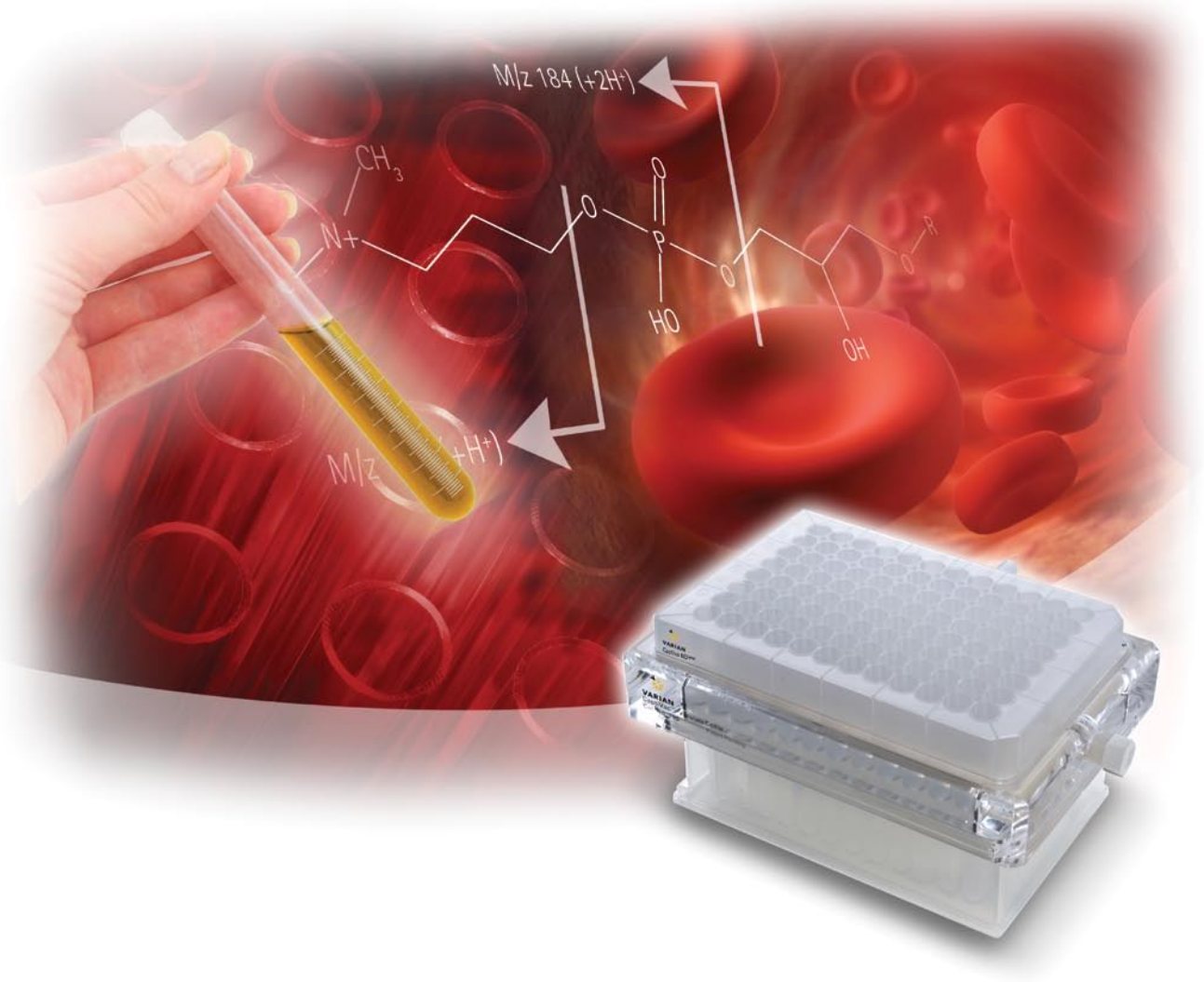
VARIAN, INC.

Captiva™ ND *Lipids*

DIE FILTRATIONSPLATTE ZUR ENTFERNUNG VON LIPIDEN UND PROTEINEN



Hinweis: Varian, Inc. wurde im Mai 2010 von Agilent Technologies übernommen. Dieses Dokument wird zwar zur Verfügung gestellt, ist jedoch nicht länger gültig und enthält nicht mehr gültige Referenzen zu Varian, Inc.. Weitere Informationen finden Sie unter: **www.agilent.de/chem**.

Agilent Technologies

www.varianinc.com

VARIAN, INC.

Bessere Analytik durch Entfernen von Phospholipiden

Einleitung

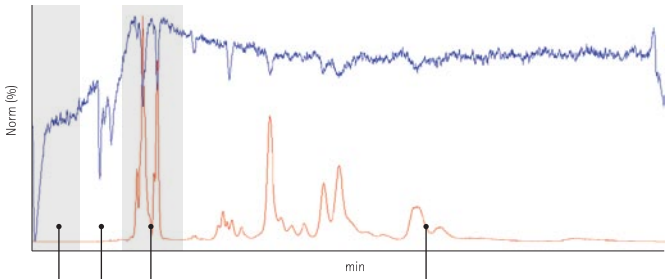
Captiva ND*Lipids* (Non-Drip) ist eine bequem zu benutzende, nicht-tropfende 96-well Filtrationsplatte, die speziell für die Entfernung von Lyso- und Phospholipiden aus biologischen Flüssigkeiten entwickelt wurde. Die mit Captiva ND*Lipids* erhaltenen Plasmafiltrate sind nahezu frei von endogenen Störsubstanzen, einschließlich Lipiden, Proteinen und oberflächenaktiven Substanzen. Die Ionensuppression wird dadurch merklich verringert. Es resultiert eine verbesserte Empfindlichkeit und Methodenpräzision für die Spurenanalytik. Durch das Entfernen von Lipiden werden bessere Peakformen und reproduzierbare Retentionszeiten erreicht, und die Validierung des Verfahrens wird vereinfacht. Außerdem sorgt die schnelle in-well-Präzipitationstechnologie von Captiva ND*Lipids* für hohen Probendurchsatz.

Die Vorteile von Captiva ND*Lipids*

- Mehr als 97 % der störenden Phospholipide und Proteine werden wirksam entfernt, so dass in der quantitativen Spurenanalytik eine höhere Reproduzierbarkeit erreicht wird.
- Die Produktivität wird gesteigert, weil die Standzeit der Trennsäulen verbessert (über 5000 Injektionen) und die MS-Ionenquelle weniger verschmutzt wird.
- Weniger Systemausfälle steigern die Produktivität und senken die Kosten.
- Die Filtrationsplatte ist bequem in der Anwendung, weil nur 3 Arbeitsschritte zu einem reinen Filtrat führen.
- Da für die Mehrzahl von Analyten keine Methodenentwicklung notwendig ist, wird auch wertvolle Arbeitszeit eingespart.

Captiva ND*Lipids (Non-Drip) Filtrationsplatte für die leistungsstarke quantitative Spurenanalytik. * angemeldetes Patent**

Captiva ND^{Lipids} für die anspruchsvolle LC/MS in der Bioanalytik



Lysophospholipide – die Hauptursache von Ionensuppression

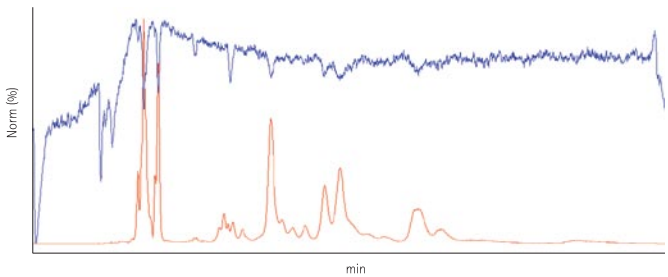
Phospholipide sind die wesentliche Ursache von Ionensuppressionseffekten in der Bioanalytik. Wird die Probenvorbereitung mit Captiva ND^{Lipids} durchgeführt, dann wird die Datenqualität verbessert. Bei herkömmlicher Proteinfällung von Plasmaproben verbleibt ein Großteil störender Interferenzen in der Matrix. Im Vergleich dazu werden unter identischen Fällungsbedingungen mit Captiva ND^{Lipids} mehr als 97 % der Lyso- und Phosphatidylcholinverbindungen entfernt. Dadurch wird die Ionensuppression deutlich verringert.

Salze, polare ionische Verbindungen	Proteine	Lyso- und Phosphatidylcholinverbindungen	Lipide und andere hydrophobe Bestandteile
Signifikante Ionensuppression	Signifikante Ionensuppression	Signifikante Ionensuppression	Ionensuppression, langfristig Aufbau eines lipophilen Filmes in der Säule

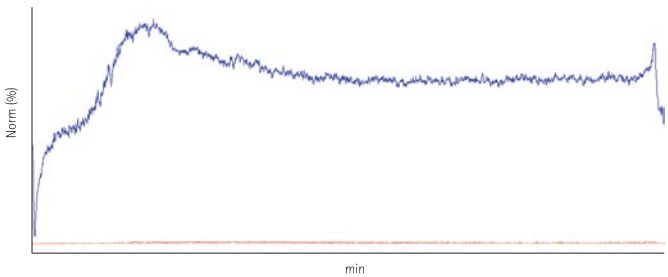
Die verschiedenen Formen der Ionensuppression (blaue Spur: Post-Column Infusionsexperiment mit Albuterol; rote Spur: störende Lipide)

Deutlich verminderte Ionensuppression

Ionensuppressionseffekte durch nicht entfernte Phosphatidylcholinverunreinigungen treten auf, wenn beispielsweise Albuterol als Analyt kontinuierlich „Post Column" zu dem von der Säule eluierenden Plasmaextrakt infundiert wird. Wird Captiva ND^{Lipids} zur Probenfiltration verwendet, dann wird im Vergleich zur konventionellen Proteinfällung ein deutlich reinerer Probenextrakt erhalten. Die Ionensuppression ist signifikant verringert, und es treten keine merklichen Verluste bei ESI-MS auf.



Ein Post-Column-Infusionsexperiment von Albuterol (blaue Spur) belegt die störenden Effekte der Ionensuppression durch Phosphatidylcholininterferenzen (rote Spur.)



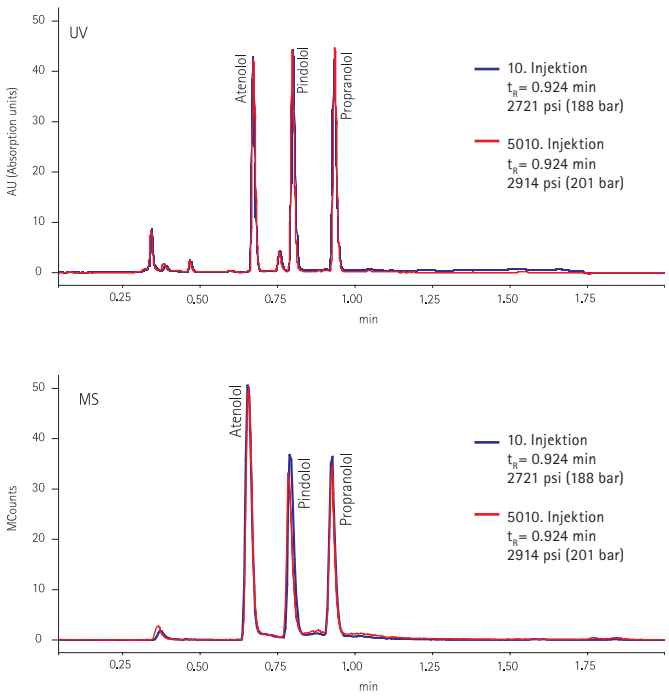
Im Vergleich dazu die deutlich reduzierte Ionensuppression mit Captiva ND^{Lipids} durch annähernd vollständiges Entfernen störender Lipidinterferenzen.

VARIAN, INC.

Höhere Empfindlichkeit und verbesserte Säulenstandzeit

Höhere Empfindlichkeit für robustere Methoden

Werden Plasmaproben mit Captiva ND^{Lipids} vorbereitet, dann wird im allgemeinen eine höhere relative Detektorresponse erzielt. Dies resultiert aus der Steigerung der Empfindlichkeit durch Verringerung der Ionensuppression, weil Captiva ND^{Lipids} Proteine, Lipide und oberflächenaktive Substanzen entfernt. Eine qualifizierte Probenvorbereitung ist Voraussetzung für eine zuverlässige quantitative Bestimmung. Dies gilt insbesondere für die Spurenanalytik. Neben der höheren Empfindlichkeit durch deutlich verringerte Ionensuppression kann die Probenfiltration mit Captiva ND^{Lipids} in der LC zu besseren Peakformen führen. Im qualitativen Vergleich sind die Substanzpeaks nach konventioneller Proteinfällung gewöhnlich breiter, so dass das Signal/Rausch-Verhältnis und damit die Empfindlichkeit der Methode verringert wird. Die Probenfiltration mit Captiva ND^{Lipids} sorgt für ideale Peakformen in der LC. Dadurch wird die Integration der Peaks nicht nur genauer, sondern auch die Reproduzierbarkeit der quantitativen Bestimmung verbessert.



Es treten im Vergleich nach 10 und 5010 Injektionen keine signifikanten Änderungen im Rückdruck, in den Retentionszeiten und den Peakformen auf, wenn die Probenfiltration mit Captiva ND^{Lipids} durchgeführt wird (oben = UV-Detektion; unten = MS-Detektion).

Längere Säulenstandzeit und weniger Wartung des MS-Systems

Kombiniert man Captiva ND^{Lipids} mit der Analytik auf sub 2 µm- oder sub 3 µm Säulen, wie z.B. Pursuit™ XRs $^{Ultra\ 2.8}$ und Pursuit™ $^{UPS\ 2.4}$, dann gehört das Thema des unerwünschten Druckanstiegs der Vergangenheit an. Eine Langzeitstudie, die die Analyse von Betablockern in dotiertem Rattenplasma zum Ziel hatte, belegt eindeutig, dass nach Probenfiltration mit Captiva ND^{Lipids} kein wesentlicher Druckanstieg oder Veränderungen der Retentionszeiten und der Peakformen auftreten – sowohl für UV- als auch MS-Detektion. Selbst nach über 5000 Injektionen resultieren keine auffälligen Veränderungen der genannten Säulenparameter.
Captiva ND^{Lipids} bietet effektiven Schutz für die analytische Trennsäule. So werden Ausfallzeiten durch Säulenwechsel und -konditionierung vermieden.

Die integrierte Kombination von sub 2 µm- oder 3 µm Säulen mit dieser leistungsstarken Filtrationsplatte steigert die Produktivität und reduziert die Kosten – zwei kritische Parameter für Labore mit hohem Probendurchsatz.

Captiva ND^{Lipids} ist das Schutzschild für analytische Säulen und Detektoren. Die Ergebnisse belegen, dass die Ionenquelle weniger Wartung benötigt und sich dadurch weniger Störfälle im täglichen Laborablauf zeigen.

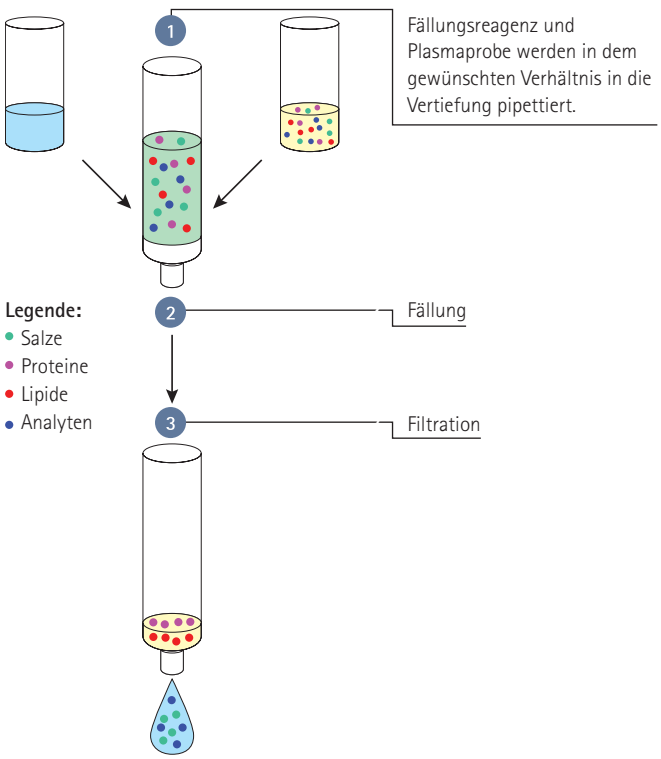
Bequemer Einsatz und universelle Anwendung

Bequeme Probenfiltration in nur 3 Arbeitsschritten

Das Entfernen von Lipiden und Proteinen mit Captiva ND^{Lipids} ist so einfach wie die konventionelle Proteinfällung. Das Fällungsreagenz, meistens Methanol oder Acetonitril, wird in die Vertiefungen (Wells) der Filtrationsplatte gegeben, die dicht sind und nicht tropfen. Danach wird die entsprechende Plasma- oder Serumprobe (50-200 µL) hinzu pipettiert. Da die Fällung schnell ist, wird auch hoher Probendurchsatz erreicht. Die bequeme Probenfiltration - kombiniert mit der Zeitersparnis durch weniger Systemwartung – hilft dabei, die Kosten im Labor zu senken.

Einfache Probenfiltration in nur 3 Schritten

1 Pipettieren, 2 Fällen, 3 Filtrieren



Bequem und einfach einzusetzen: Captiva ND^{Lipids}.

Universeller Einsatz

Die innovative Technologie von Captiva ND^{Lipids} beruht auf der Entfernung von störenden Verbindungsklassen und macht sie universell anwendbar für viele Analyten. In Tabelle 1 sind ausgewählte saure, neutrale und basische Verbindungen aufgeführt. Es werden im Vergleich zur herkömmlichen Proteinfällung Responsewerte von über 100 % erhalten, die auf signifikant verringerte Ionensuppression und damit höhere Empfindlichkeit zurückzuführen sind. Es treten keinerlei Wechselwirkungen zwischen Probe und Filtrationsplatte während des Fällungsprozesses auf.

Bestehende konventionelle Fällungsmethoden lassen sich problemlos – ohne weitere Methodenentwicklung - auf Captiva ND^{Lipids} übertragen, wobei reinere Extrakte und höhere Responsewerte erhalten werden. Empfehlungen für das optimierte Entfernen von Lipiden, Proteinen und oberflächenaktiven Substanzen aus Plasmaproben sind in unserem Captiva ND^{Lipids} User Guide beschrieben.

Analyt	Log P	Relative Response im Vergleich zu Proteinpräzipitation allein
Zolpidem	3.32	109.6%
Mianserin	3.52	167.4%
Tranylcypromin	1.40	251.4%
Nefazodon	4.70	144.9%
Amoxapin	3.40	171.4%
Maprotilin	5.10	159.0%
Nomefensin	2.94	162.6%
Warfarin	3.51	100.5%
Sulindac	3.59	136.7%
Loratadin	3.65	103.4%
Loperamid	6.25	106.7%
Vardenafil	6.01	106.5%

Tabelle 1 Relative Response* von Arzneistoffen in Plasmaproben nach Filtration mit Captiva ND^{Lipids} verglichen mit Proteinfällung**.

Captiva ND^{Lipids} eignet sich zur Probenfiltration eines Spektrums an Substanzen mit einem weiten Log P-Bereich.
*Relativ zur Proteinfällung unter identischen Verhältnissen.
**Zur Proteinfällung wurde angesäuertes Methanol : Plasma (Ratte, Schwein) im Verhältnis 3:1 verwendet.

VARIAN, INC.

Integrierte Lösungen für die Bioanalytik

Beispielhafte Komplettlösungen

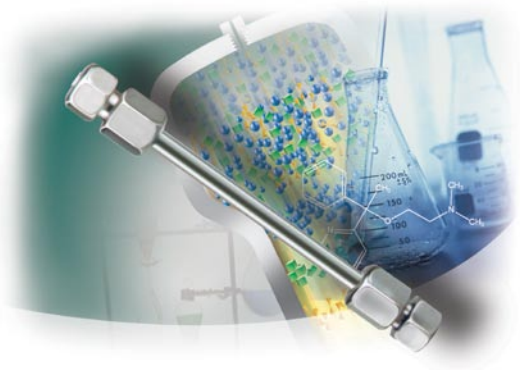
Captiva ND*Lipids* ist nur eines der Produkte aus dem gesamten Spektrum von Produkten für die Chromatographie, die zur Steigerung der Performance jedes beliebigen HPLC- oder LC/MS-Systems beitragen.

Pursuit™ XRS Ultra 2.8 Säulen für die HPLC bestehen aus hochreinen 2.8 µm-Kieselgelpartikeln, die mit einer optimierten Technik gepackt werden. Durch die optimierte Partikelgröße wird eine ca. 10-15 % höhere Trenneffizienz im Vergleich zu 3 µm-Säulen erhalten. Die besondere Stabilität des Säulenbettes erlaubt Arbeitsdrücke bis zu 1000 bar. Dies ermöglicht kürzere Laufzeiten bei gleichbleibender Auflösung. Um die Selektivität auszunutzen, sind diese Säulen als C18-, C8- und Diphenylphasen verfügbar.

Pursuit™ UPS 2.4 Trennsäulen sind eine Alternative zur Chromatographie unter ultra-HPLC-Bedingungen. Auf konventionellen HPLC-Systemen wird mit diesen Säulen eine höhere Leistung erzielt. Im Vergleich zu sub 2 µm-Säulen, ist der resultierende Rückdruck um 50 % geringer. Dadurch lassen sich höhere Flussraten verwenden. Aufgrund der optimierten 2.4 µm Partikelgröße werden mit Pursuit UPS 2.4 schärfere Peakformen erhalten, die das Signal/Rausch-Verhältnis und damit die Empfindlichkeit verbessern.

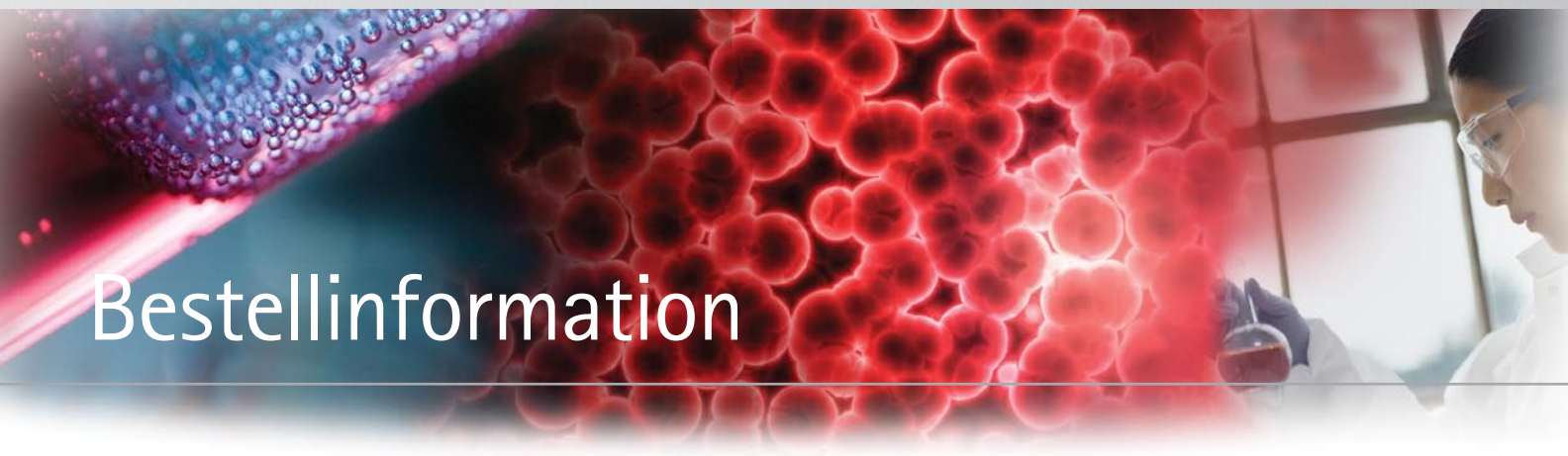
Das Varian 320-MS Massenspektrometer steht für Empfindlichkeit im Femtogramm-Bereich, einen 2000 m/z Massenbereich und eine Reihe von chromatographischen Möglichkeiten und Ionisations-Konfigurationen – dies ist alles vereint in einem kompakten Gerät von nur 72 cm Länge. Damit lassen sich niedrige Nachweisgrenzen und geringes Systemrauschen realisieren, wobei die Wartungskosten gering sind. Hard- und Software sind so aufeinander abgestimmt, dass man robuste Methoden schnell entwickeln kann. Die Empfindlichkeit, die mit dem Varian 320-MS erreicht wird, ist beeindruckend – gleichgültig ob es sich dabei um eine einfache Fliessinjektion oder eine LC-Analyse mit den neuen, für hohen Durchsatz entwickelten Varian 212-LC-Pumpen handelt.

Pursuit XRs Ultra 2.8



Pursuit UPS 2.4

Varian 320-MS Triple Quad LC/MS



Bestellinformation

Captiva ND^{Lipids}

Beschreibung	Porenweite	Filtermaterial	Packungsinhalt	Bestellnummer
Captiva ND^{Lipids} 96-well Filtrationsplatte, 1 mL Well	0.2 µm	Polypropylen	1	A59640002I
Captiva ND^{Lipids} 96-well Filtrationsplatte, 1 mL Well	0.2 µm	Polypropylen	5	A59640002V

Kits

Der Starterkit enthält: 1 CaptiVac Vakuumrahmen, 2 Captiva ND^{Lipids} Filtrationsplatten, 2 Captiva 96-Deep Well 1 mL Sammelplatten und 2 Captiva Abdeckplatten für die Sammelplatten (durchstechbar). Jeder Ersatzteilkit enthält diesselben Einzelprodukte, jedoch ohne den CaptiVac Vakuumrahmen.

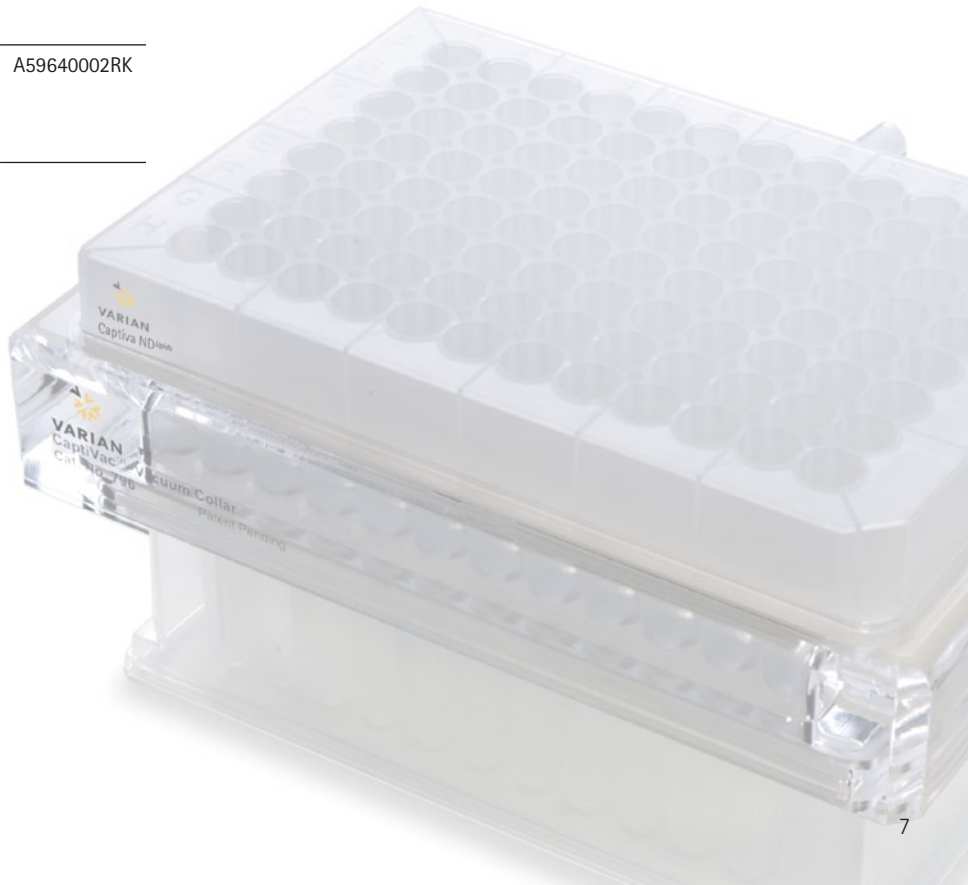
Beschreibung	Porenweite	Filtermaterial	Packungsinhalt	Bestellnummer
Captiva ND^{Lipids} 96-well Filtrations-Starterkit	0.2 µm	Polypropylen	1	A59640002SK
Captiva ND^{Lipids} 96-well Filtrations-Ersatzteilkit	0.2 µm	Polypropylen	1	A59640002RK

Zubehör

Beschreibung	Packungsinhalt	Bestellnummer
Captiva 96-Deep Well Sammelplatte, 1 mL Well	10	A696001000
Captiva 96- Deep Well Sammelplatte für Hamilton Microlab™ AT2 Plus, 1 mL Well	10	A696001000H
Captiva 96-Well Abdeckung für die Sammelplatten (durchstechbar)	10	A8961007
CaptiVac Vakuumrahmen	1	A796
CaptiVac Dichtungskit	5	A796G

Produkte für die HPLC

Beschreibung	Dimension	Bestellnummer
Pursuit XRs Ultra 2.8 C18	30 x 2.0 mm	A7501030X020
Pursuit XRs Ultra 2.8 C8	30 x 2.0 mm	A7511030X020
Pursuit XRs Ultra 2.8 Diphenyl	30 x 2.0 mm	A7521030X020
Pursuit UPS 2.4 C18	30 x 2.0 mm	A8100030X020



VARIAN, INC.

Captiva™ ND*Lipids*

DIE FILTRATIONSPLATTE ZUR ENTFERNUNG VON LIPIDEN UND PROTEINEN

Varian, Inc. – Weltweite Kundenbetreuung

Für Fragen zu allen Produkten stehen Ihnen unsere Spezialisten gerne zur Verfügung. Varian, Inc. bietet:

- umfangreichen, kompletten Service – von kleineren Reparaturen über komplexe Applikationsentwicklungen bis hin zu Trainingsmodulen.
- in unseren Produktionswerken geschulte Servicetechniker und Produktspezialisten für jede Installation.
- weltweit arbeitende Teams zur Unterstützung bei Fragen zu Produkten und Applikationen.

Weitere Informationen über den Varian Kundenservice finden Sie auf unserer Webseite www.varianinc.com/support

Varian, Inc. – Service weltweit für

Biowisenschaften

Pharmazeutika

Klinische Forschung und Forensik

Lebensmittel und Landwirtschaft

Chemische Analytik

Umweltanalytik

Treibstoffe und Energie

Materialwissenschaften

Captiva, Pursuit, Varian und das Varian Logo sind Handelsmarken oder eingetragene Warenzeichen von Varian, Inc. in den USA und in anderen Ländern. Patent angemeldet.

© 2008 Varian, Inc.

Varian, Inc.
www.varianinc.com

Nordamerika: 800.854.0277, 949.770.9381
Europa Niederlande: 31.118.67.1000
Asien Pazifik Australien: 613.9560.7133
Lateinamerika Brasilien: 55.11.3845.0444

Andere Niederlassungen und Vertragshändler weltweit finden Sie auf unserer Webseite.

Varian Deutschland GmbH
Abteilung CP, Alsfelder Str. 6
64289 Darmstadt
Tel: 06151 / 703292, Fax: 06151 / 703328
Email: analyticalsupplies.de@varianinc.com

Chromatography • Spectroscopy • Mass Spectrometry • Magnetic Resonance Spectroscopy and Imaging • X-Ray Crystallography • Dissolution • Consumables • Data Systems • Vacuum

VARIAN

SI-1689/A/8.08 Printed in the UK