

RIDA[®] C18 column

C18-Säulen zur Festphasenextraktion

C18 columns for solid phase extraction

Art. No.: R2002

In vitro Test

Lagerung bei 20 - 25 °C

Storage at 20 - 25 °C

R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20

Anschrift:

R-Biopharm AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64293 Darmstadt
www.r-biopharm.de

Für weitere Fragen stehen Ihnen gerne zur Verfügung:

Telefon:

Zentrale / Auftragsannahme (0 61 51) 81 02-0

Telefax / E-Mail:

Auftragsannahme (0 61 51) 81 02-20
orders@r-biopharm.de

Marketing

(0 61 51) 81 02-40
info@r-biopharm.de

RIDA® und RIDASCREEN®
sind eingetragene Warenzeichen der R-Biopharm AG
Hersteller: R-Biopharm AG, Darmstadt, Deutschland

R-Biopharm AG ist ISO 9001 zertifiziert.

RIDA® and RIDASCREEN®
are registered trademarks of R-Biopharm AG
Manufacturer: R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany

R-Biopharm AG is ISO 9001 certified.

1. Allgemeines

RIDA® C18 column (R2002) sind C18-Säulen zur Festphasenextraktion. Die Festphasenextraktion (SPE, solid phase extraction) ist eine leistungsfähige Technik für die schnelle und selektive Probenvorbereitung, besonders geeignet für die RIDASCREEN® Anabolika- und Hormon-Enzymimmunoassays.

Gegenüber herkömmlichen Probenvorbereitungstechniken bietet die Festphasenextraktion viele Vorteile:

- hohe Wiederfindungsraten
- Konzentrierung des Analyten
- hohe Aufreinigung
- leichte Automatisierung
- Kompatibilität mit instrumenteller Analytik
- Reduktion des Lösungsmittelverbrauchs

2. Packungsinhalt

100 x C18-Säulen (100 mg/ml Säulenreservoir)

Die Säulen sind mit 100 mg endgeschütztem Säulenmaterial gepackt (Octadecyl-Sorbens).

Das Säulenmaterial wurde mit trifunktionalem Silan unter streng kontrollierten Bedingungen hergestellt.

Die Säulen wurden einer strengen Qualitätskontrolle unterzogen (siehe beiliegendes Zertifikat).

3. Prinzip der Festphasenextraktion

Während die flüssige Probe das Sorbensbett durchfließt, werden die Probenbestandteile am Sorbens zurückgehalten.

Interferenzen können danach durch Verwendung einer geeigneten Waschlösung entfernt werden.

Die anschließende selektive Elution der zu isolierenden Verbindung erfolgt in einem geeigneten Lösungsmittel.

Mit der Extraktion wird in vielen Fällen auch eine Konzentrierung der Analyten erreicht.

Eine Festphasen-Extraktion umfasst typischerweise 5 Schritte (siehe auch Abb.1)

- Probenvorbehandlung (Extraktion und Konditionierung des Extrakts)
- Solvatisierung und Vorkonditionierung der Säule (1)
- Auftragen der Probe (2)
- Elution von störenden Matrixbestandteilen / Waschen der Säule (3)
- Elution des Analyten (4)

Die Säulen sind mit Sorbens einer mittleren Partikelgröße von 140 µm gepackt.

Die meisten Lösungsmittel fließen allein aufgrund der Schwerkraft durch die Säule.

Viskosere Lösungen und Probenextrakte können durch Anwendung der in Abb. 2 dargestellten Arbeitsmethoden (Vakuum, Zentrifugation oder positiver Druck) durch die Säule geleitet werden.

1. Solvatisierung der Säule /
Vorkonditionierung



2. Probenaufgabe



3. Elution von störenden
Matrixbestandteilen
(Störsubstanzen) /
Waschschritt

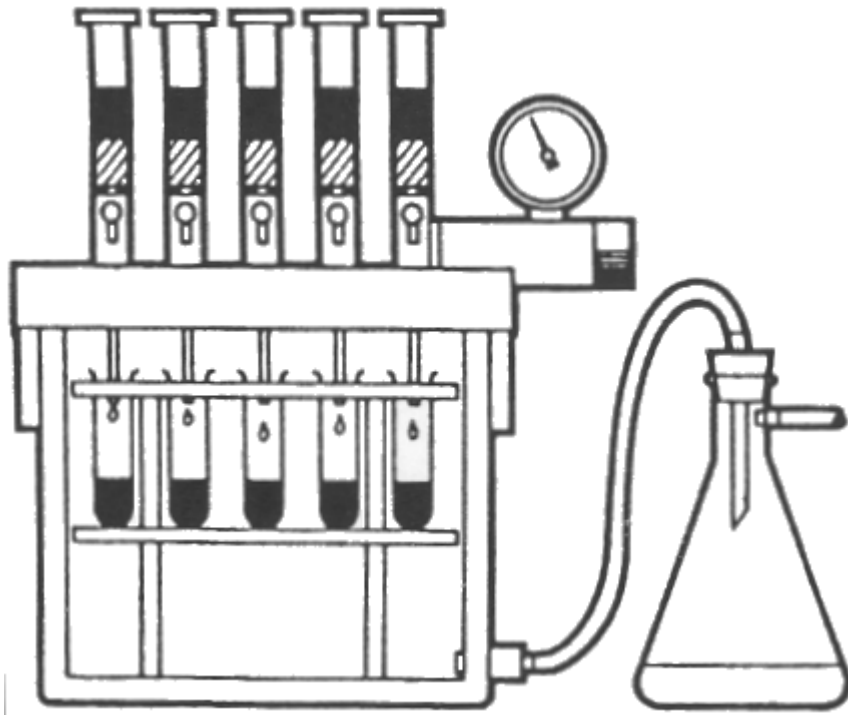


4. Elution des Analyten

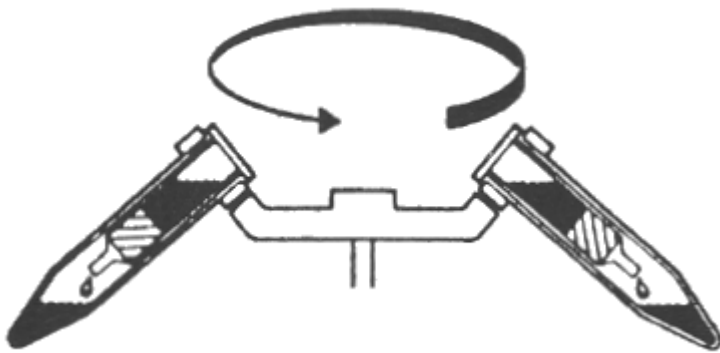


● = Analyt
▲ }
□ } Störsubstanzen
△ }

Abb. 1: Typische Schritte bei der Festphasenextraktion



Vakuum-Arbeitsstation



Zentrifugation



Positiver Druck
(manuell)

Fig. 2: Mögliche Arbeitsmethoden bei der Festphasenextraktion

4. Handhabung der RIDA® C18 column

Die Kontrolle der Durchflussrate während der einzelnen Schritte ist wichtig.

Zu hohe Durchflussraten können in niedrigeren Wiederfindungsraten resultieren, da der Analyt nicht zurückgehalten oder während der Elution nicht vollständig eluiert wird.

Zu hohe Durchflussraten während des Waschvorgangs können zu verunreinigten Extrakten führen.

Es wird eine Durchflussrate von 1 - 2 ml pro min empfohlen. (Üblicherweise kann unter hydrostatischen Bedingungen gearbeitet werden.)

Die spezifischen Durchflussraten sollten für die jeweiligen Proben protokolliert werden, um einen problemlosen Transfer der Methode von einem Anwender bzw. von einem Labor zum anderen zu gewährleisten und damit die Reproduzierbarkeit sicherzustellen.

Beachten Sie, dass signifikante Konzentrationen an Schwebstoffen die Fritten verstopfen können. Durch Filtration bzw. Zentrifugation der Probe vor dem Auftragen auf die Säule, können diese Partikel entfernt werden. Dies führt häufig zu einer verbesserten Funktionsfähigkeit der Festphasenextraktion. Es muss jedoch beachtet werden, dass bei der Filtration oder Zentrifugation nicht auch der Analyt entfernt wird.

Eine Vorbehandlung der Probe (Zusatz von Methanol, pH-Wert Einstellung etc.) kann erforderlich sein, um Matrixeffekte zu minimieren.

Achtung

Ein Trockenlaufen der Säule vor dem Auftragen der Probe sollte vermieden werden, da dies ein schlechteres Zurückhalten des Analyten zur Folge haben und damit zu variablen Wiederfindungsraten führen kann.

Sollte die Säule vor dem Auftragen der Probe trocken laufen, ist eine Wiederholung der Solvatisierung und der Vorkonditionierung der Säule zu empfehlen.

5. Probenvorbereitung

Siehe jeweilige RIDASCREEN® Produktinformation.

RIDA® C18 column eignen sich selbstverständlich auch für weitere Anwendungen, bei denen C18-Säulen zum Einsatz kommen.

Diese Angaben entsprechen dem heutigen Stand unserer Kenntnisse und sollen über unsere Produkte und deren Anwendungsmöglichkeiten informieren. Sie haben somit nicht die Bedeutung, bestimmte Eigenschaften der Produkte oder deren Eignung für einen konkreten Einsatzzweck zuzusichern. R-Biopharm übernimmt keine Gewährleistung, außer für die standardisierte Qualität der Reagenzien. Defekte Produkte werden ersetzt. Darüber hinaus gehende Ansprüche für direkte oder indirekte Schäden oder Kosten aus der Nutzung der Produkte entstehen nicht.

RIDA[®] C18 column

1. General

RIDA[®] C18 column (R2002) are C18 columns for solid phase extraction. The solid phase extraction (SPE) is an efficient technique for a fast and selective sample preparation, especially for the RIDASCREEN[®] anabolic and hormone enzyme immunoassays.

The solid phase extraction offers a lot of advantages compared with other sample preparation techniques:

- high recovery rates
- sample concentration
- high clean up
- easy automation
- compatibility with instrumental analysis
- reduction of solvent volumes

2. Reagents provided

100 x C18 columns (100 mg/ml column reservoir)

The columns are packed with 100 mg end-capped sorbent (octadecyl-sorbent).

This sorbent is manufactured using trifunctional silane under carefully controlled conditions.

The columns have been subjected to a number of quality control tests (see quality assurance certificate).

3. Principle of solid phase extraction

Sample analytes are retained, when the fluid sample passes the column.

In the interference elution step an appropriate wash solution is indicated.

For the following selective elution of the analyte an appropriate elution solvent is needed.

Concentration of the analytes is often possible by the extraction procedure.

A solid phase extraction procedure normally consists of 5 steps (see Fig. 1):

- sample pre-treatment (extraction and conditioning of the extract)
- column solvation and pre-equilibration (1)
- sample application (2)
- elution of interfering matrix components / rinsing of the column (3)
- elution of the analyte (4)

The columns are packed with sorbent of an average particle size of 140 μm .

Most solvents pass the column without technical help.

Viscous samples and solvents can be passed through the column using either a vacuum, centrifuge or positive pressure, shown in Fig. 2.

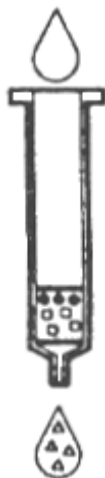
1. Column solvation / pre-equilibration



2. Apply sample



3. Elution of interfering matrix components (interferences) rinsing step

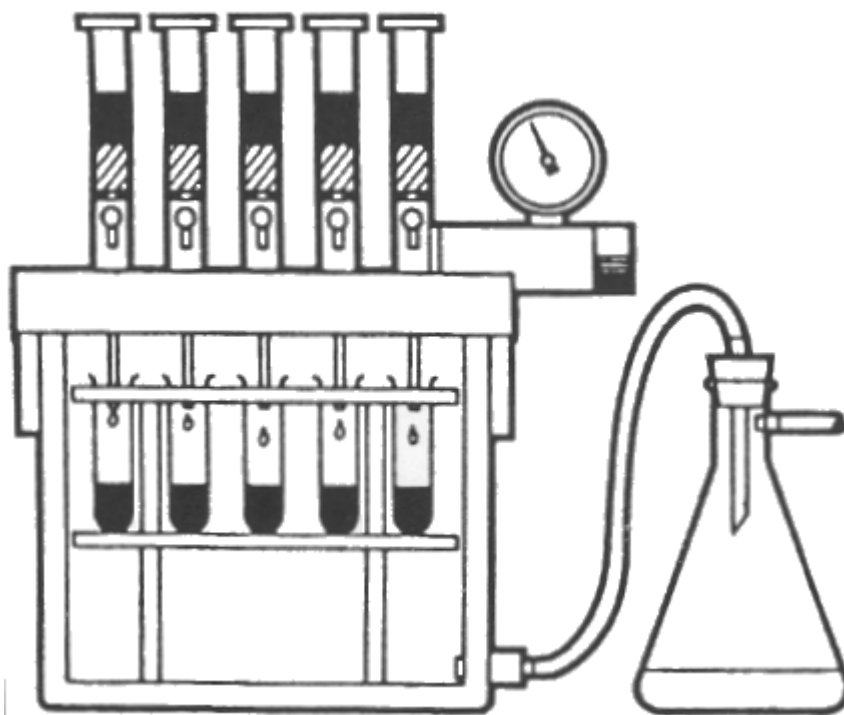


4. Analyte elution

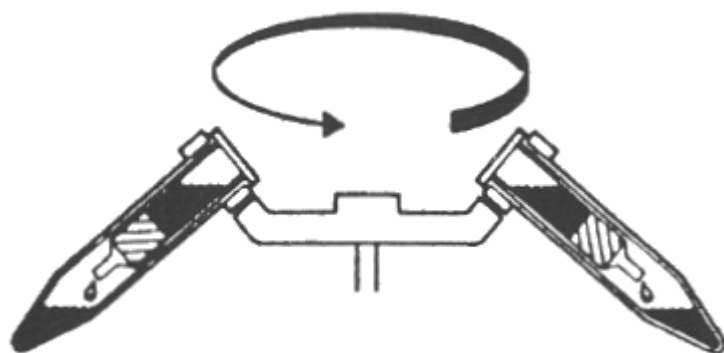


● = Analyte
▲ }
□ } Interferences
△ }

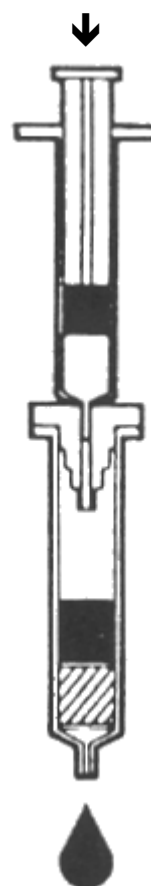
Fig. 1: Typical steps for solid phase extraction



Vacuum Manifold



Centrifugation



Positive pressure
(manual)

Fig. 2: Possible techniques for solid phase extraction

4. Handling of RIDA® C18 column

The flow rate control during sample loading, interference and analyte elution steps are important.

Too fast flow rates can result in low recoveries due to breakthrough during the retention step or inadequate elution during the elution step.

Too high flow rates during the interference elution step can result in dirty extracts.

A flow rate of 1 - 2 ml per min is recommended. (Usually working steps are possible under hydrostatic conditions.)

Flow rates should be specific in all protocols to ensure trouble free method transfers from one analyst or laboratory to another and reproducibility.

Please note, that the presence of significant concentrations of particulate matter can result in clogging of the inlet frit. Filtration or centrifugation of a sample to remove particulate matter can often enhance the reliability of an SPE procedure. However, care must be taken to ensure the analyte is not removed with the particulate matter. Pre-treatment of the sample (addition of methanol, pH adjustment etc.) may be required to minimize analyte-matrix interaction.

Caution:

Drying the column prior to application of the sample can result in analyte breakthrough and variable recoveries.

If the column dries out before loading the sample, simply repeat the solvation and pre-equilibration procedure.

5. Sample preparation

See product information of the respective RIDASCREEN® enzyme immunoassay.

Several other SPE procedures are possible with the RIDA® C18 columns. Please contact your local distributor for more information.

R-Biopharm makes no warranty of any kind, either expressed or implied, except that the materials from which its products are made are of standard quality. If any materials are defective, R-Biopharm will provide a replacement product. There is no warranty of merchantability of this product, or of the fitness of the product for any purpose. R-Biopharm shall not be liable for any damages, including special or consequential damage, or expense arising directly or indirectly from the use of this product.