

Polare SPE zur Fraktionierung von Lipiden in Serum/Gewebe

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 10. Mai 2010)

Kontakt:

Tel. 06151-703273

ute.beyer@varianinc.com

Ein weiteres Beispiel für die **hervorragende Selektivität der polaren SPE** ist die **Fraktionierung von Lipiden** in Serum oder Gewebe.

Die Ähnlichkeit der verschiedenen Lipidklassen (Fettsäuren, Phospholipide, Cholesterin, Cholesterinester, Mono-, Di- und Triglyzeride) erfordert ein hohes Maß an Selektivität, das kein anderer Mechanismus aufbringen kann.

Voraussetzung dafür ist das Vorliegen eines **unpolaren Extraktes** (z.B. Chloroform), d.h. der erste Schritt der Methode ist die Extraktion mit unpolarem Lösemittel (oder SPE bei Serum).

Die Methode stammt aus folgender **Literatur**:

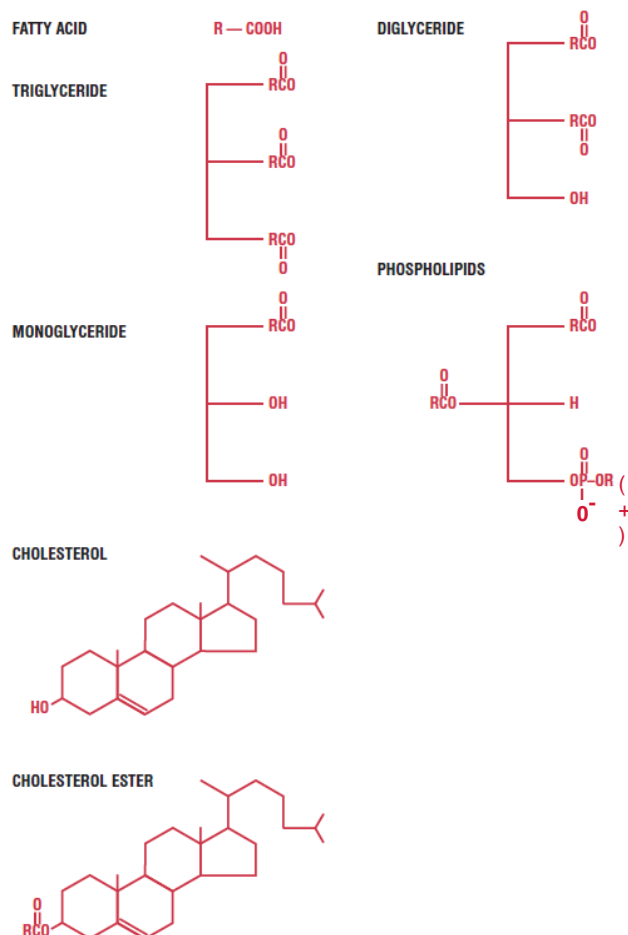
M.A. Kaluzny, L. Duncan, M. Merrit, D. Epps
Journal of Lipid Research 26, 1985, 135-140

Siehe auch

[Handbook of Sorbent Extraction Technology](#)

ab Seite 82 (kann kostenlos von der Varian Webseite heruntergeladen werden)

Schauen wir uns zunächst die **Strukturen der Lipide** an:



Obwohl alle Lipide „nach außen“ unpolar sind, enthalten sie doch auch **polare funktionelle Gruppen** und unterscheiden sich in Art und Anzahl dieser Gruppen:

- ✓ **Fettsäuren** und **Phospholipide** haben je eine hoch polare, **anionische funktionelle Gruppe**.
- ✓ Die **Phospholipide** tragen zusätzlich noch zwei **Estergruppen**.
- ✓ Die anderen Lipide sind neutral.
- ✓ Die **Glyzeride** tragen eine bis drei **Estergruppe(n)**, **Mono- und Diglyzeride** zusätzlich ein bis zwei **Hydroxygruppen**.
- ✓ **Cholesterin** hat „nur“ eine **Hydroxygruppe** aufzuweisen.
- ✓ Die **Cholesterinester** sind noch unpolarer mit nur einer **Esterfunktion**.

Eine **Aminophase** (z.B. **Bond Elut NH₂ 500 mg 3mL**) ist bei geeigneter Wahl der Lösemittel in der Lage, die verschiedenen **Lipidklassen** zu **trennen**, und zwar folgendermaßen:

- ✓ Konditionierung mit 2x 2 mL Hexan (nicht trocken laufen lassen)
- ✓ Probe (0,5 mL Extrakt in Chloroform) durchsaugen
- ✓ Elution (A) der **neutralen Lipide** (Glyzeride, Cholesterin, Cholesterinester) mit 4 mL **Chloroform/Isopropanol 2:1**
- ✓ Anschließend Elution (B) der **Fettsäuren** mit 4 mL **Diethylether/Essigsäure 98:2**
- ✓ Anschließend Elution (C) der **Phospholipide**. Auf Grund deren **Polarität** ist dazu **Methanol** notwendig (4 mL).
- ✓ Zur **Trennung der neutralen Lipide** wird die Chloroform/Isopropanol-Fraktion (A) zunächst zur Trockne eingengt und in 0,2 mL Hexan aufgenommen.
- ✓ Weiter geht es mit einer neuen Kartusche der Aminophase, Konditionierung mit 2x 2 mL Hexan.
- ✓ Probe (0,2 mL Hexan-Extrakt) aufgeben, mit 4 mL **Hexan** nachspülen = Elution (D) der unpolaren **Cholesterinester**.
- ✓ Anschließend eine neue Kartusche unter dieser anbringen (über einen entsprechenden Adapter, evtl. vorher mit Hexan konditionieren) und mit 6 mL **Hexan/Diethylether/Dichlormethan 89:1:10** die **Triglyzeride** eluieren (E). Die zweite Kartusche ist notwendig, da ein Teil des Cholesterins bei dieser Lösemittelzusammensetzung durchbricht und auf die zweite Kartusche wandert.

Polare SPE zur Fraktionierung von Lipiden in Serum/Gewebe

(veröffentlicht auf www.analytik-news.de am 10. Mai 2010)

Kontakt:

Tel. 06151-703273

ute.beyer@varianinc.com

- ✓ Anschließend erfolgt die Elution (F) des **Cholesterin**, und zwar mit 12 mL **Hexan/Ethylacetat 95:5**.
- ✓ Schließlich werden die Kartuschen getrennt und die obere, die noch die Mono- und Diglyzeride enthält, nacheinander eluiert mit 4 mL **Hexan/Ethylacetat 85:15** (G), um die **Diglyzeride** freizusetzen, und 4 mL **Chloroform/Methanol 2:1** (H) für die polaren **Monoglyzeride**.

Bei unterschiedlichen Matrices (biologische Flüssigkeiten, verschiedene Gewebetypen) kann es notwendig sein, die Elutionsvolumina verschiedener Fraktionen zu erhöhen. Das muss man im Einzelfall testen, falls bei der Methodenentwicklung zu geringe Wiederfindungsraten oder eine Verschleppung in die nächsten Fraktionen auffällt.

Und hier eine **Übersicht der ganzen Methode zur Lipidfraktionierung** aus **Handbook of Sorbent Extraction Technology** (kann kostenlos von der Varian Webseite heruntergeladen werden)

