

MEPS: AUTOMATISCHE MICRO-EXTRACTIE

SPAART ANALISTENUREN

Snelle sampleprep met 'SPE' in een spuit

Monstervoorbereiding voor vloeistofchromatografie en gaschromatografie met massaspectrometrie kan veel efficiënter met de geminiaturiseerde vaste fase-extractietechniek MEPS. Vooral bij screening van grote hoeveelheden monsters in waterige oplossingen sparen laboratoria veel analistenuren uit. Want MEPS is eenvoudig te automatiseren.

MEPS staat oorspronkelijk voor *MicroExtraction in a Packed Syringe*.

Deze nieuwe micro-extractietechniek werkt met een injectiespuit vol pakkingsmateriaal. Monster wordt in luttele minuten voorbereid voor directe injectie op een vloeistofchromatograaf (LC) of een gaschromatograaf met massaspectrometer (GC-MS). Met behulp van een autosampler gaat dit volledig automatisch. Aansluiting op de bestaande instrumentatie is al even gemakkelijk. Modificaties zijn niet nodig. Waar monstervoorbereidingstechnieken als vaste fase-extractie (SPE) en vloeistof-vloeistofextractie (LLE) als bewerkelijk te boek staan, is MEPS bijna kinderlijk eenvoudig.

Natuurlijk kent MEPS net als andere monstervoorbereidingstechnieken (zie kader op pag 26) zijn beperkingen. Net als bij SPE werkt het bijvoorbeeld niet voor monsters met een sterk vervuilde matrix. Waar MEPS wél werkt, kunnen laboratoria met deze micro-extractietechniek een efficiëncyslag maken bij waterige monsters, ook bij complexe matrices als plasma, urine en organische oplosmiddelen. Tijd om MEPS eens in de schijnwerpers te plaatsen. Want



Een MEPS-kit. De stationaire fase bevindt zich in de Barrel Insert and Needle Assembly (BIN), een cilindrische houder die zich aan het eind van de naald bevindt.

MEPS in de praktijk

Micro-Extraction of Packed Sorbent biedt een alternatief voor tijdrovende monstervoorbereidingsmethodes als vloeistof-vloeistof-extractie (LLE) en vaste fase-extractie (SPE). In een geautomatiseerde setting met CombiPAL-autosampler kent deze nieuwe monstervoorbereidingstechniek voor gewone en omgekeerde fase vijf stappen. Hier komt geen handwerk aan te pas!



MEPS in geautomatiseerde setting met CombiPAL-autosampler.

- Stap 1:** pakkingsmateriaal activeren met vloeistofoplossing
- Stap 2:** monster (ca. 1,5 ml) aantal keren opzuigen
- Stap 3:** spoelen om interferenties te voorkomen (ca. 50 tot 250 microliter)
- Stap 4:** componenten elueren (ca. 30 microliter)
- Stap 5:** online monsterinjectie en -analyse binnen 5 minuten vanaf stap 1
- Stap 6:** schoonwassen van pakkingsmateriaal voor de volgende monsterclean-up tijdens lopende analyse

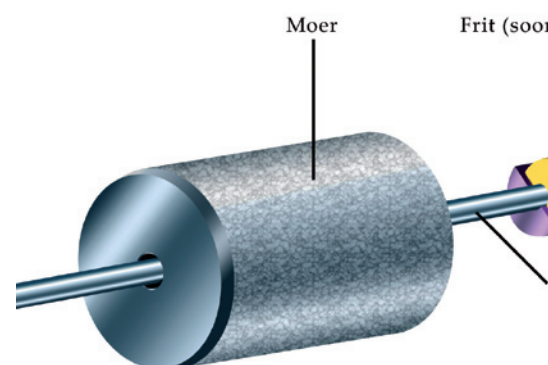
onbekend maakt onbemind. Iedereen kan een MEPS-set in elkaar zetten. De naald met een cilindrisch houdertje plus pakkingsmateriaal wordt op de gasdichte injectiespuit (100 tot 250 microliter) geplaatst. Dit gebeurt door het aandraaien van een schroef. Binnen een minuut is de

spuit klaar voor gebruik en hangt hij in de injectienaaldhouder van een CTC CombiPAL-autosampler. Vanaf dat moment verlopen de monster-voorbewerking en analyse software-gestuurd. Achtereenvolgens wordt (zie kader op pag. 23) pakkingsmateriaal geactiveerd door het opzuigen van een vloeistofoplossing, monster rondgepompt, de houder met pakkingsmateriaal gewassen om storende verbindingen te verwijderen en een oplossing toegevoegd om de com-

ponenten die zich aan het sorbent hebben gehecht te kunnen elueren. Na elutie is zo'n 30 microliter beschikbaar voor analyse. Verdunnen van het eluent is niet nodig. De complete inhoud kan direct geïnjecteerd worden op HPLC of GC. Terwijl de analyse loopt, wordt het pakkingsmateriaal gewassen voor micro-extractie van het volgende monster. Tientallen tot honderden monsters kunnen met dezelfde MEPS-set verwerkt worden. Is het sorbent aan vervanging toe of is pakkingsmateriaal nodig met een andere fase, dan is snel een nieuwe naald aangebracht. MEPS rekent dus af met bewerkelijke stappen voor, tijdens en na de sample clean-up. Indampen zoals bij SPE, waar MEPS van is afgeleid, is bijvoorbeeld niet nodig.

Online SPE

Het brein achter MEPS is Mohamed Abdel-Rehim, werkzaam op de R&D-afdeling van farmaceut AstraZeneca in Zweden. Daar ontwikkelde hij een snelle, geminiaturiseerde monstervoorbereidingstechniek om het screeningsproces te versnellen. Door extractie en injectie in één procesgang is monstervoorbewerking niet langer een knelpunt in het analyseproces. Met MEPS kon AstraZeneca kosten besparen op het vlak van analisten-uren, farmaceutische stoffen en oplosmiddelengebruik. Abdel-Rehim maakte de nieuwe gepatenteerde techniek wereldkundig in het vaktijdschrift *Journal of Chromatography* in 2004 (*Journal of Chromatography B*, 801 (2004) 317-321). Intussen is de gepatenteerde methode gecommercia-

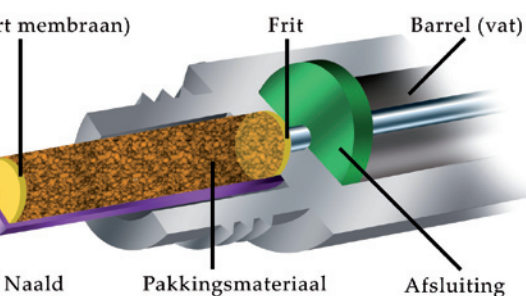


Inzetten van de MEPS-spuit in de injectienaaldhouder van een CTC CombiPAL-autosampler voor volautomatische micro-extracties.

liseerd door het Australische SGE Analytical Science en staat het acroniem MEPS voor 'MicroExtraction by Packed Sorbent'. De lableverancier vermarkt MEPS als online SPE voor monstervoorbewerking bij GC- en LC-monsters. Een supersnel alternatief, want de monstervoorbewerkingstijd wordt met MEPS teruggebracht van uren tot minuten. Forse besparingen zijn er ook in chemicaliëngebruik en monsterhoeveelheden. Zo loopt de benodigde hoeveelheid oplosmiddelen en buffers terug van milliliters tot microliters en worden ook de monstervolumes gereduceerd tot microliters. Ter vergelijking: bij SPE is een liter monster nodig voor extractie. In high throughput-situaties biedt MEPS efficiencyvoordelen in farmaceutische labs, maar ook in labs in de klinische chemie en de analytische chemie. Toch zijn er nog nauwelijks gebruikers. Het zal te maken hebben met de tijdsdruk bij laboratoria. Het komt er dan niet van om nieuwe methodes uit te testen en te implementeren. Ook kan het ontbreken aan kennis om technische veranderingen door te voeren.

Aftoetsen

"Om die drempel te verlagen hebben wij het MEPS-lab opgericht", reageert Joeri Vercammen, adviseur bij Interscience Expert Center (IS-X) in het Belgische Louvain-la-Neuve. "Deze techniek heeft meerwaarde ten opzichte van SPE of LLE. Maar ga als lab maar eens een nieuwe techniek evalueren. Wij doen eerst een technische voorstudie van het bestaande labproces en hebben de opstellingen



Uitvergroting van naald, pakkingsmateriaal en schroefdraad van een MEPS-kit. (Infographic: Andries Hof)

staan om te testen of het werkt in de dagelijkse routine van een laboratorium. Met experimenten kunnen we in één of twee dagen aftoetsen of MEPS voor bestaande applicaties voordelen biedt op het gebied van eenvoud en gevoeligheid." Dat doe je niet even tussen de bedrijven door, stelt Vercammen. "Dit is een geminiaturiseerde techniek. Dat heeft consequenties. Stel je gebruikt SPE voor milieuanalyses. Bij SPE damp je 1 liter water met weinig vervuiling

MEPS rekent af met bewerkelijke stappen voor, tijdens en na de sample clean-up

in naar 1 milliliter, daarvan wordt 1 microliter geïnjecteerd. MEPS gaat uit van 1-millilitermonsters en alles wat je aanrijkt kun je direct injecteren in je GC of je HPLC. Online! Dat vergt een totaal andere aanpak dan off-line procedures als SPE."

Voorscreening

Inmiddels heeft IS-X voor een aantal Belgische klanten een MEPS-applicatie ontwikkeld. Ze beschikken allemaal over een CTC CombiPAL-autosampler. Daarmee kunnen ze hun micro-extracties volautomatisch uitvoeren. Analisten zijn dan veel minder tijd kwijt met de monstervoorbewerking. De investering in de extractietechniek verdient zich daarom snel terug. Dat toepassing van MEPS in combinatie met GC veel analistenuren kan besparen, bleek bij een Belgisch milieulaboratorium. MEPS maakt voorscreening mogelijk

van monsters om ze te scheiden in een schone en vieze stroom. Vercammen: "De meeste watermonsters die je op minerale olie analyseert zijn schoon. Dat leert de ervaring. Dit labo screent voortaan alle watermonsters eerst met MEPS en GC op vervuiling. Daarvan blijft gemiddeld 15% over voor nader onderzoek. Alleen die vuile monsters moet je nog één keer analyseren met de bewerkelijke referentiemethode. Stel je eens voor hoeveel werk dat scheelt. In plaats van pakweg tien mensen kun je voortaan met één of twee personen toe bij de monstervoorbewerking voor die specifieke analyse."

Maar soms werkt het ook niet, geeft hij toe. "Sterk beladen afvalwaters zijn bijvoorbeeld niet geschikt. Dat is geen specifiek MEPS-probleem, het geldt ook voor SPE. Als matrices veranderen van 'staal' tot 'staal' kun je je resultaten niet reproduceren. Je moet dan naar andere methoden. MEPS als geautomatiseerde methode is dan niet meer interessant. Het is steeds een kosten-batenanalyse of je een methode ontwikkelt voor MEPS of niet."

Urinestoffen

MEPS bood ook uitkomst als extractietechniek in een lab voor klinische chemie bij de bemonstering van 250 microliter-urinemonsters. Hoewel het niet om grote monsteraantallen ging, bleek het vanwege het grote aantal te bepalen componenten toch interessant om micro-extractie toe te passen. "Bij dit klinische labo in België zijn de processen gelijkgeschakeld en is per analist een aparte MEPS-methode ontwikkeld. Er zitten momenteel vijf verschillende methodes op dezelfde MEPS. Bepaalde urinestoffen werden eerst manueel met liquid-liquid-extractie voorbereid. Per 'staal' was een analist met vortexen en extraheren eerst een halve dag bezig. Nu wordt het monster op de robot gezet



Joeri Vercammen, adviseur bij Interscience Expert Center (IS-X), demonstreert het gebruik van een MEPS-set.

en loopt de analyse vanzelf.” Veiligheidshalve wordt de naald met het pakkingsmateriaal dagelijks gewisseld. “Dat zijn de kosten niet en het is zo gebeurd. Zo kun je de oude procedures combineren tot een veel efficiëntere oplossing. Dit bespaart handmatige werkzaamheden bij organische bepalingen waar nog veel voorbereiding off-line gebeurt en component per component wordt bepaald.”

MEPS met GC?

Abdel-Rehim ontwikkelde MEPS oorspronkelijk voor HPLC. Voor GC-MS is de extractietechniek dus ook inzetbaar, maar Vercammen zet daar wel kanttekeningen bij. “Mijn persoonlijke mening is dat MEPS-methodes robuuster zijn in combinatie met HPLC. Zowel de pakkingsmaterialen als de oplosmiddelen zijn beter op HPLC afgestemd. De chemische inter-

acties met HPLC zijn namelijk meer compatible dan met GC. Met GC ga je dus meer de kwalitatieve kant op bij toepassing van MEPS, zoals de screening van ‘stalen.’” Milieulaboratoria gebruiken vaak GC’s. Onder voorwaarden is MEPS daar prima inzetbaar om snel de monsterstroom op te splitsen. “In ‘ja’- en ‘nee’-monsters. Voorwaarde is wel dat je screeningsmethoden geen vals negatieven opleveren. Dat moet je met je blanco’s kunnen aantonen. In klinisch chemische laboratoria en in farmaceutische labs werken ze vooral met HPLC, daar is MEPS wel inzetbaar als kwantitatieve methode.”

Management overtuigen

In beide gevallen is deze relatief nieuwe micro-extractietechniek interessant, weet Vercammen van *early adaptors*. MEPS spaart namelijk veel analistenuren. “Cruciaal bij MEPS is dat je je productie ermee kunt verhogen. Deze techniek gebruik je om je lab te rationaliseren. Okay, soms werkt het niet honderd procent. PAK’s in water gaven variabele resultaten. Maar MEPS bleek wel te gebruiken om de afvalstroom in een bedrijfslaboratorium, waar de concentraties hoger liggen, op te splitsen in ‘schoon’ en ‘vies’.”

Dan een laatste vraag aan Vercammen. Hoe overtuig je het management te investeren in deze efficiënte monstervoorbewerkingstechniek? “Labmanagers die MEPS willen toepassen moeten een goed verhaal hebben richting management om de investering te rechtvaardigen. Dus het kost zo veel en het is zo snel terugverdiend. Ik ben zelf lang genoeg labmanager geweest om te weten dat je er zelf geen tijd voor hebt om dat uit te zoeken. Ook je hoofdlaborant niet. Dus blijft die proefspuit ongebruikt liggen of het blijft bij een paar ‘stalen’ prikken. Maar daarmee heb je nog geen methode opgezet en geen verhaal bij deze techniek. Dat is jammer, dan kun je dit soort kansen niet benutten op de werkvloer!”

Vincent Hentzepeter
Fotografie: Foodnote

Plussen en minnen

MEPS biedt de volgende voordelen:

- Geautomatiseerd
- On-line
- Snel
- Relatief goedkoop
- Gebruikt kleine volumes
- Géén verdunning (dus gevoelig)
- Voor GC en HPLC

Valkuilen zijn:

- Oppassen met matrices waaraan te meten componenten sterk hechten (onderschatting!)
- Meetfouten door carry-over (wisselt per component en fase en concentratie)
- Levensduur pakkingsmaterialen (tijdig vernieuwen!)
- Matige reproduceerbaarheid bij sterk wisselende monsterstellingen
- Vooral geschikt voor kwalificering (ja/nee-bepalingen) bij GC-MS
- Kwantificering – de harde getallen – interessant bij (HP)LC (validatie!)
- Verstoppingen bij het inlaatfilter door vervuilde matrices
- Methodeontwikkeling is cruciaal (controle blanco’s/carry-over et cetera)