

SZILÁRD FÁZISÚ EXTRAKCIÓ OFFLINE AUTOMATIZÁLÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI BIOTAGE KÉSZÜLÉKEKKEL

Szakács Tibor, Szepesi Ildikó

ABL&E-JASCO Magyarország Kft.

1116 Budapest, Fehérvári út 132-144.

ablehun@ablelab.com

www.ablelab.com



ABL&E-JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása



SZILÁRD FÁZISÚ EXTRAKCIÓ

SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)

- cél: a mérendő komponens dúsítása és/vagy tisztítása
- lépései: - minta előkezelés
 - oszlop kondicionálás
 - mintafelvétel
 - mosás
 - elúció



SZILÁRD FÁZISÚ EXTRAKCIÓ

-

FOLYADÉK ÁRAMLÁS MEGVALÓSÍTÁSA



**vákuum
rásegítés**



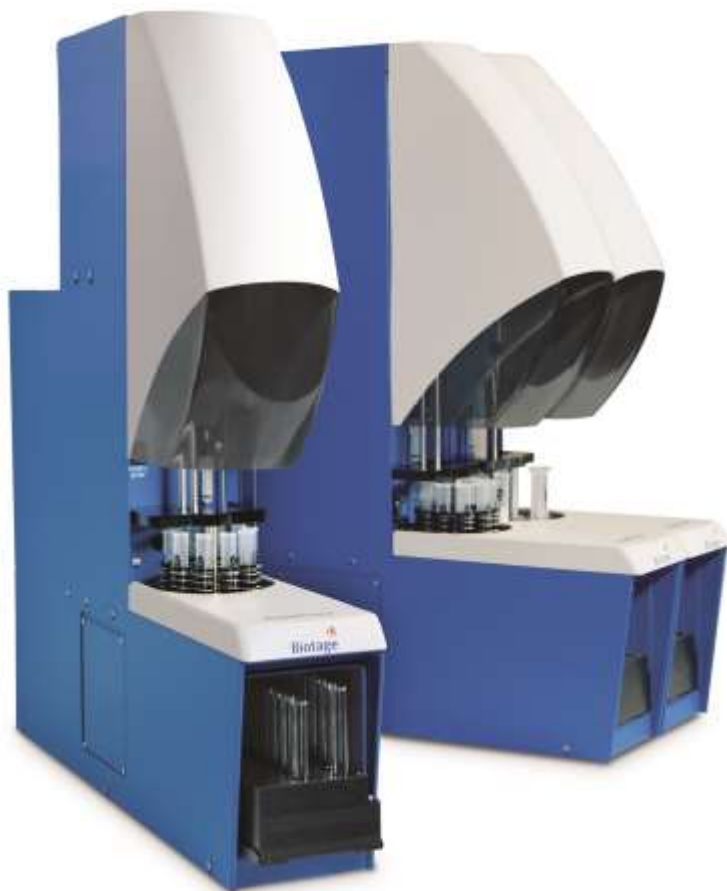
**pozitív
nyomás**



ABL&E-JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása



BIOTAGE RAPIDTRACE+



- pozitív nyomás létrehozása fecskendőpumpával
- 1, 3 és 6 ml-es standard méretű SPE oszlopok
- modulonként 10 minta kémcső
- egy rendszer max. 10 modul



BIOTAGE RAPIDTRACE+



- 8 reagens és oldószer
- 4 szennyelvé elvezetés
- frakciógyűjtés kémcsövekbe vagy vialokba
- egy mintából több frakció



BIOTAGE RAPIDTRACE+

Procedure Name: 3ML example.SPE

No	Step	Source	Output	Vol	ml/min	Liquid Sense
1	Condition	MeOH	Org W	3	12	No
2	Condition	H2O	Aq W	3	12	No
3	Load	Sample	Bio	1	2	No
4	Rinse	H2O	Bio	2	8	No
5	Purge-Cannula	H2O	Cannula	6	30	No
6	Rinse	Vent	Aq W	1	8	No
7	Dry	-----	Time =	5	min.	No
8	Purge-Cannula	MeOH	Cannula	6	30	No
9	Collect	DCM	Fract1	2	2	No
10	Purge-Cannula	MeOH	Cannula	6	30	No
11	Purge-Cannula	H2O	Cannula	6	30	No
12						No
13						No

- minden lépés külön programozható

- pontosan beállítható áramlási sebességek

The screenshot displays the software's procedure assignment window. On the left, a list of 'Procedures Available' includes 1ML.SPE, 3ML example.SPE, 3ML.SPE, CLEAN.SPE, Flow Test slow speed.spe, Flow Test.spe, Load 0,5mL SLE+.spe, Load 0,5mL SLE+.spe, Load 1,1mL SLE+.spe, Load 1mL SLE+.spe, and Purge and clean.spe. On the right, 'Procedures assigned to:' shows 'Module 0' with samples 1 through 10. Below this is a 'Delete Selected Items' button. At the bottom, there are checkboxes for Module 0 through 9, all of which are checked, along with 'Check All' and 'Uncheck All' buttons. A 'Close' button is at the bottom left, and 'OK / Save' and 'Help' buttons are at the bottom right.

- rugalmas módszer futtatás:

- minden mintához külön hozzárendelhető módszer

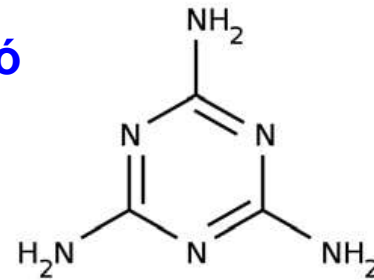
- akár minden mintára más módszer vagy egy módszer minden mintára



BIOTAGE RAPIDTRACE+

Melamin kimutatása tejből *

- melamin - nitrogéntartalmú, heterociklusos, aromás szerves vegyület.
- felhasználása: műtrágya, műanyag, ragasztó
- vesekövet okoz



- mintaelőkészítés: 1 ml tej hígítása ammónium acetát pufferrel (1:1, v/v, 50 mM, pH 5)
- Biotage EVOLUTE CX 100 mg/3 ml 50 µm
part number: 611-0010-B; polimer-alapú mixed-mode szorbens



* Biotage Application Note AN749

Extraction of Melamine from Milk (Infant Formula) using EVOLUTE® CX Columns and RapidTrace+ Workstation



BIOTAGE RAPIDTRACE+

Melamin kimutatása tejből

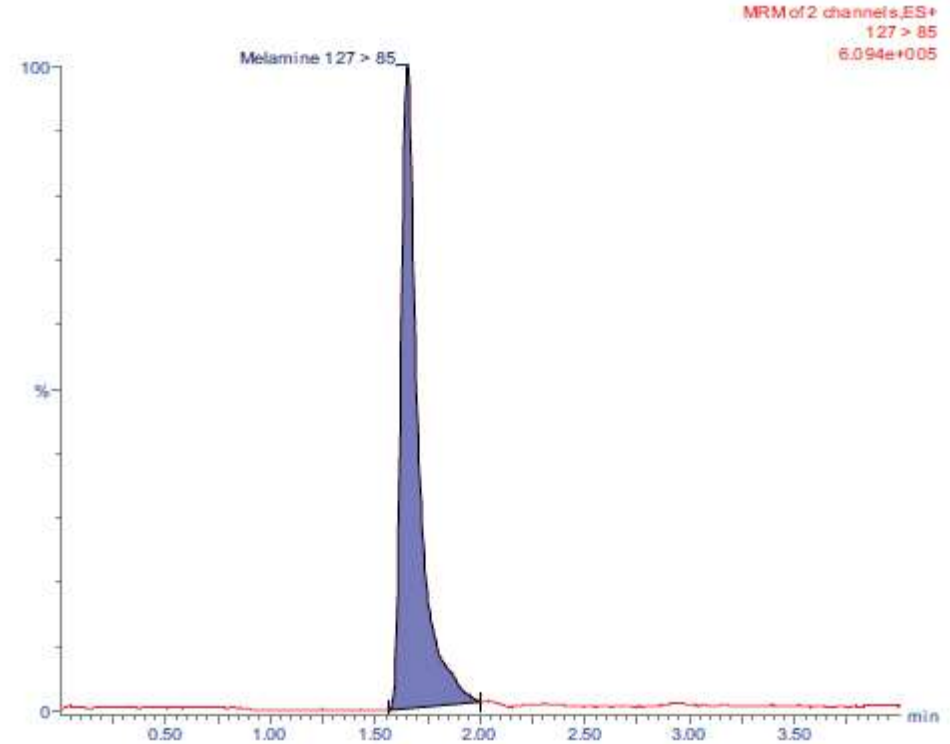
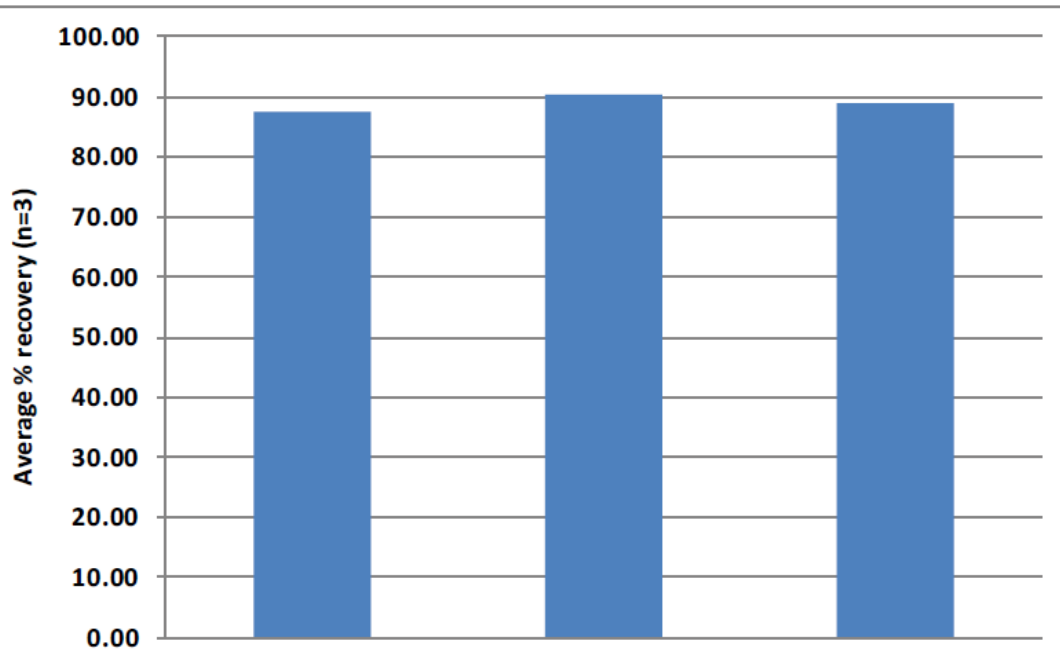
	Step	Source	Destination	Volume (mL)	Flow (mL/min)
1	Condition	Methanol	Organic Waste	3.0	2.00
2	Condition	Ammonium acetate	Organic Waste	3.0	2.00
3	Load	Sample	Biological Waste	2.0	1.00
4	Purge-Cannula	Ammonium acetate	Organic Waste	2.0	30.00
5	Rinse	Ammonium acetate	Organic Waste	3.0	2.00
6	Rinse	Methanol	Organic Waste	3.0	2.00
7	Collect	Methanol:NH ₄ OH (95:5)	Fraction 1	3.0	1.00
8	Purge-Cannula	Ammonium acetate	Organic Waste	6.0	30.00
9	Purge-Cannula	Methanol	Cannula Waste	6.0	30.00
10	Purge-Cannula	Water	Cannula Waste	2.0	30.00



BIOTAGE RAPIDTRACE+

Melamin kimutatása tejből

- oldószer eltávolítás (Biotage TurboVap)
- oldás acetonitril-víz 500 µl 90:10 elegyben
- vizsgálat HPLC-MS rendszerrel



- 3 párhuzamos vizsgálat, egy vizsgálat során 6 injektálás
- RSD <10%
- visszanyerés >88%



BIOTAGE EXTRAHERA



- automata munkaállomás:
 - szilárd fázisú extrakció (SPE)
 - folyadék-folyadék extrakció (supported liquid extraction (SLE))
 - fehérje és foszfolipid eltávolítás (PLD)
 - fehérje kicsapás (PPT)
- 96 helyes mikroplatekhez
- 1, 3 és 6 ml-es SPE oszlopokhoz



BIOTAGE EXTRAHERA

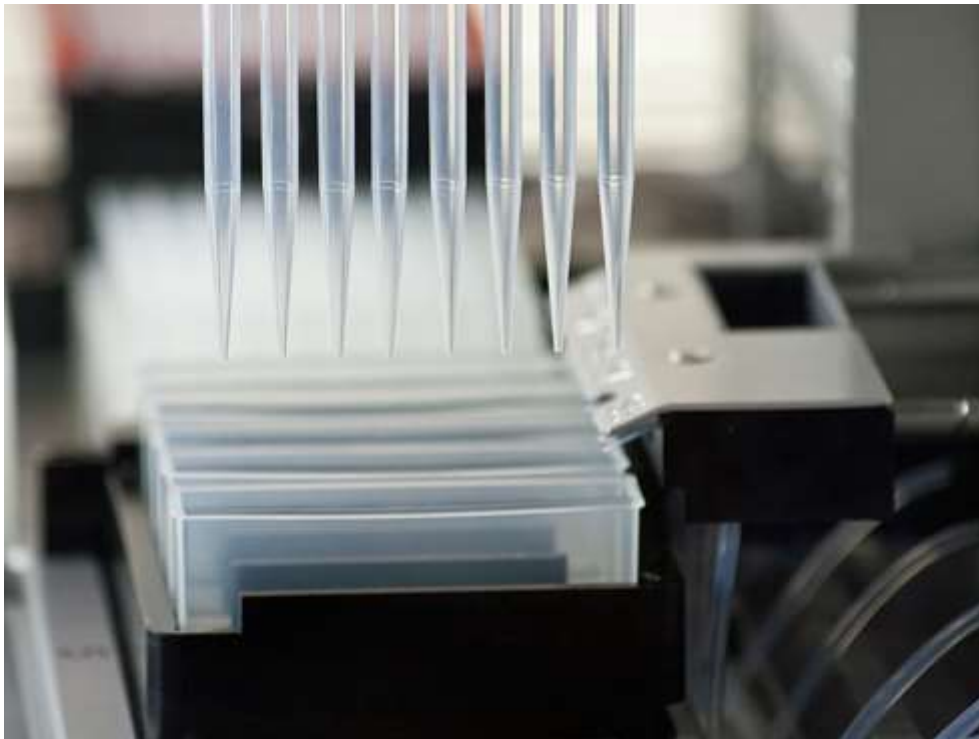


- kétszintes elrendezés
- felső részen:
 - pipettahegy tartó a mintának és az oldószereknek
 - minta tartó
 - extrakciós edény tartó
 - 5 oldószertartály
 - használt pipettahegy gyűjtő

- alsó részen:
 - négyhelyes karusszel a frakcióknak és a szennylének
 - belső hely egy emelő, mely a pozícióban lévő edényt az extrakciós edényhez pozicionálja



BIOTAGE EXTRAHERA



- folyadékmozgatás pipettázófejjel
1 ml-es pipettázóhegyekkel
- 1, 3 és 6 ml-es SPE oszlopokhoz
4 csatornás pipettázófej
- 96 helyes mikroplatekhez 8 csatornás
pipettázófej

- folyadékáramoltatás
- pozitív nyomás inert gázzal
- a gáz nyomása lépésenként állítható, így szabályozható az áramlási sebesség



BIOTAGE EXTRAHERA

< Back View SPE Method - EVOLUTE ABN (non polar), ...

Method name: EVOLUTE ABN (non polar), 6 mL columns

Sample plate/rack: 12 x 75 mm test tubes, 24

Extraction media: 6 mL column rack, 24

Pretreatment: On

Conditioning: Off

Equilibration: Off

Sample Load: On

Wash: On

Elution: On

Number of steps: 1 Pressure (bar): 1,5 Plate dry after last elution? Yes Plate dry time (s): 120 Dispose tips after each step? No

Solvent: Methanol

Volume (µL): 2500

Positive pressure time (s): 120 Advanced..

Repeat (number of times): 2 Pause after this step? No

Collect in position: A

- vezérlés érintőképernyővel
- előre definiált módszerek
- felhasználó által szabadon írt módszerek

- minden lépésre minden paraméter külön-külön beállítható

< Back Prepare Run - EVOLUTE CX EXPRESS Run >

Sample Plate/Rack ID: Extraction Media Lot No.: Collection Plate/Rack ID:

Solvent Tips: 1

Extraction Media: 3

Solvent Reservoirs: 5

Sample Tips: 2

Sample Plate/Rack: 4

Carousels: 6

Report and Comment:

Carousal Setup:

Extraction Media:

Extraction Media:	Extraction plate, 96
Sample Plate/Rack:	1 mL sample plate, 96
Solvent Tip Columns Needed:	3
Sample Tip Columns Needed:	0
Total Solvent Consumption:	
0.03M AcOH, pH 4	0.000 mL
Methanol	0.000 mL
MeOH-NH4OH (95:5)	0.000 mL
Pretreatment:	
0.03M AcOH, pH 4	750 µL
Conditioning:	
	Not used
Equilibration:	
	Not used
Sample Load:	
Aqueous sample	500 µL
Wash:	
0.03M AcOH, pH 4	1000 µL
Methanol	1000 µL
Elution:	
MeOH-NH4OH (95:5)	1000 µL



BIOTAGE EXTRAHERA

Pontosság és precizitás*

- a precizitás és pontosság 50 µl, 100 µl, 500 µ és 1000 µl térfogatokra

Specified Volume (µL)	Average Measured Volume (µL) n=24	Standard Deviation	Specified Precision (% RSD)	Measured Precision (% RSD)	Specified Accuracy (Error ± %)	Measured Accuracy (Error ± %)
50	50.6	0.20	1.0	0.39	2.0	1.14
100	99.4	0.43	1.0	0.43	2.0	- 0.61
500	497	0.92	1.0	0.18	1.5	- 0.63
1000	997	1.65	1.0	0.17	1.0	- 0.34

Specified Volume (µL)	Average Measured Volume (µL) n=96	Standard Deviation	Specified Precision (% RSD)	Measured Precision (% RSD)	Specified Accuracy (Error ± %)	Measured Accuracy (Error ± %)
50	50.2	0.44	1.0	0.87	2.0	0.43
100	99.1	0.44	1.0	0.44	2.0	- 0.94
500	498	0.89	1.0	0.18	1.5	- 0.44
1000	995	2.31	1.0	0.23	1.0	- 0.45

* Biotage Product Note PPS358, Product Note PPS360
Biotage® Extrahera™ Precision and accuracy Performance



ABL&E-JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása

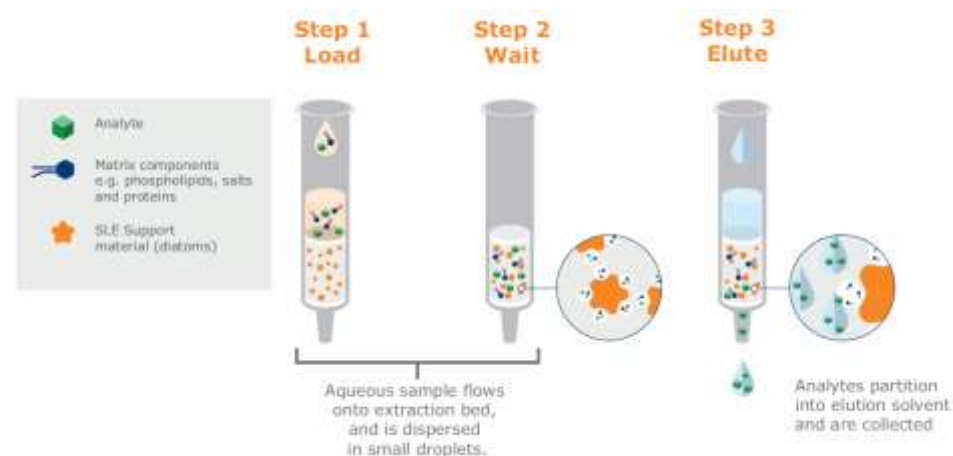


BIOTAGE EXTRAHERA

alkalmazása az igazságügyi toxikológiában *

mintaelőkészítés:

- ISOLUTE® SLE+ 400 µl 96 helyes és ISOLUTE® SLE+ 1 ml oszlop
- egészséges vér és vizelet minták
- LGC drog standardok
- minták előkezelése 1:1 1%NH₄OH-val
- 1 ml előkezelt minta az oszlopra és 300 µl minta well plate-be



* Biotage poster presented at TIAFT, Brisbane, 2016
Evaluation of Novel Automated Sample Preparation Compared to Manual Processing in
Forensic Toxicology

ABL&E–JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása



BIOTAGE EXTRAHERA

alkalmazása az igazságügyi toxikológiában

Extrakció

- manuális és automatizált extrakció
- a vizelet minta eluálása 2 x 25 ml DCM/izopropanol 95/5
- vér minta eluálása 900 µl DCM/ACN 99/1, majd 900 µl MTBE

Bepárlás

- 40°C 100 µl 50mM HCl metanolban

LC-MS/MS

- electrospray ionizáció

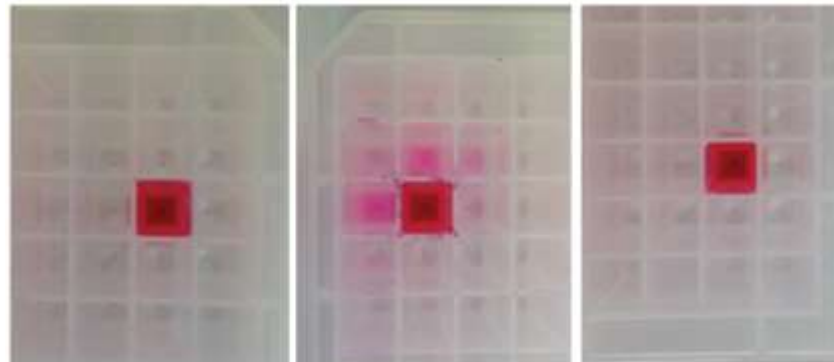


BIOTAGE EXTRAHERA

alkalmazása az igazságügyi toxikológiában

Keresztszennyezés ellenőrzés

- Rhodamine B festék MeOH, DCM, MTBE oldószerekben
- 96-os plate, 1 és 2 ml folyadék



Vákuum optimalizált
spacerrel

Vákuum nem
optimalizált spacerrel

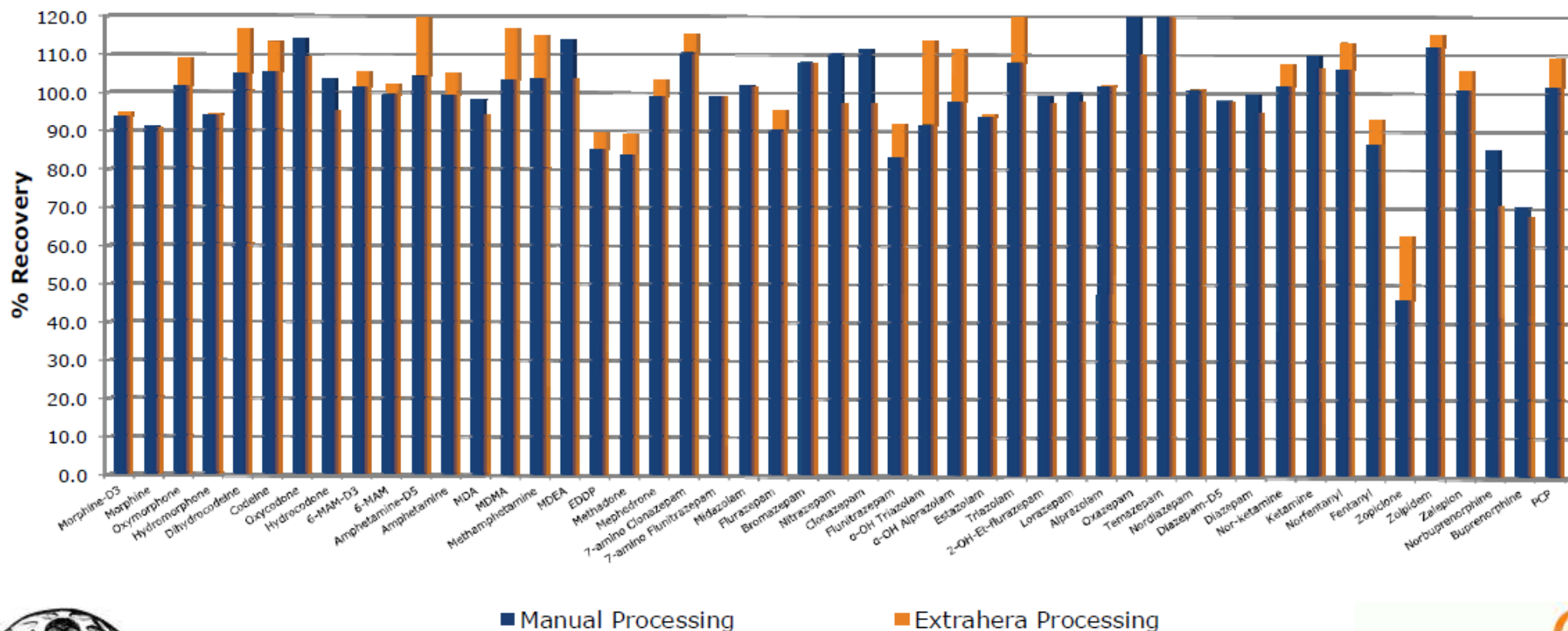
Extrahera



BIOTAGE EXTRAHERA

alkalmazása az igazságügyi toxikológiában

Vizeletből való visszanyerési profil 1 ml-es oszlopok esetén



■ Manual Processing

■ Extrahera Processing

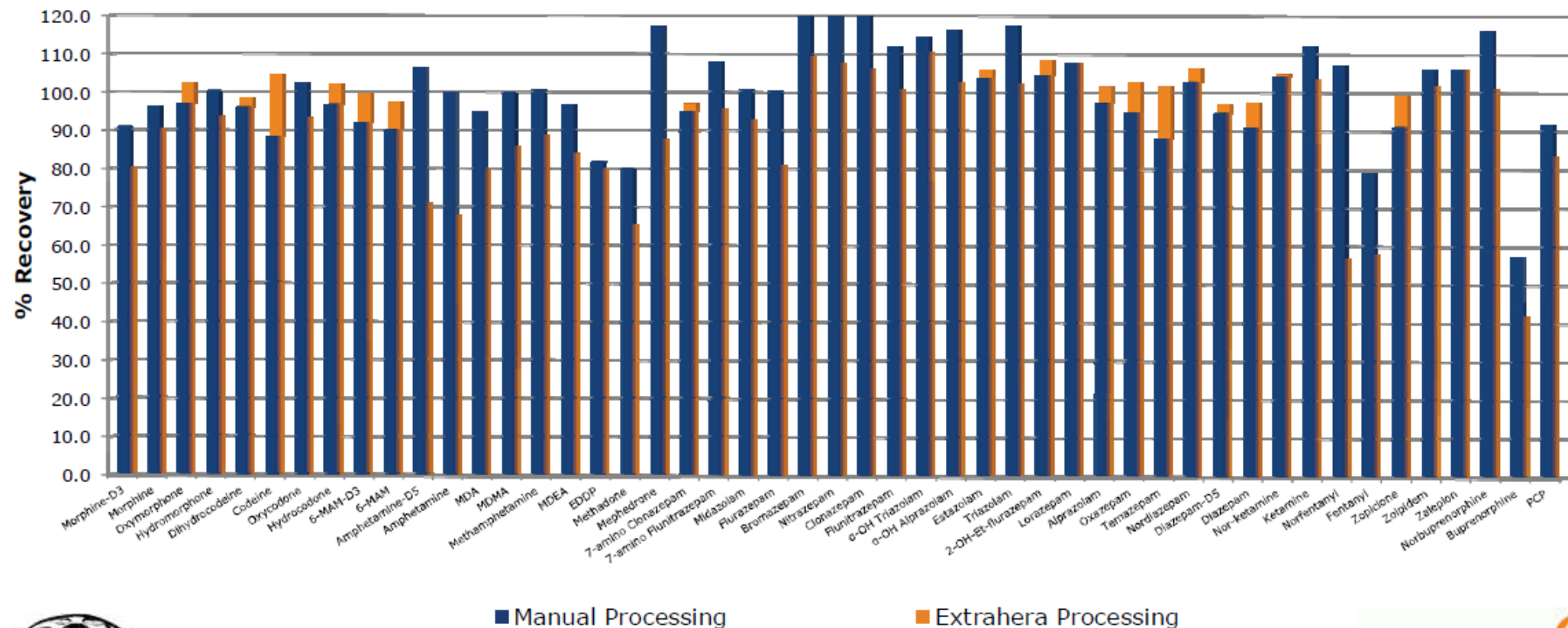
ABL&E-JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása



BIOTAGE EXTRAHERA

alkalmazása az igazságügyi toxikológiában

Vérből való visszanyerési profil 400 µl-es platek esetén



Manual Processing

Extrahera Processing



ABL&E-JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása



BIOTAGE EXTRAHERA

alkalmazása az igazságügyi toxikológiában

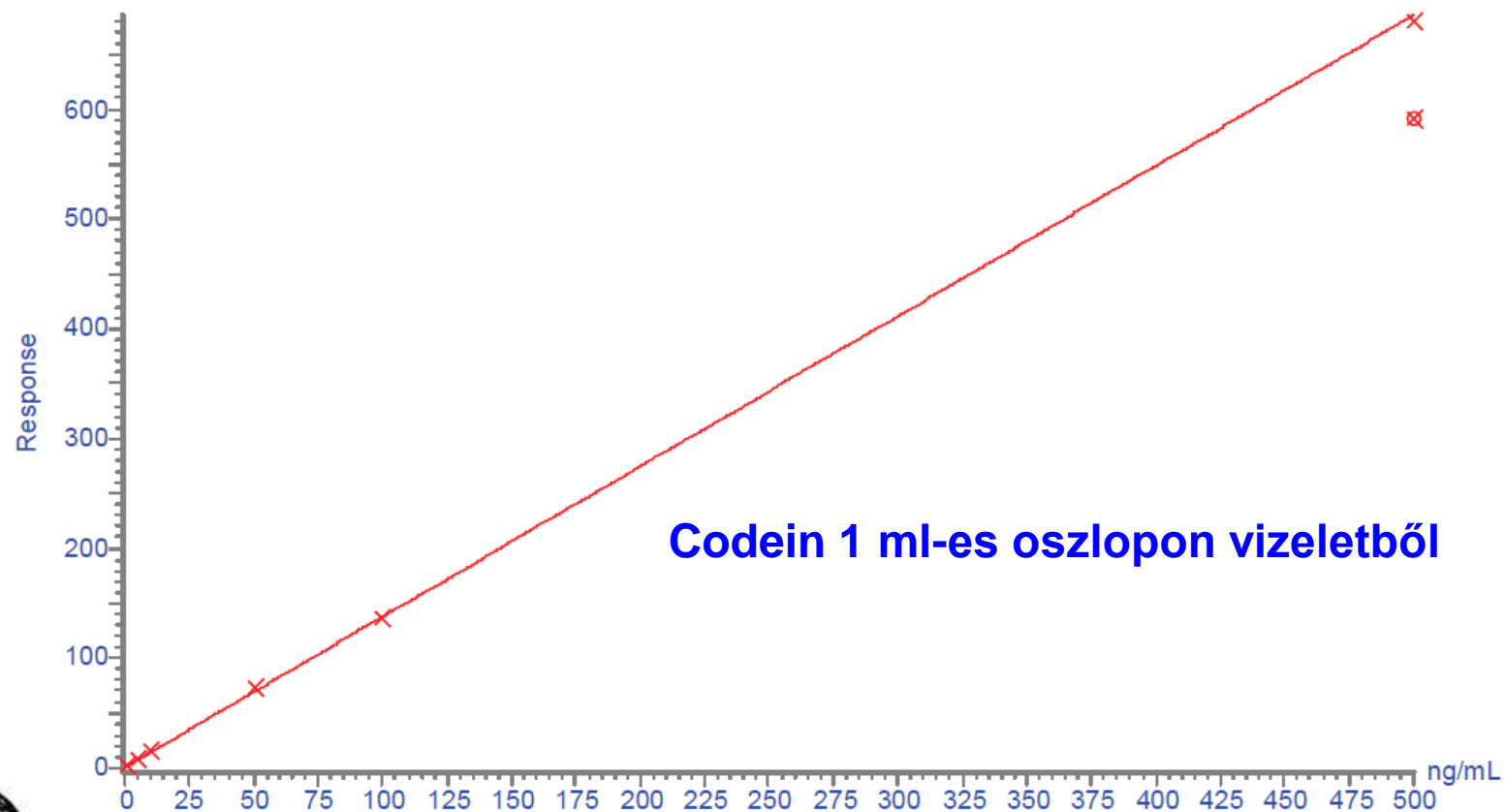
Compound name: Codeine

Correlation coefficient: $r = 0.999373$, $r^2 = 0.998747$

Calibration curve: $1.37072 * x + 0.446284$

Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)

Curve type: Linear, Origin: Include, Weighting: 1/x, Axis trans: None



ABL&E-JASCO Magyarország Kft.

Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása



BIOTAGE EXTRAHERA

alkalmazása az igazságügyi toxikológiában

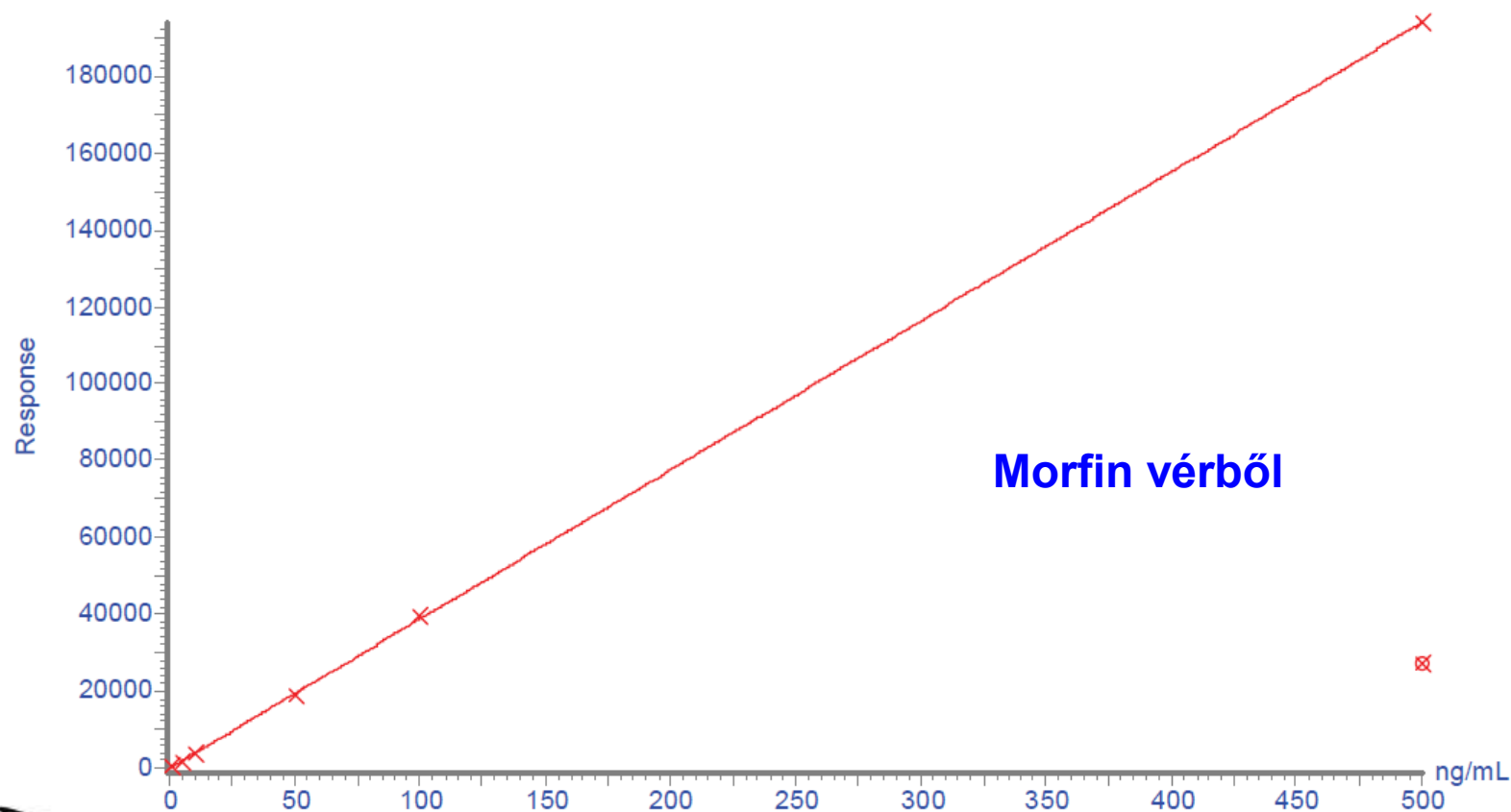
Compound name: Morphine

Correlation coefficient: $r = 0.999943$, $r^2 = 0.999886$

Calibration curve: $387.82 * x + -46.3018$

Response type: External Std, Area

Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



ABL&E-JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása



ÖSSZEFOGLALÁS

- szilárd fázisú extrakció manuális munka részének kiváltására Biotage RapidTrace+ és Extrahera
- RapidTrace+ - SPE oszlopok
- Extrahera – SPE oszlopok és platek
- pozitív nyomás biztosítja az állandó áramlási sebességet
- egyszerű kezelhetőség, flexibilis programozhatóság
- módszerfejlesztéstől a rutin munkáig



ABL&E–JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása


Biotage®

KÖSZÖNÖM A FIGYELMET!



WWW.ABLELAB.COM



ABL&E-JASCO Magyarország Kft.
Laboratóriumi műszerek és berendezések forgalmazása


Biotage®