**SPE protocol voor Oasis HLB 200 mg, 6 cc, 30 µm (WAT106202): toepasbaar voor 100 ml stalen/standaarden met een maximale concentratie van 2 µg/L.**

1. Bereid de calibratiereeks. Bereken op voorhand de OMP concentraties in de calibratiereeks zodat alle (verwachte) concentraties in de stalen binnen het bereik van de calibratiereeks liggen. De hoogste standaard van de calibratiereeks mag idealiter niet hoger zijn dan 0,5 mg/L (na elueren, of indampen indien van toepassing). Pas het staalvolume en eindvolume na elueren/indampen hieraan aan.
2. Label de SPE cartridges, en plaats de SPE cartridges op de kraantjes in het deksel van de SPE manifold.
3. Voeg aan elke standaard en aan elk staal interne standaard toe, aan eenzelfde concentratie.
4. Draai alle kraantjes dicht. Breng op iedere cartridge 3 mL MeOH (LC-MSn grade). Draai vervolgens alle kraantjes open. Indien nodig kan je het doorstromen opstarten door kort vacuüm te zuigen. Zet nadien het vacuüm af en laat de methanol enkel door zwaartekracht door de cartridge druppelen. Draai de kraantjes dicht als er nog 0,5 à 1 mm MeOH resteert bovenop de bovenste frit in de cartridge (het adsorbens mag niet droog worden).
5. Breng 5 mL matrixoplossing op elke cartridge. Draai de kraantjes nog niet open! Zet de hevels op de gevulde cartridges en hang de gewichtjes in de stalen.
6. Open nu opnieuw de kraantjes en start de extractie. Eventueel moet je kort de vacuümpomp aanzetten om de hevels te vullen met vloeistof. Zorg ervoor dat alle stalen even snel doorstromen, door middel van vacuüm en/of de kraantjes per individuele cartridge. De stalen moeten traag (druppelend) doorheen de cartridge stromen om voldoende contacttijd tussen vloeistof en adsorbens te voorzien.
7. Wanneer de extractie gedaan is, verwijder je de hevels van de cartridge. Indien nog een restje overblijft in de recipiënten giet je dat nog op de cartridge. Voeg in het geval van zeer zoute stalen 2 keer 5 mL (= 10 mL in totaal) milli-Q water toe, om zout weg te wassen. Bij ieder ander type stalen voeg je 2 keer 2,5 mL (= 5 mL in totaal) milli-Q water toe. Let wel: doe voor alles hetzelfde. Dus indien je maar 1 zeer zout staal hebt en alle andere zijn niet zout, doe dan ook 10 mL waswater voor de niet zoute stalen.
8. Droog de binnenkant van de SPE cartridges met papier en laat gedurende 10 minuten lucht doorheen de cartridges stromen door middel van vacuüm om de cartridges te drogen.
9. Voorzie ondertussen de eluens vials van een label.
10. Plaats het rekje met eluensvials in de manifold. Elueer de SPE cartridges door 2 keer 4 mL MeOH (LC-MSn grade) op de cartridge te brengen. Indien nodig kan je de filtratie op gang brengen door **kort (!)** de vacuümpomp aan te zetten, laat nadien door middel van de zwaartekracht de methanol doordruppelen.
11. Damp in tot 0,6 mL met N2. Gebruik een referentievial waarin je 0,6 mL MeOH pipetteert om het vloeistofniveau te kunnen vergelijken. Dit resulteert in een opconcentreringsfactor van (100 / 0,6 = 167), 2 µg/L wordt dus 333 µg/L bij 100% extractie recovery.
12. Pipetteer het ingedampte eluens in een 1,5 mL HPLC vial. Indien het volume lager is dan 0.5 mL moet je een insert gebruiken.

**SPE protocol for Oasis HLB 200 mg, 6 cc, 30 µm (WAT106202): suitable for 100 mL samples/standards with a maximum concentration of 5 µg/L.**

1. Prepare the calibration series. Calculate in advance the OMP concentrations in the calibration series such that all (expected) concentrations of the samples are within the range of the calibration series. The highest standard of the calibration series may ideally not be higher than 0.5 mg/L (after elution, or evaporation if applicable). Adjust the sample volume and final volume after elution/evaporation to these demands.
2. Label the SPE cartridges, and place them on the little valves in the lid of the SPE manifold.
3. Add internal standard to every standard and every sample, to an equal concentration.
4. Close all the valves. Pipet on each cartridge 3 mL MeOH (LC-MSn grade). Now you can open all the valves again. If necessary start the methanol-flow through the cartridge by shortly applying a vacuum. Turn off the vacuum and let the methanol flow through the cartridge by means of gravity. Close the valves once on top of the upper frit there is approximately 0.5 to 1 mm MeOH remaining (the adsorbent cannot be dry).
5. Put 5 mL of matrix solution on each cartridge. Don’t open the valves yet! Install the siphon tubes on the filled cartridges and put the weights in the standard/sample bottles. Place the standard/sample bottles on an elevated platform, higher than the top of the SPE cartridges.
6. Now open the valves and start the extraction. If necessary shortly use the vacuum pump to fill the siphon tubes with liquid. Try to make sure that all samples have the same flow speed by using the vacuum pump and/or the valves per cartridge. When the samples are dripping (rather than a continuous stream) through the cartridge, the contact time between sample and adsorbent is sufficient, and the flow speed is good.
7. Once the extraction is finished remove the siphon tubes. In case a small part of the sample is still remaining in the sample recipients, pour it on the cartridge. In case of very salty samples, add 2 times 5 mL (= 10 mL in total) milli-Q water, to wash out salts. In case of samples with a low salt concentration, add 2 times 2.5 mL (= 5 mL in total) milli-Q water. However: do the same for all your samples/standards. In case you have only 1 very salty samples while the others are not, also apply 10 mL of washing water to the non salty samples.
8. Dry the inside of the SPE cartridges with paper and air-dry the cartridges by means of applying a continuous vacuum for 10 minutes, with the valves open.
9. In the meantime, label the eluate vials.
10. Put the rack with eluate vials in the manifold. Elute the SPE cartridges with 2 times 4 mL MeOH (LC-MSn grade). If necessary you can start the filtration by **very shortly (!)** applying a vacuum. After that let the methanol elute under gravity.
11. Evaporate to 1.25 mL with N2. Use a reference vial in which you pipet 1.25 mL MeOH to be able to compare the level of the fluid. This results in a concentration factor of (100 / 1.25 = 80), 5 µg/L will become 400 µg/L in case of 100% extraction recovery.
12. Pipet the evaporated eluate in a 1.5 mL HPLC vial. In case the volume is lower than 0.5 mL you have to use an insert.