

Extração em ponteiras descartáveis: fundamentos teóricos e aplicações

Disposable Pipette Extraction (DPX): fundamental principles and applications

Mônia Aparecida Lemos Pinto¹

Maria Eugênia Costa Queiroz^{2*}

¹Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, CEP 14.040-903, Ribeirão Preto, SP, Brasil

²Departamento de Química, Faculdade de Filosofia Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, CEP 14040901, Ribeirão Preto, SP, Brasil

*mariaeqn@ffclrp.usp.br

Recebido: 18 Ago 2015

Aceito: 03 Set 2015

Resumo

A extração em ponteiras descartáveis – *Disposable Pipette Extraction (DPX)*, recente técnica de preparo de amostra, é baseada no equilíbrio de sorção do analito presente na amostra com o sorvente. Esta técnica consiste em uma variante da extração em fase sólida (SPE) convencional. A DPX utiliza uma ponteira convencional de pipeta (1 ou 5 mL), na qual o sorvente está contido livremente entre dois filtros. A amostra aspirada pela ponteira é misturada dinamicamente com o sorvente por meio da aspiração de ar. A extração ocorre em fase sólida dispersiva, assegurando adequada superfície de contato (amostra/sorvente) e conseqüentemente, eficiente extração. A DPX é uma técnica de preparo de amostra rápida e simples que utiliza reduzido volume de amostra e de solvente orgânico. Esta revisão apresenta os fundamentos teóricos da técnica DPX, as principais etapas envolvidas no processo de extração e exemplos de aplicações desta técnica de preparo de amostra, nas áreas de toxicologia forense, ambiental e clínica.

Palavras-chave: Extração em ponteiras descartáveis; preparo de amostra.

Abstract

Disposable Pipette Extraction (DPX), recent technique of sample preparation, is based on analyte sorption equilibrium between the samples and sorbent. This technique consists of a variant of conventional solid phase extraction (SPE). DPX uses a standard pipette tip (1 or 5 ml), in which the sorbent is contained loosely between two filters. Suction of air promotes dynamically mix of the sample and the sorbent inside the tip. The extraction occurs in dispersive solid phase, ensuring adequate contact surface, and consequently, efficient extraction. The DPX is a fast and simple sample preparation technique that uses small sample volume and the organic solvent. This review presents the theory fundamentals of DPX technique, the key steps involved in the extraction process and examples of applications in the areas of forensic toxicology, environmental and clinical.

Keywords: Disposable Pipette Extraction; sample preparation.

1. Introdução

Nos últimos anos, notáveis avanços nas técnicas de preparo de amostras e na instrumentação analítica vêm sendo observados. Além de favorecer a seletividade e detectabilidade, a instrumentação analítica moderna tem proporcionado o desenvolvimento de rápidos métodos analíticos, permitindo alta frequência analítica. Dentre as técnicas modernas de análise, a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS, *Liquid chromatography–mass spectrometry*) tem sido considerada a técnica de referência na análise de compostos de interesse, tanto na área clínica (fármacos/metabólitos/biomarcadores), como na ambiental^[1]. Embora, a LC-MS apresente as vantagens descritas em relação à instrumentação analítica moderna, a etapa do preparo de amostra é parte integrante do processo analítico. O preparo da amostra é a primeira e mais laboriosa etapa na análise cromatográfica. Geralmente, a etapa do preparo da amostra requer 80% do tempo total da análise e, de forma simples, visa o isolamento seletivo dos analitos, a eliminação de grande parte dos componentes endógenos (interferentes) da matriz da amostra, além de concentrar os analitos, quase sempre presente em níveis de traços^[1].

A extração líquido-líquido (LLE), precipitação de proteínas de fluidos biológicos (PP), e extração em fase sólida (SPE) com sorventes disponíveis no comércio têm sido consideradas como técnicas convencionais de preparo de amostra. Nos últimos anos, novas estratégias de preparo de amostra, visando à simplificação, a miniaturização e minimização do uso de solventes orgânicos, foram desenvolvidas, avaliadas, validadas e comercializadas^[1,3]. Neste contexto, podemos destacar a técnica de extração em ponteiros descartáveis, ou simplesmente DPX (*Disposable Pipette Extraction*).

A extração em ponteira descartável, outra variante da tradicional SPE e da extração em fase sólida dispersiva (D-SPE, importante etapa do método *QuEChERS* (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*)), permite rápida extração de amostras em soluções,

porém emprega ponteiros descartáveis, ao invés de cartuchos ou tubos de ensaio.

A técnica DPX, quando comparada à D-SPE (empregada apenas na sorção de interferentes do método *QuEChERS*), permite a sorção e dessorção dos analitos, já quando comparada a SPE, requer menor massa de material sorvente, além de dispensar a utilização de vácuo^[4]. Em geral, esta técnica minimiza as etapas necessárias de condicionamento e, portanto acelera o processo de preparo de amostra. Trata-se de um método único no qual o sorvente contido livremente no interior de uma ponteira é completamente misturado a solução de amostra por meio da aspiração de ar. Esta mistura dinâmica da fase sólida dispersiva-amostra favorece o rápido equilíbrio de sorção do analito. Já a menor massa de sorvente, resulta em menores volumes de amostra e de solvente orgânico^[5]. Além disso, a extração por DPX pode ser facilmente automatizada. A principal vantagem da extração por DPX, especialmente quando se utiliza um aparelho semi-automatizado simples, é alta frequência analítica.

As principais áreas de aplicação, nas quais a extração por DPX tem sido reportada são as análises forenses (drogas de abuso) e de contaminantes de alimentos (principalmente os pesticidas). No entanto, mais recentemente, a DPX vem sendo descrita como uma ferramenta essencial para a purificação e concentração de proteínas e peptídeos em genômica, proteômica, metabolômica. E embora, a literatura científica sobre a utilização da DPX na determinação de fármacos em fluidos biológicos seja ainda limitada, sua simplicidade na operação, variedade de sorventes disponíveis e capacidade de automatização geram várias vantagens também a este seguimento^[2].

2. As ponteiros DPX

A extração em ponteira descartável (DPX), recente técnica de preparo de amostra, surgiu como uma alternativa a SPE convencional. Fruto de uma patente (n° US6566145 B2) de 2003 desenvolvida pelo



Figura 1. Esquema de uma ponteira DPX [Adaptado da referência n 7].

Dr. William Brewer (Universidade da Carolina do Sul, EUA) de maneira original e simples, a DPX trata-se de uma ponteira padrão de pipeta (1 ou 5 mL), modificada, na qual uma pequena quantidade de sorvente está contido livremente em seu interior entre dois filtros. Um dos filtros é colocado na extremidade inferior e outro na extremidade superior da ponteira. O primeiro (que pode ser uma tampa de vidro sinterizado, de lã de vidro, de polímero poroso, ou de metal), tem como finalidade proporcionar uma barreira permeável que permita a passagem livre dos fluídos em qualquer direção (aspiração/dispensação), ao mesmo tempo em que retém a fase extratora. O segundo, colocado na extremidade superior, impede a passagem de qualquer material sólido ou fluído para o interior da pipeta, assegurando

Tabela 1. Ponteiras DPX comercializadas pela DPX Labs®.

Tipos de ponteiras comercializadas		Tipo de Fase	Uso
DPX-RP	DPX-RP 1mL (30 mg) DPX-RP 5mL (60 mg) DPX-RP TA* 1mL	Estireno divinil benzeno	Adsorção de compostos apolares e pouco polares (Ex.: pesticidas)
DPX-CX	DPX-CX 1mL (20 mg) DPX-CX 5 mL (60-100 mg) DPX-CX TA* 1mL	Grupos – ácido sulfônico	Adsorção de compostos básico (Ex.: drogas de caráter básico)
DPX-WAX	DPX-WAX 1mL (20-30 mg) DPX-WAX 5 mL (60 mg) DPX-WAX TA* (20-30 mg)	Grupos poliamino	Interação com compostos ácidos (Ex.: drogas e metabólitos)
DPX-WCX	DPX-WCX 1 mL (30 mg) DPX-WCX 5mL (60 mg) DPX-WCX TA* (30 mg)	Grupos policarboxilato	Adsorção de compostos básicos (Ex: especialmente aminoglicosídeos)
DPX-Si	DPX-Si 1mL (30-100 mg) DPX-Si 5 mL (50-250 mg) DPX-Si TA* (30-100 mg)	Sílica Gel	Limpeza (<i>cleanup</i>) de amostras ambientais
DPX-C18	DPX-C18 1 mL (30-100 mg) DPX-C18 5 mL (50-250 mg) DPX-C18 TA* (30-100 mg)	C18 (20% de sílica gel)	Remoção de interferentes presentes na matrix
DPX-SC	DPX-SC TA 1 mL	Vazio ou com areia (lavada com ácido)	Coleta de amostras sólidas
DPX-Blank	1 ou 5 mL	–	Desenvolvimento de métodos

*Tipo especial de ponteira com adaptador para sistemas automatizados.

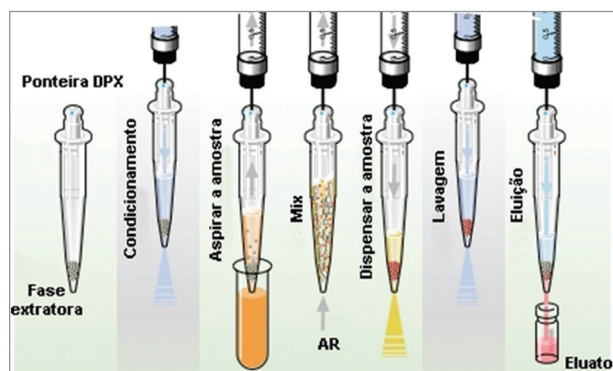


Figura 2. Esquema das etapas envolvidas na extração por DPX. [Esquema adaptado da publicação online da GERSTEL, <http://www.gerstel.de/pdf/p-gc-an-2009-01.pdf>].

a não contaminação da mesma e a retenção do sorvente. Este segundo filtro é de preferência constituído de vidro sinterizado, de um polímero poroso, ou de uma membrana semi-permeável^[6] (Figura 1).

A primeira ponteira DPX comercialmente disponível, se fundamentou na cromatografia clássica, com partículas C18 incorporadas com polímeros (ZipTip, Millipore, Bedford, MA, EUA)^[8]. Desde então, semelhante aos cartuchos SPE tradicionais, diferentes fases com diferentes mecanismos de extração foram

Tabela 2. Aplicações da técnica DPX na determinação de contaminantes alimentares associados à análise cromatográfica.

Análito (amostra)	Processo extração	Técnica analítica	LOQ/LOD	Referências
Melamina (leite)	Fase extratora: Troca catiónica Volume de amostra: 250 µL (2x de 30s); Lavagem: 500 µL de solução de acetonitrila 10% (ACN/H ₂ O) + 500 µL de ACN (1x); Eluição: 1 mL de uma mistura de NH ₄ OH(4%)/EtAC(76%)/IPOH (20%)	GC/MS	<20 ng/mL	Lambert, S. (2009) ^[6]
Pesticidas organoclorados e organofosforados (alimentos)	Fase extratora: (SDVB), (DPX-RP) (DPX-PA) e (DPX-WAX) Volume de amostra: 500 µl (1 min) Eluição: Acetonitrila	GC/MS	<10 ppb	Guan, H et al. (2009) ^[5]
Pesticidas organoclorados e organofosforados (frutos e vegetais)	Fase extratora: Estireno divinilbenzeno; Volume de amostra: 1 mL (1x de 30-60s); Lavagem: 0,5 mL água deionizada; Eluição: 0,7 mL hexano/acetato de etila (50/50, v/v)	GC/MS	100 ng/mL	Guan, H et al. (2010) ^[11]
Pesticidas (frutas e vegetais)	Fase extratora: Fase reversa Volume de amostra: 3,5 mL de extrato – 2x ou 3x (30s) Lavagem: 1 mL de água Eluição: 700 µL de uma mistura de hexano/acetato de etila (50:50 v/v)	GC	<0,1 ppm	Guan, H. et al. (2010) ^[12]
Paládio (BTU)	Solução de Pd-BTU 1 mol L ⁻¹ Eluição: Metanol	GC/MS	0,012 ppb	Jaison, P. G. et al. (2012) ^[13]
58 Pesticidas (produtos de Feijão)	Fase extratora: DPX- Qg (alta quantidade de carbono grafite) Amostra: 20 g (30s)	GC/MS	0,01-0,1 mg/Kg	Li, Z. et al. (2012) ^[4]
Bifenilos Policlorados – PCBs (tecido biológico)	Fase extratora: Sílica Volume de amostra: Sobrenadante (10s) Eluição: 8 mL de n-hexano	GC/MS-MS	2-152 pg/g	Pena-Abaurrea, M. et al. (2013) ^[15]
36 Pesticidas (solo)	–	GC/MS-MS	<7,6 g/kg	Fernandes, V C. et al. (2013) ^[16]

SIM = monitoramento do íon seletivo; SDVB = estireno-divinilbenzeno; DPX-RP= fase reversa ; DPX-PA= poliamino; DPX-WAX = troca aniônica; BTU = benzoíla tiourea; Pd=Paládio.

Tabela 3. Aplicações da extração por DPX na determinação de drogas de abuso e fármacos associados à análise cromatográfica.

Análito (amostra)	Processo extração	Técnica analítica	LOQ/LOD	Ref.
Lidocaina e Diazepam (água)	Fase extratora: C18 Condicionamento: 2x de 100 µL de tampão K_2HPO_4 0,1 M (pH 8,0); Volume de amostra: 200 µL Lavagem: 100 µL de água; Eluição: 100 µL de acetato de etila	GC	-	van Hout, M.W.J. et al. (1999) ^[17]
Mequitazina (plasma)	Fase extratora: monolito de sílica (C18) Condicionamento: 200 µL de metanol + 200 µL de água Volume de amostra: 100 µL (20x) Lavagem: 200 µL água Eluição: Metanol (5x)	GC/MS	0,5 ng/mL	Kumazawaa, T. et al. (2006) ^[18]
10 antihistamínicos (plasma)	Fase extratora: monolitos de sílica (C18) Condicionamento: 200 µL de metanol + 200 µL de água Volume de amostra: 100 µL (25x) Eluição: 100 µL Metanol (5x)	GC/MS	0,2-50 ng/mL	Hasegawa, C. et.al. (2006) ^[19]
Metanfetamina e Anfetamina (sangue)	Fase extratora: monolitos de sílica (C18) Condicionamento: 200 µL de metanol + 200 µL de água Volume da amostra: 100 µL (25x) Lavagem: 200 µL água Eluição: Metanol (5x)	GC/MS	0,15 ng/mL – Metanfetamina e 1,1 ng/mL – Anfetamina	Hasegawa, C. et al. (2007) ^[10]
Metanfetamina e Anfetamina (urina)	Fase extratora: monolito de sílica (C18) Condicionamento: 200 µL de metanol + 200 µL de água Volume de amostra: 500 µL (25x) Lavagem: 200 µL água Eluição: Metanol (5x)	GC/MS	0,08 ng/ml – Metanfetamina e 0,10 ng/ml – Anfetamina	Kumazawaa, T. et al. (2007) ^[9]
THC (sangue) e THCc (sangue e urina)	Fase extratora: estireno de divinilbenzeno Condicionamento: 800 µL (400 µL extração com urina) de água/acetoneitrila (67:33, v/v) – 1 min. Volume: 800 µL (1 min) Eluição: 800 µL (400 µL extração com urina) de acetato de etila/ acetoneitrila (50:50, v/v).	GC/MS	1 ng/mL – THC (sangue) 2 ng/mL – THCc (sangue) 3 ng/mL – THCc (urina)	Schroeder, J.L. et al. (2008) ^[20]
Anfetamina, opiáceos, cocaína e seus metabólitos; metabólito do tetrahydrocannabinol, antidepressivos tricíclicos, mepiridina, metadona, fenciclidina (urina)	Fase extratora: Troca catiônica (CX) Condicionamento: 500 µL água Volume de amostra: 200 µL (20 s) Lavagem: 500 µL água destilada (2x) Eluição: 500 µL de acetoneitrila - drogas neutras e ácidas; 500 µL cloreto de metileno / isopropanol / hidróxido de amônio 78:20:2 (v/v) – drogas básicas	GC/MS	<100 ng/mL	Ellison, S.T. et al. (2009) ^[21]
Opiáceos (humor vítreo)	Fase extratora: troca catiônica Condicionamento: 2 mL de água deionizada e 2 mL de CH_3OH (20s) Volume de amostra: 100 µL (1x de 30s); Lavagem: 2,5 mL água e 2,5 mL de acetoneitrila (30s cada); Eluição: 2,5 mL de uma mistura de CH_2Cl_2 (78%), isopropanol (20%) e hidróxido de amônio (2%);	GC	490-4350 ng/mL	Kovatsi, L. et. al. (2011) ^[22]

THC = Δ^9 -tetrahydrocannabinol; THCc = 11-nor- Δ^9 -tetra-hidrocanabinol-9-carboxílico.

Tabela 3. Aplicações da extração por DPX na determinação de drogas de abuso e fármacos associados à análise cromatográfica.

Analito (amostra)	Processo extração	Técnica analítica	LOQ/LOD	Ref.
Dextrometorfano (plasma)	Fase extratora: monolitos de sílica (C18) Condicionamento: 200 µL de metanol + 200 µL de água Volume de amostra: 100 µL (20x) Lavagem: 200 µL água Eluição: Metanol (5x)	GC/MS	1,25 ng/mL	Hasegawa, C. et al. (2011) ^[23]
Clorpromazina, Olanzapina, Clozapina e Biperideno (urina)	Fase extratora: estireno divinilbenzeno Condicionamento: 3 ml metanol (1x-10s) + 3mL água (1x-10s) Volume de amostra: 1 mL (5 min) Lavagem: 3 mL água Eluição: 1,5 mL Acetonitrila (1x)	GC	0,85 - 3,58 ng/µl	Samanidou, V. et al. (2013) ^[7]
Antibióticos aminoglicosídeos (tecidos)	Fase extratora: troca catiônica Condicionamento: 3 mL de metanol (1x); 3 mL H ₂ O (2x); Volume de amostra: 10 mL de extrato (4x de 2,5 mL – 30s cada) Lavagem: 3,0 mL água deionizada; Eluição: 0,9 solução aquosa de ácido fórmico 10% (5x)	LC-MS/MS	> 5 ng/g	Lehotay, S.J. et al. (2013) ^[24]
Cocaína e Nicotina (mecônio)	Fase extratora: Troca catiônica Condicionamento: 1mL solução de Acetonitrila (70:30, v/v) Volume de amostra: 300 mg (1 min) Lavagem: 1mL água deionizada (1min) Eluição: 1 mL (3x) de uma mistura dediclotmetano/ 2-propanol/hidróxido de amônio (78: 20:2, v/v/v)	GC/MS	10 - 20 ng/g	Bordin, D.C.M. et al. (2013) ^[25]
Antidepressivos – Fluoxetina e Norfluoxetina (plasma)	Fase extratora: 5 mg de cada (copolímeros de estireno divinilbenzeno e compósitos de polianilina); Volume: 200 µL (3 x de 30s); Lavagem: 3x de 500 µL de solução de água:metanol (50:50, v/v) Eluição: 200 µL (1x) acetonitrila	LC	10 ng/ mL – Fluoxetina e 80 ng/mL - Norfluoxetina	Queiroz, M.E.C. et al. (2015) ^[8]

THC = Δ9-tetrahidrocanabinol; THCc = 11-nor-Δ9-tetra-hidrocanabinol-9-carboxílico.

introduzidas no mercado (Tabela 1). Em 2004, uma nova ponteira DPX com sílica monolítica, a *Mono Tip C18* (GL Sciences, Tóquio, Japão) foi desenvolvida e tem sido aplicada com sucesso em análises proteômicas e metabolômicas^[9,10].

Além, do leito reduzido da ponteira, que requer menor volume de amostra e solvente orgânico, o fato do sorvente estar contido livremente na ponteira, permite o fluxo bidirecional (aspirar ou dispensar) dos fluidos, acelerando o processo de extração. As ponteiras DPX podem ser facilmente acopladas a uma seringa (polipropileno), podendo a extração ser realizada

manualmente para pequenos lotes de amostras; já para laboratórios com grande volume de amostras, sistemas automatizados já encontram-se disponíveis no mercado. Estes possuem a vantagem de proporcionar um fluxo positivo uniforme e controlado e, por conseguinte análises mais exatas e precisas^[6].

3. Etapas da extração por DPX^[1-10]

Em um experimento típico de extração por DPX, inicialmente a fase extratora é condicionada com um solvente apropriado para ativação dos sítios de ligações. Esta etapa, em alguns casos, não se faz necessária. Após o condicionamento, a amostra líquida (ou extrato) é

aspirada para o interior da ponteira e misturada à fase extratora por meio da entrada de ar através da ponta da ponteira. A subsequente aspiração de ar resulta em uma completa mistura da amostra com a fase extratora formando uma suspensão, e permitindo assim uma rápida e eficiente extração. Essa etapa requer otimização, visto que a eficiência da extração está baseada no equilíbrio de sorção, ou seja, no tempo de contato do analito de interesse com a fase extratora.

Normalmente, após 30s, a amostra já pode ser dispensada, seguida de uma etapa de lavagem. A escolha do solvente de lavagem é feita com base no tipo / natureza química do sorvente, na natureza do analito de interesse e nos interferentes possivelmente presentes na matriz. A lavagem com solvente é também realizada por meio da entrada de ar na ponteira. Após esta etapa, finalmente o solvente de eluição é aspirado para o interior da ponteira, seguido da aspiração de ar, várias vezes, de forma a assegurar à completa dessorção dos analitos adsorvidos. O eluato pode ser diretamente injetado em um sistema cromatográfico ou evaporado e reconstituído, visando maior detectabilidade analítica. Todas as etapas envolvidas na extração por DPX são válidas para ambos os sistemas, manual e automatizado (Figura 2).

4. Aplicações da DPX

As Tabelas 2 e 3 ilustram as principais aplicações da técnica de extração por DPX associada à análise cromatográfica na determinação de diferentes analitos para diferentes fins na área forense, clínica e ambiental.

5. Considerações Finais

As técnicas de extração miniaturizadas, como a DPX, tem se tornado uma importante ferramenta na etapa de preparo de amostra. Esta inovadora técnica, baseada nos princípios de sorção da D-SPE e nas etapas da SPE miniaturizada, minimiza o tempo de extração, pois necessita de apenas poucos minutos para a obtenção de eficiente extração e favorece o emprego de pequenos volumes de amostra e de solvente orgânico. Estas vantagens explicam a crescente aplicação da técnica DPX na etapa de preparo de amostras para a determinação de diferentes analitos, especialmente pesticidas, na área ambiental e drogas de abuso, nas análises forenses.

Os métodos reportados na literatura empregando a técnica DPX associada às técnicas analíticas GC, HPLC, LC-MS/MS e GC-MS (Tabelas 2 e 3) mostraram seletividade, alta detectabilidade analítica e linearidade adequada para análises de amostras biológicas e ambientais.

Referências

1. Saunders K C, Ghanem A, Boon Hon W, Hilder E F, Haddad P R. *Analytica Chimica Acta* 2009; 652(1-2): 22-31. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19786168>.
2. Kole P L, Venkatesh G, Kotechac J, Sheshalad R. Recent advances in sample preparation techniques for effective bioanalytical methods. *Biomedical chromatography* 2011; 25 (1-2): 199-217. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21154887>.
3. Szultka M, Pomastowski P, Railean-Plugaru V, Buszewski B. Microextraction sample preparation techniques in biomedical analysis. *Journal of separation science* 2014; 37 (21): 3094-10. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25132413>.
4. Li Z, Li Y, Liu X, Li X, Zhou L, Pan C. Multiresidue analysis of 58 pesticides in bean products by disposable pipet extraction (DPX) cleanup and gas chromatography-mass spectrometry determination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2012; 60(19):4788-98. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22394480>.
5. Guan H, Brewer W E, Morgan S L. New approach to multiresidue pesticide determination in foods with high fat content using disposable pipette extraction (DPX) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Journal of agricultural and food chemistry* 2009; 57(22): 10531-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19877640>.
6. Lambert S. Disposable pipette tip extraction—leaner, greener sample preparation. *Chromatography Today* 2009; (June):12–14. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Disposable+Pipette+tip+Extraction+-+Leaner+,+Greener+Sample+Preparation#0>.

7. Samanidou V, Kovatsi L, Fragou D, Rentifis K. Novel strategies for sample preparation in forensic toxicology. *Bioanalysis* 2011; 3(17):2019-46. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21899509>
8. Chaves AR, Moura BHF, Caris J a, Rabelo D, Queiroz MEC. The development of a new disposable pipette extraction phase based on polyaniline composites for the determination of levels of antidepressants in plasma samples. *Journal of chromatography. A* 2015; 1399:1-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25952664>.
9. Kumazawa T, Hasegawa C, Lee X-P, et al. Simultaneous determination of methamphetamine and amphetamine in human urine using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical* 2007; 44(2):602-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17267160>
10. Hasegawa C, Kumazawa T, Lee X-P, et al. Pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography - mass spectrometry for the determination of methamphetamine and amphetamine in human whole blood. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2007; 389(2):563-70. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17641881>.
11. Guan H, Brewer WE, Garris ST, Morgan SL. Disposable pipette extraction for the analysis of pesticides in fruit and vegetables using gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2010; 1217(12):1867-74. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20144461>.
12. Guan H, Brewer WE, Garris ST, Craft C, Morgan SL. Multiresidue analysis of pesticides in fruits and vegetables using disposable pipette extraction (DPX) and micro-luke method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2010; 58(10):5973-81. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20218611>.
13. Jaison PG, Kumar P, Telmore VM, Aggarwal SK. Electrospray ionisation mass spectrometric studies for the determination of palladium after pre-concentration by disposable pipette extraction. *Rapid Communication in Mass Spectrometry: RCM* 2012; 26(17):1971-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22847695>.
14. Pena-Abaurrea M, García de la Torre VS, Ramos L. Ultrasound-assisted extraction followed by disposable pipette purification for the determination of polychlorinated biphenyls in small-size biological tissue samples. *Journal of Chromatography A* 2013; 1317:223-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23885664>.
15. Fernandes VC, Domingues VF, Mateus N, Delerue-Matos C. Multiresidue pesticides analysis in soils using modified QuEChERS with disposable pipette extraction and dispersive solid-phase extraction. *Journal of Separation Science* 2013; 36(2):376-82. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23255298>.
16. Hout M Van, Zeeuw R de, Jong G de. Coupling device for desorption of drugs from solid-phase extraction-pipette tips and on-line gas chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A*. 1999; 858:117-122. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967399008067>.
17. Kumazawa T, Hasegawa C, Lee X-P, et al. Pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of mequitazine in human plasma. *Talanta* 2006;70(2):474-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18970795>.
18. Hasegawa C, Kumazawa T, Lee X-P, et al. Simultaneous determination of ten antihistamine drugs in human plasma using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communication in Mass Spectrometry: RCM* 2006; 20(4):537-43. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16419026>.
19. Schroeder JL, Marinetti LJ, Smith RK, Brewer WE, Clelland BL, Morgan SL. The analysis of delta9-tetrahydrocannabinol and metabolite in whole blood and 11-nor-delta9-tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid in urine using disposable pipette extraction with confirmation and quantification by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of analytical toxicology* 2008; 32(8):659-66. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19007518>.
20. Ellison ST, Brewer WE, Morgan SL. Comprehensive Analysis of Drugs of Abuse in Urine Using Disposable Pipette Extraction. *Journal of Analytical Toxicology* 2009; 33(September):356-365. <http://jat.oxfordjournals.org/content/33/7/356.short>.
21. Kovatsi L, Rentifis K, Giannakis D, Njau S, Samanidou V. Disposable pipette extraction for gas chromatographic determination of codeine, morphine, and 6-monoacetylmorphine in vitreous humor. *Journal of Separation Science* 2011; 34(14):1716-21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21604369>.
22. Hasegawa C, Kumazawa T, Uchigasaki S, et al. Determination of dextromethorphan in human plasma using pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2011; 401(7):2215-23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21874269>.
23. Lehotay S J, Mastovska K, Lightfield A R, et al. Rapid analysis of aminoglycoside antibiotics in bovine tissues using disposable pipette extraction and ultrahigh performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2013; 1313:103-12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24075075>.
24. Mozaner Bordin D C, Alves M N R, Cabrices O G, de Campos E G, De Martinis B S. A rapid assay for the simultaneous determination of nicotine, cocaine and metabolites in meconium using disposable pipette extraction and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *Journal Analytical Toxicology* 2013; 38(1):31-8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24272386>.