

Trans 1,2 CICLOESANDIOLO Urinario in GC/FID e GC/MS - Codice GC19310

BIOCHIMICA

Il trans 1-2 cicloesandiolo è uno dei prodotti (insieme all'1-4 cicloesandiolo) del metabolismo del cicloesano ed è presente sia in forma libera sia in forma coniugata (circa il 70%) nelle urine dei soggetti esposti a questo solvente (cicloesano) ma anche a sostanze quali cicloesanolo ed il cicloesanone.

La metabolizzazione di cicloesano, ad opera di enzimi microsomiali epatici, porta alla formazione di dioli. In un'indagine condotta su soggetti esposti a cicloesano, i vari metaboliti urinari sono risultati presenti nelle seguenti proporzioni: cicloesanolo 0.5%, 1-2 cicloesandiolo 23.4%, 1-4 cicloesandiolo 11.3%. Il pattern metabolico risulta praticamente lo stesso anche per esposizioni a cicloesanolo e cicloesanone.

L'emivita di eliminazione dei dioli in seguito ad esposizione a cicloesano per via inalatoria risulta di 14-18h.

La tecnica strumentale utilizzata per la determinazione del trans 1-2 cicloesandiolo è la gas cromatografia con rivelatore a ionizzazione di fiamma (FID) ma può essere utilizzato anche il rivelatore di massa. Tale metodo è applicabile routinariamente al monitoraggio biologico di soggetti professionalmente esposti a cicloesano. Deve essere ovviamente valutata la possibilità di un'esposizione contemporanea a cicloesanolo e cicloesanone, che portano all'escrezione degli stessi metaboliti. Dall'analisi delle rette di correlazione fra i dati ambientali di cicloesano e le concentrazioni urinarie dei metaboliti è emerso che l'indicatore più affidabile è il trans 1-2 cicloesandiolo perché più sensibile, specifico e meglio correlato con la dose esterna del solvente. Utilizzando la somma dei due indicatori, il trans 1-2 cicloesandiolo e l'1-4 cicloesandiolo, non si ottengono risultati migliori (vol. 6 "Monitoraggio ambientale e biologico dell'esposizione professionale a xenobiotici").

 EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel. +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com



CE

Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD). La dichiarazione di conformità CE è disponibile su richiesta.

N° 009	Trans 1,2 Cicloesandiolo urinario in GC/FID e GC/MS	07/2024
--------	---	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del metodo :

Il presente metodo consente di determinare il trans 1-2-Cicloesandiolio urinario mediante tecnica cromatografica con rivelatore FID o MS dopo idrolisi acida delle urine ed estrazione liquido-liquido.

Recupero del Metodo: 98%

Sensibilità del Metodo (LLOD): 0,3 mg/l

Range Dinamico del Metodo: 1 - 300 mg/l

Valori di Riferimento: < 80 mg/g creatinina
ACGIH 2020

CV%: 1,39

Contenuto della Confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura $\leq 20^{\circ}\text{C}$.

Reagente A – Soluzione Diluente, 1 x 50 ml

Reagente B – Reagente di Idrolisi, 1 x 50 ml

Reagente C – Soluzione test, 1 x 10 ml

Conservare a 2 - 8 °C

Reagente D – Soluzione Neutralizzante, 1 x 100 ml

Reagente E – Soluzione Stabilizzante, 1 x 250 gr

Reagente F – Soluzione Estraiante con Standard Interno, 1 x 150 ml

Calibratore liofilo, 2 x 10 ml

Codice Z19316 (confezionato a parte - vedi scheda tecnica)

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento GC/FID o GC/MS
Computer gestionale

Dotazione opzionale :

Autocampionatore

Modalità di prelievo :

Alla fine del turno lavorativo, al termine della settimana, raccogliere le urine in recipienti di plastica (polietilene o policarbonato) da 150 ml. Se l'esposizione si mantiene costante, non sono evidenziabili differenze significative tra le urine del giovedì e quelle del venerdì.

I campioni urinari vanno conservati a -20°C fino al momento dell'analisi. Nel caso in cui si effettua l'analisi entro 3-4 gg dal momento della raccolta, i campioni possono essere conservati a $2 - 8^{\circ}\text{C}$.

IMPORTANTE: USARE UNICAMENTE PROVETTE IN VETRO AD OGNI STEP – NON USARE ASSOLUTAMENTE PROVETTE IN PLASTICA

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test.

Dispensare in una **provetta in vetro** da 10ml:

- 900 µl di **Reagente A – Soluzione Diluente**
- 100 µl di **Reagente C – Soluzione Test**

Agitare al Vortex

Iniettare 1µl della soluzione nel gascromatografo GC ed attendere la stampa del cromatogramma. Verificare che sia il tempo di ritenzione che lo spettro di massa del Cicloesandiolo siano simili a quelli riportati nelle figure sottostanti. Se l'esito è positivo si può procedere alla seduta analitica. Se così non fosse verificare la funzionalità del sistema analitico.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1: Dispensare in una **provetta in pyrex con tappo in teflon**:

	Calibratore	Controllo	Campione	Bianco
Calibratore	2500 µl			
Controllo		2500 µl		
Campione			2500 µl	
Bianco				2500 µl
Reagente B – Reagente di Idrolisi	500 µl	500 µl	500 µl	500 µl

FASE 2: Chiudere le provette e termostatare a 110 °C per 1 ora

Raffreddare a Temperatura ambiente

FASE 3: Aggiungere 1 ml di **Reagente D – Soluzione Neutralizzante**

Agitare al Vortex – ATTENZIONE: si sviluppa calore!

Raffreddare a Temperatura ambiente

FASE 4: Aggiungere circa 2,5 gr di **Reagente E – Soluzione Stabilizzante**

ATTENZIONE: si forma un precipitato!

FASE 5: Aggiungere 1,5 ml di **Reagente F – Soluzione Estraeante con Standard Interno**

Chiudere le provette ed agitare al Vortex

Agitare per 10 minuti sull'agitatore rotante

Centrifugare a 3000 rpm per 10 minuti

- I campioni vengono iniettati direttamente trasferendo il surnatante nelle vials.

Agitare al Vortex

N.B: Il campione così preparato va iniettato subito.

Inserirle nel Campionatore – Iniettare 1 µl nel GC

Preparare la lista di lavoro e avviare la serie secondo le specifiche del sistema

Trans 1,2 CICLOESANDIOLO - Avvertenze

REAGENTE C : SOLUZIONE TEST

Trans 1,2 CICLOESANDIOLO	1.000 mg/l
---------------------------------	------------

SETTAGGIO DEL GAS-CROMATOGRAFO PER INIEZIONI IN FID o SETTAGGI CHE RISPETTINO LA STESSA INTRODUZIONE DI CAMPIONE NEL SISTEMA GC:

• Colonna VF-WAXms 30 m x 0,25 mm, 0,25 µm (condizionata) o equivalente • Temperatura iniettore 220 °C • Rapporto di Splittaggio: In ON 20 0' OFF 0,02' ON 60 3' ON 20 • Programmata termica forno colonna: 80 °C x 6 minuti + 10 °C/min fino a 220 °C + 20 °C/min fino a 290 °C per 2,5 min (corsa 26 minuti) • Consigliato Gas Elio 1 ml/min • Temperatura FID: 250 °C • Range FID (sensibilità): 12 (max) O parametri che ne garantiscano le stesse sensibilità

SETTAGGIO DEL GAS-CROMATOGRAFO PER INIEZIONI IN MS :

• Colonna VF-WAXms 30 m x 0,25 mm, 0,25 µm (condizionata) o equivalente • Temperatura iniettore 220 °C • Rapporto di Splittaggio: 1:20 • Programmata termica forno colonna: 80 °C x 6 minuti + 10 °C/min fino a 220 °C per 1 minuto + 20 °C/min fino a 250 °C per 2,5 min (corsa 25 minuti) • Consigliato Gas Elio 1 ml/min • Temperatura MS: 180 °C • Temperatura Manifold: 80 °C • Temperatura Transfer Line: 270 °C • Modo operativo in Impatto Elettronico (EI) • Range di Massa: 28-250 • Filamento on: 8 minuti O parametri che ne garantiscano le stesse sensibilità
--

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA VF-WAX MS o EQUIVALENTE E DELLA SIRINGA

Lavare la siringa prima dell'iniezione con ACETONE solo per la Fase Preanalitica e con ETIL ACETATO per la fase Analitica. Per la colonna seguire le prescrizioni del costruttore.

PULIZIA DELLA COLONNA

Tenerla alla massima temperatura per il tempo consigliato. (Vedi istruzioni del costruttore). Nel caso in cui la colonna risultasse troppo sporca pulire alla T max consentita in isoterma.
--

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z19316	Calibratore urinario per 1,2-Cicloesandiolio	4 x 10 ml
Z38017	Controllo multiparametrico per metaboliti di composti tossici organici-Livello 1	5 x 10 ml
Z38018	Controllo multiparametrico per metaboliti di composti tossici organici-Livello 2	5 x 10 ml
Z38019	Controllo multiparametrico per metaboliti di composti tossici organici-Livelli 1 e 2	2 x 5 x 10 ml
ZRE13623	Colonna Capillare Rxi-Sil 5MS (30 m x 0,25 mm) ID, DF=0,25	1 Pz
SCP9205	Colonna VF-WAX MS (30 m x 0,25 mm)	1 Pz
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 Pz

Trans 1,2 CICLOESANDIOLO URINARIO

(Cromatogrammi / Spettri di riferimento GC-FID)

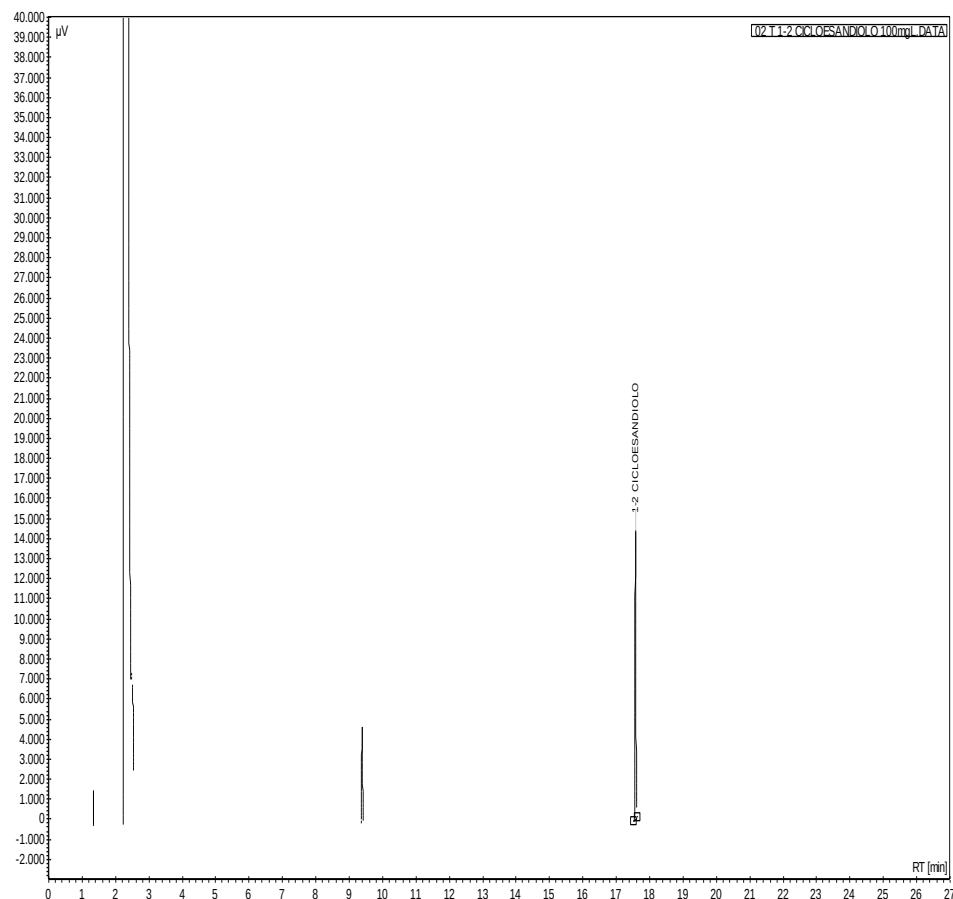


Fig. 1 :	Soluzione Test
	R.T. 17.6 trans 1,2 CICLOESANDIOLO

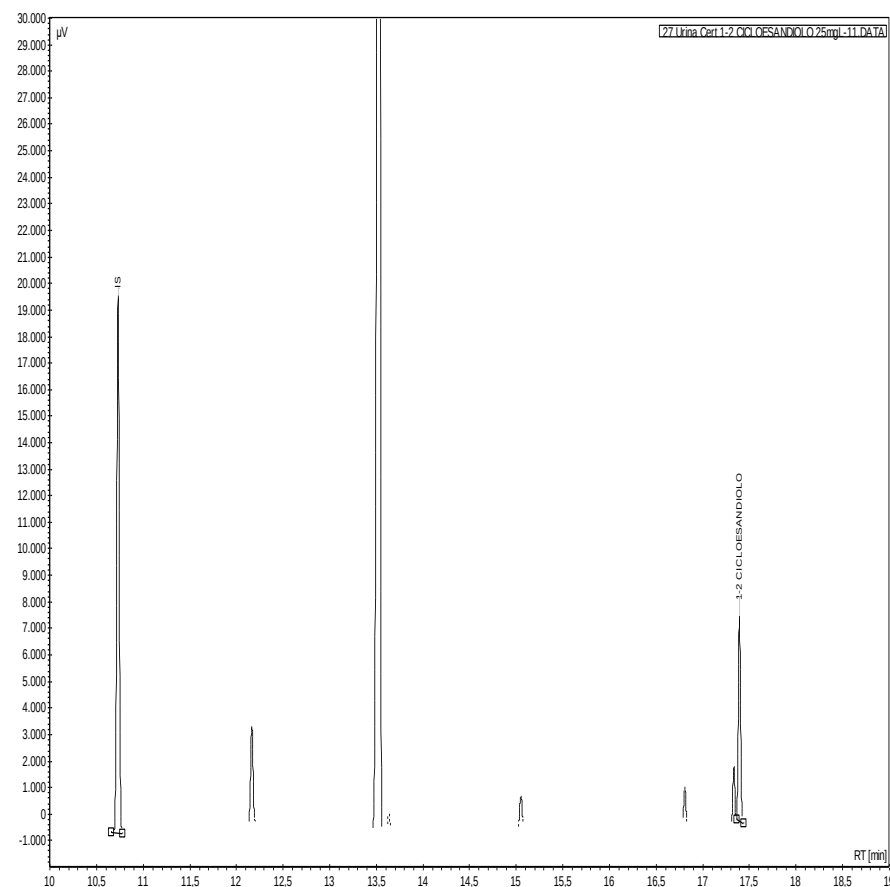


Fig. 2 :	Standard di Calibrazione
	R.T. 10.5 STANDARD INTERNO
	R.T. 17.4 trans 1,2 CICLOESANDIOLO 25 mg/l

Trans 1,2 CICLOESANDIOLO URINARIO (Cromatogrammi / Spettri di riferimento GC-FID)

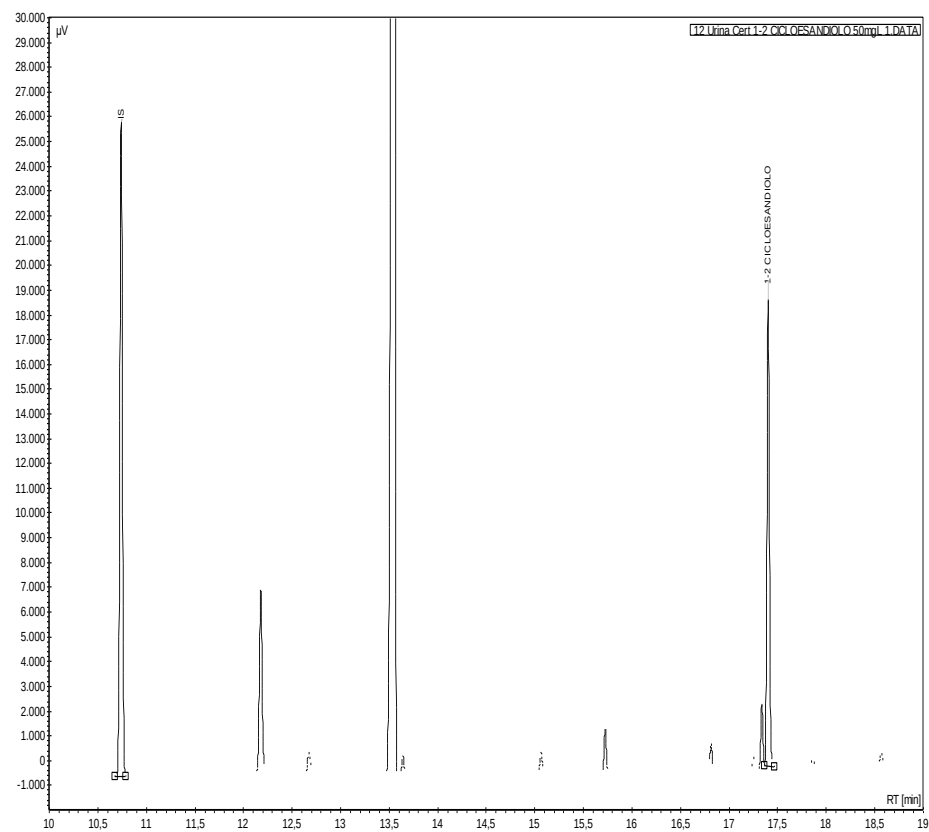


Fig. 3 :	Standard di Calibrazione		
	R.T. 10.5	STANDARD INTERNO	
	R.T. 17.4	trans 1,2 CICLOESANDIOLO	50 mg/l

Trans 1,2 CICLOESANDIOLO URINARIO

(Cromatogrammi / Spettri di riferimento GC-MS)

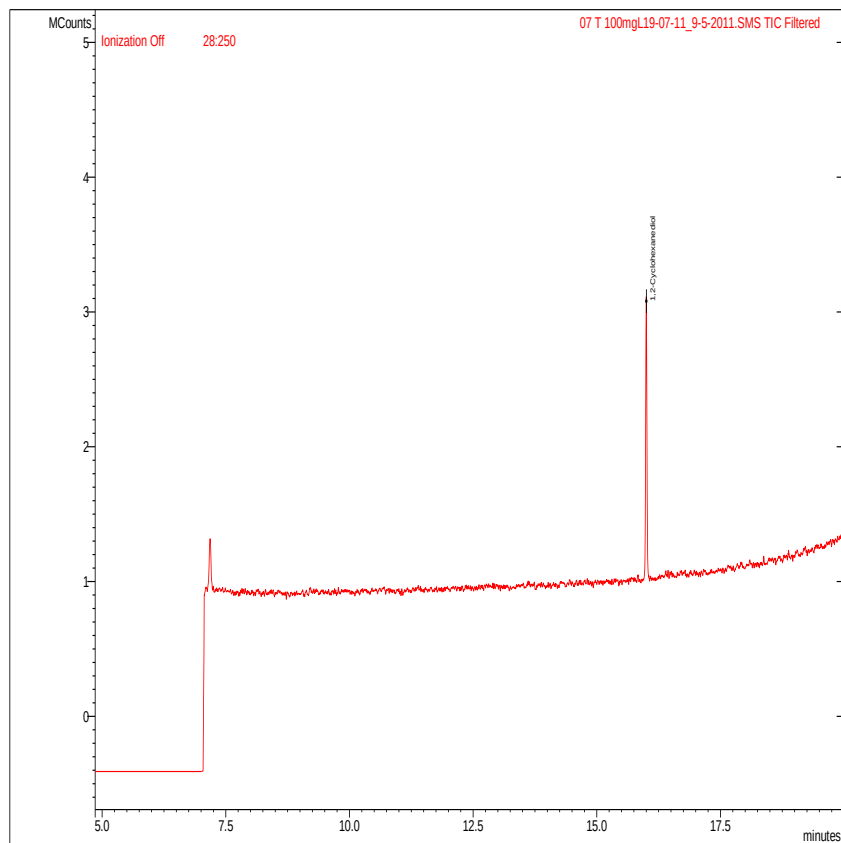


Fig. 4 :	Soluzione Test
	R.T. 15.9 trans 1,2 CICLOESANDIOLO

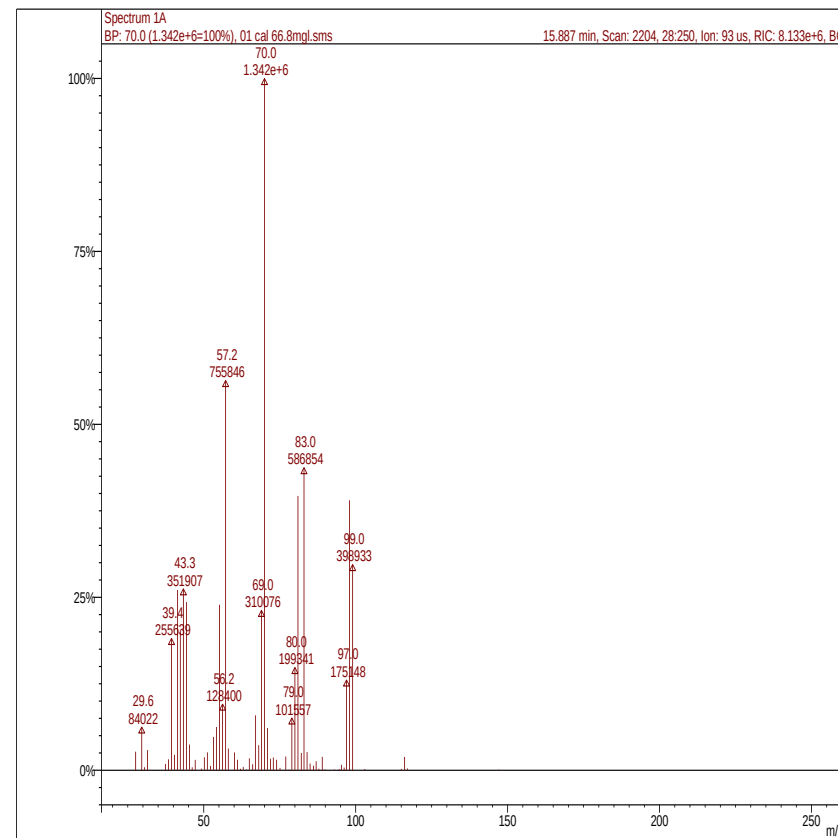


Fig. 5 :	Spettro di Massa del trans 1,2 Cicloesandiol
	IONI MOLECOLARI: 70-57-98

Trans 1,2 CICLOESANDIOLO URINARIO

(Cromatogrammi / Spettri di riferimento GC-MS)

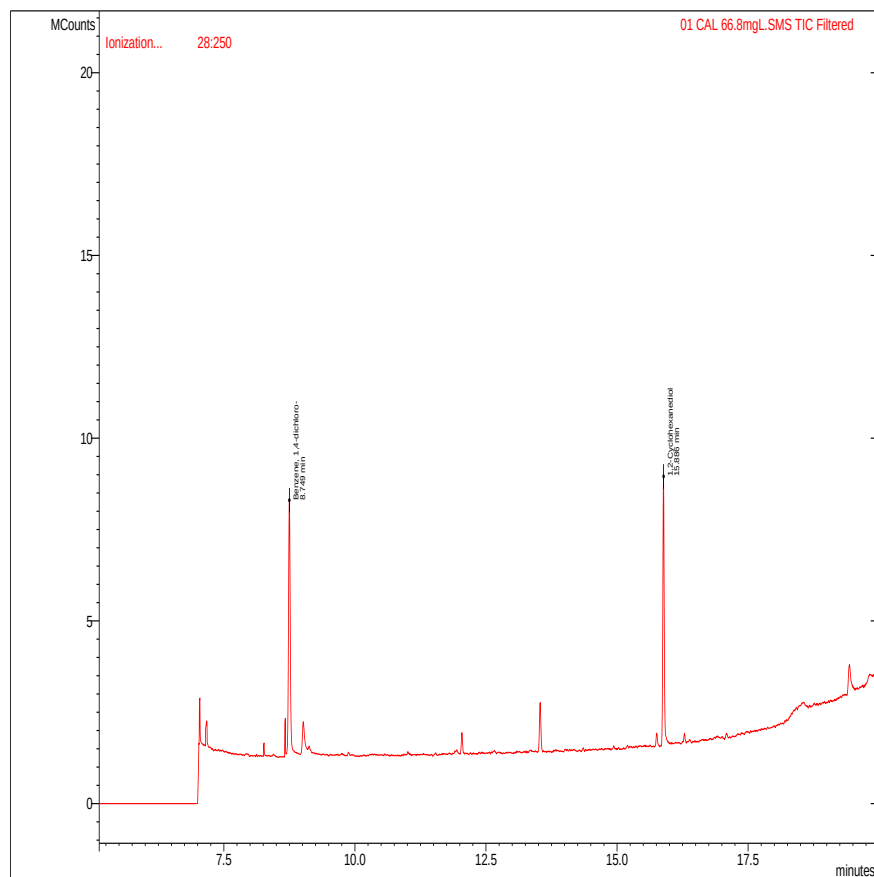


Fig. 6 :	Standard di Calibrazione
	R.T. 8.7 STANDARD INTERNO
	R.T. 15.9 trans 1,2 CICLOESANDIOLO 66,8 mg/l

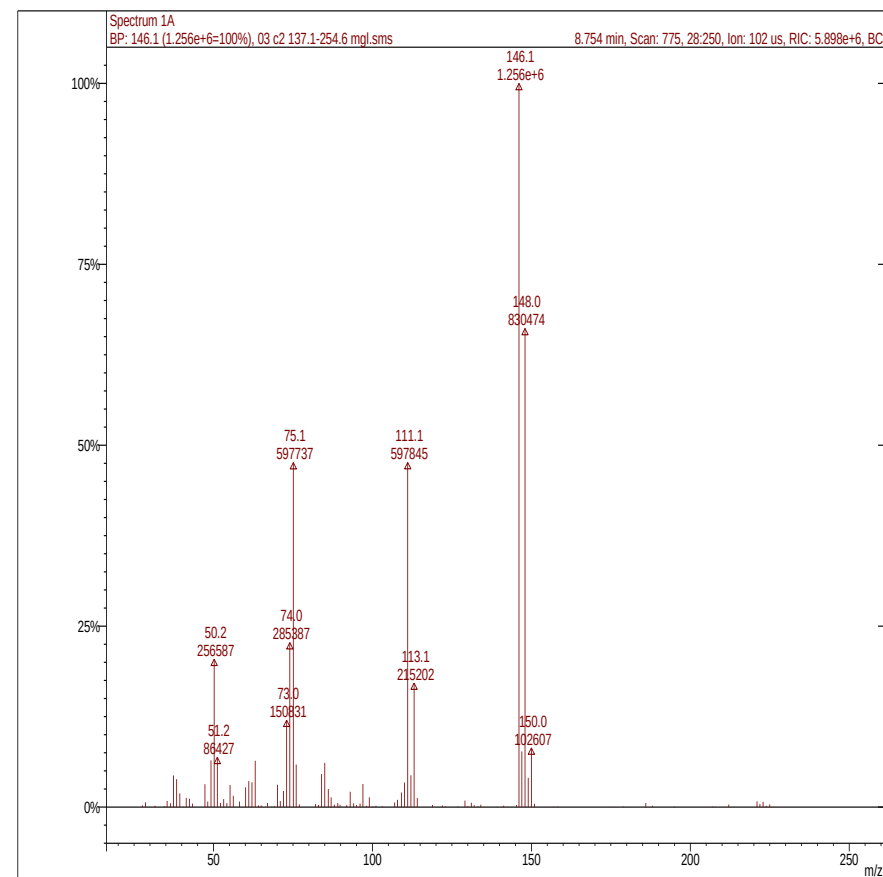


Fig. 7 :	Spettro di Massa dello Standard interno
	IONI MOLECOLARI: 146-148-111