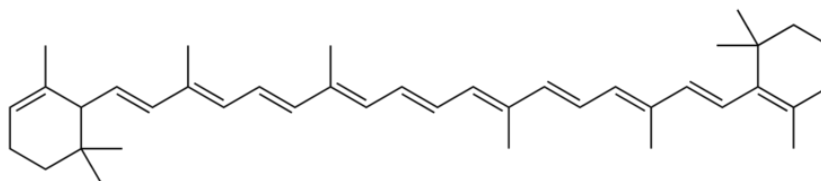


Beta-CAROTENE PLASMATICO IN UV/VIS - FAST – Codice Z64010

BIOCHIMICA

Il **carotene** è una provitamina terpenica contenuta in molte varietà di frutta e verdura a cui conferisce un colore che varia dal giallo al rosso. Ne sono particolarmente ricchi frutti come le albicocche, i cachi, i meloni, le pesche, le arance e verdure come le carote, i pomodori, la zucca gialla, i peperoni rossi ma anche verdure a foglia verde come gli spinaci, i broccoli, le rape e la cicoria. E' formato da 8 unità isopreniche ciclizzate agli estremi ed esiste in due forme dette **alfa** e **beta** (v. figura). Il beta-carotene è la forma più diffusa in natura. Giunto nell'intestino, viene convertito in parte in vitamina A, una sostanza fondamentale per la salute della pelle e degli occhi, e il resto viene assorbito e immagazzinato come tale.



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° 006	Beta-Carotene plasmatico - FAST	06/2024
--------	---------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del metodo :

Il presente metodo consente di determinare le concentrazioni plasmatiche del **beta-Carotene**.
Ad una aliquota di plasma vengono aggiunti due Reagenti di Precipitazione e, dopo centrifugazione, il sovranatante viene trasferito in provetta e iniettato in HPLC.

Recupero del Metodo : > 95%

Minima concentrazione analizzabile : 30 µg/L

Range Dinamico : 30 – 10.000 µg/L

Valori di riferimento : beta-Carotene : 100 – 600 µg/L

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2 –8 °C. Il Reagente A e il Reagente F vanno stoccati a **– 20 °C**. Il Reagente F è stabile 2 mesi a **– 20 °C**.

Reagente A – Soluzione deproteinizzante con Standard Interno, **1 x 60 ml** **Stoccare a -20 °C**

Reagente B – Soluzione Precipitante, **1 x 100 ml**

Reagente C – Soluzione Stabilizzante, **1 x 10 ml**

Reagente F – Soluzione Test/Standard Chimico, **1 x 10 ml** **Vedi Avvertenze - Stabile 2 mesi a -20 °C**

Reagente M - Fase Mobile, **2 x 500 ml**

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 20 µl
Detector spettrofotometrico UV/VIS $\lambda = 453$
nm

Dotazione opzionale :

Registratore di cromatogrammi
Preparatore automatico del campione
Autocampionatore
Computer gestionale

Modalità di prelievo ematico :

Prelevare 3 ml di sangue in una provetta con anticoagulante **citrato**.

Fase pre-analitica :

Se non si analizza subito, congelare il campione a -20 °C. Stabile per circa 3 mesi.
Stabile 1 settimana a 2-8 °C.

PROCEDURA PREANALITICA

Iniettare 20 µl di **Reagente F – Soluzione Test 1000 µg/L** e verificare che il picco del beta-Carotene abbia un tempo di ritenzione (RT) compreso fra 6 e 8 minuti. Se il Test ha dato esito positivo si può procedere alla seduta analitica. Se così non fosse verificare la funzionalità del sistema analitico.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Preparazione dei campioni in ***provette rigorosamente di vetro***

Dispensare in provetta:

	Calibratore	Campione
Reagente F – Standard Chimico	400 µl	
Campione		400 µl
Reagente A – Sol. Deproteinizzante	600 µl	600 µl

Attenzione: si consiglia di deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 30 secondi

FASE 2 : Aggiungere 1 ml di **Reagente B – Soluzione precipitante**

Agitare al Vortex per 20 secondi

FASE 3 : Centrifugare a 4.000 rpm per 10 minuti.

FASE 4 : Trasferire il sovranatante in una ***provetta pulita rigorosamente di vetro***.

FASE 5 : Portare a secco con un leggero flusso di elio o azoto e riprendere con 100 µl di **Reagente C – Soluzione Stabilizzante**

N.B.: il campione così preparato è stabile 2 giorni a 2-8 °C

Agitare al Vortex per 5 secondi

INIEZIONE :

- Iniettare 20 µl nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma.

Beta-CAROTENE PLASMATICO – FAST – Avvertenze

REAGENTE F : SOLUZIONE TEST / STANDARD CHIMICO

Beta-Carotene	1000 µg/L
Stabile 2 mesi a -20 °C	

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	453 nm
GAIN	0,001 AUFS
TEMPO DI INTEGRAZIONE	10 secondi

PROTEZIONE DELLA COLONNA ANALITICA

Per salvaguardare il sistema completo POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 µ) è tassativo l'uso del Prefiltri Javelin (1 x 10 pz), cod. S90199511.
--

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica <u>nuova</u> POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 µ). Disconnettere il detector far passare 30 ml di una soluzione di H₂O : Metanolo (20 : 80 v / v) al flusso di 1,0 ml/minuto. Non riciclare i liquidi di lavaggio. Far passare 30 ml di una soluzione di H₂O : Metanolo (80 : 20 v / v) al flusso di 1,0 ml/minuto. Non riciclare i liquidi di lavaggio. Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1 ml/minuto e scaricare i primi 20 ml. Condizionare ulteriori 30 minuti a ricircolo di fase. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione. E' possibile effettuare analisi a ricircolo di fase. Se la T Amb del Laboratorio è > 20 °C si consiglia di conservare a 2-8 °C la Fase Mobile fra una seduta analitica e l'altra.

PULIZIA DELLA COLONNA

Disconnettere il detector. Flussare 15 ml di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (80 : 20 v / v) al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Flussare una soluzione di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (30 : 70 v / v) per 30 minuti scaricandola. Si raccomanda di eseguire il lavaggio della Colonna Analitica alla fine di ogni seduta analitica. La colonna va stoccata in una soluzione di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (30 : 70 v / v)
--

LAVAGGIO AGO INIEZIONE

Lavare con una soluzione di Acqua / Etanolo o Metanolo o Acetonitrile (80 : 20 v/v).
--

PARAMETRI HPLC

LOOP	20 µl
Flusso di lavoro consigliato	1,5 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 80 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z64020	Standard Chimico per beta-Carotene	2 x 5 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120, EC-C18 (50 x 4,6 mm - 2,7 µm)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
Z51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 µl	1 x 100 PZ
Z51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 µl	1 x 100 PZ

Beta-CAROTENE PLASMATICO

(Cromatogrammi di riferimento)

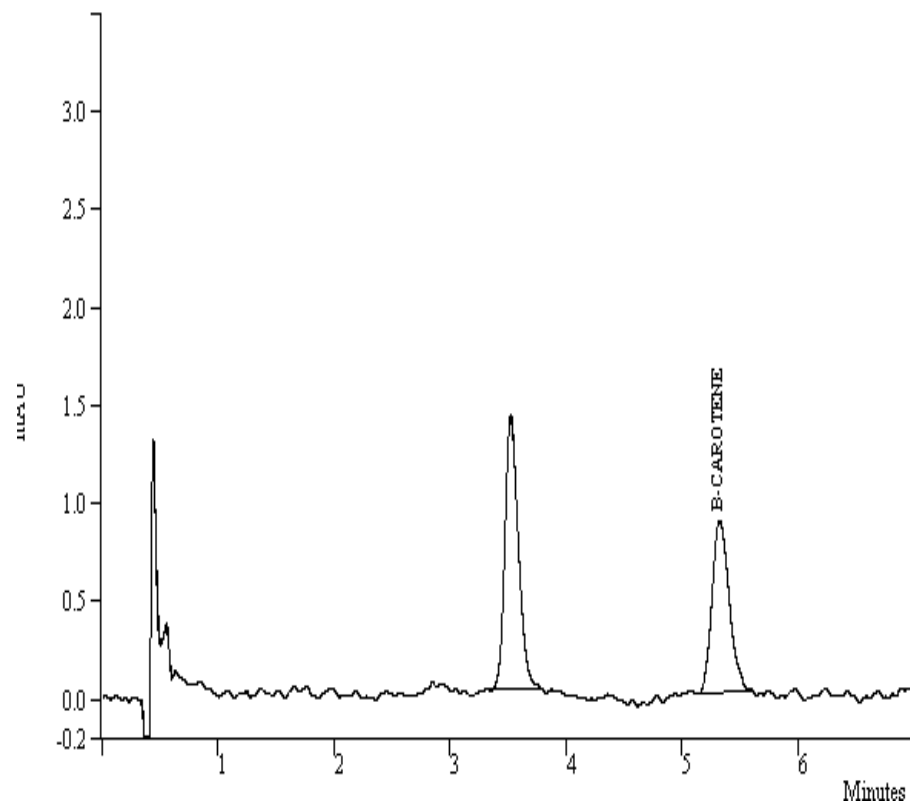


Fig. 1 :	Soluzione Test
	R.T. 5.3 beta-Carotene

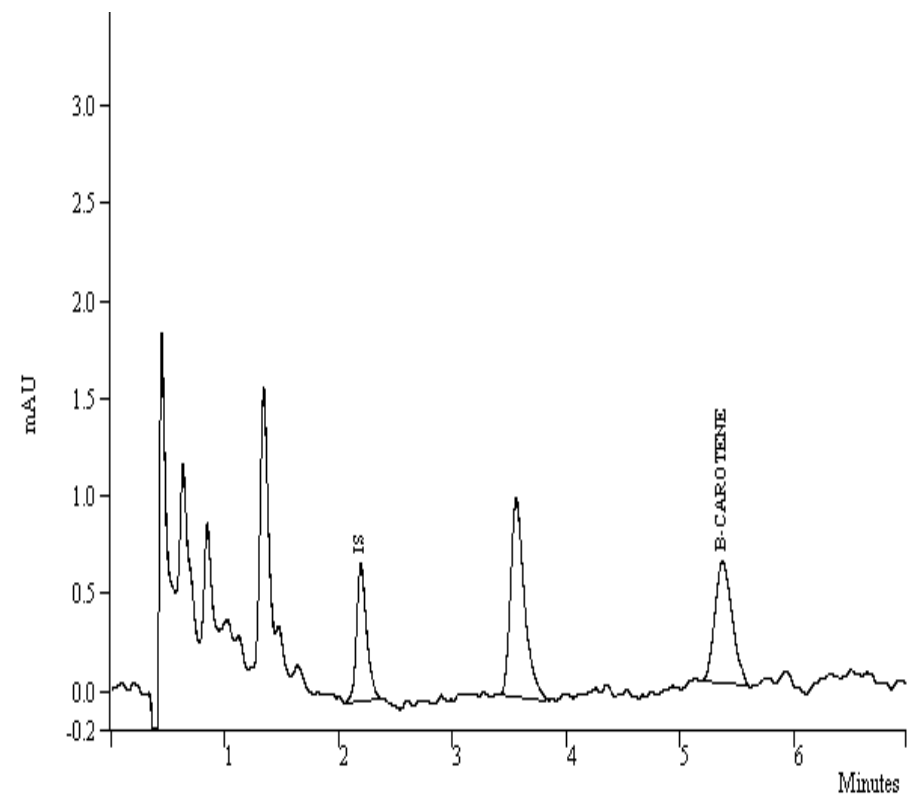


Fig. 2 :	Es. di Campione plasmatico
	R.T. 2.1 Standard Interno
	R.T. 5.3 beta-Carotene 350 µg/L