

METANOLO (ALCOOL METILICO) URINARIO in UV - FAST – Codice Z45610

METABOLISMO

Il **Metanolo** è un alcool alifatico di PM=32,0.

La principale via di assorbimento è quella gastrointestinale; dopo un breve periodo dall'ingestione si raggiungono elevati livelli nel sangue. In ambito occupazionale la via di esposizione più importante è quella respiratoria.

Una seconda via di assorbimento del **Metanolo** è quella dovuta all'esposizione **occupazionale**, in quanto viene utilizzato nella produzione di cellulosa, resine sintetiche, formaldeide, acido acetico e carburanti.

Infine una ulteriore via di assorbimento del **Metanolo** è quella **extraoccupazionale**, in quanto viene usato come solvente nei prodotti domestici.

Il **Metanolo** si distribuisce in modo omogeneo nei tessuti e nel sangue, viene escreto in parte come tale ed in parte metabolizzato ed escreto nelle urine sotto forma di formaldeide, acido formico e CO₂.

Il 30% del **Metanolo** viene eliminato tal quale attraverso la via respiratoria.

TOSSICITÀ

Dopo 6-18 ore dal momento dell'esposizione si osservano disturbi visivi (edema pupillare) e acidosi metabolica causati principalmente dall'acido formico il quale sarebbe anche il principale responsabile della neurite ottica.

CHIMICA E DOSAGGIO MEDIANTE TECNICA HPLC

Il presente metodo determina le concentrazioni urinarie del **Metanolo** derivatizzandolo e leggendolo in HPLC a $\lambda=385$ nm .

E' opportuno considerare che una piccola quota di **Metanolo**, dovuta a fermentazione batterica, è sempre presente nelle urine dei non esposti: valori di circa 0,5-1,0 mg/l non rappresentano indice di esposizione al **Metanolo**.

E' necessario congelare il campione urinario appena prelevato a -20 °C

EUREKA srl – LAB DIVISION
VAT N° 01547310423
E-mail: info@eurekaone.com
www.eurekaone.com



Head Quarter:
Via Enrico Fermi 25
60033 Chiaravalle (AN) ITALY
Tel. +39 071 7450790
Fax + 39 071 7496579

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.

Release N° 002	Metanolo urinario in UV - FAST	Settembre 2019
----------------	--------------------------------	----------------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

Il Metanolo viene trattato a 40 °C per 30 minuti. Dopo raffreddamento, viene aggiunto il derivatizzante e la soluzione viene posta a 70 °C per 30 minuti. Dopo raffreddamento la soluzione viene diluita e iniettata direttamente in HPLC.

Recupero del Metodo : 100%

Sensibilità del Metodo (LLOD) : 0,16 mg/l

Minima Concentrazione analizzabile (LLOQ) : 0,5 mg/l

Linearità : 0,5 - 120,0 mg/l

Accuratezza intra serie (errore relativo %):

Ci	Cs
5 mg/l	30 mg/l
9,28%	3,52%

Accuratezza inter serie (errore relativo %):

Ci	Cs
5 mg/l	30 mg/l
8,36%	4,07%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %):

C LLOQ	Cm	CA
0,5 mg/l	15 mg/l	60 mg/l
11,64%	4,12%	3,24%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %):

C LLOQ	Cm	CA
0,5 mg/l	15 mg/l	60 mg/l
9,98%	7,77%	4,09%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. std: 0,9960 ± 0,0010

Indice biologico di esposizione (ACGIH/BEI) : 15 mg/l

Indice biologico nella popolazione non esposta : < 1 mg/l

Riferimento: G Ital Med Lav Erg 2002;24:3 Suppl

<u>Contenuto della confezione :</u>	Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2 – 8 °C.
Reagente A - Soluzione Tampone 1, 1 x 5 ml	
Reagente B – Reagente B, 1 x 3 ml	
Reagente C - Soluzione Tampone 2, 1 x 10 ml	
Reagente D - Soluzione Derivatizzante, 1 x 10 ml	
Reagente E - Soluzione Stabilizzante, 1 x 10 ml	
Reagente F - Soluzione Test/Standard Chimico, 1 x 5 ml	
Reagente G - Soluzione Diluente, 1 x 40 ml	
Reagente I - Soluzione Standard Interno, 1 x 10 ml	
Reagente M - Fase Mobile, 4 x 500 ml	

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 10µl.
 Detector spettrofotometrico UV/VIS $\lambda=385$ nm
 Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale :

Autocampionatore
 Computer e software gestionale

Modalità per il prelievo urinario :

Alla fine del turno lavorativo, raccogliere 10 ml di urine in una provetta idonea e congelare a - 20 °C.
 Stabile 4 mesi a -20 °C.

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test a 40 mg/l

In una provetta di vetro con tappo in teflon pipettare:

- 900 µl di H₂O di grado HPLC
- 100 µl di **Reagente F – Soluzione Test**

Si otterrà una soluzione test contenente 40 mg/l.

In una provetta di vetro con tappo in teflon pipettare nell'ordine:

- 50 µl di **Reagente A - Sol. Tampone 1**
- 30 µl di **Reagente B**
- 100 µl di **Sol. Test a 40 mg/l**
- 100 µl di **Reagente I – Soluzione Standard interno**

Al vortex per 10 secondi

- Incubare a 40 °C per 30 minuti

Raffreddare

Aggiungere nell'ordine:

- 100 µl di **Reagente C – Sol. Tampone 2**
- 100 µl di **Reagente E – Sol. Stabilizzante**
- 100 µl di **Reagente D – Sol. Derivatizzante**

Al vortex per 10 secondi

- Incubare a 70 °C per 15 minuti

Raffreddare e agitare al vortex per 10 secondi

In una provetta di vetro con tappo in teflon pipettare nell'ordine:

- 400 µl di **Reagente G – Sol. Diluente**
- 100 µl di campione precedentemente derivatizzato.

INIEZIONE :

- Iniettare 50 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma. Verificare che la Sol. Test abbia un tempo di ritenzione simile a quello riportato in fig. 1. 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 dello standard chimico di lavoro a 40 mg/l.

In una provetta di vetro con tappo a vite in teflon pipettare :

- 900 µl di H₂O di grado HPLC
- 100 µl di **Reagente F - Standard Chimico**

Si otterrà una soluzione Standard di lavoro contenente 40 mg/l.

IMPORTANTE : Tale soluzione standard di lavoro va preparata di volta in volta

FASE 2 : Preparazione dei Campioni, del Calibratore e dei Controlli

Verificare e portare il pH del campione urinario tra 7,0 e 7,5.

Dispensare in provette di vetro con tappo a vite in teflon:

	Bianco	Standard	Campione
Acqua di grado HPLC	100 µl		
Standard chimico		100 µl	
Campione			100 µl
Reagente I – Standard Interno	100 µl	100 µl	100 µl
Reagente A - Sol. Tampone 1	50 µl	50 µl	50 µl
Reagente B	30 µl	30 µl	30 µl

Al vortex per 10 secondi

FASE 3 : Porre la serie di provette a 40 °C per 30 minuti

Lasciar raffreddare a temperatura ambiente e agitare al vortex per 10 secondi

FASE 4 : Procedura di derivatizzazione

Aggiungere nell'ordine:

- 100 µl di **Reagente C** – Sol. Tampone 2
- 100 µl di **Reagente E** – Sol. Stabilizzante
- 100 µl di **Reagente D** – Sol. Derivatizzante

Al vortex per 10 secondi

FASE 5 : Porre la serie di provette in stufa a 70 °C per 15 minuti

Lasciar raffreddare a temperatura ambiente e agitare al vortex per 10 secondi

FASE 6 : Procedura di diluizione

In una provetta di vetro con tappo in teflon pipettare nell'ordine:

- 400 µl di **Reagente G** – Sol. Diluente
- 100 µl di campione precedentemente derivatizzato.

N.B.: il campione così preparato è stabile 3 giorni a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 10 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma.

N.B.: Qualora il Bianco presentasse il picco del Metanolo, procedere all'individuazione quantitativa per differenza tra le aree/altezze dei picchi del Metanolo presenti nei Calibratori/Campioni/Controlli e nel bianco.

METANOLO URINARIO - Avvertenze

REAGENTE F : STANDARD CHIMICO / SOLUZIONE TEST

Metanolo	400 mg/l
----------	----------

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	385 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 nuova POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 μ).
Disconnettere il detector e far passare 30 ml di una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (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 : Acetonitrile (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. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione.
E' possibile effettuare analisi a ricircolo di fase, purchè si abbia l'accortezza di filtrare la stessa Fase Mobile con filtro da 0,22 μ prima di ogni seduta analitica.
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 (20 : 80 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Flussare una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (70 : 30 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 (70 : 30 v / v)**

LAVAGGIO AGO DI INIEZIONE

Acqua / Etanolo o Acetonitrile (80 : 20 v / v)

PARAMETRI HPLC

LOOP	10 μ l
Flusso di lavoro consigliato	0,6 - 1,5 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 80 - 170 bar

SETTAGGIO DEI FLUSSI

Tempo (min)	Flusso (ml/min)
0	0.6
2	0.6
2.1	1.5
9	1.5
9.1	0.6

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z05620	Standard chimico per Metanolo urinario	2 x 5 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120-EC-C 18 (50 x 4,6mm –2,7 um)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 PZ



METANOLO URINARIO IN UV

(Cromatogrammi di Riferimento)

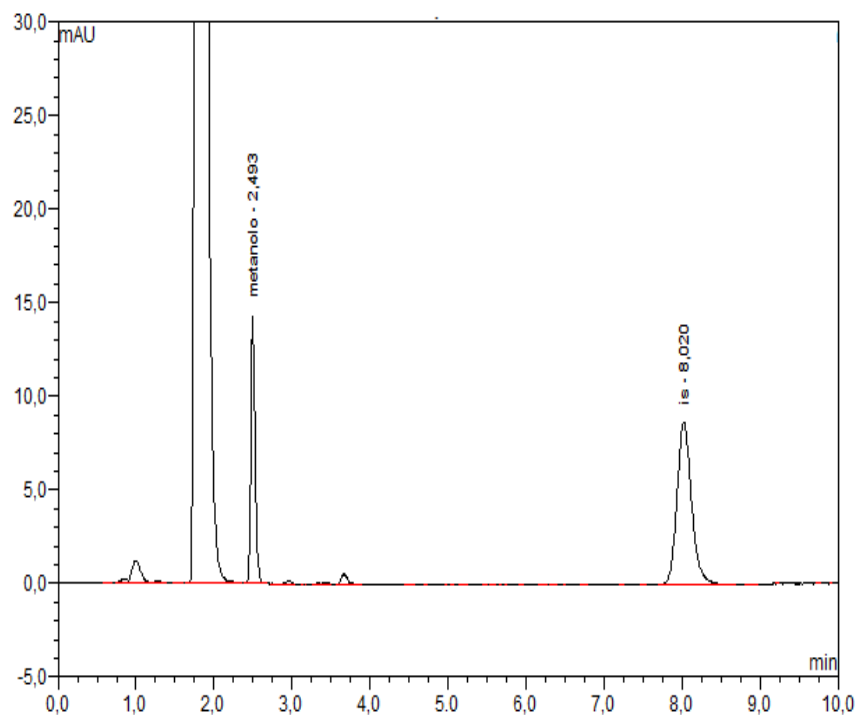


Fig. 1 : *Soluzione Test*

R.T. 2.49	Metanolo	40 mg/l
R.T. 8.02	Standard Interno	

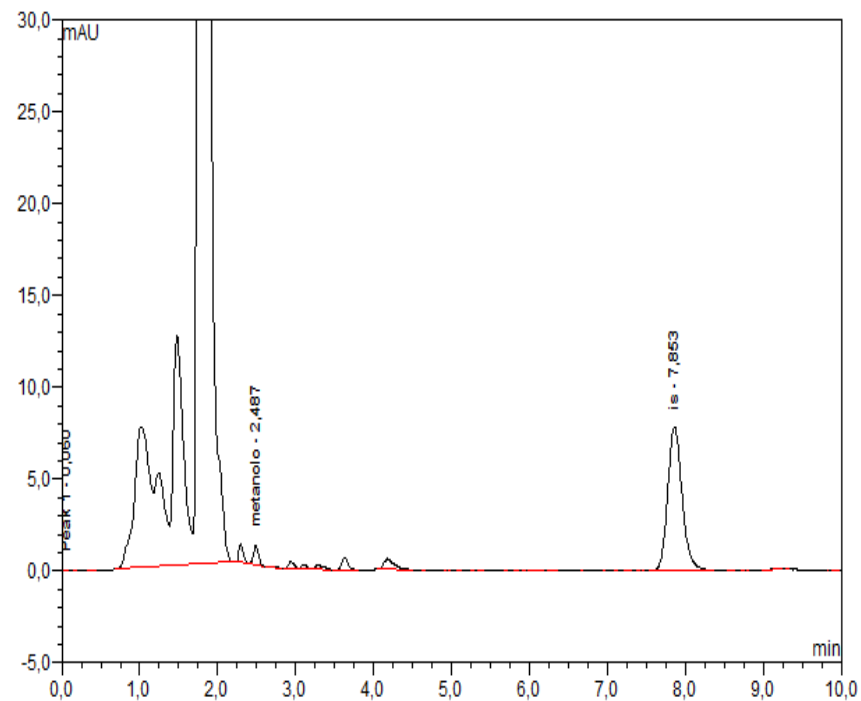


Fig. 2 : *Campione urinario di soggetto non esposto*

R.T. 2.48	Metanolo	4,10 mg/l
R.T. 7.80	Standard Interno	

METANOLO URINARIO IN UV

(Cromatogrammi di Riferimento)

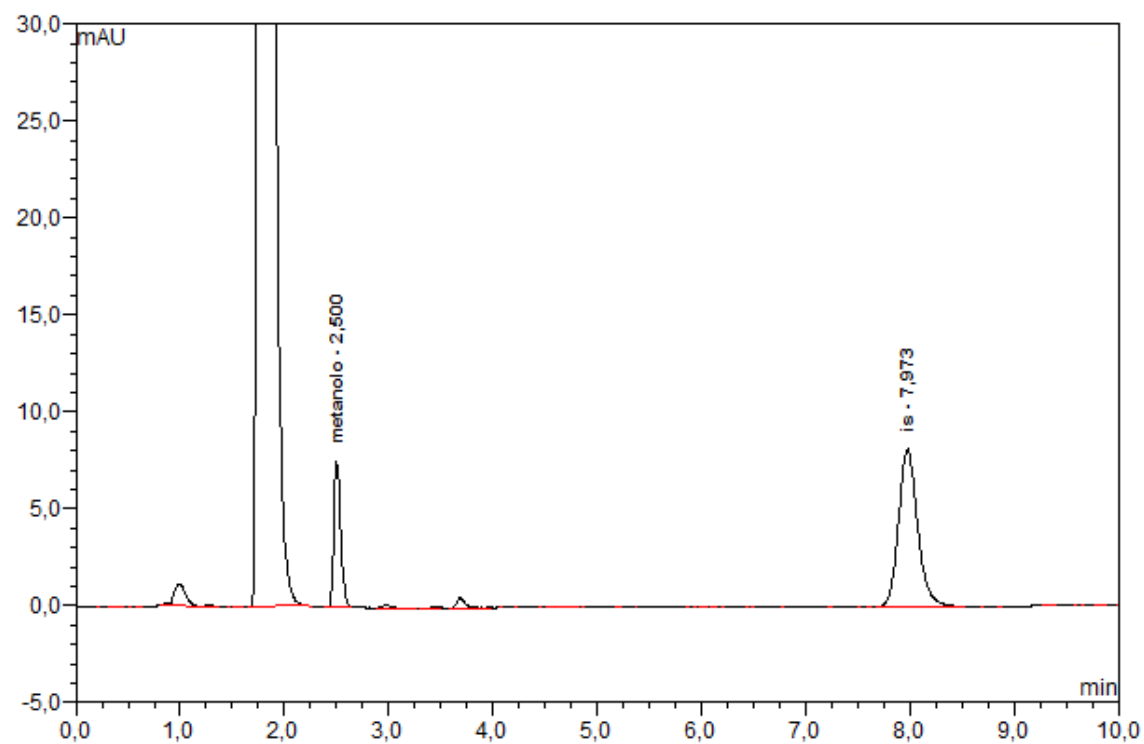


Fig. 3 :	Campione urinario arricchito
	R.T. 2.50 Metanolo 20 mg/l
	R.T. 7.90 Standard Interno