

中华人民共和国卫生行业标准

尿中肌酐的反相高效液 相色谱测定方法

WS/T 98—1996

Urine—Determination of creatinine—
Reversed-phase high performance liquid
chromatographic method

1 范围

本标准规定了反相高效液相色谱测定尿中肌酐浓度的方法。
本标准适用于人尿中肌酐浓度的测定。

2 原理

尿样采集后,以双蒸水稀释,直接进高效液相色谱,在反相 C_{18} 柱上将肌酐同其他杂质分离,然后在紫外检测器 254 nm 波长下定量测定。

3 仪器

3.1 聚乙烯塑料瓶或硬质玻璃瓶(收集尿样用)。

3.2 旋涡混合器。

3.3 高效液相色谱仪;紫外检测器, $\lambda=254\text{ nm}$;

色谱柱:反相 C_{18} , $4\text{ mm}\times 300\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$;

柱温:室温;

流动相: 0.05 mol/L 乙酸钠+甲醇= $95+5(V/V)$;

流速: 0.9 mL/min 。

4 试剂

4.1 乙酸钠溶液 $c(\text{CH}_3\text{COONa})=0.05\text{ mol/L}$ 。

4.2 甲醇。

4.3 肌酐,优级纯。

4.4 肌酐标准溶液:准确称取 250 mg 肌酐,溶于甲醇,稀释至 25 mL,配制成 10 mg/mL 肌酐贮备液;再以甲醇稀释,配制成 $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ 肌酐标准溶液。贮备液及标准溶液均在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存,至少稳定半年。

5 采样

用聚乙烯塑料瓶或硬质玻璃瓶收集人尿, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,二周内分析完毕。

6 分析步骤

6.1 样品处理

WS/T 98—1996

取 0.05 mL 尿样,用流动相稀释 200~500 倍,在旋涡混合器上混合 1 min,待分析。

6.2 标准曲线的绘制。

用肌酐标准液配制 0,2.0,4.0,6.0,8.0,10.0 $\mu\text{g/mL}$ 肌酐标准系列(以流动相稀释),将仪器按测定条件调节到最佳状态,分别取 10 μL 各浓度标准系列进行分析,测定相应的峰高或峰面积,每个浓度重复 6 次,求平均值。以峰高或峰面积均值为纵坐标,肌酐浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,绘制标准曲线。

6.3 测定

在标准曲线测定的同样条件下,测定样品的峰高或峰面积,由标准曲线查得肌酐的浓度($\mu\text{g/mL}$)。

7 计算

按式(1)计算尿中肌酐的浓度。

$$C = \frac{c \cdot v}{V} \dots\dots\dots(1)$$

式中: C ——尿中肌酐浓度, $\mu\text{g/mL}$;

c ——由标准曲线查得的肌酐浓度, $\mu\text{g/mL}$;

v ——尿样稀释体积, mL;

V ——取尿样体积, mL。

8 说明

8.1 以基线噪音 3 倍计,本方法的最低检出浓度为 0.1 $\mu\text{g/mL}$,线性范围为 0~10 $\mu\text{g/mL}$,当肌酐浓度为 400~800 $\mu\text{g/mL}$ 时,加标回收率为 93.0%~97.0%,相对标准偏差为 1.6%~5.7%。

8.2 尿样在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存二周,相对偏差为 +5%。

8.3 应用本方法测定尿中肌酐时,尿酚、马尿酸、甲基马尿酸、苯甲酸、苯乙醇酸、苯乙醛酸、对硝基酚、对氨基酚、2,6-二硝基-4-氨基甲苯、4,6-二硝基-2-氨基甲苯、2-硫代噻唑烷 4-羧酸、丁酮、2,5-己二酮、五氯酚、N-甲基甲酰胺、三氯乙酸、三氯乙醇、2-苯基丙醇等不产生干扰。

8.4 为保护色谱柱,延长其使用寿命,每次工作结束后,必须用双蒸水冲洗色谱柱,再以甲醇冲洗。

8.5 如有可变波长检测器时,可用肌酐的最大吸收波长 230 nm 进行检测,从而提高本方法的灵敏度。

8.6 色谱柱可使用任何厂牌的反相 C_{18} 柱,流动相配比及流速可根据各自的仪器条件进行适当选择。

8.7 尿样稀释倍数一般在 200~500 倍,以稀释后肌酐峰高或峰面积在标准曲线范围内为准。