

中华人民共和国卫生行业标准

尿中肌酐分光光度 测定方法

WS/T 97—1996

Urine—Determination of creatinine
—Spectrophotometric method

1 范围

本标准规定了分光光度法测定尿中肌酐浓度的方法。
本标准适用于接触有害物质的工人尿中肌酐浓度的测定。

2 原理

肌酐与过量苦味酸在碱性条件下反应生成橙红色苦味酸肌酐。在波长 490 nm 处比色定量。

3 仪器

3.1 聚乙烯塑料瓶, 50 mL 或 100 mL。

3.2 具塞比色管, 10 mL。

3.3 分光光度计, 5 mm 比色杯。

4 试剂

4.1 饱和苦味酸溶液, 约 15 g/L, 临用前过滤。

4.2 氢氧化钠溶液, 100 g/L。

4.3 碱性饱和苦味酸溶液, 氢氧化钠溶液 + 饱和苦味酸上清液 = 1 + 10。临用前配制。

4.4 盐酸, $c(\text{HCl}) = 0.1 \text{ mol/L}$ 。

4.5 标准溶液: 准确称取 100 mg 经 110°C 干燥 2 h 的肌酐, 加盐酸溶液使其溶解, 并稀释至 100 mL, 配成 1.0 mg/mL 肌酐贮备液; 再用水稀释成 0.1 mg/mL 的标准溶液。于 4°C 可保存一个月。

5 采样

按所接触的毒物或其代谢物所规定的采样时间, 用聚乙烯瓶收集尿样约 50 mL, 冷藏运输, 于 4°C 下可保存 2 周。

6 分析步骤

6.1 样品处理

取 0.1 mL 尿样置于 10 mL 比色管中, 加水至 3 mL。

6.2 试剂空白

取 3 mL 水置于 10 mL 比色管中。

6.3 标准曲线的绘制

WS/T 94—1996

取 6 支比色管,按表 1 配制标准管。

表 1 肌酐标准管的配制

| 管 号 | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 标准溶液, mL | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |
| 水, mL | 3.0 | 2.8 | 2.6 | 2.4 | 2.2 | 2.0 |
| 肌酐的浓度, g/L | 0 | 0.2 | 0.4 | 0.6 | 0.8 | 1.0 |

向各管加入 2.0 mL 碱性苦味酸溶液,混匀,于室温下反应 20~30 min,加 5 mL 水,混匀,以零管作参比,于波长 490 nm 下测吸光度,在 0.5 h 内比色完毕。每个浓度测定 3 次,求平均吸光度值。以吸光度均值为纵坐标,肌酐的浓度(g/L)为横坐标,绘制标准曲线。

6.4 测定

在标准曲线测定的同样条件下,以试剂空白做参比,测定样品的吸光度,由标准曲线查得肌酐的浓度。

7 计算

按式(1)计算尿中肌酐的浓度。

$$C = c \cdot f \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中: C —— 尿中肌酐的浓度, g/L;

c —— 由标准曲线上查得的肌酐的浓度, g/L;

f —— 尿样稀释倍数。

8 说明

8.1 本法的最低检出浓度为 0.03 g/L(取样体积为 0.1 mL),线性范围为 0~1.0 g/L, $r=0.9995$ 。精密密度:相对标准偏差为 0.38%~2.2%(浓度为 0.2~1.0 g/L, $n=6$)、准确度:尿样加标平均回收率为 93%~105%(肌酐浓度为 0.35~0.57 g/L, $n=6$)。

8.2 反应随温度、时间、pH 及苦味酸纯度而变化。温度在 15~20℃ 显色稳定,反应温度应控制在小于 30℃。苦味酸纯度差时,空白管吸光度值增高,不利于测定。氢氧化钠浓度对测定值有影响,所以在测定样品的同时制备标准曲线。

8.3 尿样中如含有下列浓度的常见毒物或一些毒物的代谢物时不干扰测定:铅(0.6 mg/L)、汞(0.1 mg/L)、砷(0.6 mg/L)、铬(0.2 mg/L)、镍(0.1 mg/L)、镉(0.4 mg/L)、硒(0.1 mg/L)、钒(0.1 mg/L)、氟(2 mg/L)、杀虫脒(0.3 mg/L)、三氯乙酸(100 mg/L)、对硝基酚(0.4 mg/L)、酚(3 mg/L)、马尿酸及甲基马尿酸(各 1 mg/L)、2-硫代噻唑烷 4-羧酸(1.6 mg/L)、扁桃酸(400 mg/L)、苯乙醛酸(1 000 mg/L)。

8.4 如尿样中含有 1% 硝酸,对测定结果无影响。测定时取上清尿样或混匀尿样对测定结果亦无影响。