

前 言

本标准适用于检测正常人群和职业接触人群尿中肌酐的浓度。本标准是参考了国外的检测方法,结合我国情况经过实验室研究和现场验证后提出的。

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准起草单位:山东省劳动卫生职业病防治研究所。

本标准主要起草人:邵华、戴秀莲、程虎、王郡甫。

本标准由卫生部委托技术归口单位中国预防医学科学院劳动卫生与职业病研究所负责解释。

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 $\mu\text{g/mL}$ 肌酐标准溶液。贮备液及标准溶液均在 4℃ 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℃ 保存,二周内分析完毕。

6 分析步骤

6.1 样品处理

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,尿酸、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。