

尿中肌酐的高效液相色谱法

1 原理

尿样用水稀释100倍后，经C₁₈柱分离，紫外检测器检测，以保留时间定性，以峰高或峰面积定量。

2 仪器

- 2.1 塑料瓶，50ml。
- 2.2 容量瓶，10ml，25ml。
- 2.3 涡旋振荡器。
- 2.4 精密分析天平，感量：0.01mg。
- 2.5 高效液相色谱仪，紫外检测器。

3 试剂

- 3.1 盐酸（ $\rho_{20}=1.19\text{g/ml}$ ），优级纯。
- 3.2 乙酸钠（CH₃COONa），优级纯。
- 3.3 乙酸钠溶液（0.05mol/L）：称取4.1g乙酸钠，溶解于水后，稀释至1000ml。
- 3.4 甲醇（CH₃OH），色谱纯。
- 3.5 肌酐（C₄H₇N₃O），优级纯。
- 3.6 盐酸溶液（0.1mol/L），取4.2ml盐酸加水稀释至500ml。
- 3.7 流动相：乙酸钠溶液+甲醇=95+5。
- 3.8 肌酐标准贮备液[$\rho(\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O})=10\text{mg/ml}$]：准确称取250.00mg肌酐（经110℃干燥2h），溶于盐酸溶液，定量转移入25ml容量瓶中，并稀释至刻度，此溶液为10mg/ml肌酐标准贮备液。该溶液置于冰箱4℃冷藏保存可稳定6个月。
- 3.9 肌酐标准应用溶液[$\rho(\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O})=100\mu\text{g/ml}$]：用水将标准储备液稀释成浓度为100 $\mu\text{g/ml}$ 标准应用溶液。该应用液置于冰箱4℃冷藏保存可稳定1个月。

4 样品的采集、运输和保存

依据《职业卫生生物监测 总则》进行样品采集。将采集后的尿液在室温下运输。4℃条件下保存样品有效期为14d。

5 分析步骤

5.1 仪器操作参考条件

波长：254nm
色谱柱：C₁₈，250mm×4.6mm×5 μm
进样量：10 μl
流动相：乙酸钠溶液+甲醇=95+5
流速：0.9ml/min

5.2 标准曲线的配制和测定

取5支10ml容量瓶，用流动相稀释肌酐标准应用溶液，配制成浓度为0 $\mu\text{g/ml}$ ~50.0 $\mu\text{g/ml}$ 的标准系列溶液。参照仪器操作参考条件测定，以各标准系列溶液的峰面积与肌酐浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）计算回归方程。

5.3 样品处理和测定

取0.10ml混匀后的尿样，用水稀释100倍，混匀后，用测定标准系列溶液的操作条件测定试剂空白、样品空白和样品溶液，样品的峰面积扣除试剂空白后，由回归方程计算肌酐的浓度（ $\mu\text{g/ml}$ ）。

6 计算

- 6.1 按式（1）计算尿中肌酐的浓度：

$$C = c \times \frac{V_1}{V_2} \text{----- (1)}$$

式中：C —尿中肌酐的浓度，mg / L；

c —由标准曲线得肌酐的浓度，μg / ml；

V₁— 尿液稀释后的体积，ml；

V₂— 取尿液体积，ml。

6.2 按照肌酐或比重校正方法对样品结果进行校正。

7 说明

7.1 方法检出限为0.006g/L，方法定量下限为0.02g/L，方法线性范围为0.02g/L~5.0g/L（尿液稀释100倍），方法精密度范围为0.9%~4.5%，方法加标回收率范围为95.3%~105.5%。

7.2 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。一般尿样中不存在以上干扰物，一旦样品杂质过多时可采用梯度缩短分析时间。

7.3 干扰物共存时肌酐色谱分离参考图谱，见图1。

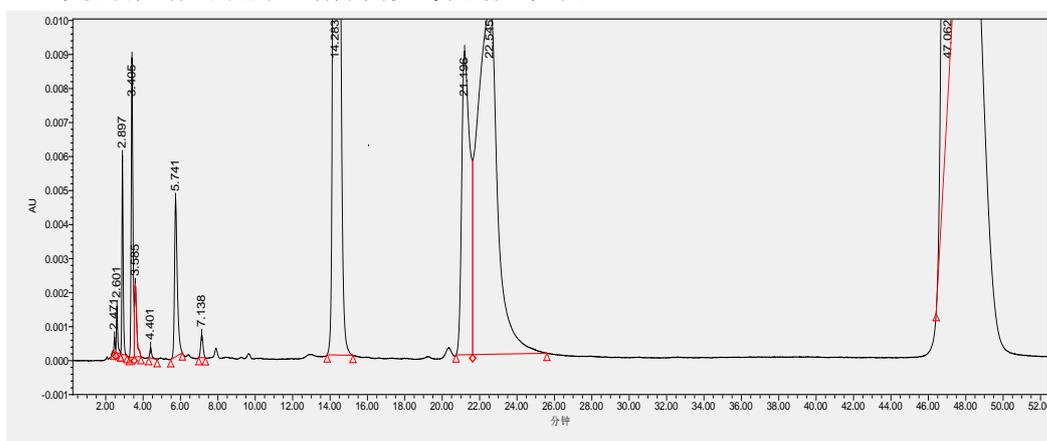


图1 肌酐色谱分离参考图谱

峰编号	名称	保留时间 (min)	峰编号	名称	保留时间 (min)
1	尿中杂质	2.471	7	对氨基酚	5.741
2	尿中杂质	2.601	8	尿中杂质	7.138
3	尿中杂质	2.897	9	马尿酸	14.283
4	尿肌酐	3.405	10	2-甲基马尿酸	21.196
5	2-硫代噻唑烷-4-羧酸	3.585	11	对硝基酚	22.545
6	尿中杂质	4.401	12	3-甲基马尿酸, 4-甲基马尿酸	47.062

（武汉市职业病防治院 宋为丽
劳动卫生职业病防治所 邵华）

深圳宝安区疾病预防控制中心 尹江伟

山东省