Klin. Biochem. Metab., 18 (39), 2010, No. 3, p. 167–174.

Stanovení kyseliny močové v lidském séru pomocí HPLC s UV detekcí – porovnání s enzymatickou metodou

Kanďár R.[1], Žáková P.[1], Mocová T.[1], Skalický J.[2], Kovařík J.[2]

[1]Katedra biologických a biochemických věd, Fakulta chemicko-technologická, Univerzita Pardubice, Pardubice
[2]Oddělení klinické biochemie a diagnostiky, Krajská nemocnice Pardubice, Pardubice

SOUHRN

Je zde popsána metoda pro specifické stanovení kyseliny močové v lidském séru. Byla testována účinnost různých deproteinačních činidel. Výsledky získané proměřením 300 vzorků sér pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie byly porovnány s výsledky získanými rutinní enzymatickou metodou.

Vzorky sér byly deproteinovány pomocí kyseliny chloristé a supernatanty byly analyzovány vysoce účinnou kapalinovou chromatografií na reverzní fázi. Pro separaci byla užita kolona MAG 1, 4,6 x 150 mm, Biospher PSI 200, 5 µm. Mobilní fází byla směs 5% metanolu v 25 mmol/l dihydrogenfosforečnanu sodného (v/v), pH 4,75.

Analytické parametry metody jsou vyhovující: variační koeficienty přesnosti v sérii a mezi sériemi se pohybovaly pod 5 %. Výtěžnost, určená metodou standardních přídavků, se pohybovala v rozmezí 90,0–103,4 %. Mez stavitelnosti byla 10,0 µmol/l (3,3 pmol/nástřik).

Výsledky získané chromatografickou metodou dobře korelovaly s výsledky získanými rutinní enzymatickou metodou, avšak chromatografická metoda poskytovala vyšší hodnoty, a to v závislosti na dané skupině pacientů. Zde prezentovaná metoda je vhodná pro analýzu těch vzorků, u nichž klasická enzymatická metoda poskytuje nespolehlivé výsledky.

Klíčová slova: kyselina močová, HPLC s UV detekcí, enzymatická metoda, porovnání metod.

SUMMARY

Kanďár R., Žáková P., Mocová T., Skalický J., Kovařík J.: Determination of uric acid in human serum using HPLC with UV detection

A sensitive method for the specific determination of uric acid in human serum is described. The effectiveness of various protein precipitants was tested. Results from measurements by high-performance liquid chromatography on 300 serum samples were compared with an enzymatic method.

Serum samples were deproteinized with perchloric acid and analyzed by reversed-phase high-performance liquid chromatography. For the separation, a reverse phase column MAG 1, 4.6 x 150 mm, Biospher PSI 200 C18, 5 µm, was used. The mobile phase consisted of 5% methanol in 25- mmol/L sodium dihydrogenphosphate (v/v), pH 4.75.

The analytical performance of this method is satisfactory: the intra-assay and inter-assay coefficients of variation were below 5%. Quantitative recoveries of spiked serum samples were between 90.0 – 103.4%. The limit of quantification was 10.0 µmol/L (3.3 pmol/inject).

Results obtained by chromatographic method correlated well with an enzymatic method, but gave at average higher values depending on a group of patients. Presented method is useful for the analysis of samples where the classical enzymatic method do not give reliable results.

Key words: uric acid, HPLC with UV detection, enzymatic method, a comparison of methods.