

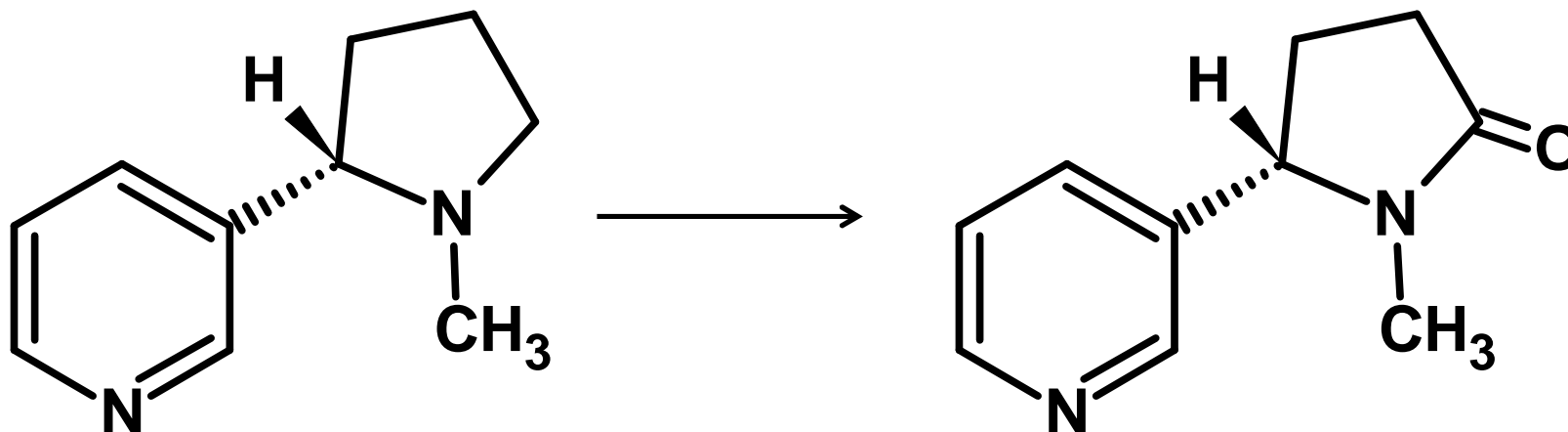
Zajištění správnosti výsledků analýzy kotininu a kreatininu

Š.Dušková, I.Šperlingová, L. Dabrowská, M. Tvrdíková, M. Šubrtová
duskova@szu.cz
sperling@szu.cz

Oddělení pro hodnocení expozice chemickým látkám na pracovišti

Státní zdravotní ústav

Kotinin



- hlavní metabolit nikotinu
- přeměna v játrech – cytochrom P450, až 90%
- poločas vylučování 20 hodin
- biologický marker expozice tabákovému kouři

Stanovení kotininu – analytická metoda

Doporučená metoda – podle Analyses of Hazardous Substances in Biological Materials, Volume 8

Vzorky moče (2ml) se zalkalizují, přidá se vnitřní standard – kotinin d_3 , extrakce do dichlormethanu, vysušení síranem sodným, od foukání do sucha proudem dusíku a rozpuštění v toluenu

Analýza GC-MS, kolona DB 5MS 30mx0,25mmx0,25 μ m, SIM mode, sledované hmotnostní ionty kotinin $m/z = 98$ a vnitřní standard kotinin d_3 $m/z = 101$

Mez detekce 1 μ g/l

Kotinin – koncentrace v moči

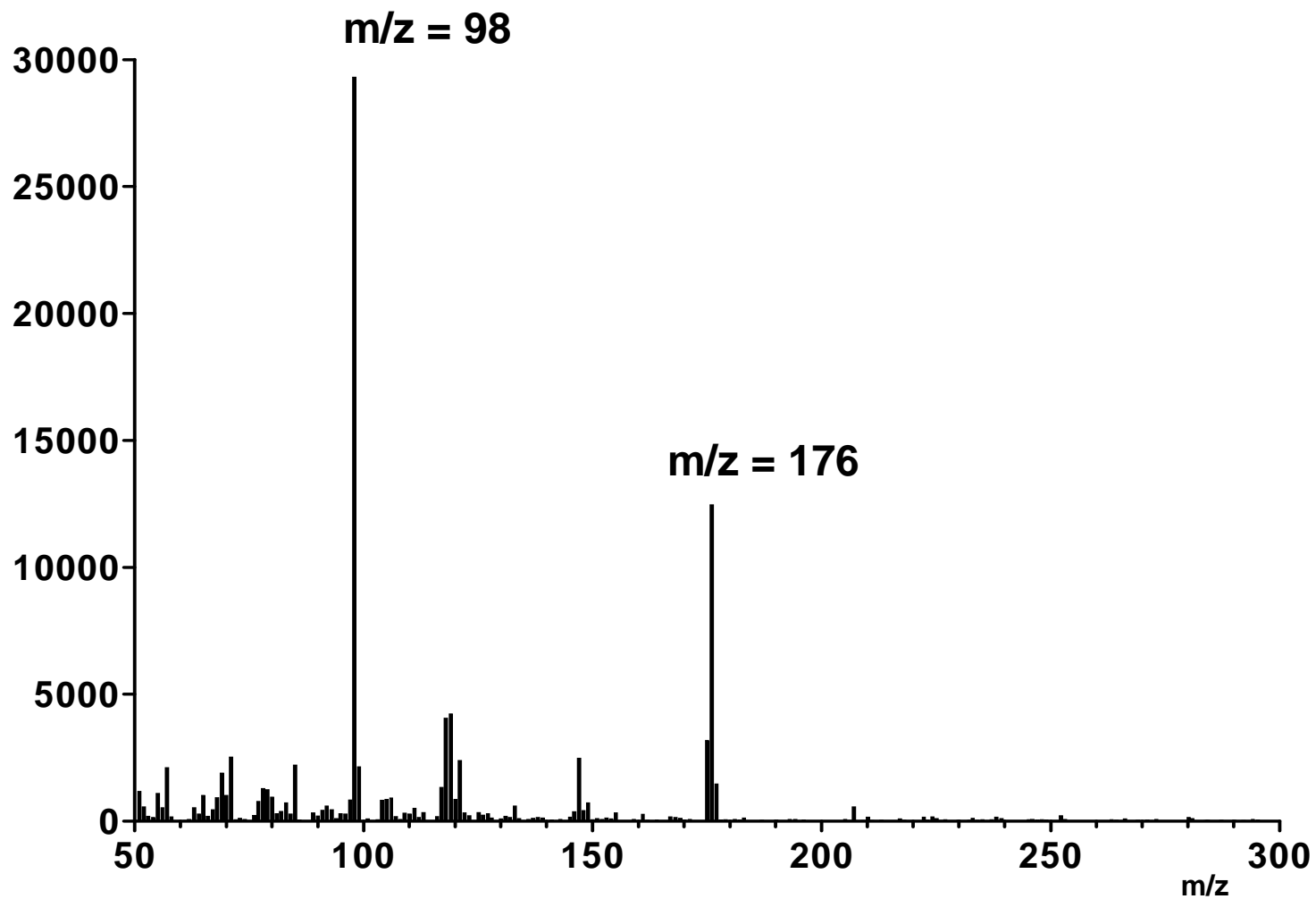
Hladiny kotininu v moči

Nekuřáci	1 – 10 $\mu\text{g/l}$
Pasivní kuřáci	10 – 25 $\mu\text{g/l}$
Kuřáci	1300 – 1700 $\mu\text{g/l}$

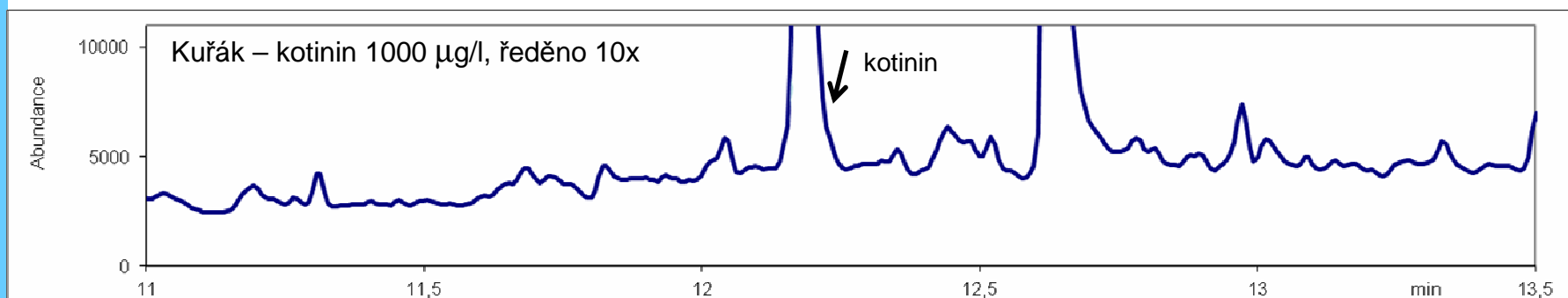
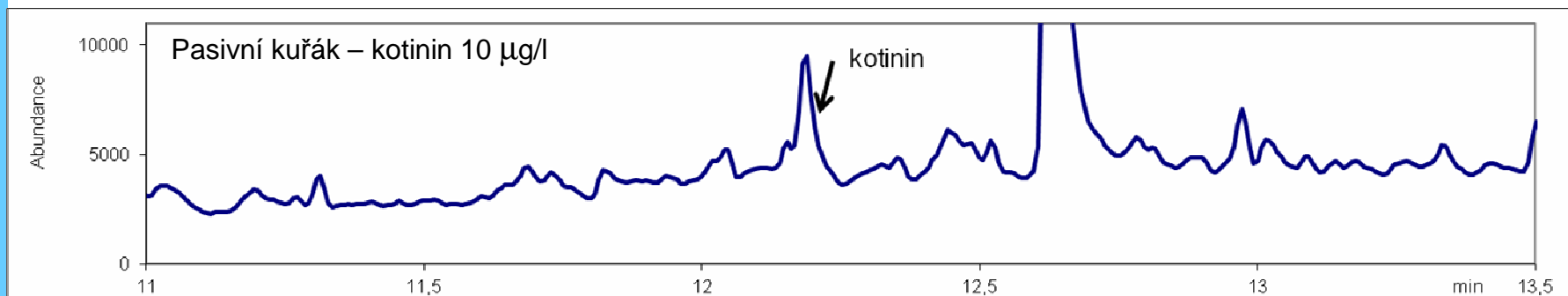
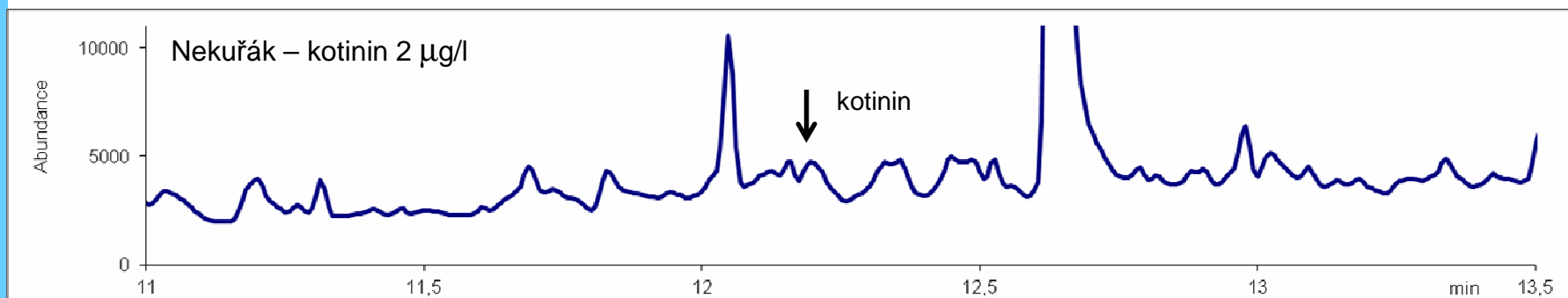
Nenulová hladina kotininu u neexponovaných osob,
pravděpodobný zdroj nikotinu v potravě (lilkovité
rostliny)

Kalibrační křivka – příprava do moči, výběr moči s
nejnižší koncentrací kotininu, lineární v rozsahu do
250 $\mu\text{g/l}$ pro vyšší koncentrace třeba ředit 10x

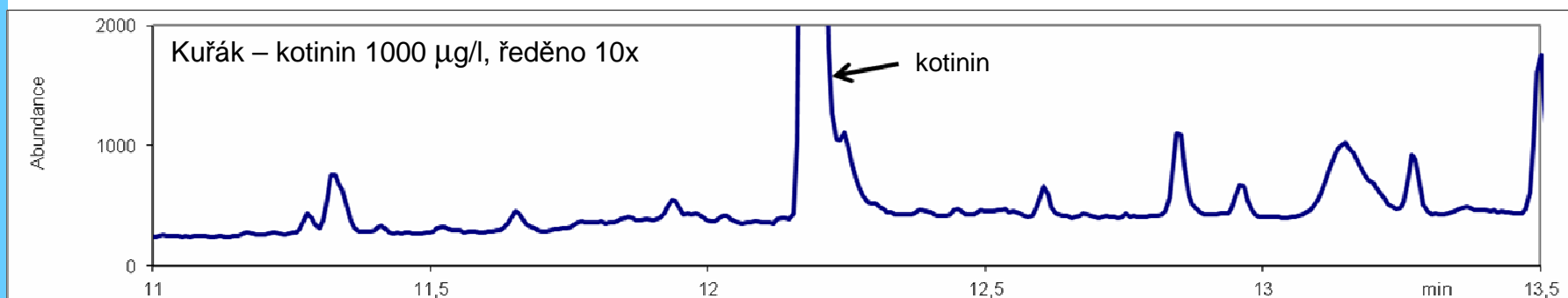
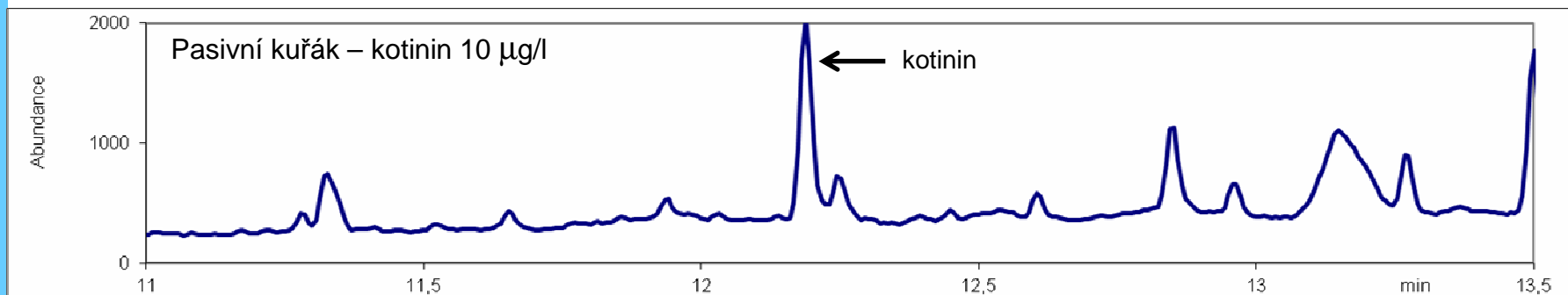
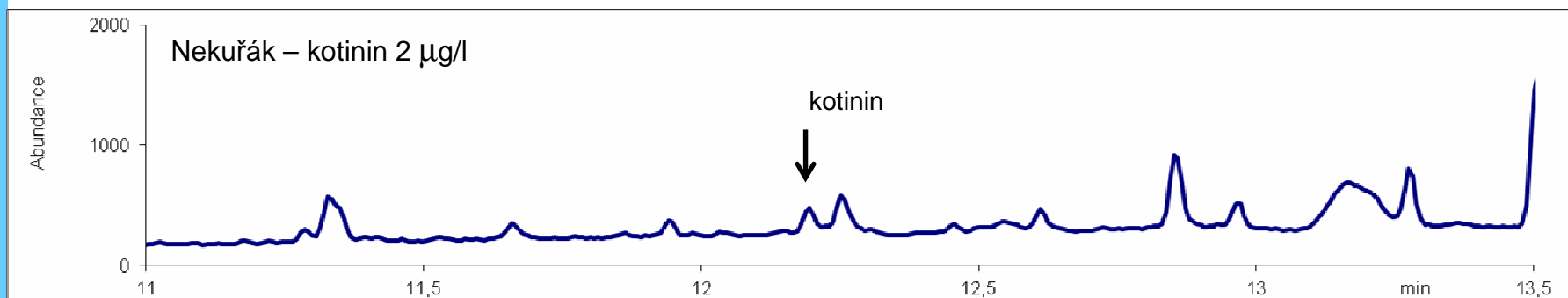
Hmotnostní spektrum kotininu



Stanovení kotininu – $m/z = 98$



Stanovení kotininu – $m/z = 176$



Mezilaboratorní porovnání výsledků

Nižší koncentrační hladina

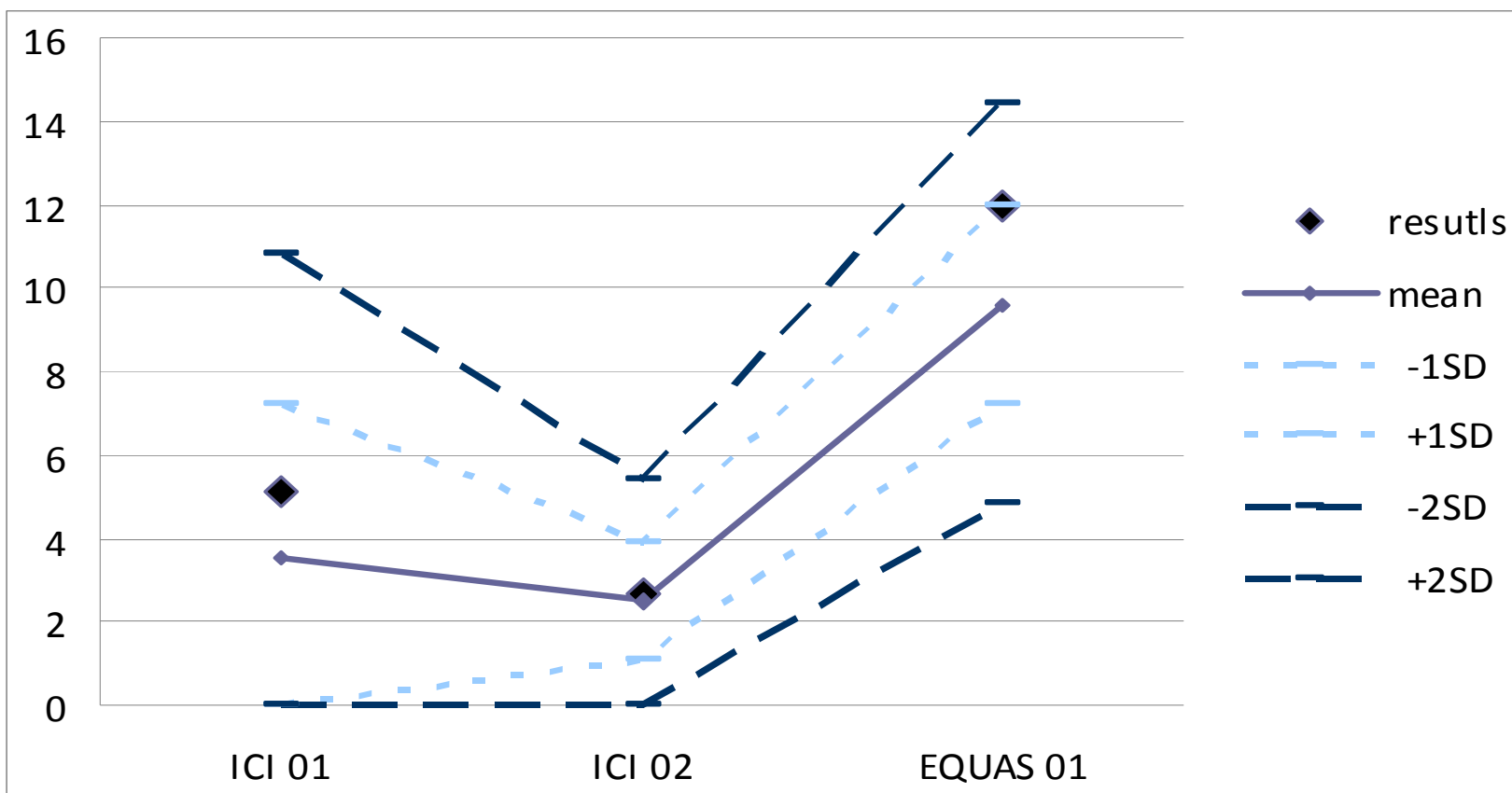
	ICI 01	ICI 02	EQUAS 01
our results (µg/l)	5,1	2,7	12,0
mean	3,5	2,5	9,6
RSD (%)	103,0	57,9	24,9
Range 1SD	0 - 7,2	1,1 - 3,9	7,2 - 12,0
Range 2SD	0 - 10,8	0 - 5,4	4,8 - 14,3

Vyšší koncentrační hladina

	ICI 01	ICI 02	EQUAS 01
our results (µg/l)	818,0	524,0	695,9
mean	740,0	510,2	607,8
RSD (%)	17,4	12,0	9,9
Range 1SD	611,0 - 868,0	449,0 - 571,4	541,6 - 668,0
Range 2SD	483,0 - 997,0	387,8 - 632,6	487,4 - 728,2

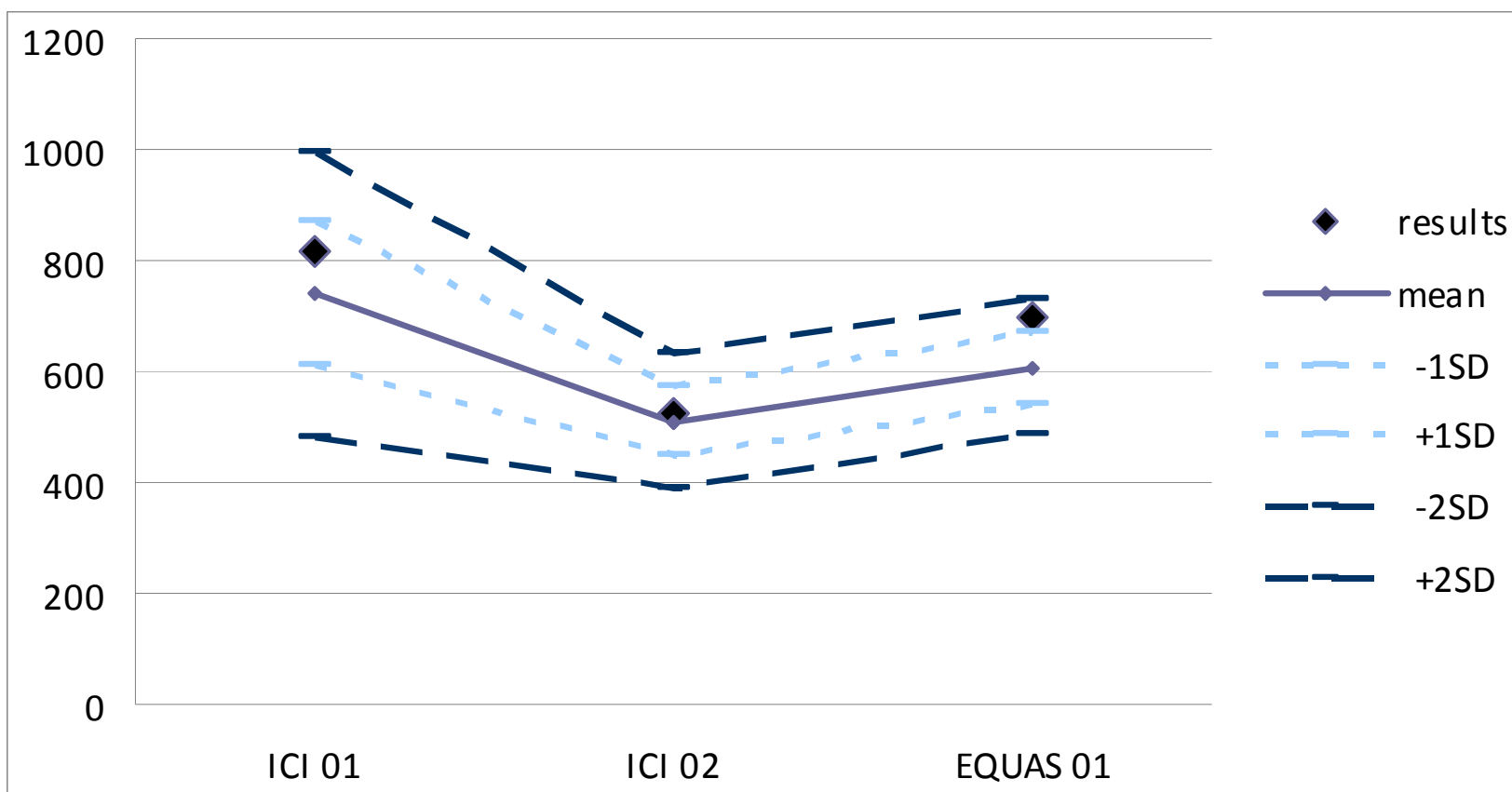
Mezilaboratorní porovnání výsledků

Nižší koncentrační hladina



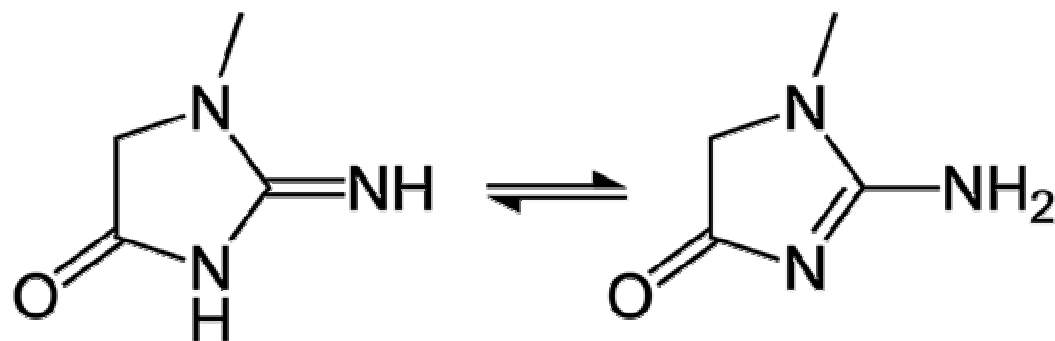
Mezilaboratorní porovnání výsledků

Vyšší koncentrační hladina



Kreatinin

2-Amino-1-methyl-5*H*-imidazol-4-one



Kreatinin

- vzniká ve svalech z kreatininfosfátu v množství, které je úměrné svalové hmotě.
- vylučování z lidského těla relativně stálou rychlostí, která je slabě ovlivněna fyzickou námahou nebo stresem a není ovlivněna ani dietou ani teplotou nebo objemem přijímaných tekutin
- důležitou vztažnou veličinou při analýzách moče.
- vyjadřování koncentrace stanovovaných látek v moči v jednotkách mg/g kreatininu ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ kreatininu)
- pro zajištění kvality analýz při expozici toxickým látkám v životním i pracovním prostředí je správné stanovení koncentrace kreatininu stejně důležité jako stanovení analytu (toxické látky) samotného.

Metody stanovení kreatininu

- spektrofotometrická Jaffeho metoda
- enzymová metoda
- kapilární elektroforéza
- vysokoúčinná chromatografie na tenké vrstvě (HPTLC)
- vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)
 - kolony s reversní fází
 - iontově párová chromatografie
 - porézní grafitové kolony

HPLC stanovení kreatininu v moči

Schneiderka P, Pacáková V, Štulík K, Jelínková K

J Chromatogr 614:221 (1993)

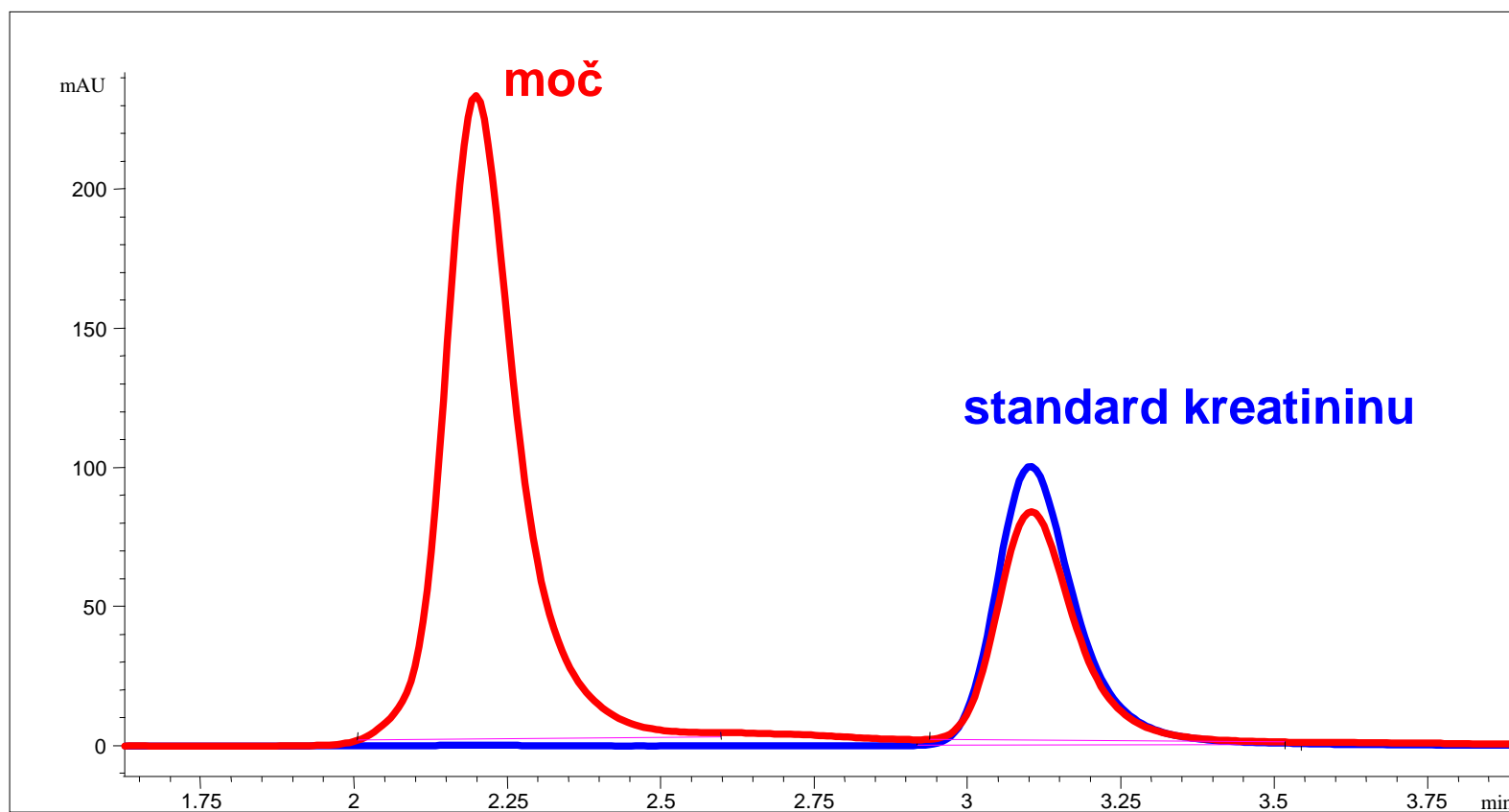
Příprava vzorků: 100x ředěno dest. vodou

Kolona : HEMA Bio 1000 SB Tessek 3x 150 mm

Podmínky stanovení:

- Mobilní fáze: 0,016 mol/l uhličitán amonný (pH 8,8-9,1)
- Detector UV: vlnová délka 234 nm
- Teplota kolony: 30 °C
- Průtok: 0.4ml/min
- Nástřik: 10 µl
- Mez detekce: 2 mg/l

HPLC stanovení kreatininu



Zajištění kontroly kvality v systému QA/QC

- **vnější kontrola kvality** – okružní vzorky (mezilaboratorní porovnání zkoušek)
System mezilaboratorního porovnání zkoušek
G-EQUAS
- **vnitřní kontrola kvality** -referenční materiály (CZ-6010)
- **návaznost** – pro kalibraci pro účely metrologické návaznosti výsledků měření se použil SRM© 914a Creatinine Standard NIST

Porovnání výsledků

Nižší koncentrační hladina

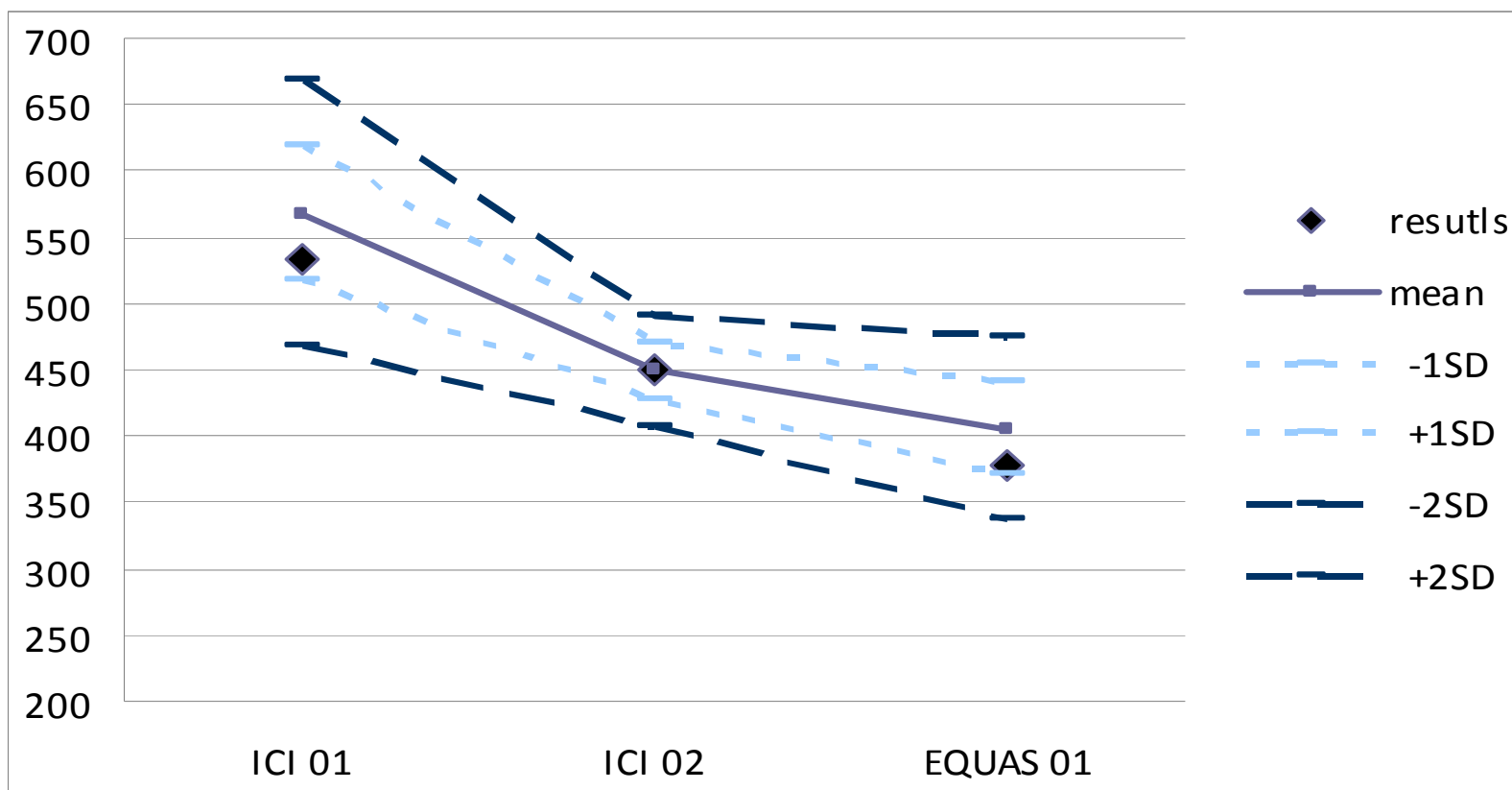
	ICI 01	ICI 02	EQUAS 01
our results (µg/l)	533,0	450,0	379,0
mean	568,0	449,2	405,8
RSD (%)	8,8	4,6	8,5
Range 1SD	518,0 - 619,0	428,0 - 470,0	371,4 - 440,2
Range 2SD	468,0 - 669,0	408,0 - 491,0	337,0 - 474,7

Vyšší koncentrační hladina

	ICI 01	ICI 02	EQUAS 01
our results (µg/l)	1520,0	1190,0	798,0
mean	1566,0	1187,2	868,1
RSD (%)	7,0	4,3	5,0
Range 1SD	1456,0 - 1676,0	1136,0 - 1239,0	824,6 - 911,6
Range 2SD	1345,0 - 1786,0	1085,0 - 1291,0	781,1 - 955,1

Mezilaboratorní porovnání výsledků

Nižší koncentrační hladina



Mezilaboratorní porovnání výsledků

Vyšší koncentrační hladina

