DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO HIPÚRICO EM URINA POR HPLC

Amostra – tratamento

-1 mL de urina + 1 mL de etanol em tubo de centrífuga
- Homogeneizar
- Centrifugar 2000 rpm por 15 min
- Transferir 500 µL do sobrenadante para um vial
- Injetar 20 µL do sobrenadante no HPLC

Condições do HPLC

Fase móvel: água:metanol:ácido acético (792:200:8) → Preparo de 1 Litro
Temperatura: 40 ºC
Vazão: 1,3 mL/min
Coluna analítica: Phenomenex® (150 mm, 4,6 mm x 5 µm)
λ = 257nm

Curva de Calibração

Fazer 3 calibradores, em duplicata cada, e duplicata de branco da urina

Fazer em balão volumétrico
C1 = 0,1 mg/mL (adicionar 100µl do **padrão 2** a 5ml de urina) – homogeneizar no ultrassom, sonicar por 10 min
C2 = 0,5 mg/mL (adicionar 50µl do **padrão 1** a 5 ml de urina) – homogeneizar no ultrassom, sonicar por 10 min
C3 = 1,0 mg/mL (adicionar 100µl do **padrão 1** a 5 ml de urina) – homogeneizar no ultrassom, sonicar por 10 min

Padrão de AH

Sol. 1 (50mg/ml)
Dissolver 0,2525g de AH (Sigma,99%) em 5 ml de metanol. Sonicar 10 min e deixar a 4º C
Sol. 2 (5mg/ml)
Diluir 1:10ml (balão de 10 ml) da sol.1