

## STANOVENÍ KADMIA, OLOVA A RTUTI V KREVNÍ PLAZMĚ KOČKY DOMÁCÍ

VERONIKA SMETKOVÁ<sup>a</sup>, BOHUMIL DOČEKAL<sup>b</sup>,  
JOSEF SUCHÝ<sup>a</sup> a HANA DOČEKALOVÁ<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí,  
Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova  
118, 612 00 Brno, <sup>b</sup>Ústav analytické chemie, Akademie věd  
České republiky, Veveří 97, 611 42 Brno  
e-mail: smetkova@fch.vutbr.cz, docekal@iach.cz

Došlo dne 8.VIII.2001

Klíčová slova: atomová absorpční spektrometrie, kadmium,  
olovo, rtuť, krevní plazma, kočka domácí

### Úvod

Nedostatek informací o obsahu toxických těžkých kovů v organismu kočky domácí třísť názory odborné veřejnosti na jejich účast v patogenezi poruch metabolismu koček od zcela pozitivního hodnocení až po zdrženlivé stanovisko. Kočky vykazují zvláštnosti metabolických procesů, které u nich podmiňují vyšší toxicitu xenobiotik. Omezená schopnost koček tvořit v játrech a vylučovat ledvinami netoxické metabolity kovů vyvolává nutnost ověřit jejich dopad na vnitřní prostředí<sup>1</sup>.

Na I. Interní klinice Fakulty veterinárního lékařství Veterinární a farmaceutické univerzity v Brně je dlouhodobě studován výskyt zdravotních poruch u koček v České republice. U pacientů je prováděno klinické vyšetření včetně odběru a zpracování krve. Vzorky krevní plazmy, které byly podrobeny řadě diagnostických testů, byly následně použity pro prvkovou analýzu. Stanovení stopových koncentrací vybraných prvků v mikrolitrových objemech vzorků vyžaduje použití vysoce citlivých analytických technik a přísné vyloučení možných kontaminací v průběhu zpracování a analýzy vzorků.

Jednou z nejpoužívanějších metod pro stopovou a ultrastopovou prvkovou analýzu klinických materiálů je stále atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ET AAS). Vysoká citlivost a selektivita metody ET AAS a malá spotřeba vzorku jsou základní požadavky při analýze klinických materiálů. Tělní tekutiny, jako je krev, krevní plazma, sérum, moč, mléko, je možné dávkovat do atomizátoru přímo či po příslušném ředění. V tomto případě je nevyhnutelné pracovat s použitím účinného systému kompenzace neselektivní absorpce. Ta je způsobena složením biologické matrice. Vzhledem k její komplikovanosti, vysokým obsahům organických sloučenin a vysoké solnosti se doporučuje použít kompenzaci na principu Zeemanova jevu. Ani tento neúčinnější způsob korekce neselektivní absorpce bohužel neřeší problémy v celém rozsahu, a proto je vždy třeba danou metodu ověřit a v případě neúspěchu přistoupit k odstranění organické matrice mineralizací vzorku. Dnes převažující používání rozkladu na mokré cestě směsí kyselin a oxidačních činidel pomocí mikrovlnné energie vede k nežádoucímu zředění a kontaminaci vzorku. Pro stanovení Cd a Pb v klinických materiá-

lech lze s úspěchem použít i suchý rozklad za kontrolovaných podmínek, který spolehlivě odstraní organickou matici<sup>2</sup>. Vzniklý popel lze rozpustit ve stejném, případně menším objemu zředěných kyselin. Takto lze zachovat či zkoncentrovat původní stopový obsah analytu.

Specifickým problémem při analýze biologických materiálů je stanovení rtuti, která bývá vázána v těkavých organických sloučeninách (methylrtuť, dimethylrtuť), u kterých je při rozkladu vzorků na mokré cestě reálné nebezpečí ztrát. Proto je pro stanovení rtuti velmi vhodné použít jednoúčelového spektrometru AMA 254 (Advanced Mercury Analyzer, Altec Praha), do kterého se analyzovaný vzorek dává v nativním stavu bez předchozí mineralizace.

Cílem předložené práce je stanovit v krevní plazmě kočky domácí stopové obsahy kadmia a olova metodou ET AAS a rtuti pomocí analyzátoru AMA 254 a porovnat u studovaného souboru jedinců obsah těchto prvků s jejich klinickým stavem.

### Experimentální část

#### Chemikálie

K přípravě vzorků a při vlastní analýze byly použity následující chemikálie, a to v nejvyšší dostupné čistotě: HNO<sub>3</sub> konc. Suprapur (Merck, Darmstadt, SRN), PdCl<sub>2</sub> 10 mg.l<sup>-1</sup> Pd (Lachema Brno, a.s.), Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6 H<sub>2</sub>O p.a. (Merck, Darmstadt, SRN), NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> p.a. (VEB Jenapharm, SRN). K přípravě standardních roztoků pro kalibraci byly použity zásobní roztoky těchto kovů o koncentraci 1 mg.ml<sup>-1</sup> v 0,5 mol.l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> (Merck, Darmstadt SRN). K ověření správnosti analytického postupu byl použit referenční materiál Seronorm (TM) Whole blood I (Lot. No. 404 107). Při přípravě roztoků byla používána vysoce čistá voda, upravená systémem Ultra-clear (SC Barsbüttel, SRN). Dále byl pro rozkladný systém APION používán kyslík čistoty 2.0 (SIAD VTG) a amoniak čistoty 3.3 (Linde, Praha), pro ET AAS argon o čistotě 5.0 (SIAD VTG) jako inertní plyn a pro AMA 254 kyslík čistoty 2.0 (Linde, Praha) jako nosný plyn.

#### Vzorky

Krev byla odebírána z žíly *vena cephalica* do zkumavek ošetřených heparinem (15 m.j.ml<sup>-1</sup> krve, Heparin Léčiva). Ihned po odběru krve byly vzorky odstředěny na centrifuze MPW – 52 při 5000 ot.min<sup>-1</sup> po dobu 10 minut. Supernatant (vzorek krevní plazmy) byl přenesen pipetou do polyethylenové zkumavky (typ Eppendorf) a uchováván až do doby analytického vyšetření v mrazícím boxu při –20 °C. Před analýzou byly vzorky zvolna rozmrazeny za laboratorní teploty a homogenizovány protřepáním.

#### Instrumentace

Obsah kadmia a olova byl stanoven v mineralizátech krevní plazmy získaných předchozím rozkladem v laboratorním zařízení Dry Mineralizer APION (TESSEK Praha). Analýza byla prováděna na atomovém absorpčním spektrometru firmy Perkin-Elmer, model 4110 ZL, vybaveném automatickou Zeemanovskou korekcí pozadí, příčné vyhříváním grafitovým atomizátorem (THGA) s integrovanou Lvovovou plat-

formou a příslušnými výbojkami s dutou katodou. Byly měřeny hodnoty integrované absorpce při vlnových délkách 228,8 nm pro kadmium a 283,3 nm pro olovo při spektrální šířce štěrbin 0,7 nm v obou případech.

Rtuť byla ve vzorcích krevní plazmy stanovena jednoúčelovým atomovým absorpčním spektrometrem AMA 254.

## Postup

### Stanovení kadmia a olova v krevní plazmě

#### Rozklad vzorků

Vzorky krevní plazmy byly před analýzou zvolna rozmrazeny za laboratorní teploty. Pro rozklad bylo do předčištěných mineralizačních nádobek pipetováno 200  $\mu\text{l}$  vzorku. V jedné rozkladné sérii bylo vždy zpracováno 8 vzorků a 4 slepé pokusy. Rozkladný proces sestávající z fáze sušení a fáze mineralizace trval 10 hodin (teplota sušení 110  $^{\circ}\text{C}$ , teplota mineralizace 360  $^{\circ}\text{C}$ ). Po proběhnutí rozkladného procesu byl vzniklý bílý popel rozpuštěn v 10  $\mu\text{l}$  koncentrované kyseliny dusičné a 190  $\mu\text{l}$  vysoce čisté vody.

#### Analýza mineralizovaných vzorků

Kadmium a olovo byly stanoveny v mineralizovaných vzorcích krevní plazmy za použití optimalizovaného teplotního programu (tab. I) v přítomnosti chemických modifikátorů. Pro oba analyty bylo jako modifikátoru použito chloridu paladnatého, a to v množství 10  $\mu\text{g}$  Pd. Modifikátor byl zbaven stop kadmia a olova přímo v atomizátoru předběžnou úpravou při teplotě 1400  $^{\circ}\text{C}$ . Následně pak bylo dávkováno 20  $\mu\text{l}$  roztoku mineralizátu s 10  $\mu\text{l}$  dalšího modifikátoru – pro kadmium s 10  $\mu\text{g}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  a pro olovo se směsí 5  $\mu\text{g}$   $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  a 50  $\mu\text{g}$   $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

Tabulka I

Optimalizované podmínky stanovení Cd a Pb

Kov	Proces	Teplota [ $^{\circ}\text{C}$ ]	Doba [s]	
			nárůstu	trvání
Cd	pyrolýza	500	20	30
	atomizace	1700	0	3
Pb	pyrolýza	800	20	20
	atomizace	1900	0	4

Kalibrováno bylo metodou standardního přídávku v lineární oblasti kalibrační závislosti, tj. pro kadmium v rozsahu 0–4  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  a pro olovo 0–150  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Pro ověření správnosti a přesnosti celého stanovení byl analyzován referenční materiál a krevní plazma s definovaným přídávkem kadmia a olova.

### Stanovení rtuti v krevní plazmě

Rtuť byla stanovena přímo ve vzorcích krevní plazmy. Na niklovou dávkovací lodičku analyzátoru bylo pipetováno 100  $\mu\text{l}$  vzorku. Použitý režim analýzy sestával z fáze sušení

vzorku (70 s), fáze rozkladu vzorku (180 s) a fáze prodlevy mezi skončením rozkladu vzorku a následným vypuzením rtuti do měřicích kyvet (45 s).

Výsledné hodnoty slepých pokusů byly zjištěny na základě měření prázdné lodičky za stejných podmínek.

Kalibrace přístroje AMA 254 byla prováděna standardním roztokem rtuti o koncentraci 0,1  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  v 0,1  $\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$  kyselíně dusičné při dávkování 100  $\mu\text{l}$  roztoku.

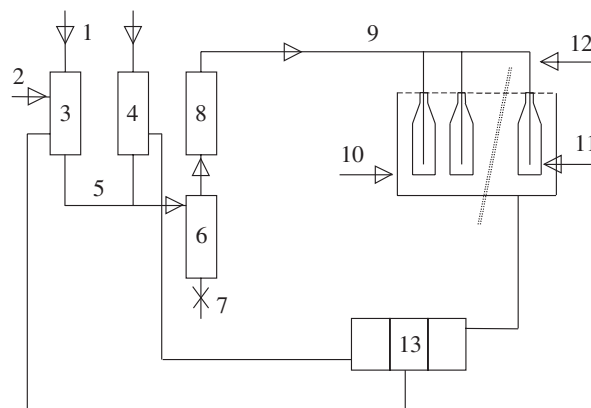
Pro ověření správnosti metody byl analyzován referenční materiál, přesnost metody byla zjištěna opakovaným měřením vzorku hovězí krevní plazmy se srovnatelným obsahem rtuti.

## Výsledky a diskuse

### Optimalizace stanovení

Nejprve byla ověřována možnost analyzovat přímo vzorky krevní plazmy. I přes ředění vzorku a aplikaci doporučených modifikátorů se nepodařilo dostatečně odstranit silný rušivý vliv organických komponent vzorku. Vlastní specifický absorbanční signál byl v mnohých případech příliš nízký, a to na pozadí velmi širokého nespecifického signálu, který bylo nesmírně obtížné – i přes použití účinné Zeemanovské techniky – kompenzovat. Matrice vzorku rovněž prudce snižovala životnost grafitového atomizátoru. Proto byly vzorky před vlastní analýzou podrobeny mineralizaci.

Rozklad vzorků v zařízení Dry Mineralizer APION probíhá na suché cestě a spočívá v zavádění superoxidační směsi plynů  $\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{O}_3$  do skleněných nádobek se vzorky, které jsou vyhřívány na zvolenou teplotu (obr. 1). Vzniklý popel má jemnou strukturu a snadno se rozpouští i v malém množství zředěných kyselin. Zavádění směsi oxidačních plynů do rozkladných nádobek s úzkým hrdlem snižuje riziko kontaminace z okolního prostředí na minimum. Aby se zabránilo možnému kypění vzorku během sušení, bylo nutné nastavit pozvolné vyhřívání nádobek se vzorky, tj. sušení po dobu 1 hodiny při teplotě 110  $^{\circ}\text{C}$ . Pro mineralizaci odpadku byla zvolena teplota



Obr. 1. Schéma laboratorního zařízení Dry mineralizer APION; 1 – přívod  $\text{O}_2$ , 2 – přívod  $\text{NH}_3$ , 3 – spalovací pec  $\text{NH}_3$ , 4 – ozonizátor, 5 – směšovací trubice, 6 – sběrač kondenzátu ( $\text{HNO}_3$ ), 7 – vypouštěcí kohout, 8 – chladič, 9 – rozvod plynů, 10 – vyhřívávací blok, 11 – mineralizační nádoby, 12 – přívodní kapiláry, 13 – regulovaný programovatelný napájecí zdroj vyhřívání

360 °C, při které nedochází ke ztrátám analytů. Doba mineralizace byla závislá na množství rozkládaného vzorku. Pro dávky 200 µl krevní plazmy postačilo zahřívát nádobky 4 hodiny. Během celého procesu sušení a mineralizace byla zaváděna směs oxidačních plynů.

Pro mineralizáty krevní plazmy byly optimalizovány podmínky stanovení ET AAS. Optimální teploty pyrolýzy a atomizace byly stanoveny pomocí tzv. křivek pyrolýzy a atomizace. Pyrolytická křivka pro kadmium byla měřena v intervalu teplot 200–800 °C, atomizační v intervalu 1000–2200 °C, totéž pro olovo v intervalech 300–1300 °C a 1200–2200 °C. Při stanovení kadmia a olova, u kterých hrozí nebezpečí ztrát analytu při termické úpravě vzorku, bylo nutné použít chemického modifikátoru, který stabilizuje analyt nebo zvyšuje těkavost nežádoucí matrice. Z řady doporučených a vyzkoušených modifikátorů<sup>3–7</sup> bylo pro stanovení kadmia v rozložených vzorcích krevní plazmy nejvhodnější použít kombinaci palladia a dusičnanu hořečnatého. Příměsí kadmia a olova v modifikátoru bylo možné se zbavit *in situ* v grafitovém atomizátoru po nadávkování roztoku modifikátoru a jeho pyrolýze při teplotě 1400 °C. V dalším kroku byl pak dávkován mineralizovaný vzorek krevní plazmy s roztokem dusičnanu hořečnatého. Pro stanovení kadmia v rozložené krevní plazmě koček za použití uvedené kombinace modifikátorů v množství 10 µg Pd a 10 µg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> byla jako optimální nalezena teplota pyrolýzy 500 °C a teplota atomizace 1700 °C. Při stanovení olova v mineralizované krevní plazmě se ukázalo, že je vedle roztoku PdCl<sub>2</sub> v množství 10 µg Pd vhodné použít také směsný roztok dusičnanu hořečnatého a amonného v množstvích 5 µg Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> a 50 µg NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Použití této směsi vedlo k výraznému snížení signálu pozadí. Při použití uvedených modifikátorů byla pro stanovení olova jako optimální nalezena teplota pyrolýzy 800 °C a teplota atomizace 1900 °C.

Uvedené podmínky byly jak při stanovení kadmia, tak při stanovení olova kompromisem z hlediska charakteru signálu analytu (proporce signálu – výška/šířka) a velikosti neselektivní absorpce.

Podmínky vhodné pro stanovení rtuti při analýze krevní plazmy byly odvozeny z přístrojového doporučení výrobce. Používaný teplotní režim byl popsán.

### Charakteristiky stanovení

Při zjišťování obsahu kadmia a olova v krevní plazmě byly v průběhu experimentální práce analyzovány vzorky krevní plazmy 138 jedinců. Paralelně s tím bylo uskutečněno 70 slepých pokusů. Průměrná hodnota obsahu analytů v těchto slepých stanoveních, která prošla celým analytickým procesem podobně jako vzorky, činila 0,1 µg.l<sup>-1</sup> Cd a 1,2 µg.l<sup>-1</sup> Pb. Průměrná hodnota slepých pokusů při stanovení rtuti, změřených analýzou prázdné lodičky, činila 0,062 ng Hg, což je v přepočtu na dávkované množství 100 µl krevní plazmy 0,62 µg.l<sup>-1</sup> Hg. Hodnoty slepých pokusů byly od stanoveného obsahu analytů v konečném vyhodnocení odečítány.

Detekční limit byl vypočten ve smyslu doporučení IUPAC<sup>8</sup> pro spektrometrická měření jako trojnásobek směrodatné odchylky fluktuace slepého stanovení. Odpovídající hodnota detekčního limitu v krevní plazmě byla pro kadmium 0,1 µg.l<sup>-1</sup> a pro olovo 1,2 µg.l<sup>-1</sup>. Detekční limit při stanovení rtuti byl 0,33 µg.l<sup>-1</sup> při dávkování 100 µl vzorku.

Citlivost stanovení, vyjádřená charakteristickou hmotnos-

tí ( $m_0$ ), činila při optimálních podmínkách měření pro kadmium 1,6 pg, pro olovo pak 28 pg.

Testování správnosti analytického procesu bylo při stanovení kadmia a olova prováděno dvěma způsoby, a to analýzou referenčního materiálu Seronorm (TM) Whole blood I (Lot. No. 404 107) a testem návratnosti. V referenčním materiálu s deklarovaným obsahem kadmia 0,67–0,76 µg.l<sup>-1</sup> bylo analýzou čtyř paralelních vzorků stanoveno (0,79±0,09) µg.l<sup>-1</sup> Cd. Pro olovo byla nalezena hodnota (32,9±3,6) µg.l<sup>-1</sup>, která se nachází v intervalu deklarovaného obsahu 31–39 µg.l<sup>-1</sup>. Test návratnosti byl uskutečněn s přidávkou známých množství analytů ke krevní plazmě. Čtyři paralelní vzorky s přidávkou 400 pg kadmia a 4 ng olova ke 200 µl směsné krevní plazmy byly rozkládány a měřeny současně se čtyřmi paralelními vzorky samotné plazmy a čtyřmi slepými pokusy. Výsledek průměrné návratnosti kadmia byl 104±5,5 %. U olova pak tato hodnota činila 95,3±6,8 %. Pro ověření správnosti stanovení rtuti byl analyzován referenční materiál Seronorm (TM) Whole blood I (Lot. No. 404 107) s definovaným obsahem 3 µg.l<sup>-1</sup> Hg. Nalezená hodnota obsahu rtuti činila (2,90±0,13) µg.l<sup>-1</sup>.

Pro stanovení přesnosti metody bylo využito výsledků analýzy čtyř paralelních vzorků referenčních materiálů. Relativní směrodatná odchylka stanovení, vyjádřená v procentech, činila pro kadmium 7,5 % a pro olovo 4,1 % pro shora uvedené koncentrační hladiny obou analytů. Pro testování přesnosti stanovení rtuti byla využita hovězí krevní plazma. Relativní směrodatná odchylka pro 10 paralelních analýz činila 5,4 % při koncentraci 1,72 µg.l<sup>-1</sup> Hg.

### Obsah kovů v krevní plazmě

Obsahy sledovaných analytů ve 138 vzorcích krevní plazmy koček se pohybovaly v intervalu 0,10–9,40 µg.l<sup>-1</sup> Cd, 1,20–50,10 µg.l<sup>-1</sup> Pb a 0,33–15,10 µg.l<sup>-1</sup> Hg.

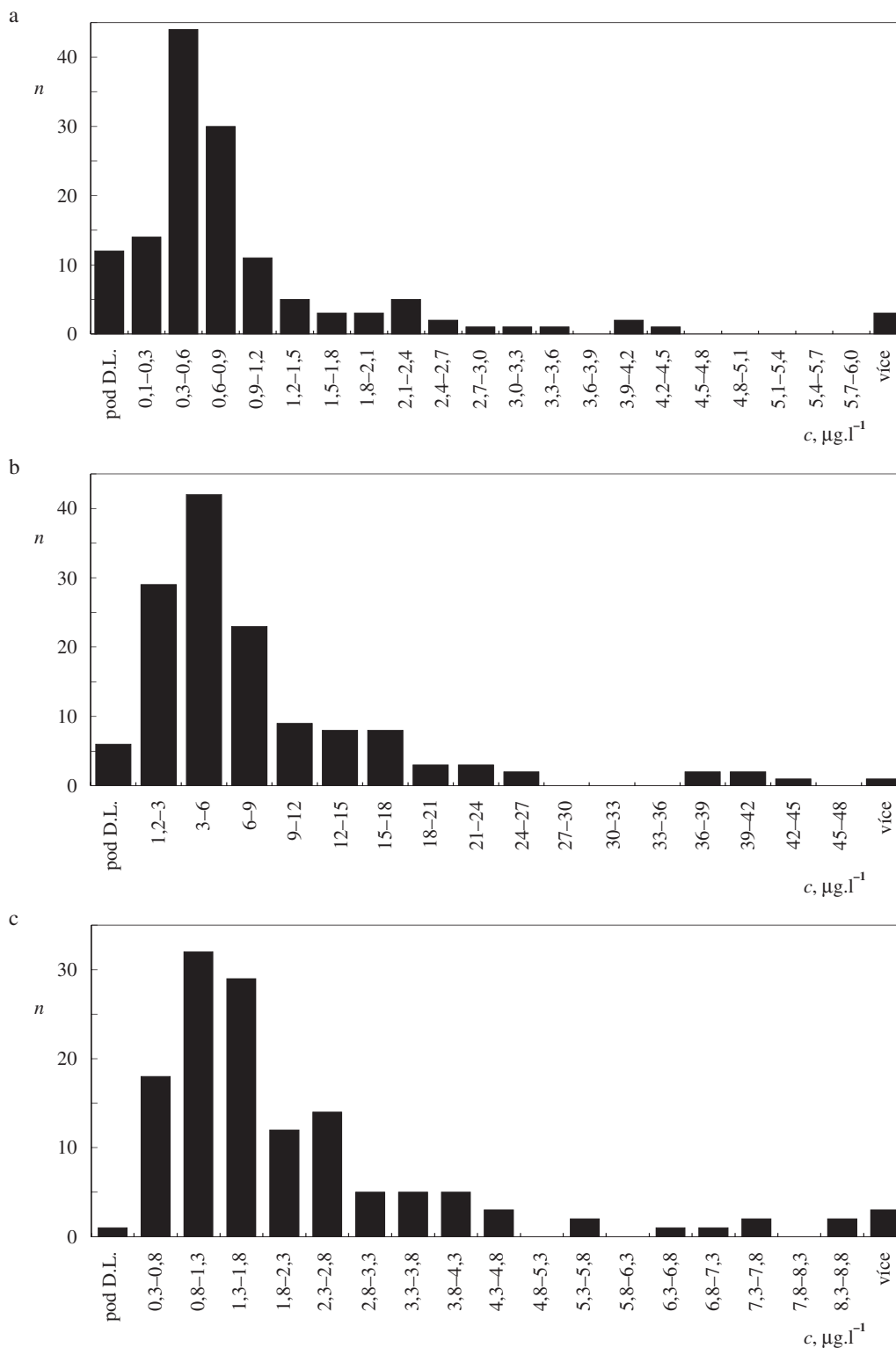
Rozdělení výsledků obsahu kovů ve vzorcích je graficky znázorněno na obrázku 2. Z grafického zpracování je patrné, že rozložení výsledků obsahu analytů neodpovídá symetrickému normálnímu rozdělení, ale je na jedné straně ohraničeno detekčním limitem, na druhé straně je pokles četnosti pozvolnější a vyskytují se zde extrémní hodnoty, blíží se rozdělení logaritmicko-normálnímu. Pro charakterizaci výsledků bylo použito mediánu<sup>9</sup>, robustního odhadu parametrů polohy, často používaného v obdobných studiích pro svoji přesnou interpretaci, a to jak pro symetrická, tak i nesymetrická rozdělení. Medián obsahu analytů ve 138 vzorcích krevní plazmy koček byl 0,59 µg.l<sup>-1</sup> Cd se směrodatnou odchylkou mediánu  $s_M = 0,05$ ; 5,4 µg.l<sup>-1</sup> Pb s odchylkou  $s_M = 0,6$  a 1,59 µg.l<sup>-1</sup> Hg s odchylkou  $s_M = 0,10$ .

Mezi obsahy kovů v jednotlivých vzorcích nebyla nalezena vzájemná statisticky významná korelace. Vzájemná korelace nebyla nalezena ani mezi obsahem kadmia a rtuti, ani mezi obsahem olova a rtuti.

Obsah jednotlivých elementů v krevní plazmě byl srovnán s výsledky studií analýzy lidské krve. Kadmium je mezi složky krve rozděleno relativně rovnoměrně. Na základě publikovaných výsledků obsahu kadmia v krvi, resp. krevní plazmě, které se pohybují řádově v desetínách až jednotkách µg.l<sup>-1</sup> (cit.<sup>10–13</sup>), lze konstatovat, že obsah kadmia v dané tělní tekutině je u lidí a koček řádově srovnatelný. Obsah olova v krvi se pohybuje řádově v desítkách až stovkách µg.l<sup>-1</sup> (cit.<sup>10,12,14,15</sup>).

Olovo však je jedním z elementů, které nejsou mezi složky krve rozděleny rovnoměrně. V převážné míře je vázáno na červené krvinky<sup>11,12</sup>. V krevní plazmě zůstává méně než 10 %,

což odpovídá řádově jednotkám až desítkám  $\mu\text{g.l}^{-1}$  Pb. Právě do tohoto intervalu spadají také výsledky analýzy krevní plazmy koček. Podobně ani rtuť není mezi jednotlivé složky krve



Obr. 2. Rozdělení výsledků obsahu (c): a – kadmia, b – olova, c – rtuti v krevní plazmě koček; n - četnost



rozložena rovnoměrně a je také vázána především na červené krvinky. Koncentrace rtuti v krevní plazmě u lidí se pohybuje řádově v jednotkách  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (2–10  $\mu\text{g.l}^{-1}$ ), v krvi pak je její koncentrace 5–20  $\mu\text{g.l}^{-1}$  (cit.<sup>16</sup>). Výsledky obsahu rtuti získané analýzou krevní plazmy koček jsou tedy s obsahem rtuti v krevní plazmě lidí také řádově srovnatelné.

Srovnání výsledků s dalšími poznatky o jedincích

*Srovnání s klinicko-diagnostickými charakteristikami*

Vnitřní prostředí koček je charakterizováno určitými diagnostickými kritérii získanými analýzou krevní plazmy<sup>17</sup>. Biochemicky byla hodnocena jediná funkce jater měřením aktivity alaninaminotransferasy (ALT), aspartátaminotransferasy (AST), alkalické fosfatasy (ALP) a množství celkové bílkoviny (CB), jedná funkce ledvin dle množství fosforu (P), močoviny (Urea) a kreatininu (Krea) v krevní plazmě. Na základě znalosti hodnot uvedených diagnostických kritérií bylo možné se pokusit korelovat vzájemně tyto parametry s obsahem kadmia, olova a rtuti ve vzorcích krevní plazmy.

Analýzou výsledků testů ALT, AST, ALP, CB a P a nalezených obsahů kadmia, olova či rtuti v jednotlivých vzorcích nebyla nalezena žádná statisticky významná korelace. Pouze vzájemný vztah obsahu olova a kreatininu vykazoval výraznější míru korelace, a to tak, že u vzorků s vyšším obsahem Pb byl nalezen též zvýšený obsah kreatininu. Statisticky prokazatelnou korelací bylo možno pozorovat také u zvýšeného obsahu olova a močoviny v krevní plazmě. Pro kadmium a rtuť nebyly mezi uvedenými parametry nalezeny žádné statisticky významné korelace.

V uvedeném reprezentativním souboru koček se vyskytlo devět jedinců s chronickým selháním ledvin (CRF) a tři jedinci s akutním selháním ledvin (ARF). Mimo jeden případ s ARF patří ostatních jedenáct jedinců mezi třináct s nejvyšším nalezeným obsahem olova v krevní plazmě. Na základě toho lze konstatovat, že zvýšený obsah olova v krevní plazmě a selhání ledvin spolu vzájemně souvisejí. U některých jedinců s uvedeným poškozením ledvin byl pozorován také zvýšený obsah kadmia a rtuti v krevní plazmě. Naproti tomu byly nalezeny vzorky s vysokým obsahem rtuti, aniž by došlo k poruchám funkce ledvin.

*Srovnání s dalšími charakteristikami jedinců*

Vzorky byly odebírány od koček žijících v Brně, Praze, Ostravě, Ústí nad Labem, Hradci Králové, Opavě, Plzni a Vlašimi. Přestože zastoupení v jednotlivých skupinách zkoumaného souboru nebylo rovnoměrné, lze konstatovat, že mezi skupinami nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly v obsahu sledovaných kovů.

V souboru 138 jedinců bylo 70 samic (F) a 68 samců (M). Rozdělení obsahu kadmia, olova i rtuti u obou pohlaví bylo velmi podobné. I když u samců byly střední hodnoty obsahu Cd, Pb a Hg nepatrně vyšší, nelze rozdíly v obsahu analytů považovat za statisticky významné.

Dále byly výsledky hodnoceny v souvislosti s věkem jedinců. Pro obsah kadmia ani pro obsah olova či rtuti stanovený v krevní plazmě nebyla ve vztahu k věku nalezena významná korelace.

V reprezentativním souboru bylo také zastoupeno několik plemen kočky domácí. Výrazně byla ve výběru zastoupena následující plemena: domácí krátkostrstá (DK) a perská (P). Ojedinelý, pouze jednotkový, byl pak výskyt koček siamských (S), ruských modrých (RM), burmských (BU) či ragdoll (RAD).

Na základě uvedených poznatků lze u daného výběru konstatovat, že pro nalezené obsahy kadmia, olova a rtuti v krevní plazmě nebyla zjištěna korelace s takovými charakteristikami jedinců, jako jsou místo původu, pohlaví, věk a plemeno jedince.

## Závěr

Získané výsledky obsahu kadmia, olova a rtuti v krevní plazmě koček jsou řádově srovnatelné s obsahem uvedených kovů v lidské krevní plazmě a pohybují se v intervalu 0,1–9,4  $\mu\text{g.l}^{-1}$  Cd, 1,2–50  $\mu\text{g.l}^{-1}$  Pb a 0,3–15  $\mu\text{g.l}^{-1}$  Hg. Při hodnocení výsledků obsahu kadmia, olova a rtuti nebyla nalezena statisticky významná vzájemná korelace. Podobně tomu bylo také při srovnání obsahu analytů s hodnotami některých klinicko-diagnostických parametrů a dalšími charakteristikami jedinců, jako je místo původu, pohlaví, věk či plemeno. Pouze u vzorků se zvýšeným obsahem olova byla nalezena významná korelace s vyšším obsahem kreatininu a s diagnostikovaným akutním nebo chronickým selháním ledvin.

*Tato studie byla provedena za finanční podpory MŠMT – projekt G4/2301 FRVŠ. Autoři děkují doc. MVDr. Z. Knotkovi, CSc. z I. Interní kliniky Fakulty veterinárního lékařství VFU v Brně za poskytnutí vzorků krevní plazmy a výsledků diagnostických testů a Ústřednímu kontrolnímu a zkušebnímu ústavu zemědělskému v Brně za poskytnutí analyzátoru AMA 254.*

## LITERATURA

1. Wilcke J. R., v knize: *The Cat Disease and Clinical Management* (Sherding R. G., ed.), 2. vyd., sv 1. Churchill, Livingstone 1994.
2. Mader P., Čurdová E.: *Chem. Listy* 91, 227 (1997).
3. Burguera J. L., Burguera M.: *J. Anal. At. Spectrom.* 8, 235 (1993).
4. Alexaki E., Samara C., Alexopoulos C., Tsafaris F., Smokovitis A.: *Environ. Contam. Toxicol.* 45, 824 (1990).
5. Subramanian K. S., Meranger J. C.: *Clin. Chem. (Washington, D. C.)* 27, 1866 (1981).
6. Jin Z., Shouguo J., Shikun Ch., Desen J., Chakraborti D.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 337, 877 (1990).
7. Moreira M., Curtius A. J., Campos R. C.: *Analyst* 120, 947 (1995).
8. *IUPAC Compendium of Analytical Nomenclature, Definitions, and Rules*, 2. vyd. Blackwell Scientific Publications, Oxford 1987.
9. Meloun M., Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat*. Edice PLUS, Praha 1994.
10. Cibulka J.: *Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře*. Academia, Praha 1991.
11. Castillo J. R., Concha I., Martinez C.: *Atom. Spectroscopy* 8, 172 (1987).
12. Subramanian K. S., Meranger J. C.: *Clin. Chem. (Washington, D. C.)* 27, 1866 (1981).

13. Jin Z., Shouguo J., Shikun Ch., Desen J., Chakraborti D.: Fresenius' J. Anal. Chem. 337, 877 (1990).
14. Hodges D. J., Skelding D.: Analyst 108, 813 (1983).
15. Hudník V., Marolt-Gomišček M., Gomišček S.: Anal. Chim. Acta 157, 143 (1984).
16. Hutzinger O.: *The Handbook of Environmental Chemistry*, sv. 3, část A: *Anthropogenic Compounds*. Springer-Verlag, Berlin 1996.
17. Bock U.: *Směrné hodnoty důležitých laboratorních vyšetření pro domácí zvířata*. Vetpress, Jílové u Prahy 1994.

**V. Smetková<sup>a</sup>, B. Dočekal<sup>b</sup>, J. Suchý<sup>a</sup>, and H. Dočekalová<sup>a</sup>** (<sup>a</sup>*Faculty of Chemistry, Brno University of Technology*, <sup>b</sup>*Institute of Analytical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Brno*): **Determination of Cadmium, Lead and Mercury in Cat Blood Plasma**

A method for determination of Cd, Pb and Hg in blood plasma of the domestic cat was developed. The two-step procedure for determination of Cd and Pb is based on dry

ashing of blood plasma samples and subsequent electrothermal AAS quantitation. In the first step, samples are heated in glassy vials under nitrogen oxides using an Apion dry-mode mineralizer and the inorganic residue is then dissolved in a minimum amount of dilute high-purity nitric acid. In the second step, Cd and Pb are determined by graphite-furnace AAS employing a Perkin-Elmer Model 4110 ZL Zeeman-background-corrected spectrometer equipped with a transversally heated graphite atomizer. In order to stabilize analytes in graphite furnace, their chemical modification with prereduced Pd and other reagents is used. The amount of the used modifiers, temperature program and calibration mode are optimized. Hg is determined without decomposition of samples by AAS. Samples of blood plasma of 138 individuals were analyzed. The contents of Cd, Pb and Hg in the plasma were in the range 0.1–9, 1.2–50 and 0.3–15  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ , respectively. The achieved limits of detection based on the  $3\sigma$  criterion were 0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  Cd, 1.2  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  Pb and 0.33  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  Hg. The results were correlated with complementary data such as breed, sex, age, environmental conditions, and some other veterinary diagnostic parameters.

Zavedená farmaceutická firma v americkém vlastnictví  
hledá pro své pracoviště v Praze pro oddělení QC

### **VŠ/SŠ s praxí v oboru chemie – instrumentální analýza.**

Znalost AJ výhodou. Nástup možný ihned.  
Žádosti s profesním životopisem zašlete na:  
Interpharma Praha, a.s., Komořanská 955, 143 10 Praha 12  
fax: 02/4025144, e-mail: interpharma@interpharma-praha.cz