



Atomspektroszkópia az orvoslás szolgálatában – vérplazma és teljes vérminták elemtartalmának meghatározása



Dr. Bartha András PhD
Perforum AAS, ICP-OES szakértő
Állatorvostudományi Egyetem
Állathigiéniai, Állomány-egészségtani Tanszék és Mobilklinika
1078 Budapest, István utca 2
+36 30 680 5032
bartha.andras@perforum.hu
bartha1952@gmail.com
bartha.andras@univet.hu

Szolgálok és Védök

A stylized graphic of the Hungarian flag, consisting of two wavy horizontal stripes, one red on top and one green on the bottom, positioned below the word 'Védök'.

Anyagcsere profilok elkészítéséhez meghatározandó minták

Takarmány

Ivóvíz, itatóvíz

Szarvasmarha, sertés, ló (néha kecske)

Vérplazma ill. szérum

Teljesvér

Szőr

Csülökszaru

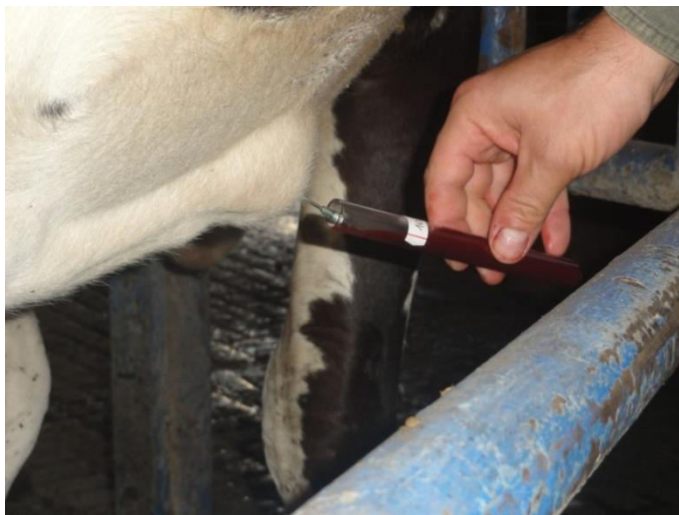
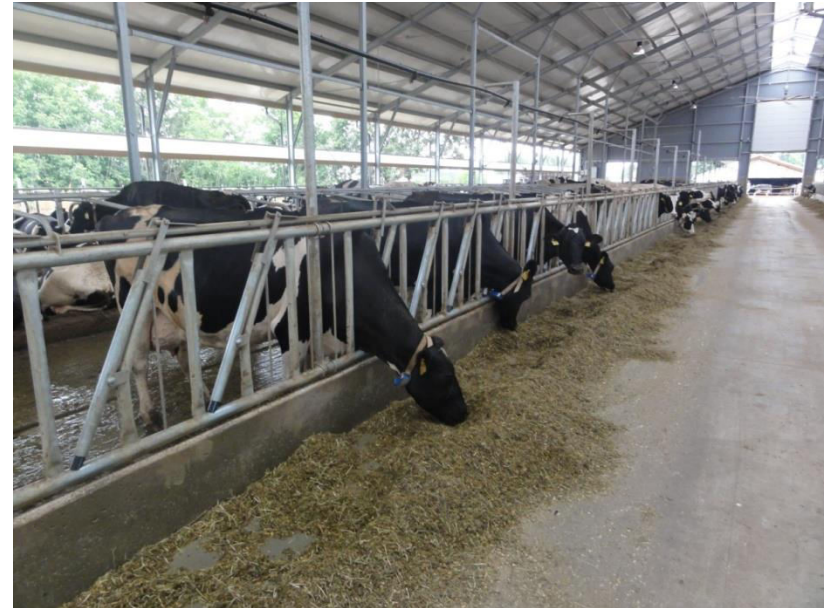
Szarvas, nyúl, kutya, zebra

Hús (máj, vese, agy, izomszövet)

Csont

Tengeri állatok (kagyló, osztriga, tintahal)

Madártoll minták



A nyomelemek biológiai funkciói és értékesülésüket befolyásoló tényezők

Nyomelemek:

- életfontosságúak (esszenciálisak) : Zn, Cu, Mn, Co, I, Se, Fe, Cr
- „esetenként kedvező hatásúak”: B, Mo, Li, Ni, V,
- toxikusak: Pb, As, Cd, Mo

Hatásmechanizmus: enzimek, enzimrendszerek aktivitásának biztosítása

- beépülnek az enzimekbe
- enzim-szubsztrát kapcsolat

(„kiszorítás” → aktivitás csökkenés)

antagonista $\leftrightarrow$ szinergista hatás

bendőflóra(B₁₂), mikrobiális fehérje képződés

A hiányállapot kialakulásának főbb tényezői

Hajlamosító tényezők:

- monodiéta (kevés komponensű takarmányadag)
- talajadottság („indikátor” növények)(időjárás)(a betakarítás időpontja)..a talaj kötöttsége, víztartalma, redox állapota, szerves-anyag tartalma...../
- föld evés, szennyezettség
- kiemelkedő termelés
- fokozott anyagcsere, annak hirtelen változása (ellés körül !!)
- ipari eredetű takarmány melléktermékek
- stressz (hideg, meleg stb.....), fokozott fizikai megterhelés...
- félheveny, idült fertőző betegségek
- antagonista hatások
- öröklött tulajdonságok
-

A kórjelzés nehézségei

- Többnyire szubklinikai
- Klinikai tünetek, szervi elváltozások jellemzően nem kórjelzőek
- Adott elem hiánya a körülménytől függően (faj, fajta, életkor, termelési állapot, antagonisták hatások stb.), a hiány súlyosságától, tartamától függően más-más időrendben, formában jelentkezhet (étvágy, termelés, szervi elváltozások...). Sőt több nyomelem hiánya is járhat megegyező, hasonló következményekkel

Paraziták, baktériumok, vírusok okozta betegségek, alultápláltság, fehérjehiány, mérgezések, vitaminhiány, technológiai hibák...

- A laboratóriumi vizsgálati eredmények értékelése nagy körültekintést igényel

Cink

Többnyire szubklinikai előfordulás; elsődleges, másodlagos forma /antagonista hatások (Cu, Pb, elvényt széná...)/

Kóroktan, kórfejlődés:

> 300 metalloenzim (pl. SAP), számos strukturális, funkcionális cink-metallofehérje

- kollagén szintézis (sebgyógyulás)
- az A- (E-) vitamin felszívódása ↓ (zsíremésztés ↓), májból való mobilizáció ↓
- immunrendszer ↓ (nyirokszervek atrophia...)
- hormon képződés (inzulin, tesztoszteron, prosztaglandin) ↓
- biomembran stabilitás, antioxidáns védelem (Cu, Zn, S, O.....)
- segíti a bimbócsatornát bélelő *keratin* újraképződését

Klinikum:

- Étvágy és testtömeg csökkenés, nyalakodás
- Bőrelváltozások

Borjak, (parakeratosis), viszketés, korpásodás, nedvedzés, pörkösödés, a rühösségre emlékeztető, sőt, az utóbbi előfordulásakor annak súlyosságát erősíti. Leginkább a szutyak, a fül, a nyak, a hátulsó lábak plantaris felülete érintett. A nyelv, a nyelőcső nyha A-vit. hiány jellegű elváltozása.

Mindhárom állatfajban ismert az örökletes Zn felszívódási zavar (a fenti tünetekkel)

Tehenek, hasonló bőrelváltozások, a pártaszél hámhiányai, sipolyok, a csecsbimbó bőrének károsodása, un. farokrépa-ekcéma(?)

Juhok gyapja hullámosodását veszti, elvékonyodik, hullik, bőre megvastagszik, redőzötté válik

mindkét fenti állatfajnál nyálzás, orrfolyás, nehezített nyelés

- Kérődzőkben, mindkét nemben – súlyos hiány esetében – reprodukciós zavarok(a petefészek tisztás elfajulása ?), de leginkább a kosbárányok érintettek (17mg Zn/tak kg), a herenövekedés és a spermiogenezis csökkent. (ez hamarabb jelentkezhet, mint a fejlődésben való visszamaradás
- Borjak, a hátulsó végtag görbülése, csánkizület gyulladás(?)

Zn contents in tissues	Zn-deficient goats (n= 22) (5 mg Zn/kg DM)	Normal goats (n= 31) (90 mg Zn/kg DM)	Normal sheep (n= 99)	Normal cattle (n= 377)
Brain	54 ± 9 ns	68 ± 8	53	54
Liver	89 ± 57 ns	118 ± 68	104	100
Hair	93 ± 31 ^{**}	115 ± 2	133	129
Ribs	58 ± 14 ^{***}	74 ± 10	89	69
Kidneys	97 ± 35 ns	95 ± 30	104	100
Milk	26 ± 10 ns	27 ± 7		
Testes	55 ± 18 [*]	74 ± 23		
Heart muscle	69 ± 18 [*]	75 ± 24		
Blood serum ^a	1.06 ± 0.62 ns	1.16 ± 0.58		





Mangán

Kóroktan, kórfejlődés:

Talajtan. >pH 6,5 és/vagy Ca tart. magas → növény Mn ↓

A kukorica, lucerna, szemes termények Mn tart. alacsony

A takarmány magas Ca, (P), Fe tartalma → másodlagos Mn hiány

Élettani hatás : csökkent mukopoliszaccharid képződés → csont mátrix képződés ↓; a hosszú csövescsontok epifízis porc állomány csontszövetté alakulása gátolt

Klinikum: újszülött *borjak*; idegrendszeri tünetek, ataxia, vitalitás ↓, merev, görbe láb, a mellső lábtőízület duzzadt, laza, a felső állcsont megrövidült, „nyelvelés”

tehenek termékenyülése romlik, a petefészek ciklus nem zavart, de a tüsző repedés és az ivarzási tünetek nincsenek szinkronban, „csendes ivarzás”, elsősorban az első termékenyítés eredménye romlik, mások szerint anösztrus, szabálytalan „visszaivarzás”

a megtermékenyített petesejt megtapadása zavart

a bikaborjak aránya gyakran nő (hatásmechanizmus?)

juhok, kecskék termékenyülési zavarok, melyet a kiegészítés több esetben javít
újszülött bárányok egyensúlyozási, mozgás zavar

Kórhatározás (nehéz)

máj < 8mg/sza kg

A torz magzatok májának Mn-tartalma elmarad az 1,75-2,5mg/e.sza kg

szőr (fekete) < 6mg/kg ; (zsemle) < 5mg/kg

/ növényedek nincsn módszer, máj?; szőr > 1 év ?/

Szükséglet

(40)- 60-80 mg Mn /sza kg

/magas Ca, tág Ca/P → 40mgMn/tak kg már kritikus lehet/

↔ **NRC** (2001) szarvasmarhák 18mg/ sza kg ???, a minimális igény

de több szerző ezzel a Mn tartalommal az üszők borjaiban már fejlődési zavart idéztek elő

/magyarázat (?) az erjesztett takarmányok növelik a szükségletet (!)/

Szmha növényedekben a hiányállapot valószínűsége a gyakorlatban csekély

Megj.: a talaj Mn tartalma 300-1300mg/kg , legelő juhokban csökkenti a hiányállapot veszélyét

Mn contents in tissues	Mn-deficient goats (n = 22)	Normal goats (n = 35)(60 mg Mn/kg DM)	Normal sheep (n = 196)	Normal cattle (n = 177)
Brain	3.1 ± 1.2 [*]	3.9 ± 1.1	2.7	2.3
Liver	4.1 ± 2.1 ^{***}	10.1 ± 3.3	11	10
Hair	1.1 ± 0.5 ^{***}	2.1 ± 1.1	9.5	11
Ribs	7.9 ± 4.1 ns	9.7 ± 3.6	5.5	5.5
Kidneys	2.6 ± 1.1 ^{***}	5.0 ± 1.9	4.9	5.1
Milk	-	1.0 ± 1.5		
Heart muscle	1.2 ± 0.8 ^{***}	2.2 ± 0.9		
Ovaries	2.6 ± 1.5 [*]	4.6 ± 2.3		
Spleen	2.4 ± 0.8 ^{**}	3.5 ± 1.6		
Pancreas	5.2 ± 2.4 [*]	7.0 ± 4.3		
Blood serum ^a	0.08 ± 0.03 ns	0.09 ± 0.06		

^a mg/L.

^{*} $P < 0.05$; ns = $P > 0.05$.

^{**} $P < 0.01$.

^{***} $P < 0.001$.

Réz

Elsődleges ill. másodlagos hiányállapot

Kóroktan:

talajtani adottságok (homok, tőzegláp; abszolút/relatív hiány; Mo)...

környezeti tényezők, ipar (kohó, S....) /NDK/

takarmányadag jellege....

Kórfejlődés:

vvt; eritrocuprein

plazma; albuminhoz kötött, ill. cöruloplazmin (akutfázis-fehérje), más antioxidáns enzimekkel (SOD..) szerepe van az immunológiai folyamatokban

Szerepe van továbbá,

- citokróom C oxidáz ↓ → myelin képződés (agy), és sejtlégzés
- prosztaglandin szintézis
- melanin képződés
- lizil-oxidáz enzimek (kollagén, elasztin képződés)
- részt vesz a fehérvérsejtek baktériumölő képességének fenntartásában



Swayback (megkésett formája)



Depigmentáció (szemüveg)

Cu contents in tissues	Cu-deficient goats (n = 22) (2 mg Cu/kg DM)	Normal goats (n = 35) (8 mg Cu/kg DM)	Normal sheep (n = 88)	Normal cattle (n = 199)
Brain	$6.4 \pm 1.8^{***}$	14.0 ± 4.0	18	11
Liver	$5.3 \pm 2.5^{***}$	10.0 ± 6.8	220	123
Hair	$3.0 \pm 1.4^{***}$	4.7 ± 1.5	10	7
Kidneys	9.7 ± 3.6 ns	11 ± 3.4	15	17
Ribs	6.1 ± 2.0 ns	7.3 ± 3.2	5	4
Blood serum ^a	$0.41 \pm 0.19^{**}$	0.67 ± 0.24		
Milk	–	1.0 ± 0.76		
Heart muscle	$11 \pm 2.9^{**}$	13 ± 3.4		
Testes	$4.5 \pm 1.5^*$	6.5 ± 2.9		

Szelén

Kóroktan, kórfejlődés:

Talaj Se (anyagőzet, a növények felvehető Se (pH↓ szelenit ↓; Fe, SO₄, P, N ...)

Az állat számára értékesülő Se kémiai formája (anorganikus ↔ organikus)

Bendőflóra (flóra mennyisége, Se redukció, illózsírsav term. ...)

Több, mint 25 selenoprotein ismert,

de elsődleges jelentősége a **GSH-Px₁₋₄ (Glutation peroxidáz)** van; a sejtek biológiai membránjainak védelme (antioxidáns hatás, „reaktív oxigéngyök”, H₂O₂ → H₂O, lipidperoxid

Az *antioxidáns rendszer* másik lényes eleme az **E-vitamin** (magában a membránokban hat), de egyéb enzimeknek (CuZnSOD, MnSOD, kataláz...) szerepe van

Klinikum:

A növendékek fokozottan érzékenyek a hiányra

Vetélés, halvaellés, veleszületett izomkárosodás (juh, bárány) ritka

Szív- és vázizom- elfajulás (takarmányozási eredetű izomelfajulás)

A főleg **szívizom elfajulással** járó perakut kórforma -2-5 hetes korban jelentkezik -; súlyos keringési zavar, nehezített légzés (tüdővizenyő, habos orrfolyás/, elfekvés, elhullás

A jellemzően **vázizom elfajulással** járó kórforma; enyhe mozgászavar, izomremegés, gyengeség → petyhüdt bénulás; a légzés nehezített(hasi), /szív, rekesz- és bordaközi izmok/

Hajlamosító tényező a fizikai megterhelés (legelő hajtás, csoportosítás

A nyelv és a garat izomzata károsodása; nehezített szopás, félrenyelés

Idősebb borjak, esetenként vérfesték vizelet

Kieg.lab. lelet: a plazma CK, AST aktivitása ↑

A szőr nyomelem tartalma és az ellátottság közti összefüggés erőssége és a határértékek *Anke után*

Paraméter	Mn	Cu	Zn	Se	Mo	J	Cd
Összefüggés erőssége	++	++	+	+++	+++	+++	+++
Szőr helye	+++	++	++	+	-		+
Szőrszín	+++	-	-	-	+++		(+)
Szőr „kora”	+++	(+)	(+)	-	-	++	
Fajta	-	++	++				
Vemhesség	-	++	-				
Nyírási mélység	-	(+)	-		-		
Tehén, fekete ppm	>6,0	>6,0	>100	>0,25	<0,35	>0,08	<0,1
Juh, színtelen ppm	>5,0	>6,0	>100	>0,25			<0,1

44. táblázat. Néhány talajtípus összes mikrotápelem-tartalma
[Győri, 1971]

Talajtípus	Mn	Zn	Cu	Mo
	mg/kg			
Csernozjom				
Debrecen	850	66	19,2	0,34
Mezőhegyes	920	144	32,0	0,31
Csanádapáca	612	136	32,7	1,48
Abony	597	121	24,7	0,63
Iregszemcse	660	134	32,4	0,68
Csernozjom barna erdőtalaj				
Kompolt	660	220	25,4	0,48
Barnaföld (típusos)				
Szőkedences	520	72	29,0	0,31
Keszthely	980	102	38,0	0,61
Agyagbemosódásos barna erdőtalaj				
Karád	456	116	14,0	0,87
Zalaapáti I.	512	115	15,0	0,67
Zalaapáti II.	740	94	21,8	0,49
Bak	700	178	10,8	0,25
Sárhida	750	74	29,0	0,46
Dobronhegy	1100	42	30,4	0,40
Páka	700	76	15,0	1,00
Pangóvízes barna erdőtalaj				
Szentgyörgyvölgy	340	82	29,6	1,57
Réti talaj				
Becsehely	900	102	35,5	0,31
Szolonyeces réti talaj				
Lenínváros	750	60	22,4	0,41
Réti szolonyec				
Szarvas	320	40	14,5	0,90
Humuszos homoktalaj (meszes)				
Őrszentmiklós	407	33,5	5,7	0,50
Kecskemét	240	66	4,6	0,43
Rozsdabarna erdőtalaj				
Marietapuszta	420	30	3,2	0,34
Kovárványos barna erdőtalaj				
Nyíregyháza	240	28	26,6	0,43
Rétláp-talaj				
Keszthely	102	100	4,2	4,38

Kulcskérdés: Növények számára felvehető tartalom

Mn esetében a felvehető Mn tartalom függ a pH-tól, karbonát tartalomtól, sok mindentől.

Ennek meghatározásához modelldatokat használnak (pl.) EDTA

A hozzáférhető (mobilis Mn tartalom gyakran csak kis része a teljes tartalomnak)

Általánosságban: A kation formában felvehető mikrotápelemek felvehetősége lúgos talajoknál csökken, az anionosként felvehetőknél (Se, Mo) növekszik.

Győri Dániel: A talaj termékenysége.
Mezőgazdasági Kiadó 1984

Takarmányminta elemzése

Feltárás:

A kiszáritott mintából 0.5 g-ot bemérünk a CEM MARS 6 mikrohullámú feltáró Express edényeibe. Adunk hozzá 5 ml cc HNO_3 -at, 5 ml H_2O_2 -ot és elindítjuk a feltáró programot

Feltáró program:

Ramp: 35 perc; Hőmérséklet: 200 °C; hold: 50 perc; energia: 1700 W

A feltárt mintát 25 ml-re töltjük és 5*-ös hígítás után mérjük 1 mg/l Y belső standard alkalmazása mellett Perkin Elmer Optima 8300 ICP-OES készülékkel. Méréshez: 2 ml minta+8 ml desztillált víz +0.1ml 100 mg/l-es Y oldat.

Mért komponensek: Ca, K, Mg, Na, P, S, Cu, Zn, Mn. A kén mérése (181.975 nm) miatt az optikát öblíteni kell.



Analitikai módszer főbb paramétere

Elem	Vonal nm	Megfigyelés (rad/ax)	Kalibráció tartomány mg/l
Ca	317.929	rad	0-100
K	766.483	rad	0-200
Mg	279.074	rad	0-100
Na	589.574	rad	0-200
P	213.614	ax	0-25
S	181.973	ax	0-166
Cu	327.392	ax	0-5
Zn	213.854	ax	0-5
Mn	257.605	ax	0-5
Y (Int std)	371.025	ax	
Y (Int std)	360.071	rad	



Módszer	resolution	Read	Delay	plazmagáz l/perc	aux l/perc	Nebu l/prc	Power Watt
Takarmányfő	High	Auto 1-5 sec	40 sec	12	0.2	0,7	1300

Kalibráció	porlasztó	ködkamra	párhuzamosok száma	argon nedvesítő	Peak algoritmus
Lin thru 0	Burgener PEEK MIRA MIST	ciklon	3	igen	Area

Plazmaminta elemtartalmának meghatározása ICP-OES módszerrel

Előkészítés: 50 µl heparint tartalmazó kémcsőbe vesznek mintegy 20 ml vérmintát (véralvadás megakadályozása). A mintát 4000-es fordulaton 10 percig centrifugáljuk. Így kapjuk meg a **vérplazmát**.

(**Vérszérum vagy savó:** heparin nélkül fugáljuk a vérmintát).

Előkészítés roncsolással:

2 ml plazmát+ 2.5 ml HNO₃+2.5 ml H₂O₂-ot bemérünk a CEM MARS 6 mikrohullámú feltáró Express edényeibe. Elindítjuk a feltáró programot.

Feltáró program:

Ramp: 35 perc; Hőmérséklet : 200 °C; hold: 50 perc; energia: 1700 W

A feltárás befejezése után 3 ml desztillált vizet pipettázunk a feltáró edényekbe, és összerázzuk. (10 ml végtérfogat; 5-szörös higítás a plazmából).

1 mg/l Y belső standard alkalmazása mellett Perkin Elmer Optima 8300 ICP-OES készülékkel mérjük.

Előkészítés tritonos higítással:

1 ml plazma+4 ml tritonos higító. Végtérfogat: 5 ml.

Tritonos higító: 0.0 5% triton+0.5% HNO₃. Készítése: 0.7 ml HNO₃ és 50 µl Triton/100 ml!

1 mg/l Y belső standard alkalmazása mellett Perkin Elmer Optima 8300 ICP-OES készülékkel mérjük.

Analitikai módszer főbb paramétereai

Elem	Vonal nm	Megfigyelés (rad/ax)	Kalibráció tartomány mg/l
Ca	317.929	rad	0-100
K	766.483	rad	0-200
Mg	279.074	rad	0-100
Na	589.574	rad	0-500
P	213.614	ax	0-25
S	181.973	ax	0-166
Cu	327.392	ax	0-5
Zn	213.854	ax	0-5
Mn	257.605	ax	0-5
Cr	205.557	ax	0-5
Fe	259.936	ax	0-5
Mo	202.029	ax	0-5
As	188.978	ax	0-5
Cd	228.802	ax	0-5
Pb	220.35	ax	0-5
Y (Int std)	371.025	ax	
Y (Int std)	360.071	rad	



Módszer	resolution	Read	Delay	Plazma gáz l/perc	Aux l/perc	Nebu l/prc	Power Watt
Vérplazma	High	Auto 1-5 sec	40 sec	12	0.2	0,7	1300

ICP-OES, mint az elemanalitika igáslova



Vérplazma értékek

	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	P	Pb	S	Zn
vérplazma	mmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	μmol/l	mmol/l	mmol/l	μmol/l	μmol/l	mmol/l	mmol/l	μmol/l	mmol/l	μmol/l
Hígítással számolva	2.28	0.037	<0.2	<0.2	18.0	20.7	5.58	0.98	0.046	<0.2	122	3.12	<0.1	25.6	13.9
2	2.24	0.041	<0.2	<0.2	12.0	22.6	6.13	0.94	0.051	<0.2	124	3.38	<0.1	28.8	13.6
3	2.20	0.048	<0.2	<0.2	19.1	17.7	6.53	0.94	0.046	<0.2	125	3.12	<0.1	26.4	13.7
4	2.30	0.061	<0.2	<0.2	21.0	10.1	5.89	0.91	0.047	<0.2	122	3.57	<0.1	28.9	14.7
5	2.38	0.051	<0.2	<0.2	15.8	25.8	6.29	0.97	0.061	<0.2	134	3.70	<0.1	26.5	15.9
6	2.09	0.046	<0.2	<0.2	18.5	11.4	4.98	0.92	0.053	<0.2	122	3.13	<0.1	26.8	15.2

	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	P	Pb	S	Zn
vérplazma	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
Mért érték	20.1	0.0015	<0.002	<0.002	0.192	0.335	40.1	3.74	0.0004	<0.002	583	23.4	<0.002	188	0.231
2	19.3	0.0011	<0.002	<0.002	0.237	0.281	54.9	3.77	0.0004	<0.002	562	22.1	<0.002	173	0.173
3	18.5	0.0011	<0.002	<0.002	0.201	0.260	52.3	3.29	0.0004	<0.002	565	20.5	<0.002	163	0.172
4	19.8	0.0011	<0.002	<0.002	0.165	0.252	67.3	3.65	0.0003	<0.002	594	24.9	<0.002	177	0.184
5	17.8	0.0013	<0.002	<0.002	0.184	0.184	50.7	3.91	0.0004	<0.002	570	24.2	<0.002	177	0.126
6	18.8	0.0012	<0.002	<0.002	0.193	0.255	61.6	3.84	0.0004	<0.002	547	22.3	<0.002	171	0.194

TEJHASZNÚ TEHENEK ANYAGCSERE-PROFIL NORMÁL ÉRTÉKEI

VÉRPLAZMA

Glükóz	>2.3 mmol/l (3.0-3.9)
Acetecetsav	<0.1-0.2 mmol/l
NEFA (FFA)	<0.2 mmol/l
AST (GOT)	egészséges = <80 U/l veszélyeztetett = 81-100 U/l beteg (sérült) = >101 U/l
ALT (GPT)	10.0-23.3 U/l
LDH	666.7-916.7 U/l
Összfehérje	65-85 g/l
Albumin	39-43 g/l
Alfa-globulin	17-21 g/l
Béta-globulin	12-16 g/l
Gamma-globulin	24-28 g/l
Karbamid	3.3-5.0 mmol/l
Koleszterin	2.6-5.2 mmol/l
Triglicerid	>0.2 mmol/l
Ca	2.25-3.0 (2.1-3.0) mmol/l
Szervetlen P	1.6-2.26 (1.6-2.3) mmol/l
Mg	0.8-1.07 (0.7-1.25) mmol/l
Na	136-150 mmol/l
K	4.00-5.80 mmol/l
Cu	15.7-18.9 µmol/l
Zn	15.3-30.6 µmol/l
Fe	21.5-35.8 µmol/l

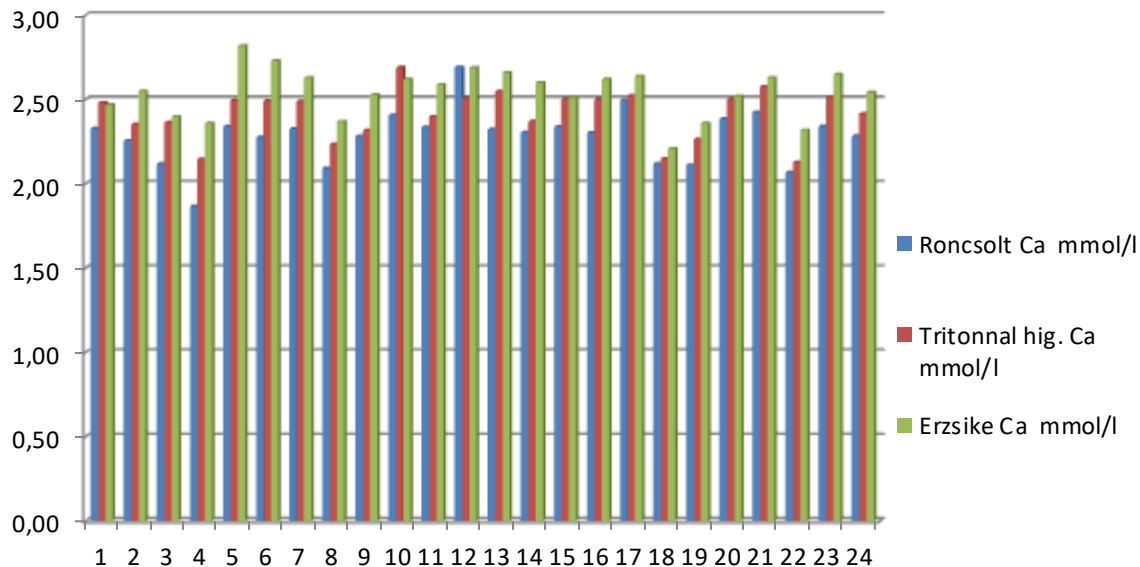
PIGMENTÁLT SZŐR

Cu	>6 µg/g (fekete) >5 µg/g (vörös)
Zn	>100 µg/g
Mn	>6 µg/g (fekete) >5 µg/g (vörös)
Mo	>0.35 µg/g
Se	>0.25 µg/g

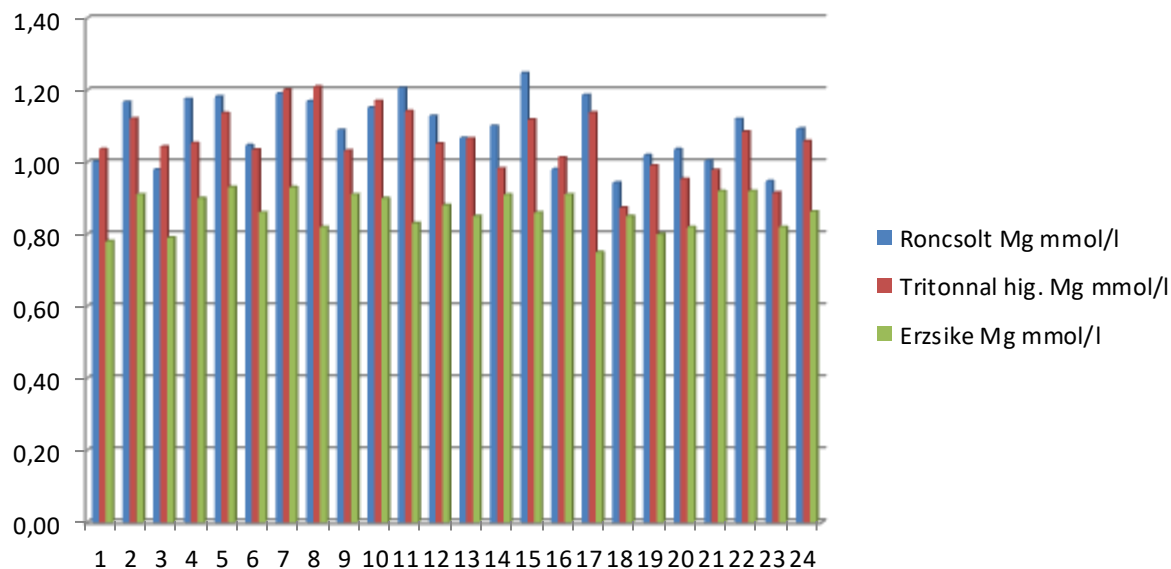
A VÉR Ca-, SZERVETLEN P- ÉS Mg-TARTALMA EGÉSZSÉGES, FRISSEN ELLETT ÉS ELLÉSI BÉNULÁSOS TEHÉNEN

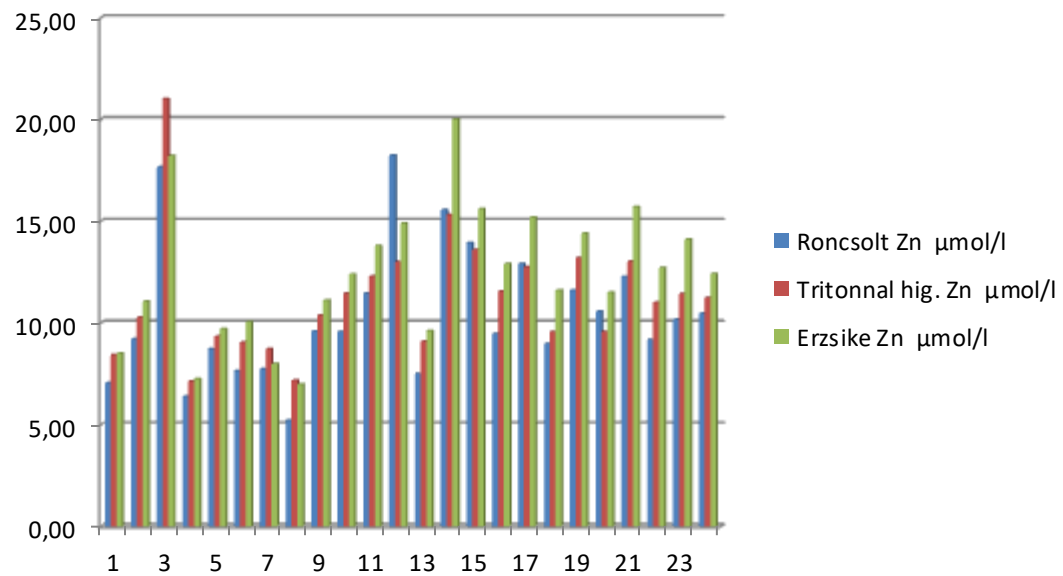
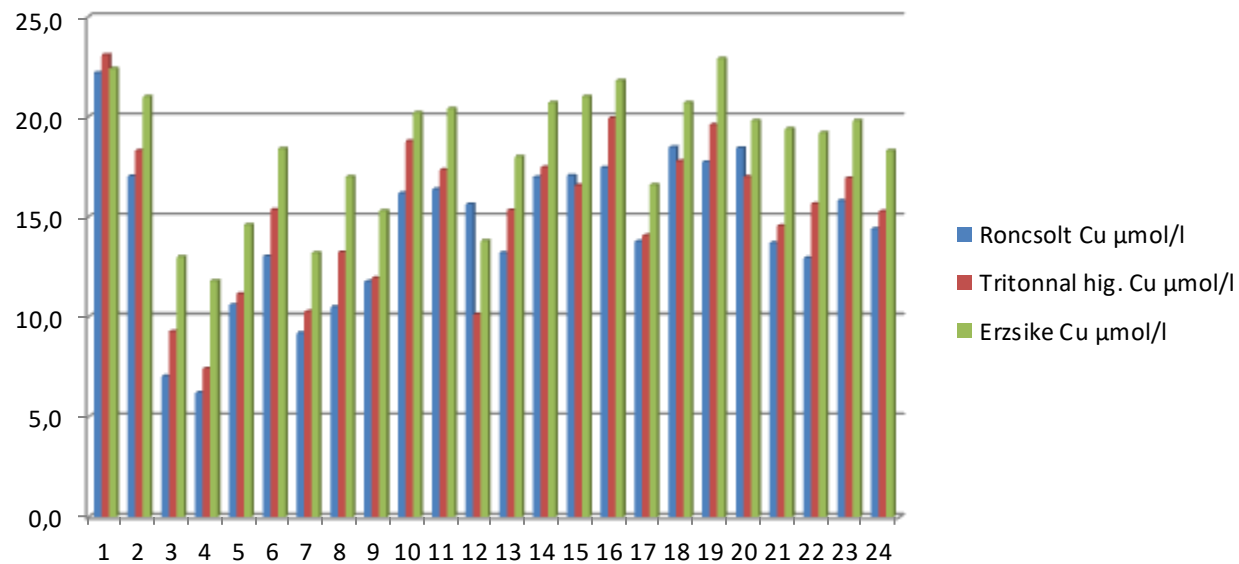
Megnevezés	Normál	Frissen ellett egészséges	Ellési bénulások
Ca (mmol/l)	2.1-3.0	1.75-2.1	0.6-1.75
szervetlen P (mmol/l)	1.6-2.3	1.0-1.6	0.3-1.4
Mg (mmol/l)	0.7-1.25	0.6-1.25	0.4-1.85

Eredmények összehasonlítása: Mérések roncsolt mintából; tritonos hígítást követően és spektrofotometriásan



(A25 Biosystems)





Szőr, madártoll, csülökszaru ill. állati szövetminták minták meghatározása

Előkészítés:

Szőr és madártoll mintánál: a minta mosása forró csapvízben többszöri öblítéssel (habzás elmúltáig)
50 térfogat %-os etanolban (200 ml etanol+200 ml desztillált víz) áztatjuk a szőrt (zsírtalanítás)
85 °C-on szárítjuk 1 órán át
5 súly %-os EDTA (Na só) oldattal áztatjuk 1 órán át.
2-szeres öblítés desztillált vízben, majd szárítás 85 °C -on.

Roncsolás:

A kiszáritott mintából 0.5 g-ot bemérünk a CEM MARS 6 mikrohullámú feltáró Express edényeibe. Adunk hozzá 5 ml cc HNO_3 - at, 5 ml H_2O_2 -ot és elindítjuk a feltáró programot

Feltáró program:

Ramp: 35 perc; Hőmérséklet: 200 °C; hold: 50 perc; energia: 1700 W

A feltárt mintát 25 ml-re töltjük és 2*-es hígítás után mérjük 1 mg/l Y belső standard alkalmazása mellett Perkin Elmer Optima 8300 ICP-OES készülékkel. Méréshez: 5 ml minta+5 ml desztillált víz +0.1ml 100 mg/l-es Y oldat.

Mért komponensek : Al, As, Ca, Cd,Co,Cr, Cu,Fe,K, Mg, Mn, Mo, Na, P, Pb, S, Se, Zn. A kén mérése 181.975 nm) miatt az optikát öblíteni kell.

Tipikus értékek szőrmintákban

	fűlszám	As	Ca	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Mo	Na	P	Pb	S	Zn
Szőrminták		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
1	3082	<0.2	2604	<0.05	<0.05	<0.05	21.5	18.5	14.5	253	13.7	<0.5	6.75	158	<0.1	38966	138
2	9705	<0.2	2341	<0.05	<0.05	<0.05	28.2	15.0	14.8	246	13.1	<0.5	9.58	155	<0.1	38913	131
3	9300	<0.2	1964	<0.05	<0.05	<0.05	23.5	4.85	10.3	204	8.56	<0.5	5.52	133	<0.1	36852	116
4	3703	<0.2	2038	<0.05	<0.05	<0.05	43.4	17.5	7.3	210	12.8	<0.5	4.88	130	<0.1	37252	134
5	3646	<0.2	2930	<0.05	<0.05	<0.05	38.0	12.1	19.8	370	23.8	<0.5	10.8	156	<0.1	38515	139
6	7377	<0.2	1979	<0.05	<0.05	<0.05	40.5	25.0	19.7	232	8.10	<0.5	8.35	168	<0.1	34586	132
7	8406	<0.2	2494	<0.05	<0.05	<0.05	30.0	15.4	17.8	375	17.5	<0.5	11.2	139	<0.1	33327	119
8	1859	<0.2	2723	<0.05	<0.05	<0.05	26.3	16.1	20.7	297	12.4	<0.5	14.3	118	<0.1	36174	132
9	5180	<0.2	2276	<0.05	<0.05	<0.05	56.0	41.2	19.5	239	16.3	<0.5	5.44	135	<0.1	35729	135
10	3953	<0.2	2387	<0.05	<0.05	<0.05	50.0	30.6	17.2	265	17.7	<0.5	9.08	133	<0.1	35380	139

Tipikus értékek hús, ill. hal mintáknál

Minta azonosító		As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Mo	Ni	Pb	Zn
Húsminták		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
1/vese		<0.2	<0.5	0.83	0.059	0.034	9.84	<0.2	1.440	<0.5	<0.2	0.95	69.4
1/izom		<0.2	<0.5	<0.02	<0.05	<0.05	2.31	<0.2	0.289	<0.5	<0.2	<0.1	11.2
1/máj		<0.2	<0.5	0.09	0.05	0.043	3.06	<0.2	3.292	0.911	<0.2	0.205	27.9
1/zsír		<0.2	<0.5	<0.02	<0.05	<0.05	<0.05	<0.2	<0.05	<0.5	<0.2	0.979	0.6
Kimutatási határ		0.20	0.50	0.02	0.05	0.05	0.05	0.2	0.050	0.5	0.2	0.1	0.05

Minta azonosító		As	Ba	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mn	Mo	Ni	Pb	Zn
Tengeri minták		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
Feketekagyló-Dán		2.14	<0.5	0.450	0.137	0.099	2.02	<0.2	3.80	<0.5	<0.2	<0.1	16.1
Feketekagyló-Dán		2.02	<0.5	0.438	0.155	<0.05	1.44	<0.2	2.31	<0.5	<0.2	<0.1	22.6
Feketekagyló		1.33	<0.5	0.327	<0.05	<0.05	1.10	<0.2	0.68	<0.5	<0.2	<0.1	49.6
Feketekagyló		1.50	<0.5	0.440	0.05	<0.05	1.28	<0.2	0.58	<0.5	<0.2	<0.1	92.1
Osztiga-Francia		2.64	<0.5	0.421	<0.05	<0.05	22.1	<0.2	6.15	<0.5	<0.2	<0.1	264
Osztiga-Francia		2.65	<0.5	0.365	<0.05	<0.05	35.3	<0.2	6.14	<0.5	<0.2	<0.1	266
Osztiga-Francia		3.59	<0.5	0.308	<0.05	<0.05	14.8	<0.2	2.43	<0.5	<0.2	<0.1	154
Kimutatási határ		0.2	0.5	0.02	0.05	0.05	0.05	0.2	0.05	0.5	0.2	0.1	0.05

„Bovine liver NIST 1577 C” SRM visszamért értékek 3 feltárásból

	Hiteles érték	Mért érték 1	Mért érték 2	Mért érték 3
	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
As	0.019	<0.2	<0.2	<0.2
Cd	0.097	0.099	0.089	0.098
Co	0.300	0.297	0.281	0.292
Cr	0.05	<0.05	<0.05	<0.05
Cu	275	268	267	267
Mn	10.46	9.98	9.86	9.95
Mo	3.30	3.36	3.29	3.40
Ni	0.044	<0.2	<0.2	<0.2
Pb	0.063	<0.2	<0.2	<0.2
Se*	2.031	2.05*	2.05*	2.05*
Zn	181	173	172	171
Hg	0.005	<0.2	<0.2	<0.2

* ETA AAS

Plazmaminta ill. teljesvér minta Se tartalmának meghatározása

A szelén az emberi szervezet (és az emlősök) számára esszenciális nyomelem. Szelénhiány több betegség kialakulásában is szerepet játszhat .

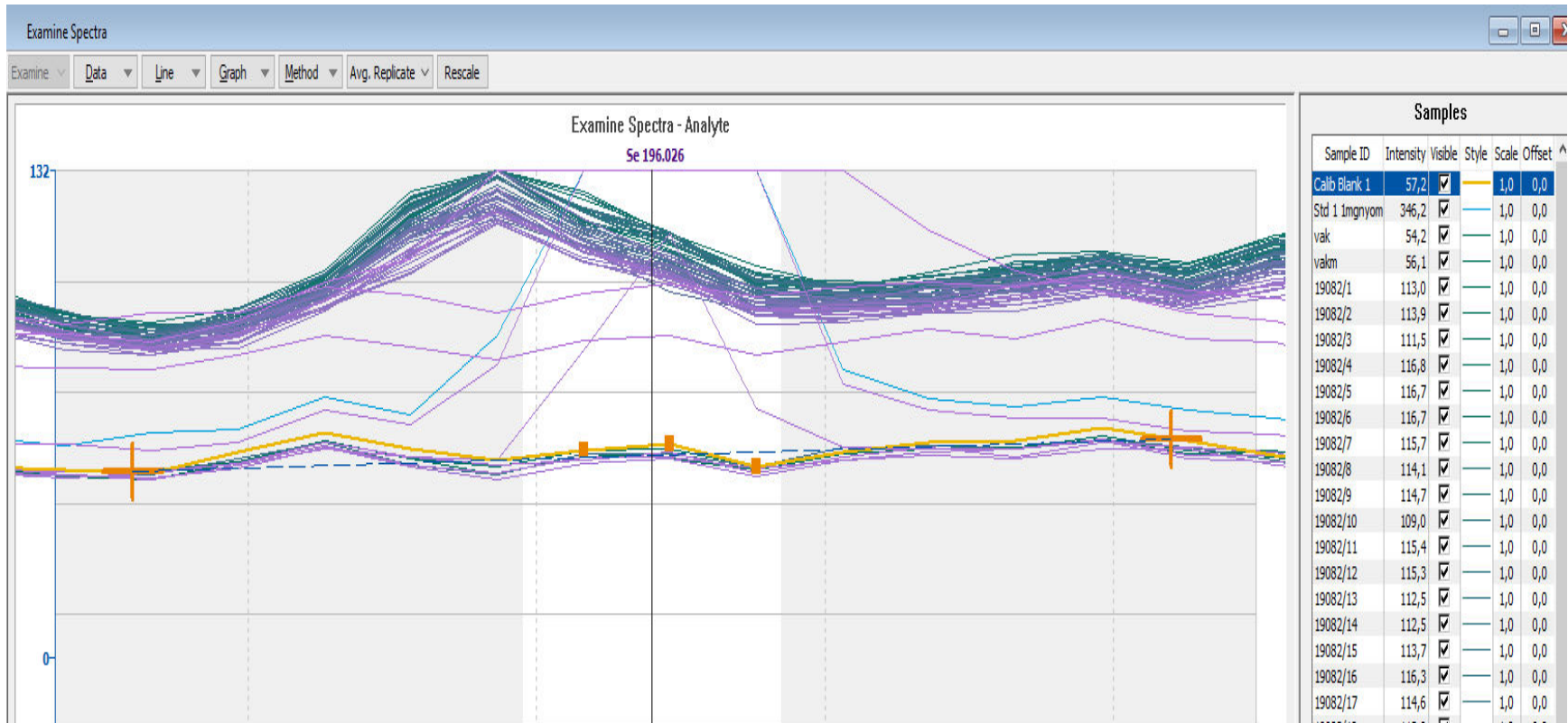
Kardiovaszkuláris betegségek gyakoriak.

A glutathion peroxidáz fő funkciója a szervezetben lévő peroxidok redukciójának elősegítése, antioxidáns, sejtvédő hatás.

A rák és a szelén közötti kapcsolat is kutatás tárgya.

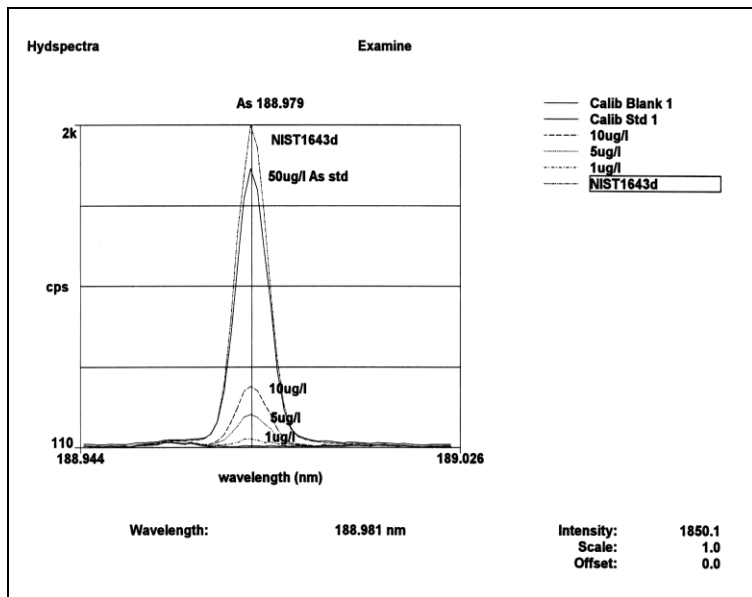
Tanszékünkön fontos kutatási téma a tejhasznú tehenek szelén ellátottságának vizsgálata. Vér és pigmentált szőrminták , valamint a mintázott állatok napi takarmányadagjának szeléntartalmára kellett módszert fejlesztenünk figyelembe véve a laboratórium meglévő műszerállományát.

Se profilja vérplazmából



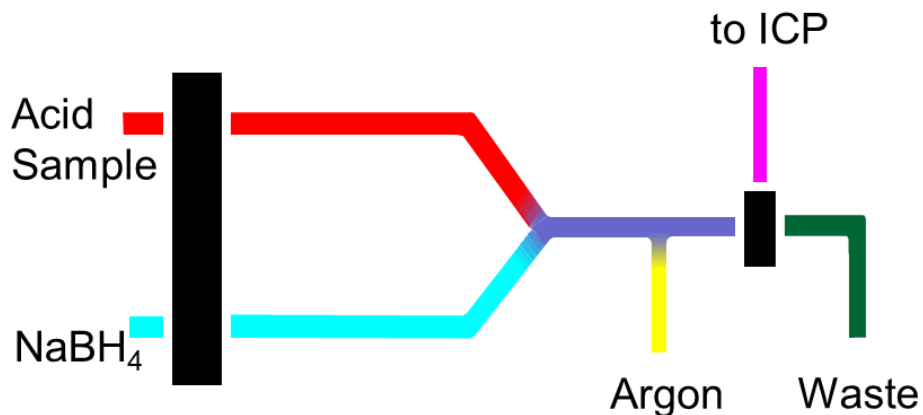
Vérminták esetében cél volt, hogy lehetőleg roncsolásmentes módszert használjunk. Ez lehetséges volna hígítást követően ICP-OES-sel, ICP-MS-sel ill. AAS-ETA módszerrel. Az AAS-hidrid vagy ICP-OES-hidrid mindenképpen roncsolást igényelne.

Folyamatos hidridfejlesztő ICP-OES készülékhez (As)

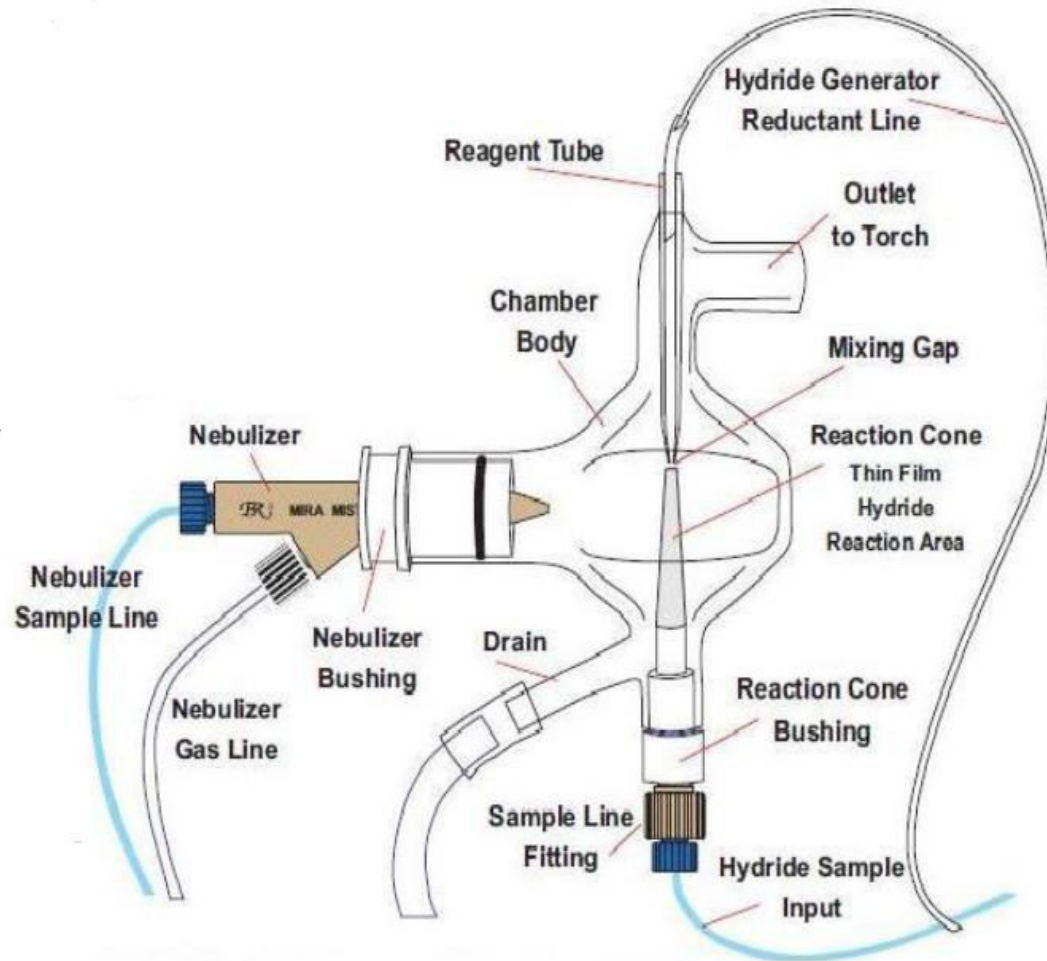


PE Hydride Kit

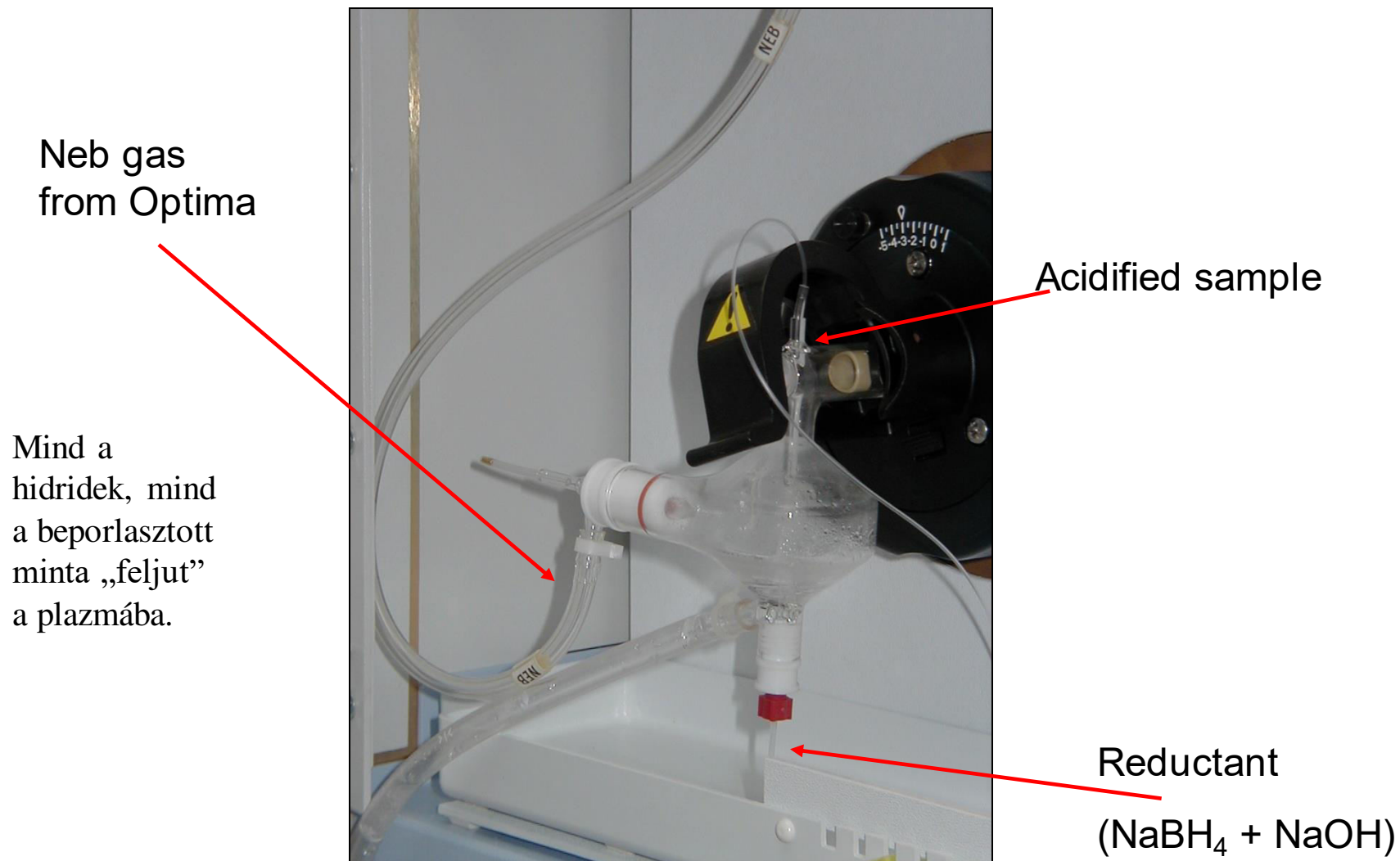
Csak a hidrid megy fel a plazmába, nincs porlasztás.



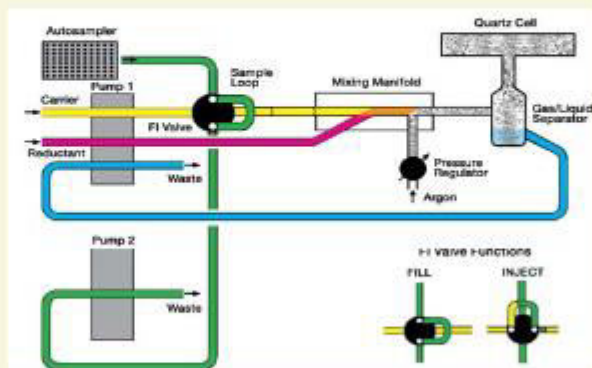
MSIS or Multimode Sample Introduction System



MSIS or Multimode Sample Introduction System



Hidridképző elemek meghatározása FIAS AAS rendszerrel



Schematic diagram of FIAS-400 system for automated hydride generation



Plazmaminta ill. teljesvér minta Se tartalmának meghatározása AAS-ETA módszerrel

Előkészítés roncsolással:

1 ml plazmát (vagy teljesvér mintát)+ 2.0 ml HNO_3 +2.0 ml H_2O_2 -ot bemérünk a CEM MARS 6 mikrohullámú feltáró Express edényeibe. Elindítjuk a feltáró programot.

Feltáró program:

Ramp: 35 perc; Hőmérséklet : 200 °C; hold: 50 perc; energia: 1700 W

A feltárás befejezése után 5 ml desztillált vizet pipetázunk a feltáró edényekbe, és összerázzuk.

A mérést 5 ul mátrixmódosító alkalmazása mellett hajtjuk végre az AAS-el.

Injektált térfogat: 5 ill.10 μl .

Meghatározás roncsolás nélkül

A meghatározást elvégezzük roncsolás nélkül, csak a plazma ill teljesvér minta 10-szeres hígítását követően is. (Hígítás: 0.3% HNO_3 -al).

Mátrix módosító: 0.1 % Pd és 0.06% $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ Készítése: 1 ml Pd törzsoldat és 0.1 ml $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ törzsoldatot 10 ml-re töltünk.

Vérminta Se tartalmának meghatározása ETA-AAS módszerrel

Plazma (roncsolt és roncsolatlan) ill.
teljesvér (roncsolt és roncsolatlan)
tartalom meghatározása

Perkin Elmer PinAAcle 900Z THGA AAS
módszerrel

THGA grafitcső
Longitudinális Zeeman háttérkorrekció
EDL Se lámpa 193.06 nm
Rész: 2.0 nm
Read time: 5 sec; BOC time: 5 sec

Mátrixmódosító és roncsolási görbék
vizsgálata, összehasonlítása.



Perkin Elmer PinAAcle 900Z THGA AAS

Method Editor : Szelén_teljevérből2 (Read Only)

Spectrometer | **Sampler** | Calibration | Checks | QC | Options

Furnace program

Read step: 6 (Default program)

Injection temperature: 20 °C

☐ Extra furnace cleanout (Set...)

Step #	Temp (°C)	Ramp Time (sec)	Hold Time (sec)	Internal Flow (mL/min)	GasType
1	100	10	30	250	Normal
2	130	10	30	250	Normal
3	450	5	30	250	Normal
4	450	1	35	250	Normal
5	1150	5	35	250	Normal
->6	2200	0	5	0	Normal
7	2450	1	3	250	Normal
8					

Furnace Program | Autosampler | Sequence

Method Editor : Szelén_teljevérből2

Spectrometer | Sampler | **Calibration** | Checks | QC | Options

Sample

Volume: 10 µL Diluent volume: 10 µL Diluent location: 141

Matrix modifiers

#1 volume: 5 µL Location: 121

☒ Add to calibration blank and standards

☒ Add to reagent blank and samples

#2 volume: 0 µL Location: 1

☒ Add to calibration blank and standards

☒ Add to reagent blank and samples

Furnace Program | Autosampler | Sequence

Method Editor : Szelén_teljevérből2

Spectrometer | Sampler | Calibration | Checks | QC | **Options**

Autosampler and furnace sequence

Step	Actions and Parameters
A	Pipet diluent + modifier 1 + spike + sample/std
B	Run furnace steps 1 to end
C	
D	
E	
F	
G	
H	
I	

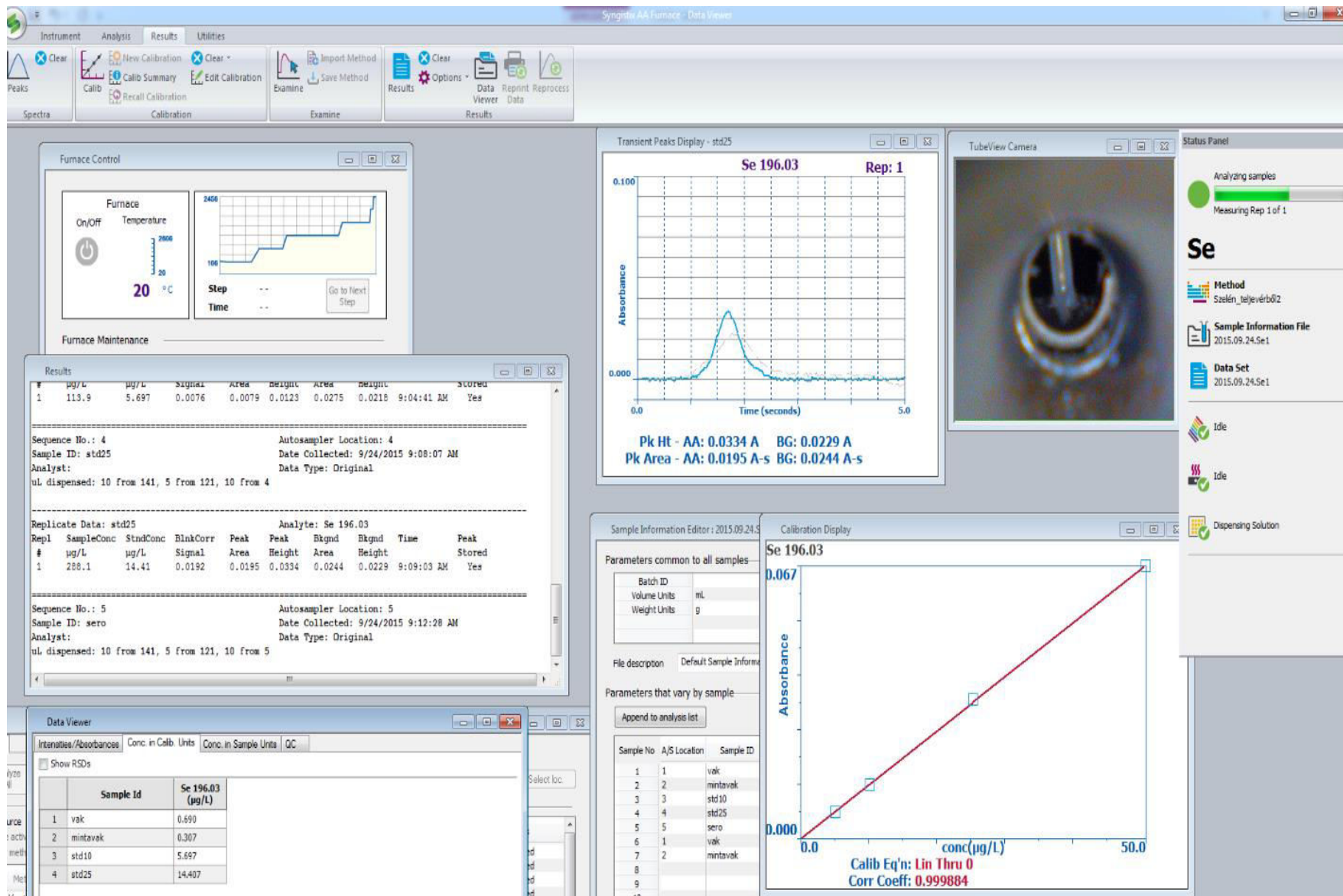
Change sequence: Simple... Custom...

Pipet speed: Take up 100 % Dispensing 100 %

Furnace Program | Autosampler | Sequence

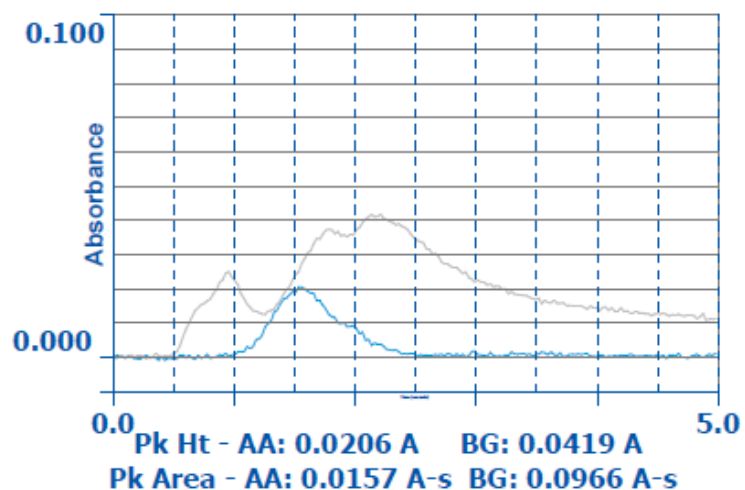
Időigény: 3.5 perc

Mátrix módosító: 5 ul
0.1% Pd és 0.06% Mg(NO₃)₂



Se 196.03

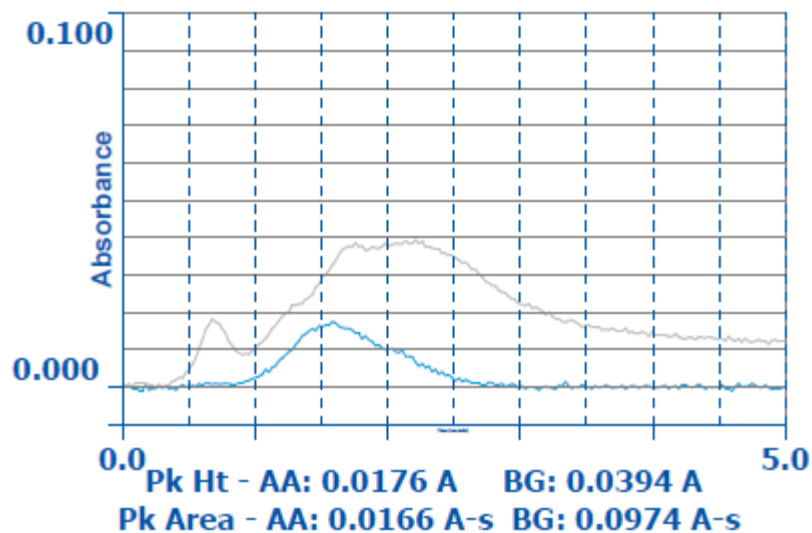
Rep: 1



10 µl roncsolatlan vér

Se 196.03

Rep: 1



10 µl roncsolt vér

Kimutatási határ: DI: 0.59 µg/l; 5 µl adagolás esetén. Karakterisztikus tömeg: 16.9 pg.

A hígítást és az adagolást figyelembe véve ez megfelel 24 µg/l teljes vére számolva.

Ez „end cap” grafitcsövet alkalmazva mintegy 12 µg/l-re csökkenthető.

Teljesvér Se tartalma általában 60-300 µg/l tartományba esik, 50 µg/l alatt erősen szelénhiányos az állomány.

Takarmányminta mérésekor az elroncsolt mintából (0.5 g minta 25 ml-re töltve) 5 µl-t adagolva a kimutatási határ 0.1 ppm-nek adódik.

Hígított teljesvér minták



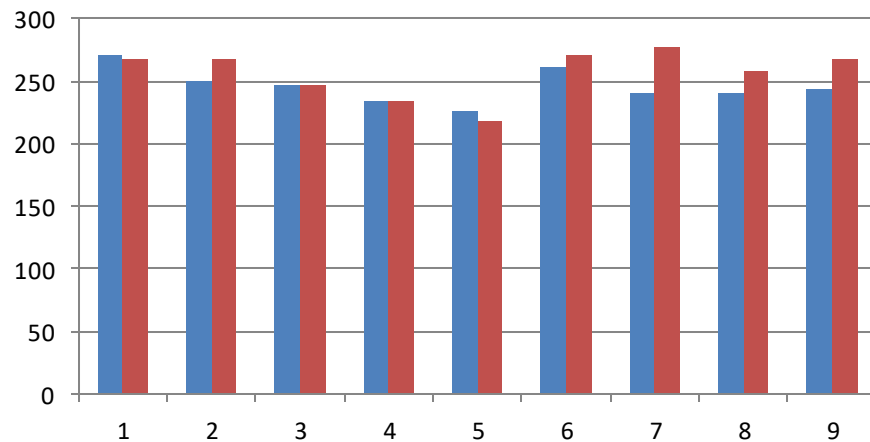
**10-szeres hígítás 0.3%-os
HNO₃-mal**

**10-szeres hígítás EDTA-ammónia
keverékkel
0.25 g triton+0.25 g EDTA*2
H₂O+2.75 ml 25% NH₃ oldatot
töltünk 500 ml-re.**



Összehasonlítás: Se tartalom roncsolt és nem roncsolt teljesvér mintákból

	roncsolt	Nem roncsolt
	(µg/L)	(µg/L)
sero*/10	277	277
15118A/1	271	267
15118A/2	250	267
15118A/3	247	247
15118A/4	234	234
15118A/5	226	219
15118A/6	261	271
15118A/7	241	277
15118A/8	240	258
15118A/9	243	268





Köszönöm a figyelmet