

STANOVENIE SELÉNU V KRVNOM SÉRE DETÍ METÓDOU ELEKTROTERMICKEJ ATÓMOVEJ ABSORPČNEJ SPEKTROMETRIE

INGRID HAGAROVÁ a MÁRIA ŽEMBERYOVÁ

Univerzita Komenského, Prírodovedecká fakulta, Katedra analytickej chémie, Mlynská dolina CH-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika
hagarova@fns.uniba.sk

Došlo 10.6.03, prepracované 2.12.03, prijaté 30.12.03.

Kľúčové slová: selén, krvné sérum, elektrotermická atómová absorpčná spektrometria

Úvod

Selén je základnou zložkou enzýmu glutationperoxidázy, ktorý zabraňuje oxidácii hemoglobínu a hemolyze červených krviniek. Selén tiež katalyzuje reakcie intermediálnych metabolizmov a zaisťuje krvný metabolizmus v pečeni. Je súčasťou imunitného systému, reaguje s ťažkými kovmi (Hg, Cd, As, Pb), pričom vznikajú nerozpustné selenidy týchto kovov, čím zabraňuje otrave organizmu¹. Jeho nedostatok má za následok narušenie antioxidantného systému buniek, čo môže viesť k dysfunkcii mozgu, srdcovo-cievneho systému, pečene, svalov. Je tiež preukázaná vyššia úmrtnosť na hypertenziu, ischemické choroby a choroby artérií. Zníženie aktivity glutationperoxidázy nedostatkom selénu má za následok zníženie imunity a vznik mnohých ochorení, ako sú cystická fibróza, skleróza multiplex a podobne. Robinson a Thomson² zoradili choroby súvisiace s nízkym obsahom selénu do prehľadnej tabuľky, v ktorej spomínajú (okrem už uvedených) hemolytickú anémiu, neplodnosť, rakovinu a mnohé ďalšie.

Priemerný obsah selénu v biologických tekutinách ľudí žijúcich v Európe³ je 85 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Obsah selénu vo východoeurópskych krajinách je všeobecne nižší. V mnohých prípadoch bol pozorovaný vzťah medzi nízkym obsahom selénu a zvýšeným rizikom vzniku kardiovaskulárnych ochorení a rakoviny^{4,5}. Slovensko patrí ku krajinám so zvýšeným výskytom úmrtnosti v dôsledku už spomínaného zvýšeného výskytu kardiovaskulárnych ochorení a rakoviny⁶. Z tohoto dôvodu je tu zvýšený záujem o stanovenie selénu v biologických tekutinách.

V literatúre bolo možné nájsť obsah selénu v krvnej plazme a erytrocytoch⁷ a obsah selénu v krvnom sére⁸ zdravej dospeléj slovenskej populácie, no neboli prístupné žiadne údaje pre obsah selénu v biologických tekutinách zdravých slovenských detí. Z tohoto dôvodu sme sa rozhodli pre získanie určitých referenčných hodnôt obsahu

selénu v krvnom sére zdravých slovenských detí.

Je mnoho prístupných analytických metód pre stanovenie selénu v biologických materiáloch na stopových úrovniach. K najčastejšie používaným metódam však pre stanovenie selénu v biologických materiáloch patrí atómová absorpčná spektrometria, s technikou generovania hydridov (HGAAS) alebo s technikou elektrotermickej atomizácie (ETAAS). Je to predovšetkým kvôli ich analytickej špecifite, citlivosti, presnosti, rýchlosti a relatívne nízkym nákladom. Nevýhodou HGAAS je to, že pred samotným stanovením je potrebné vzorky rozložiť a zredukovať, aby bol selén prítomný vo vzorke v nižšom oxidačnom stupni ako Se (IV), cit.^{9,10}. Problémom v uvedenom systéme ostávajú interferencie kovov skupín VIII.B a I.B (cit.^{11,12}), periodického systému a vzájomné interferencie hydridotvorných prvkov^{13,14}. Nezanedbateľným v tomto prípade je aj to, že uvedená technika vyžaduje pre stanovenie väčšie množstvo vzorky ako je potrebné pre priame stanovenie ETAAS. Výhodami ETAAS je výborná citlivosť, minimálne množstvo vzorky potrebné pre jedno stanovenie a minimálna úprava vzorky pred stanovením. Hlavnými nevýhodami ETAAS sú možnosti matricových interferencií a prchavosť zlúčenín selénu. Prchavosť selénu je jedným z hlavných problémov vyskytujúcich sa pri stanovení tohoto prvku ETAAS. K stratám selénu môže v niektorých prípadoch dôjsť už pri sušení pri teplotách nižších ako 300 °C. Na prekonanie tohoto problému bolo pre stabilizáciu selénu navrhnutých mnoho rozdielnych chemických modifikátorov. K najpoužívanejším patrili nikl, meď a v poslednom období paládium¹⁵. Tieto modifikátory boli použité samostatne alebo v kombinácii s horčíkom^{16–20}. Ďalším problémom pri stanovení selénu ETAAS sú spektrálne interferencie zapríčinené vysokým obsahom železa alebo fosforu^{21,22}. Fernandez a Giddings²³ poukázali na to, že iba Zeemanove korektory pozadia môžu adekvátne napomôcť pri korekcii uvedených interferencií. Iní však dosiahli uspokojivé výsledky pre stanovenie selénu v krvnej plazme aj pri použití deutériového korektora pozadia a niklu ako modifikátora matrice^{24–26}. Jacobson a Lockett²⁷ neboli úspešní pri použití niklu. Pre stabilizáciu selénu použili paládium za prítomnosti silného redukčného činidla.

V uvedenej práci je opísaný postup pre stanovenie selénu v reálnych vzorkách krvného séra detí po jednoduchom zriedení. Pre uvedené stanovenie bola použitá metóda elektrotermickej atómovej absorpčnej spektrometrie (ETAAS) s deutériovým korektorom pozadia, pyrolytické grafitové kvety s vloženou platformou a zmesný modifikátor $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$.

Experimentálna časť

Použitie prístroje a zariadenia

Na stanovenie selénu bol použitý atómový absorpčný spektrometer firmy Perkin-Elmer 1100B (USA) s elektrotermickou atomizáciou HGA-700 v spojení

Tabuľka I
Pracovné podmienky pre stanovenie selénu ETAAS

Parameter	Hodnota
Vlnová dĺžka, nm	196,0
Štrbina, nm	2,0
Korektor pozadia	deutériový
Zdroj žiarenia	EDL
Prúd lampy, mA	10
Príkon, W	5

s automatickým podávačom vzoriek AS-70 a tlačiarňou EX-800 tej istej firmy. Pre korekciu pozadia bol použitý deutériový korektor pozadia. Ako ochranný plyn bol použitý argón. Merania boli robené na pyrolytických grafitových kyvetách bez platformy aj s platformou firmy Ringsdorferwerk (SRN). Grafitové kyvety boli pred stanovením kondicionované. Dávkovaný objem vzoriek bol 20 µl, dávkovaný objem modifikátorov bol 10 µl. Pre rozklad vzoriek boli použité autoklávy ZA (JZD Zahnašovice, ČR) a sušiareň KBC G-100/250 (Premed, Poľsko). Pracovné podmienky pre stanovenie selénu sú uvedené v tabuľke I. Teplotné programy nastavené pri použití zmesného modifikátora $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 + \text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ sú uvedené v tabuľkách II a III.

Tabuľka II

Teplotný program pre stanovenie selénu za prítomnosti zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ pri atomizácii zo steny pyrolytickej grafitovej kyvety

Proces	Teplota, °C	Čas nárastu [s]	Čas zotrvania [s]	Prietok argónu [$\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$]
Sušenie	90	10	20	300
	120	20	25	300
Pyrolýza	1200	20	25	300
Atomizácia	2200	1	4	0
Čistenie	2300	1	1	300

Chemikálie a roztoky

Kyselina dusičná konc. p.a. (Lachema Brno, ČR); Triton X-100 p.a. (Sigma Chemical Co., USA); chlorid meďnatý s koncentráciou Cu 1000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, dusičnan paládnatý s koncentráciou Pd 10 000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, dusičnan horečnatý s koncentráciou Mg 2500 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, oxid seleničitý s koncentráciou Se 1000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (všetky Merck, SRN); deionizovaná voda (Water Pro PS, Labconco, USA); kalibračné

Tabuľka III

Teplotný program pre stanovenie selénu za prítomnosti zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ pri atomizácii z platformy

Proces	Teplota, °C	Čas nárastu [s]	Čas zotrvania [s]	Prietok argónu [$\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$]
Sušenie	90	10	20	300
	120	20	25	300
Pyrolýza	500	20	25	300
	1200	20	25	300
Atomizácia	2200	1	4	0
Čistenie	2300	1	1	300

roztoky selénu ($5\text{--}40 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$) pripravené v 0,2 % (v/v) HNO_3 riedením zásobného roztoku selénu s koncentráciou 1000 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$; štandardný referenčný materiál SeronormTM Trace Elements Serum šarža 010017 (Nycomed Pharma, Nórsko); kontrolné lyofilizované krvné sérum Bio-La-Test Lyonorm U-0219/A (Lachema Brno, ČR); reálne zmrazené vzorky krvného séra detí vo veku 2 týždne – 16 rokov (1. detská klinika Detskej fakultnej nemocnice na Kramároch, Bratislava, SR).

Pracovné postupy

Priprava lyofilizovaného krvného séra pre stanovenie

K lyofilizovanému krvnému séru Lyonorm U sa pridali presne 3 ml deionizovanej vody. Obsah sa premiešal krúživým pohybom a nechal sa stáť pri laboratórnej teplote 30 min. Počas tejto doby sa sérum ešte niekoľko krát premiešalo. Po 30 min bolo možné kontrolné sérum použiť pre stanovenie alebo pre rozklad.

Rozklad krvného séra

Do teflónovej nádoby autoklávy sa dali 2 ml krvného séra Lyonorm U. Pridali sa 2 ml konc. HNO_3 a zmes sa opatrne zamiešala. Po uzatvorení autoklávy sa vzorky rozkladali 4 hodiny pri 140 °C v sušiarňi. Po ochladení sa zmes kvantitatívne preliala do odmernej banky a doplnila na objem 10 ml. Takto rozložené krvné sérum bolo možné použiť pre stanovenie.

Priame stanovenie

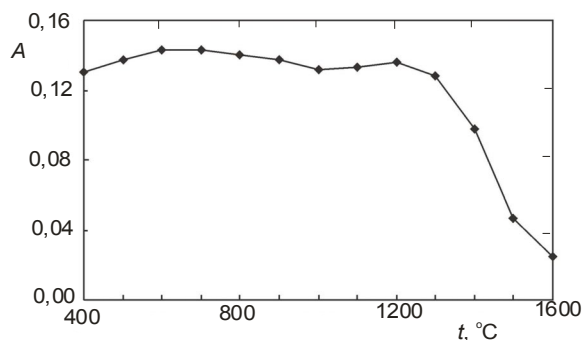
Vzorky krvného séra pre priame stanovenie boli riedené 3–5× 0,2 % (v/v) Tritonom X-100 priamo v 2 ml autosamplerových nádobkách. Zriedené vzorky krvného séra a kalibračné roztoky boli dávkované do grafitovej kyvety (20 µl), za ktorými nasledoval modifikátor matrice

(10 μl). Použité množstvo Pd bolo 15 μg v 10 μl a Mg 10 μg v 10 μl . Všetky vzorky boli analyzované dvakrát.

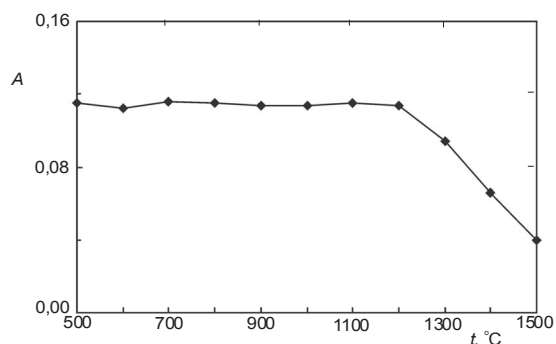
Výsledky a diskusia

Termická stabilizácia

Pre stanovenie Se technikou ETAAS je jedným z najdôležitejších krokov výber vhodného modifikátora matrice, ktorý po pridaní ku vzorke teplotne stabilizuje analyt v priebehu pyrolýzy, pri ktorej dochádza k odstráneniu rušivej matrice. Tento krok je zvlášť dôležitý pri stanovení Se v krvnom sére, ktoré predstavuje zložitú maticu, v ktorej je Se viazaný na proteíny, ktoré môžu prchať už pri relatívne nízkych teplotách. V danej práci sú porovnané vplyvy nasledovných chemických modifikátorov na termickú stabilizáciu pre roztok selénu obsahujúci 0,8 ng Se v 20 μl pri konštantnej teplote atomizácie (2200 $^{\circ}\text{C}$): dusičnan horečnatý (10 μg Mg v 10 μl); dusičnan paládnatý (15 μg Pd v 10 μl); zmes chloridu meďnatého (5 μg Cu v 10 μl) a dusičnanu horečnatého (10 μg Mg v 10 μl); a zmes dusičnanu paládnatého (15 μg Pd v 10 μl) a dusičnanu horečnatého (10 μg Mg v 10 μl). Množstvá uvedených modifikátorov patrili v literatúre k najčastejšie používaným. Bez prídavku modifikátora bolo možné použiť teplotu termického rozkladu 600 $^{\circ}\text{C}$. $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ ako modifikátor matrice má za následok zvýšenie teploty termického rozkladu na 800 $^{\circ}\text{C}$. Zmesný modifikátor $\text{CuCl}_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ umožnil použitie teploty termického rozkladu 1100 $^{\circ}\text{C}$. $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ stabilizoval selén do 1200 $^{\circ}\text{C}$. Krivka termického rozkladu pre Se za prítomnosti zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ pri atomizácii zo steny pyrolytickej grafitovej kvety je uvedená na obr. 1 a pri atomizácii z platformy na obr. 2. Z uvedených obrázkov vyplýva, že optimálna teplota termického rozkladu pri použití zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ je 1200 $^{\circ}\text{C}$. Ako vidieť, nebol rozdiel medzi teplotami ter-



Obr. 1. Krivka termického rozkladu selénu (0,8 ng v 20 μl) za prítomnosti zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (15 μg Pd + 10 μg Mg v 10 μl) pri atomizácii zo steny pyrolytickej grafitovej kvety



Obr. 2. Krivka termického rozkladu selénu (0,8 ng v 20 μl) za prítomnosti zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (15 μg Pd + 10 μg Mg v 10 μl) pri atomizácii z platformy

mického rozkladu pri použití samotného $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ a pri použití zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, avšak prídavok $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sa odporúča pre lepšie rozrušenie biologickej matrice. Porovnaním dosiahnutých výsledkov pri použití $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ a zmesného modifikátora $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ sme dospeli k záveru, že výsledky pri použití zmesného modifikátora sú správne, takže uvedený modifikátor bol zvolený a použitý pre stanovenie Se v reálnych vzorkách krvného séra.

Teplotný a časový program

Ďalším dôležitým krokom pri stanovení Se technikou ETAAS s deutériovým korektorom pozadia je optimalizácia teploty a času v teplotnom programe. Okrem optimalizácie teploty termického rozkladu (k čomu slúžili už spomínané krivky termického rozkladu) bolo potrebné venovať zvýšenú pozornosť aj tomu, aby dochádzalo k reprodukovateľnému sušeniu krvného séra. Tomuto napomohlo použitie Tritonu X-100 pre riedenie vzoriek a v našom prípade aj to, že sme do programu zaradili sušenie pri dvoch teplotách. Konečné teploty a časy, ktoré boli zvolené pre stanovenie Se technikou ETAAS sú uvedené v tabuľkách II a III.

Linearita a citlivosť

Kalibračné grafy boli lineárne pre náš koncentračný rozsah 5–40 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Korelačný koeficient bol lepší ako 0,9997 vo všetkých prípadoch. Citlivosť definovaná ako koncentrácia, ktorá je potrebná na to, aby sa dosiahol signál 0,0044 AU.s. (tzv. charakteristická hmotnosť) bola rozdielna, v závislosti od použitého modifikátora. Porovnanie charakteristických hmotností získaných pri použití kalibračných roztokov selénu bez modifikátora a za prítomnosti rôznych modifikátorov je uvedené v tabuľke IV.

Tabuľka IV

Charakteristické hmotnosti selénu vypočítané z kalibračných kriviek zostrojených bez modifikátora a v prítomnosti rôznych modifikátorov

Použitý modifikátor	Charakteristická hmotnosť [pg]
bez modifikátora ^a	21,00
Mg(NO ₃) ₂ ^a	18,50
Mg(NO ₃) ₂ +CuCl ₂ ^a	20,00
Pd(NO ₃) ₂ ^a	19,60
Pd(NO ₃) ₂ +Mg(NO ₃) ₂ ^a	31,80
Pd(NO ₃) ₂ +Mg(NO ₃) ₂ ^b	33,20

^a Atomizácia zo steny grafitovej kyvety; ^b atomizácia z platformy

Priame stanovenie a stanovenie po rozklade

V našej práci sme porovnali priame stanovenie selénu v krvnom sére so stanovením po rozklade. Pre rozklad krvného séra bol použitý jednoduchý rozklad s konc. HNO₃ v uzatvorených autoklávoch za zvýšeného tlaku. Pre priame stanovenie boli vzorky riedené Tritonom X-100. V literatúre boli opísané rôzne koncentrácie Tritonu X-100. My sme vyskúšali tri koncentrácie: 0,2 % (v/v); 1,0 % (v/v) a 2,0 % (v/v). Medzi dosiahnutými výsledkami pri použití všetkých troch uvedených koncentrácií neboli výraznejšie rozdiely. Vysoká koncentrácia Tritonu X-100 môže spôsobiť, že sa vzorka dostane von z injektujúceho otvoru kyvety a nízka koncentrácia má za následok nereprodukateľné sušenie vzorky, oboje vedie k nereprodukateľným výsledkom²⁷. (Naša reprodukovateľnosť bola do 5 %.) Konečná koncentrácia Tritonu X-100 0,2 % (v/v) bola vhodná pre získanie reprodukovateľných výsledkov a použitá pri všetkých priamych stanoveniach.

Pre vyhodnotenie sme použili vo všetkých prípadoch plochy pík. Koncentrácie sme vyhodnocovali metódou kalibračnej krivky aj metódou prídavku štandardu.

Tabuľka V

Stanovený obsah selénu v nerozloženom a v rozloženom krvnom sére Lyonorm U vyhodnotený metódou kalibračnej krivky

Použitý modifikátor	Koncentrácia Se [μg.l ⁻¹] ^a	
	priame stanovenie	stanovenie po rozklade
Pd(NO ₃) ₂ ^b	32,94 ± 2,07	30,60 ± 1,70
Pd(NO ₃) ₂ +Mg(NO ₃) ₂ ^b	40,33 ± 3,56	38,05 ± 2,88
Pd(NO ₃) ₂ +Mg(NO ₃) ₂ ^c	47,16 ± 6,44	47,63 ± 4,67

^a Priemerná hodnota ± SD; ^b atomizácia zo steny grafitovej kyvety; ^c atomizácia z platformy

Tabuľka VI

Stanovený obsah selénu v nerozloženom a v rozloženom krvnom sére Lyonorm U vyhodnotený metódou štandardného prídavku

Použitý modifikátor	Koncentrácia Se [μg.l ⁻¹] ^a	
	priame stanovenie	stanovenie po rozklade
Pd(NO ₃) ₂ ^b	42,03 ± 2,12	40,78 ± 4,63
Pd(NO ₃) ₂ +Mg(NO ₃) ₂ ^b	51,36 ± 2,19	52,88 ± 2,15

^a Priemerná hodnota ± SD; ^b atomizácia zo steny grafitovej kyvety

Prídavky štandardu 20 μg.l⁻¹ a 30 μg.l⁻¹ Se boli pridávané u vzorky manuálne.

Výsledky priamych stanovení a stanovení po rozklade vyhodnotené metódou kalibračnej krivky sú uvedené v tabuľke V. Rozdiely medzi uvedenými výsledkami sú štatisticky nevýznamné ($P < 0,05$). Výsledky priamych stanovení a stanovení po rozklade vyhodnotené metódou prídavku štandardu sú uvedené v tabuľke VI. Rozdiely medzi uvedenými výsledkami sú opäť štatisticky nevýznamné ($P < 0,05$). Výsledky dosiahnuté za prítomnosti zmesného modifikátora Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂ sú uvedené v tabuľke VII. Ak porovnáme výsledky priameho stanovenia získané pri použití atomizácie zo steny grafitovej kyvety vyhodnotené metódou prídavku štandardu a výsledky získané pri použití atomizácie z platformy vyhodnotené metódou kalibračnej krivky, môžeme zistiť, že rozdiely medzi uvedenými výsledkami sú štatisticky nevýznamné ($P < 0,05$). Ak porovnáme výsledky po rozklade získané pri použití atomizácie zo steny grafitovej kyvety vyhodnotené metódou prídavku štandardu a výsledky získané pri použití atomizácie z platformy vyhodnotené metódou kalibračnej krivky, môžeme hovoriť opäť o štatisticky nevýznamných rozdieloch ($P < 0,05$). Z uvedených výsledkov môžeme navrhnúť uvedený postup: pre priame stanovenie selénu v krvnom sére metódou

Tabuľka VII

Výsledky priamych stanovení a stanovení po rozklade krvného séra Lyonorm U dosiahnuté pri použití zmesného modifikátora Pd(NO₃) + Mg(NO₃)₂

Metoda	Koncentrácia Se [μg.l ⁻¹] ^a	
	MKK ^c	MPŠ ^b
Priame stanovenie	47,16 ± 6,44	51,36 ± 2,19
Stanovenie po rozklade	47,63 ± 4,67	52,88 ± 2,15

^a Priemerná hodnota ± SD; ^b atomizácia zo steny grafitovej kyvety; ^c atomizácia z platformy; MKK – metóda kalibračnej krivky; MPŠ – metóda prídavku štandardu

ETAAS s deutériovým korektorom pozadia je dôležité použiť zmesný modifikátor $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, zoptimalizovať teplotný program, pre riedenie použiť 0,2 % (v/v) Triton X-100 a pri atomizácii z platformy použiť pre vyhodnotenie metódu kalibračnej krivky (alebo pri atomizácii zo steny grafitovej kyvety použiť metódu prídavku štandardu).

S p r á v n o s ť

Správnosť navrhnutého postupu bola overená analýzou štandardného referenčného materiálu krvného séra (SeronormTM šarža 010017). Priemerná stanovená hodnota \pm SD bola $94,95 \pm 2,60 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ($n = 10$), zatiaľ čo certifikovaná hodnota bola $97,0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (interval spoľahlivosti: $92,0\text{--}102,0 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$).

P r e s n o s ť

Presnosť bola vypočítaná z nameraných hodnôt pre štandardný referenčný materiál krvného séra SeronormTM. Pre 10 meraní nasledujúcich za sebou to bolo 2,7 % RSD a pre 24 meraní získaných za niekoľko dní to bolo 4,3 % RSD.

Záver

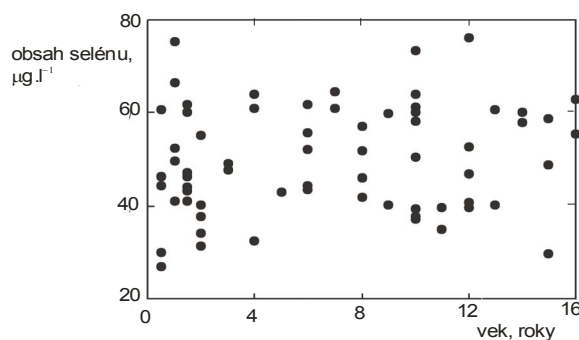
Uvedený postup bol použitý pre stanovenie selénu v reálnych vzorkách krvného séra detí z Bratislavy vo veku 2 týždne – 16 rokov. Grafické znázornenie obsahu selénu v závislosti od veku je uvedené na obr. 3. Nezistili sme žiadne štatisticky významné rozdiely v závislosti od veku a pohlavia ($P < 0,05$). Priemerný obsah selénu v krvnom sére zdravých slovenských detí bol $49,42 \pm 4,68 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$

Tabuľka VIII

Koncentrácie selénu v krvnom sére alebo plazme detí v niektorých Európskych krajinách

Krajina / (oblasť)	n	Vek [roky]	Koncentrácia Se [$\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$] ^a	Lit.
Bývalá Juhoslávia ^b	63	8–15	57 ± 9	28
Bývalá Juhoslávia ^c	14	6,5–10	$55,71 \pm 16,44$	29
Rakúsko / (Štajersko) ^b	39	1–9	48 ± 14	30
Rakúsko / (Štajersko) ^b	26	10–19	53 ± 20	30
Rakúsko / (Štajersko) ^b	58	1–5	35 ± 11 (ročné deti)	10
			48 ± 13 (trojročné deti)	10
Francúzsko / (Paríž) ^c	118	2–5	$62,10 \pm 13,96$	31
Taliansko / (stred) ^b	97	11	$82 \pm 9,9$ (chlapci)	32
	90	11	$78 \pm 9,3$ (dievčatá)	32
Slovensko / (Bratislava) ^b	68	2 týždne – 16	$49,42 \pm 4,68$	táto práca

^a Priemerná hodnota \pm SD; ^b v krvnom sére; ^c v krvnej plazme



Obr. 3. Stanovený obsah selénu v krvnom sére detí v závislosti od ich veku

($n = 68$).

V porovnaní s inými Európskymi krajinami (tabuľka VIII) patria nami stanovené obsahy selénu k tým najnižším. V populácii, kde je obsah selénu nižší ako $45 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, je zaznamenaný zvýšený výskyt kardiovaskulárnych ochorení⁷. V našej práci 44 % zo všetkých detí (32 detí) malo obsah selénu v krvnom sére menej ako $45 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Naše poďakovanie patrí Dr. Petrovi Hlavovi (1. detská klinika Detskej fakultnej nemocnice na Kramároch, Bratislava) za dodanie reálnych vzoriek krvného séra detí.

LITERATÚRA

- Farkašová I., Žemberyová M.: Chem. Listy 93, 633 (1999).
- Robinson M. F., Thomson C. D.: Abstr. Rev. 53, 3 (1983).

3. Fishbein L., v kniže: *Metals and Their Compounds in the Environment* (Merian E., ed.). VCH, Weinheim 1991.
4. Salonen J. T., Alfthan G., Huttunen K. K., Puska P.: *Am. J. Epidemiol.* 120, 342 (1984).
5. Virtamo J., Valkeila E., Alfthan G., Punsar G., Huttunen J. K., Karvonen M. J.: *Am. J. Epidemiol.* 122, 176 (1985).
6. WHO Regional Office for Europe: *Food and Health Indicators in Europe*. Copenhagen, Denmark 1990.
7. Maďarič A., Kadřabová J., Ginter E.: *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 8, 43 (1994).
8. Brtková A., Magálová T., Babinská K., Béderová A.: *Biol. Trace Elem. Res.* 46, 163 (1994).
9. McLaughlin K., Dagdar D., Smyth M. R., McMaster D.: *Analyst* 115, 275 (1990).
10. Tiran B., Tiran A., Rossipal E., Lorenz O.: *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* 7, 211 (1993).
11. Welz B., Melcher M.: *Analyst* 109, 569 (1984).
12. Welz B., Melcher M.: *Anal. Chim. Acta* 153, 297 (1983).
13. Verlinder M., Deelstra H.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 296, 253 (1979).
14. Dědina J.: *Anal. Chem.* 54, 2059 (1982).
15. Radziuk B., Thomassen Y.: *J. Anal. At. Spectrom.* 7, 397 (1992).
16. Welz B., Schlemmer G., Mudakavi J. R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 7, 1257 (1992).
17. Nève J., Molle L.: *Acta Pharmacol. Toxicol.* 59, 606 (1986).
18. Krivan V., Kückenwaitz M.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 342, 692 (1992).
19. Dočekalová H., Dočekal B., Komárek J., Novotný I.: *J. Anal. At. Spectrom.* 6, 661 (1991).
20. Milde D., Šorbová M., Macháček J., Stučka V.: *Chem. Listy* 96, 708 (2002).
21. Carcnik G. R., Manning D. C., Slavin W.: *Analyst* 108, 1297 (1983).
22. Saeed K., Thomassen Y.: *Anal. Chim. Acta* 130, 281 (1981).
23. Fernandez F. J., Giddings R.: *At. Spectrosc.* 3, 61 (1982).
24. Oster O., Prellwitz W.: *Clin. Chim. Acta* 124, 277 (1982).
25. Saeed K., Thomassen Y., Langmyhr F.: *Anal. Chim. Acta* 110, 285 (1979).
26. Dillon L. J., Hilderbrand D. C., Groon K. S.: *At. Spectrosc.* 3, 5 (1982).
27. Jacobson B. E., Lockitch G.: *Clin. Chem.* 34, 709 (1988).
28. Beker D., Romić Z., Krsnjavi H., Zima Z.: *Biol. Trace Elem. Res.* 33, 43 (1992).
29. Krsnjavi H., Sikic N., Beker D., Romić Z.: *Trace Elem. Med.* 9, 168 (1992).
30. Tiran B., Tiran A., Petek W., Rossipal E., Wawschinek O.: *Trace Elem. Med.* 9, 75 (1992).
31. Chakar A., Mokni R., Chappuis P., Mahu J. L., Walravens P. A., Bleibergdaniel F., Therond P., Navarro J., Lemonnier D.: *Biol. Trace Elem. Res.* 26, 25 (1993).
32. Morisi G., Patriarca M., Menotti A.: *Clin. Chem.* 34, 127 (1988).

M. Žemberyová and I. Hagarová (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Determination of Selenium in Blood Serum of Children by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry**

The aim of this work was to obtain reference values for Se concentration in blood serum of healthy Slovak children population. In this study 68 children from the Bratislava region aged from 2 weeks to 16 years were examined. Electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS) was used for the direct determination of Se in serum after dilution in the presence of palladium and magnesium nitrates as modifiers using atomization from pyrolytic graphite tubes and Lvov platforms. The reference Se value in serum for the population was $49.42 \pm 4.68 \mu\text{g.l}^{-1}$. We found no statistically significant sex or age dependence ($P < 0.05$). In our study 44 % of children had Se concentration in serum lower than $45 \mu\text{g.l}^{-1}$. The sensitivity ca. 33 pg per 0.0044 AU.s was achieved for the procedure. The within-run precision was 2.7 % at $95 \mu\text{g.l}^{-1}$ ($n = 10$) and the between-run precision was 4.3 % at $95 \mu\text{g.l}^{-1}$ ($n = 24$). The accuracy of the proposed procedure was checked by analysing the serum standard reference material SeronormTM. The mean value obtained for SeronormTM was $94.95 \mu\text{g.l}^{-1}$ with a standard deviation of $2.60 \mu\text{g.l}^{-1}$ ($n = 10$). The certified Se concentration was $97.0 \mu\text{g.l}^{-1}$ (confidence interval: $92.0 - 102.0 \mu\text{g.l}^{-1}$). The reliable, simple and rapid method is suitable for use in epidemiological screening.