

**Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
katedra biofyziky a fyzikální chemie**

**FAAS analýza kovových prvků v biologickém materiálu  
(bakalářská práce)**

Hradec Králové, 2008

Markéta Zápecová

## Prohlášení o původu práce

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, jež jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

1.	Úvod.....	4
2.	Atomová absorpční spektrometrie .....	5
2.1.	Historie spektrální analýzy .....	5
2.2.	Základní fyzikální principy .....	5
	Vznik atomového absorpčního spektra .....	7
2.3.	Atomová absorpce .....	7
2.4.	Instrumentace .....	8
2.4.1.	Spektrální zdroj.....	9
2.4.2.	Atomizátor .....	9
2.4.3.	Monochromátor .....	12
2.4.4.	Detektor.....	13
2.5.	Plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS) .....	13
2.5.1.	Jednopaprskový spektrometr .....	14
2.5.2.	Dvoupaprskové přístroje.....	14
3.	Hořčík a jeho vlastnosti .....	15
3.1.	Obsah ve tkáních .....	15
3.2.	Funkce hořčíku .....	16
3.3.	Chemické a fyzikální vlastnosti hořčíku.....	17
3.4.	Distribuce hořčíku v organismu .....	17
3.5.	Způsob vylučování a metabolismus .....	18
3.5.1.	Vlastní příčiny hypomagnezémie.....	19
3.5.2.	Příčiny hypermagnezémie .....	20
3.6.	Indikace vyšetření MgE.....	20
4.	Stanovení Mg.....	21
4.1.	Metody pro stanovení MgE v nesrážlivé krvi (heparin Li, K <sub>3</sub> EDTA) ....	21
4.1.1.	Separční metoda .....	21
4.1.2.	Neseparační (nepřímá) metoda.....	21
4.2.	Odběr primárního vzorku a transport .....	22
4.3.	Pomůcky pro nepřímou metodu stanovení MgE AAS .....	22
4.4.	Chronologický postup preanalytické fáze <sup>6</sup> .....	23
4.5.	Stanovení mikrohematokritu centrifugační metodou .....	24
4.6.	Kontrolní materiál <sup>6</sup> .....	25
4.7.	Kalibrační křivka.....	25
4.8.	Pracovní postup před vlastní analýzou .....	25
4.8.1.	Příprava standard <sup>8</sup> .....	25
4.8.2.	Příprava pomocných pracovních roztoků .....	27
4.8.3.	Další příprava vzorků.....	28
4.9.	Nastavení analyzátoru AAS Unicam SOLAAR M6 <sup>6</sup> .....	28
4.10.	Pracovní postup měření <sup>6</sup> .....	28
4.11.	Vlastní měření, princip <sup>6</sup> .....	29
4.12.	Výpočet <sup>6</sup> .....	30
5.	Výsledková část.....	30
6.	Diskuse .....	36
7.	Závěr.....	37

**Použité zkratky:**

AAS – Atomová absorpční spektrometrie

FAAS – plamenová AAS

HMT – hematokrit

LIS – laboratorní nemocniční systém

Mg – hořčík

MgB – koncentrace hořčíku v plné, nesrážlivé krvi respektive jejím hemolyzátu

MgE – koncentrace hořčíku v erytrocytech výpočtem

MgP – koncentrace hořčíku v plazmě

SER – sérum ekvivalentní roztok

## 1. Úvod

Nároky na chemickou analýzu nejrůznějších materiálů ve všech oborech stoupají. Proto se v posledních letech nejvíce rozvíjely metody spektrální analýzy, jejichž předností je rychlost a jednoduchost. Jednou z analytických metod tohoto druhu je atomová absorpční spektrofotometrie. AAS je jednou z nejrozšířenějších metod kvalitativní i kvantitativní analýzy kovových prvků, zejména jejich stanovení ve stopovém množství. AAS patří k nejpoužívanějším jednak pro vysokou citlivost stanovení a také pro nízké pořizovací náklady. Umožňuje stanovení více jak 60 prvků, (všech kovových prvků a metaloidů), <sup>1</sup> v koncentracích řádově od 0,01  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  až po  $\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Z širokého spektra sledování esenciálních nebo toxických prvků v lidském organismu jsem si vybrala stanovení hořčíku v erythrocytech. Sledování funkce a metabolismu hořčíku v organismu je předmětem dlouhodobého zájmu lékařů nejrůznějších klinických oborů.

Stanovení celkového hořčíku v séru/plasmě a moči slouží celkem spolehlivě k zjištění hypo/hypermagesemie organismu, ale pouze jen jako dílčí údaj. Stanovení hořčíku v erythrocytech (MgE) poskytuje významnou informaci, doplňující předchozí data o hladinu hořčíku v intracelulárním prostoru, ukazující na dlouhodobější stav saturace organismu hořčíkem.

Cílem této práce je představení stanovení hořčíku v erythrocytech metodou FAAS v klinické laboratoři. Součástí práce je zpracování teoretických základů AAS, instrumentace AAS, jsou popsány vlastnosti hořčíku a jeho význam v organismu. Dále je popsána metodika stanovení hořčíku v klinické laboratoři a provedeno porovnání naměřených hladin hořčíku v plasmě a v erythrocytech.

## 2. Atomová absorpční spektrometrie

### 2.1. Historie spektrální analýzy

Tmavé absorpční čáry ve spektru slunečního světla, viditelném na světlém pozadí, pozoroval poprvé Wollaston již roku 1802. Podobně je pak roku 1814 studoval Fraunhofer, po němž jsou dnes označovány jako Fraunhoferovy čáry. Jejich původ vysvětlil Brewster (1820), ale teprve Kirchhoff a Bunsen podali v roce 1859 exaktní vysvětlení Fraunhoferových čar a položili zároveň teoretické i praktické základy spektrální analýzy. Vztah mezi absorpčními a emisními spektry formuloval Kirchhoff v zákonu dnes po něm nazývaném, podle něhož každá látka pohlcuje světlo takové vlnové délky, kterou sama může vyzařovat. <sup>2</sup>

### 2.2. Základní fyzikální principy

Metoda atomové absorpční spektrometrie je založená na měření atomových absorpčních spekter. Od počátku praktického využití v roce 1953 se uplatňuje stále více. <sup>1</sup>

Metody atomové spektroskopie vycházejí ze základních principů výstavby atomu, především z vlastností elektronů vázaných v atomu. Elektron se může nacházet v atomu v jistých energetických stavech, na jistých energetických hladinách. Tyto hladiny jsou odlišné pro jednotlivé elektrony. Pro určitý typ elektronu v atomech stejného druhu, t.j. určitého prvku, jsou tyto hladiny identické a zároveň jsou pro tento prvek specifické. Nejnižší energetickou hladinou, označovanou  $E_0$ , je tzv. základní stav.

Energie vyšších hladin ( $E_1, E_2, \dots$ ) konvergují postupně k hodnotě ionizačního potenciálu ( $E_\infty$ ), což je energie, kterou je třeba vynaložit k úplnému odtržení určitého elektronu, od jádra atomu (ionizace). Přechod elektronu mezi jednotlivými energetickými hladinami je spojen s příjmem nebo vyzářením energie podle Planckova vztahu:

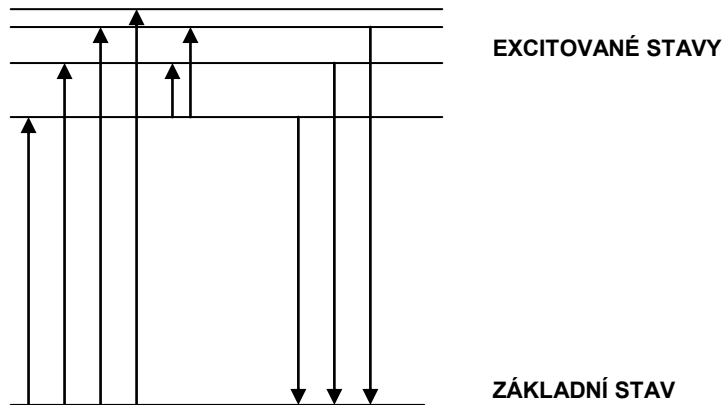
$$\Delta E = h \cdot f,$$

kde  $h$  je Planckova konstanta ( $6,625 \cdot 10^{-34}$  J.s) a  $f$  je kmitočet vyzářeného nebo absorbovaného fotonu. Pro volněji vázané valenční elektrony kovových a polokovových prvků spadají energetická kvanta do oblasti ultrafialového a viditelného záření (190-900 nm), t.j. do tzv. optické spektrální oblasti.

V této oblasti může být přechod elektronu z hladiny energeticky nižší na hladinu vyšší (excitace) dosažen absorpcí odpovídajícího fotonu. Proces absorpce specifického fotonu je pak základem metod atomové absorpční spektrometrie. Při zpětném spontánním přechodu elektronu z hladiny vyšší na hladinu nižší dochází k vyzáření (emisi) téhož kvanta (fotonu). Zobrazení je na diagramu energetických úrovní elektronu v atomu na obrázku 1. Na základě měření takto emitovaného záření jsou založeny metody atomové emisní spektrometrie. Při termickém buzení je k přechodu z nižší hladiny na hladinu vyšší předána potřebná energie kolizí s jinými částicemi, např. v plameni. Následně spontánně emitované specifické záření odpovídá příslušnému přechodu a je při atomové emisní spektrometrii studováno.

## Vznik atomového absorpčního spektra<sup>3</sup>

Obrázek 1: Diagram energetických úrovní elektronu v atomu



### 2.3. Atomová absorpce

Atomová absorpce je proces, ve kterém dochází k absorpci charakteristické vlnové délky volnými atomy daného prvku. Absorpce při dané vlnové délce je charakteristická pro příslušný prvek.<sup>3</sup> Měří se úbytek intenzity záření, který je způsobován absorpcí volnými atomy stanovovaného prvku.<sup>1</sup>

Při absorpčním měření se sleduje úbytek intenzity záření určité vlnové délky po průchodu absorpčním prostředím. Mírou intenzity absorpce je hodnota transmittance (T). Tato veličina je dána poměrem intenzity záření propuštěného absorbujejí soustavou ( $I_1$ ) k intenzitě vstupující ( $I_0$ ):

$$T = I_1 / I_0$$

Transmittance vzorku se mění s vlnovou délkou záření a závisí na počtu absorbujejí částic v prostředí dráhy paprsku, tedy na koncentraci částic a na tloušťce vrstvy, kterou paprsek prochází. Vztah mezi těmito veličinami popisuje **Bouguerův-Lambertův-Beerův zákon**.

$$I_1 = I_0 e^{-a, b, c}$$



Kromě transmittance je měřitelnou veličinou absorbance (A), pro níž platí:

$$A = -\ln T = a \cdot b \cdot c$$

Kde:

a = absorpční koeficient

b = tloušťka absorbující vrstvy vzorku

c = koncentrace roztoku

Lambertův Beerův zákon je základním vztahem mezi absorbancí a koncentrací absorbujících individuálních látek obsažených v roztoku. Přímé použití tohoto zákona není v AAS možné vzhledem k tomu, že roztoky jsou homogenní, zatímco světelná dráha v plameni prochází atomy, jejichž počet není konstantní.

## **2.4. Instrumentace**

Atomový absorpční spektrometr s plamenovým atomizérem je konstruován z těchto komponent:

1. Spektrální zdroj
2. Atomizátor
3. Monochromátor
4. Detektor
5. Zpracování signálu

### 2.4.1. Spektrální zdroj

Duté katodové lampy představují prakticky jediný typ široce používaný v atomové absorpční spektrometrii s cílem produkovat úzké absorpční spektrální čáry. Kontinuální zdroje emitující světlo v celém spektrálním rozsahu, se používají s monochromátorem, který izoluje potřebnou vlnovou délku. Primární radiační zdroj vhodný pro atomovou absorpci musí emitovat ostré rezonanční spektrum s pološířkou čáry 0.001 nm.

Moderní duté katodové lampy mají lepší stabilitu a šířku spektrální linie ve srovnání s dříve používanými výbojovými lampami. Lampa s dutou katodou je stabilní, spolehlivá, má dlouhou životnost a představuje standardní zdroj pro atomovou absorpční spektrometrii.<sup>3</sup> Katodou je dutý váleček ze stejného kovu, který se stanovuje, anodou je wolframový nebo molybdenový drát. Lampa obsahuje argon (neon) tlaku do 1 kPa. Vložení napětí (400V) vyvolá doutnavý výboj, při němž vznikají ionizované atomy vzácného plynu, které bombardují kov. Uvolněné atomy kovu se srážkami excitují a při deexcitaci vysílají potřebné záření.<sup>4</sup>

Bezelektrodové výbojky mají větší intenzitu a lepší poměr signálu k šumu, jejich nevýhodou je však malá stabilita.

### 2.4.2. Atomizátor

Atomizátor slouží k převedení vzorku do stavu volných atomů. Jeho teplota by měla být dostatečná k atomizaci, ale nižší než je třeba k výraznější excitaci. Používáme plamenový elektrotermický atomizátor<sup>4</sup> nebo techniku generování hydridů.

#### **Plamenové atomizátory (FAAS)**

Plamen představuje nejběžnější, stabilní a ekonomický zdroj produkce atomových par. Teplota plamene hraje velkou úlohu v produkci volných atomů.

Plamenem lze zajišťovat rozsah teplot od 2000 do 3000° K pomocí směsí paliva a oxidantu. Základní fyzikální charakteristiky plamenů používaných v AAS zobrazuje tabulka 1. Ve funkci paliva se používají propan, vodík a acetylén, jako oxidanty se používají vzduch a oxid dusný.<sup>3</sup>

Přístroj FAAS je pro ilustraci uveden na obr. 2.

Obrázek 2: FAAS



Tab.1: Charakteristiky plamenů používaných v AAS

plynná směs	Rychlost hoření cm/s	průměrná teplota °C	rozsah teplot °C
propan-vzduch	80	1830	1700 - 1900
acetylen-vzduch	160	2050	1800 - 2300
acetylen-N <sub>2</sub> O	180	2700	2660 - 2800
vodík-argon (dusík) + vzduch			400 - 800

Plamenový atomizátor pracuje na principu pneumatického zmlžování nebo ultrazvukového rozprašování roztoku vzorku. Aerosol vzorku je smíšen

s topným plynem a oxidovadlem a je vnášen do plamene, kde se vzorek po odpaření (spálení) atomizuje.

Spalování v plameni představuje lacinou a stabilní operaci. Nedostatkem tohoto postupu je snížení koncentrace volných atomů, což vede k nižší citlivosti. Proto je často vhodné použít elektrotermický atomizátor.

### **Technika elektrotermické atomizace (ETA)**

Elektrotermický atomizátor je grafitová kyveta tvaru trubice odporově vyhřívána elektrickým proudem. Trubicí prochází elektromagnetické záření emitované lampou s dutou katodou. Vzorek je vnášen pomocí mikropipety do spodní části stěny trubice nebo je pipetován na platformu kyvety. Pracuje se v ochranné atmosféře tvořené proudem argonu.

Teplotní program má tři fáze:

1. sušení (50-200°C),
2. spalování (200-800°C),
3. atomizace- prudké zahřátí na teplotu atomizace (2000-2750°C).

Následuje čistící cyklus zahřátím kyvety krátce na 2800 - 3000°C s vyfouknutím zbytků zplodin inertním plynem a kyveta je připravena na pipetování následujícího vzorku. Během celého procesu probíhá chlazení vnějšího pláště cirkulujícím médiem (vodou), což umožní rychlé opakování teplotních cyklů.

Zatím co u plamenové atomizace je signál stálý, limitovaný dobou měření (3 – 5s), u elektrotermické atomizace je registrován přechodný signál ( 2 – 3s) tvaru píku.<sup>4</sup>

## **Generování těkavých hydridů (hydridová AAS)**

Tato metoda využívá možnosti převedení analytu na těkavou formu, její oddělení od vzorku a následnou atomizaci plynné formy. Celý proces se skládá z následujících fází:

1. redukce analytu na hydrid v kapalně fázi
2. převod do plynné fáze a transport hydridu do atomizátoru
3. atomizace hydridu

Výhodou této techniky je separace analytu z matrice vzorku a tím jeho vyšší koncentrace v absorpčním prostředí, což vede ke zvýšení citlivosti a v některých případech k potlačení interferencí způsobených maticí vzorků. Generování hydridů se používá pro stanovení As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn a Te.

K převedení analytu na plynný hydrid se používá reakce tetrahydridoboritanu sodného s analytem v kyselém prostředí.  $\text{NaBH}_4$  se používá jako vodný roztok stabilizovaný hydroxidem sodným nebo draselným.

### **2.4.3. Monochromátor**

Monochromátor izoluje světlo emitované z primárního zdroje tak, aby nejintenzivnější rezonanční analytická linie byla od ostatních linií, které jsou v její těsné blízkosti, co nejdokonaji separována. Tyto linie mohou pocházet z kovu katody nebo z plynu, kterým je lampa plněna. S ohledem na typ použité lampy musí být dobrý monochromátor schopen separovat linie i z nejkomplicovanějšího zdroje spektra. Monochromátor by měl být schopen separovat dvě linie, které se od sebe liší alespoň o 0.1 nm. Jeho další funkcí je izolace rezonanční linie od molekulárních emisí a jiných kontinuálních

zdrojů pozadí pocházejících z plamene.<sup>3</sup> Tato funkce je zvláště významná pro odstranění nebo potlačení případných interferencí ve vzorku.

#### **2.4.4. Detektor**

Nejužívanějším detektorem je fotonásobič, který měří intenzitu dopadajícího světla. Detektor musí měřit celý spektrální rozsah od 190 do 860 nm.

Fotonásobič se skládá ze série elektrod (dynod), které mají emisní povrch a zvyšující se pozitivní potenciál. Jakmile narazí na povrch dynody foton, její povrch emituje elektron, který se urychlí a na další dynodě vyrazí další elektrony. Počet elektronů postupně roste, až se na výstupu vyprodukuje dostatečný elektrický signál. Citlivost celého systému je závislá na napětí, které je mezi dynodami. S rostoucím napětím roste zesílení.<sup>3</sup>

### **2.5. Plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS)**

Světlo ze zdroje produkujícího charakteristickou vlnovou délku prvku, který má být stanoven, prochází plamenem štěrbinového hořáku standardní délky 100 nebo 50 mm. Do tohoto plamene se přivádí jemná mlha roztoku vzorku. Oblast spektra, která se má měřit, se izoluje v monochromátoru. Izolovaná spektrální linie vstupuje do fotonásobiče (detektoru), ze kterého se po zesílení zavede do digitální nebo analogové měřicí jednotky a odtud se signál přenáší do zobrazovacího systému. Měrný paprsek se měří dvakrát – jednou po průchodu plamenem (měrný), po druhé mimo průchod plamenem (srovnávací). Poměr těchto dvou měření charakterizuje absorbované množství záření a tím i množství prvku ve vzorku.<sup>3</sup>

### 2.5.1. Jednopaprskový spektrometr

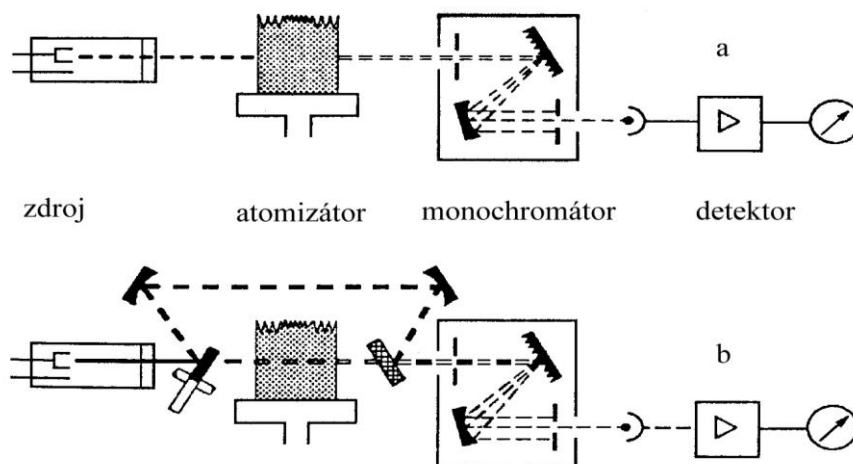
V tomto spektrometru je světlo dopadající na detektor úměrné světlu, které prošlo vzorkem. Absorbance se musí změřit průchodem přes slepý vzorek a potom znovu průchodem přes vzorek s použitím zdroje se stabilní intenzitou.

### 2.5.2. Dvoupaprskové přístroje

V tomto případě se světlo ze zdroje rozděluje na dva paprsky pomocí rotačního polopostříbeného zrcadla jak je zobrazeno na schématu obrázku 3 nebo pomocí paprskového splítrů, což je zrcadlo s 50% transmisí. Paprsky jsou střídavě vedeny plamenem nebo mimo něj. Paprsek procházející plamenem se rekombinuje s druhým paprskem pomocí polopostříbeného zrcadla. Na detektorovém konci se výstupní signály rozdělí, odděleně zesílí a jejich intenzita se porovná. Normální dvoupaprskový systém pouze koriguje variace primárního zdroje a variace odezvy detektoru. Nedochozí k žádné korekci eventuelních absorpcí nebo rozptylů v plameni a nekoriguje ani změny v primární lampě, které se projevují obzvláště v průběhu jejího zahřívání. Další nevýhodou je 50% ztráta energie.

Korekce pozadí lze dosáhnout na dvoupaprskovém přístroji, do jehož systému je zabudována deuteriová lampa nebo jiný zdroj kontinuálního záření. Deuteriová lampa a lampa s dutou katodou jsou umístěny tak, aby selektorové zrcadlo odráželo světlo z obou lamp podél paprsku ve střídavých pulzech. Přístroj změří celkovou absorbanci v kanále pro vzorek a absorbanci pozadí v referenčním kanále pomocí jednotlivých elektrických obvodů. Absorbance pozadí se potom odečte od absorbance vzorku a dostane se korigovaná absorbance.

Obrázek 3: Schéma jednopaprskového (a) a dvouprskového (b) AA spektrometru



### 3. Hořčík a jeho vlastnosti

#### 3.1. Obsah ve tkáních

Hořčík je velice důležitý biogenní prvek, který významně ovlivňuje řadu metabolických pochodů. V lidském těle je hořčík čtvrtým nejhojnějším kationem a vedle draslíku je druhým nejhojnějším intracelulárním kationem. Přesně vzato se celkovou koncentrací v těle o stopový prvek nejedná. Dospělý lidský jedinec obsahuje cca 25 – 28 g hořčíku, což představuje zásobu v organismu přibližně 800 – 1500 mmol. Z toho je cca 60% v kostech, asi 20% v kosterním svalstvu, přibližně 19% v jiných buňkách a jen asi 1% v extracelulární tekutině. Ve svalových buňkách se koncentrace hořčíku pohybuje kolem 20 mmol/l, v erytrocytech kolem 2.5 mmol/l, v extracelulární tekutině – séru, plazmě je hladina 0.82 +/- 0.16 mmol/l. V séru se nachází hořčík vázaný přibližně z 40% na bílkovinu (většinou je z 30 % vázán na albumin), 60% jako ultrafiltrabilní – z tohoto podílu je asi 50% jako fyziologicky aktivní, ionizovaný  $Mg^{2+}$  a kolem 10% je vázáno v komplexech s jinými ionty.



Intracelulární koncentrace hořčíku (většinou v komplexech) je tudíž podstatně vyšší než extracelulární.

V jednotlivých orgánech existuje různě rychlá výměna mezi intracelulárním a extracelulárním poelem. Rychlé změny probíhají v játrech, ledvinách, myokardu; pomalejší výměny v mozku, nervech a nejpomalejší v kosterních svalech a skeletu. V erythrocytech nastávají změny během minut, v lymfocytech během několika sekund.

### **3.2. Funkce hořčíku**

Hořčík má obrovskou vazebnou kapacitu a velkou tendenci tvořit komplexní sloučeniny. Je součástí řady enzymů, může tvořit s důležitými intracelulárními aniontovými ligandy cheláty, z nichž je nejdůležitější je tvorba chelátů s ATP a ADP.

Hraje především významnou roli v přenosu vysokoenergetických fosfátových radikálů, stabilizuje makromolekulární struktury (DNA, RNA, ribosomy) a asistuje při syntéze proteinů.

Hořčík je aktivátorem více než 300 enzymových systémů, je aktivátorem Na-K dependentní ATP-ázy, má vliv na funkci některých enzymů pentosového cyklu, podmiňuje acetylaci CoA i funkci některých enzymů Krebsova cyklu, je nezbytný pro funkci myokardu, svalů, enzymů dýchacího řetězce. Hořčík se také podílí na zajišťování strukturální funkční integrity buněk a buněčných membrán, na regulaci membránového transportu, na distribuci elektrolytů (za zmínku stojí vztah Mg k Ca, který je z biochemického hlediska podobný jako vztah Na-K), hořčík reguluje také neuromuskulární excitabilitu, svalovou kontrakci, krevní tlak a hemostázu. Dále je hořčík stavební jednotkou kostí, které současně slouží jako depo tělesných zásob Mg.

### 3.3. Chemické a fyzikální vlastnosti hořčíku

Hořčík je zařazen do skupiny II. A periodické tabulky.

Protonové číslo je 12, relativní molekulová hmotnost 24,305, teplota tání 923 K (650°C), teplota varu 1363 K (1090°C). Tento prvek byl objeven v roce 1808 (sir Humphry Davy). Hořčík má o něco menší iontový poloměr než vápník a ve sloučeninách jej může zastupovat.

### 3.4. Distribuce hořčíku v organismu

Denní potřeba hořčíku se pohybuje mezi 10-15 mmol. Hlavními zdroji hořčíku v potravě jsou listová zelenina, ovoce, luštěniny, obilniny, ořechy, mák, káva, čaj a pitná voda. Podrobnější zastoupení vystihuje tabulka 2. Zvýšené požadavky na hořčík jsou kladeny při vysokých fyzických a psychických výkonech, v období laktace, atp.

Tabulka 2: Obsah hořčíku v některých potravinách:

Potravina 100g	Hořčík mg	Potravina 100g	Hořčík mg
hovězí maso	25	špenát	59
vepřové maso	26	mrkev	12
kuře	29	čočka	77
sleď	32	banány	42
kravské mléko	14	pomeranče	13

sýr eidam	28	jablka	4
sýr tavený	47	ostružiny	29
vejce	12	švestky	8
mák	526	chléb tmavý	75
lískové ořechy	274	pečivo světlé	24
mandle	257	ovesné vločky	113
brambory	24	rýže	13

Mezi další potraviny obsahující hořčík patří: banány, kakao, sója, fazole, hrách, fíky, ovesné vločky.

### 3.5. Způsob vylučování a metabolismus

Za hospodaření s hořčíkem odpovídají ledviny a střevo. Ledviny mění exkreci do moče v závislosti na přísunu Mg z exogenních zdrojů a v závislosti na jeho tělesných zásobách. Je to velice rychlá reakce, která vzniká jako odpověď na podněty ze senzitivního receptoru v játrech. V glomerulech se profiltruje ultrafiltrabilní hořčík (tvoří asi 2/3 Mg v séru) do primární moče; z ní je za fyziologických podmínek zpětně resorbováno až 93 % profiltrovaného hořčíku.

U zdravého dospělého se vyloučí za den ledvinami 0,5-5 mmol/l hořčíku. Pro vylučování ledvinami je rozhodující plazmatická hladina a vylučování Mg se mění v přímé závislosti na filtraci a diuréze (je li vyšší glomerulární filtrace,

stoupá diuréza ). Příjem potravou je kolem 12-13 mmol/den, z toho je 30 – 50 % absorbováno v tenkém střevě, kde je Mg ovlivňován i malabsorpčními syndromy, část se absorbuje pasivně a část i aktivním transportem navázaná na protein vázající hořčík. Absorbuje se asi 25-40 % podaného množství, zbytek se vyloučí stolicí. Absorpce Mg probíhá v závislosti na příjmu. Zvýší ji tekutá strava, vitamín D a acidita střevního obsahu. Naopak sníží ji příjem kyseliny listové, vápníku, fosforu, alkoholu a některých léčiv. Poruchy absorpce v gastrointerstinálním traktu a poruchy reabsorpce v ledvinových tubulech jsou nejčastějšími příčinami hypomagnesemie.

Hypomagnezemie je běžná, zvláště u kriticky nemocných (výskyt mezi 20%-65%). Při těžké hypomagnezémii vylučování klesá k minimu 0,5 mmol/den.

### 3.5.1. Vlastní příčiny hypomagnezémie

- Snížený příjem: hladovění, proteino-kalorická malnutrice dětí, dlouhodobá parenterální výživa, alkoholismus (viz i dále).
- Gastrointestinální ztráty: malabsorpční stavy (neabsorbované tuky tvoří s  $Mg^{++}$  nerozpustná mýdla), průjmy, biliární píštěle, resekce tenkého střeva, nazogastrické odsávání.
- Renální ztráty: buď pro skutečný tubulární defekt nebo pro extrarenální vlivy, včetně léků a hormonů. Téměř všechna diuretika (zvl. kličková) zvyšují magneziurii stejně jako pití alkoholu. U chronických alkoholiků je ale deplece  $Mg^{++}$  spojována především se sníženým příjmem, zvracením a průjmy. Magneziurie z poškození renálních tubulů může vzniknout při léčbě aminoglykosidy, cisplatinou, amfotericinem B a cyklosporinem. Dalšími příčinami jsou hyperaldosteronismus, hypokalémie, Bartterův syndrom, deplece fosfátů a kongenitální tubulární defekty reabsorpce  $Mg^{++}$ .
- Redistribuce do buněk: anaboličké stavy, rychlý růst buněk (zotavení z malnutrice, působení inzulínu, ale i růst tumorů). Patří sem i ukládání  $Mg^{++}$  do

kostí (tzv. "hungry bone syndrom" po operacích parathyreoidey) nebo do zraněné tkáně (akutní pankreatitis).

### 3.5.2. Příčiny hypermagnezémie

Její výskyt je mnohem vzácnější než hypomagnezémie.

Příčiny:

- Akutní nebo chronické renální selhání. U chronického selhání vylučování močí klesá při poklesu glomerulární filtrace, ale pokud je nemocný jen na běžné dietě, sérové hladiny se ustálí kolem 1,2 mmol/l.
- Nedostatečnost nadledvin.
- Iatrogenní: léčba eklampsie solemi  $Mg^{++}$ , laxativy obsahujícími sole  $Mg^{++}$ , rektální nálevy a antacida, zvláště při současné renální insuficienci.
- U krátkodobého několikadenního zvýšení hladiny Mg infuzí (o 50% - 100% běžné sérové hladiny) se využívá pozitivního ochranného efektu hořčíku při kardiochirurgických zákrocích jako antiarytmika, vagotonika, pro snížení excitability myokardu a zlepšení průtoku krve koronálními artériemi.

### 3.6. Indikace vyšetření MgE

screening hypomagnezémie

diagnostika poruch metabolismu hořčíku

poruchy neuromuskulárních funkcí

kardiovaskulární onemocnění a diabetes mellitus

## **4. Stanovení Mg**

Analyzátorové (automatizované) spektrofotometrické metody pro stanovení Mg v extracelulárních tekutinách (sérum, plasma, eventuelně moč) v rutinní biochemii jsou dnes již propracované a v podstatě bez vývoje. Fyzikálně analytická metoda AAS je pro výše zmíněné metody klinické laboratoře používána jako referenční. AAS se vyznačuje vyšší přesností a minimálním ovlivněním výsledku přítomností případných interferentů. Na druhou stranu má vysoké nároky na speciální vyšetřovací techniku a relativně malou možnost automatizace. Tato kritéria spolu s dalšími faktory způsobují její ne právě běžné použití v rutinním stanovení hořčíku.

### **4.1. Metody pro stanovení MgE v nesrážlivé krvi (heparin Li, K<sub>3</sub>EDTA)**

#### **4.1.1. Separační metoda**

Tato metoda spočívá v šetrné separaci erytrocytů, jejich proplachu a posléze přípravy definovaného hemolyzátu s následným stanovením hořčíku a jeho obsahu metodou FAAS.

Metoda FAAS je přesnější a objektivnější díky homogenitě vzorku, lze důsledně odstranit plasmu ale i buňky bohatší na Mg, jako jsou leukocyty či monocyty. Stačí většinou jedno měření a výpočet.

#### **4.1.2. Neseparační (nepřímá) metoda**

Neseparační metoda elegantně obchází delikátní separační postup a zjednodušuje preanalytickou fázi.

Je výrazně jednodušší na provedení, a přestože je z principu zatížena jistou nevelkou chybou, dá se standardním provedením postupu udržet v analyticky přijatelných mezích celkové chyby výsledku <5%, způsobených převážně okluzí plasmy.

K záporným bodům patří nutnost tří měření ( mikrohematokrit, měření Mg v plasmě a lyzátu plné krve) a komplikovaný výpočet. Dále je nutné stanovit (ověřit) vlastní referenční hodnoty, které se mohou na jednotlivých pracovištích, užívajících tento postup podle vlastních metodik, výrazněji lišit.

#### **4.2. Odběr primárního vzorku a transport**

Ke stanovení hořčíku v erytrocytech, v plazmě a stanovení hematokritu se odebírá nesrážlivá krev.

Odběr krve: odběr se provádí nalačno ze žíly do zkumavky s přídavkem heparinu Li, K<sub>3</sub>EDTA. Je nutno zabránit venostáze při odběru. Stabilita vzorku je 2 hodiny v chladu bez oddělení krevních elementů. Hemolytický materiál (plasmu po centrifugaci) nelze vyšetřit.

#### **4.3. Pomůcky pro nepřímou metodu stanovení MgE AAS<sup>5</sup>**

Přístroje a pomůcky:

Dvoupaprskový plamenový AAS Unicam Solaar M 6 (plamen acetylen – vzduch ), zdroj záření – dutá katodová lampa s katodou ze slitiny vápník-hořčík-zinek, používá se vlnová délka 285,2 nm

Chlazená centrifuga Eppendorf 5804 R

Centrifuga na stanovení HMT

Dávkoč Kavalier 10 ml, pipety fixního objemu 100, 200, 500, 1000 µl

Odměrné baňky, kádinky, kapiláry lékařské, bez úpravy na stanovení mikrohematokritu 75 mm, 60 µl

Eppendorfské mikrozkušavky objem 1,5-2,0 ml, plastové nádobky (Kartell).

Reagencie:

NaCl suprapur, Merck

KCl suprapur, Merck 4938

LaCl<sub>3</sub>. 7 H<sub>2</sub>O p. a., Merck

NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> p.a., Merck

Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> . 4H<sub>2</sub>O p.a., Fluka

Cystein.HCl.H<sub>2</sub>O p.a., Fluka

FeCl<sub>3</sub>.6 H<sub>2</sub>O p.a., Fluka

Na<sub>2</sub>EDTA . 2H<sub>2</sub>O, Lachema

KBr p.a., Lachema

HCl konc. (37%) p.a., Fluka alt. Lachema

Mg základní standard 1000 mg/l, Merck

#### **4.4. Chronologický postup preanalytické fáze <sup>6</sup>**

Do 60 minut po příjmu vzorku je nutné provést následující úkony v předepsaném pořadí.

1. Z důkladně promíchaného vzorku plné krve se naplní ( bez vzduchových bublin) kapilára na stanovení mikrohematokritu, uzavře se jeden konec tmelem a stanoví se hematokrit.

2. Z důkladně promíchaného vzorku plné krve se dále odebere alikvotní díl 100 µl do eppendorfské mikrozkušavky k přípravě hemolyzátu plné krve smícháním s 300 µl lyzačního roztoku.



3. 1 – 1,5 ml promíchaného vzorku se odebere do eppendorfské mikrozkuhavky, centrifuguje se 5 minut při 3000 otáčkách za minutu. v chlazené centrifuze, následně se pipetou stáhne 500  $\mu$ l plasmy do eppendorfské mikrozkuhavky. Do doby analýzy se takto předpřipravené vzorky uloží v chladu.

#### **4.5. Stanovení mikrohematokritu centrifugační metodou<sup>6</sup>**

Princip: nesrážlivá krev, odebraná ( nebo vpravená) do speciálních kapilár, se po uzavření inertním silikonovým tmelem centrifuguje na zařízení k tomuto účelu určeném tj. buď centrifuga přímo pro stanovení mikrohematokritu nebo centrifuga s výměnným rotorem. Po centrifugaci se výsledek zjišťuje odečtením na posuvném nebo kruhovém měřítku.

Stanovení mikrohematokritu centrifugační metodou slouží k získání dílčího parametru k nepřímému stanovení koncentrace hořčíku v erytrocytech neseparační metodou.

Postup: Po naplnění kapiláry nesrážlivou krví se provede centrifugační oddělení pevných elementů od plasmy. Následně se odečte po vložení kapiláry do držáku jednoduchého odečítacího zařízení podíl erytrocytů k celkovému objemu krve.

Hematokrit = výška sloupce erytrocytů / výška sloupce krve

#### **Fyziologické hodnoty :**

Mikrohematokrit – muži      0,42 – 0,52 ( 42 – 52%)

ženy      0,37 – 0,47( 37 – 47%)

Mikrohematokrit je nezbytné vyšetřit nejpozději do dvou hodin po odběru, po této době dochází k objemovým změnám erytrocytů a nalezená hodnota může být zkreslena.<sup>7</sup>

#### **4.6. Kontrolní materiál<sup>6</sup>**

Jako kontrolní materiál se používá lyofilizované sérum Precipath U (Roche), humánního původu s deklarovanými hodnotami obsahu Mg podle příslušné používané šarže. Připravuje se dokonalým rozpuštěním obsahu lahvičky v suprapur vodě (podle pokynů uvedených v příbalovém letáku) a následně se rozdělí do porcí po 0,5 ml do plastových mikrozkušavek („ependorfky“), zmrazí se a uchovává do doby použití při -20°C. Dále se používá jako sekundární kontrolní materiál lyofilizované sérum Randox 2 fy BioRad rovněž s deklarovanými hodnotami pro Mg dle aktuální šarže. Kontrolní materiál se zpracovává vždy stejným způsobem jako vzorky od pacientů.

#### **4.7. Kalibrační křivka**

Pro plasmu a hemolyzát je kalibrace dvoubodová se standardními roztoky 200 a 400 µg Mg/l, jako slepá se používá diluční roztok

Kalibrační závislost je lineární, přímka prochází počátkem. Výpočet kalibrační funkce je zajištěn pomocí software analyzátoru, data zůstávají uložena v paměti. Kalibrace se provádí při měření každé série vzorků.

#### **4.8. Pracovní postup před vlastní analýzou**

##### **4.8.1. Příprava standard<sup>8</sup>**

Základní zásobní standardní roztok má koncentraci 1000mg/l pro Mg. Z této základní standardy se postupným ředěním pomocí H<sub>2</sub>O suprapur připraví zásobní standardní roztok o koncentraci 50 mg/l, z něj pak zásobní standardní

roztok o koncentraci 10 mg/l a dále pak pracovní standardní roztoky. Všechny roztoky musí být před pipetováním vytemperované na laboratorní teplotu a po doplnění po značku opakovaně důkladně promíchané.

#### **Stabilita jednotlivých standardních roztoků :**

1000 mg/l - do doby expirace

50 mg/l - cca 3 měsíce

10 mg/l - cca 6 týdnů

Na odměrnou baňku se musí vždy zřetelně vyznačit datum přípravy.

#### **Sérum ekvivalentní roztok zásobní (SER) 10x koncentrovaný**

Složení:

7,58 g NaCl p.a.

0,285 g KCl p.a.

0,575 g  $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$  p.a.

Uvedené substance se rozpustí ve 100 ml odměrné baňce a doplní po rysku  $\text{H}_2\text{O}$  p.a. Stabilita je 6 měsíců v chladu

#### **Kalibrační blank**

25 $\mu\text{l}$  SER 10x koncentrovaného se doplní do 25 ml odměrné baňky po rysku dilučním roztokem.

Opakovaně se promíchá, připravuje se vždy před každou analýzou čerstvý.

#### **Pracovní standardní roztok pro Mg o koncentraci 200 $\mu\text{g}$ /l**

K 0,5 ml zásobního standardu o koncentraci 10 mg/l se přidá 25 $\mu$ l SER 10x koncentrovaný a doplní do 25 ml odměrné baňky po rysku dilučním roztokem.

Opakovaně se promíchá, připravuje se vždy před každou analýzou čerstvý.

#### **Pracovní standardní roztok pro Mg o koncentraci 400 $\mu$ g /l**

K 1,0 ml zásobního standardu o koncentraci 10 mg/l se přidá 25 $\mu$ l SER 10x koncentrovaný a doplní do 25 ml odměrné baňky po rysku dilučním roztokem.

Opakovaně se promíchá, připravuje se vždy před každou analýzou čerstvý.

### **4.8.2. Příprava pomocných pracovních roztoků**

#### **Diluční roztok Mg**

Jde o vodný roztok 0,2% KCl + 0,1% La<sup>3+</sup>.

Připravuje se ze zásobních roztoků 2% KCl a 10% La<sup>3+</sup>.

Do 1000 ml odměrné baňky se odměří 100 ml 2% KCl a 10 ml 10% roztoku

La<sup>3+</sup>, rozpustí se a doplní po rysku suprapur vodou.

Stabilita je 2 měsíce.

#### **2% roztok KCl (zásobní)**

10 g KCl se rozpustí a doplní do 500 ml odměrné baňky po rysku suprapur vodou.

Stabilita 1 rok.

### **10% roztok La<sup>3+</sup> (zásobní)**

10 g LaCl<sub>3</sub> · 7H<sub>2</sub>O se rozpustí a doplní do 100 ml odměrné baňky suprapur vodou.

Stabilita 1 rok.

### **4.8.3. Další příprava vzorků**

Vzorky plasmy a hemolyzátů z plné krve se ředí před vlastní analýzou manuálně pracovním dilučním roztokem podle schématu: 100 µl vzorku + 9,9 ml dilučního roztoku kalibrovanou skleněnou pipetou, tj. 1:100.

### **4.9. Nastavení analyzátoru AAS Unicam SOLAAR M6<sup>6</sup>**

Nastavení v plamenové sekci je směs acetylen-vzduch, hořák na 50 mm, zdrojem záření je dutá katodová lampa ze slitiny vápník-hočík-zinek a používá se analytická vlnová délka  $\lambda = 285,2$  nm. Pozadí se koriguje pomocí deuteriové lampy.

Po kalibraci metody se měří kontrolní materiály, zpracované shodným postupem jako vzorky, vzhledem k dostupnosti se používají pouze sérové kontroly humánního původu o minimálně dvou koncentračních hladinách a kontrola reprodukovatelnosti. Vzhledem k návratnosti metodiky AAS na rutinní stanovení Mg v séru je vždy alespoň jeden kontrolní materiál shodný s kontrolou na rutinních analyzátorech.

### **4.10. Pracovní postup měření<sup>6</sup>**

Po zahájení měření provede přístroj automaticky kalibraci optické soustavy analyzátoru, následuje měření slepé a kalibrace měření pomocí pracovních standardních roztoků vlastní přípravy. V dialogovém kroku modu probíhá dále

měření kontrolních vzorků, připravených z kontrolních sérových materiálů, vyhodnocení jejich výsledků a po kontrole správnosti jsou následně měřeny vzorky v předem nastaveném pořadí. Měření se může v libovolném čase přerušit nebo ukončit.

#### **4.11. Vlastní měření, princip <sup>6</sup>**

Po 15 minutách od zapnutí řídicího počítače, přístroje a žhavení duté katodové lampy a deuteriové výbojky ke korekci pozadí, se po spuštění odsávání provádí zážeh plamene. Po několika minutách se nastavuje výška hořáku a průtok plynu a následuje proplach nebulizátoru ultračistou vodou po dobu 10 minut. Během této doby se vloží pro každou sérii měření (kalibrátory jsou při použití rutinního postupu implicitně definovány v souboru dat a požadavek na jejich vyšetření je automatický), přesný sled kontrolních materiálů (připravených shodným postupem jako vzorky plasmy nebo hemolyzátu), vzorků plasmy, vzorků hemolyzátů a na závěr předpokládaná opakovaná měření vzorků, opakovaných vyšetření kontrol. Proveďte se nastavení optiky a spustí se analýza. Vzorek se nasaje kapilárou do nebulizéru a rozprášené částice jsou vneseny do plamene (acetylen-vzduch), kde dojde k odpaření (spálení) a atomizaci – převedení do excitovaného stavu s využitím takzvaného spektrálního ionizačního pufru – iontů  $K^+$  a  $La^{3+}$ , které navíc potlačují interferenční vliv přítomných anorganických fosfátů.

Atomy hořčíku absorbují záření vlnové délky 285.2 nm známé intenzity, jejíž zeslabení je úměrné celkové koncentraci Mg ve vzorku. Korekce pozadí je pomocí deuteriové lampy.

Výsledky se tisknou, kontrolují, přepočítají do jednotek SI, přepíší do pracovního protokolu a vloží do LIS. Koncentrace MgE se počítá z naměřených parametrů automaticky z vložených dat.

#### 4.12. Výpočet <sup>6</sup>

$$MgE \text{ ( mmol/l) } = Mg P + [100 \cdot (MgW - Mg P) : HMT ]$$

**Naše referenční hodnoty jsou pro:**

Mg v erythrocytech = 2,00 – 2,70 mmol/l ery (neseparační metoda)

Mg v plné krvi = 1,3 – 1,9 mmol/l krve

Mg plasmy = 0,80 – 1,05 mmol/l plasmy

#### 5. Výsledková část

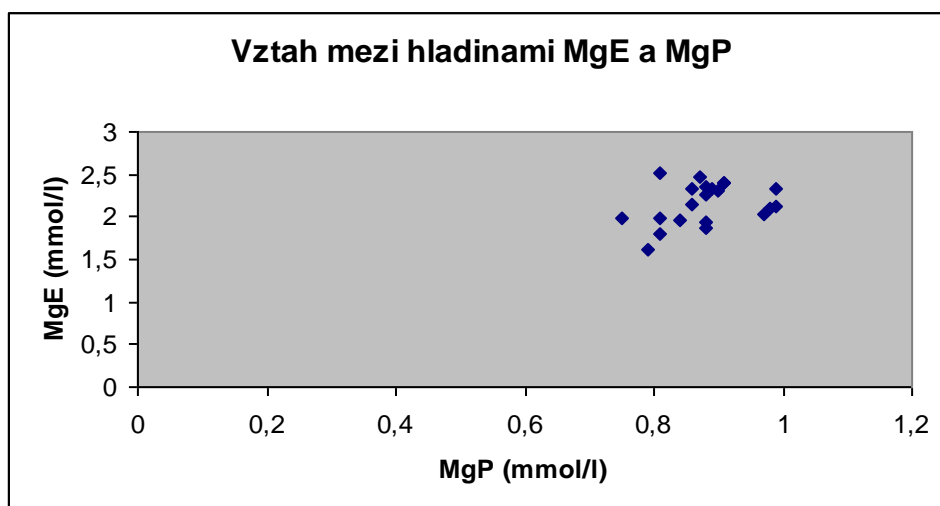
Provedla jsem měření MgE a MgP u 21 pacientů. Všechna naměřená data jsou uvedena v tabulce 3. Příklad výsledkového protokolu, doplněného o data vypočítaná dle vzorce pro výpočet MgE je na obrázcích 3, 4, 5, 6. Součástí výsledkového listu jsou již výše zmíněné parametry metody, kalibrační křivka s grafickým znázorněním, kontrolní měření a vlastní vzorky pacientů.

Na základě tabulky 3 jsem vypracovala graf 1, který znázorňuje vzájemný vztah hodnot MgE a MgP.

Tabulka 3

pacient	HMT (%)	MgP (mmol/l)	MgW (mmol/l)	MgE (mmol/l)
pacient 1	42	0,81	1,23	1,81
pacient 2	45	0,98	1,48	2,09
pacient 3	47	0,9	1,56	2,3
pacient 4	49	0,88	1,56	2,27
pacient 5	45	0,86	1,52	2,33
pacient 6	46	0,99	1,6	2,32
pacient 7	52	0,91	1,69	2,41
pacient 8	42	0,89	1,49	2,32
pacient 9	48	0,91	1,69	2,39
pacient 10	47	0,88	1,35	1,88
pacient 11	41	0,88	1,32	1,95
pacient 12	45	0,99	1,5	2,12
pacient 13	42	0,84	1,31	1,96
pacient 14	38	0,87	1,48	2,48
pacient 15	44	0,75	1,29	1,98
pacient 16	44	0,97	1,43	2,02
pacient 17	49	0,86	1,49	2,15
pacient 18	50	0,88	1,62	2,36
pacient 19	35	0,79	1,08	1,62
pacient 20	49	0,81	1,39	1,99
pacient 21	45	0,81	1,58	2,52

Graf 1



Průměrná hodnota MgP = 0,88 mmol/l (0,80 – 1,05 mmol/l)

Průměrná hodnota MgE = 2,16 mmol/l (2,00 – 2,70 mmol/l)



# Obrázek 1

## SOLAAR M AA Report

Operator Name: Standard  
Results File: C:\SOLAAR\MDATA\Results.sir

Report Date: 1.4.2008 11:22:20

### General Parameters

Method : Mg v séru opt.  
Autosampler : None  
Use SFI: No

Operator : Barbořik

Instrument Mode: Flame  
Dilution: None

#### Description

Mg v séru a plně krvi po ředění 1:100 resp. 1:200

### Analysis Details

Analysis Name: Analysis 1998 3.3.2008  
Operator Name: Zápečová

Spectrometer: M Series 600288 v1,21

#### Description

MgE

### Lamp Information

Element(s)  
Ca Mg Zn

Serial Number  
B77837

mA Hours  
5007

Deuterium Lamp Hours: 1170,17

### Sample Details

No.	Sample Id	Nominal Mass: 1.0000 Sample Mass	Dilution Ratio
1	RD2	1.0000	1.0000
2	RD3	1.0000	2.0000
3	PP	1.0000	2.0000
4	PP repro.	1.0000	2.0000
5	1w	1.0000	4.0000
6	1p	1.0000	1.0000
7	2w	1.0000	4.0000
8	2p	1.0000	1.0000
9	3w	1.0000	4.0000
10	3p	1.0000	1.0000
11	4w	1.0000	4.0000
12	4p	1.0000	1.0000
13	RD2	1.0000	1.0000
14	PP	1.0000	2.0000
15	5w	1.0000	4.0000
16	5p	1.0000	1.0000
17	6w	1.0000	4.0000
18	6p	1.0000	1.0000
19	7w	1.0000	4.0000
20	7p	1.0000	1.0000
21	8w	1.0000	4.0000
22	8p	1.0000	1.0000
23	RD3	1.0000	2.0000
24	PP	1.0000	2.0000
25	9w	1.0000	4.0000
26	9p	1.0000	1.0000
27	10w	1.0000	4.0000
28	10p	1.0000	1.0000
29	11w	1.0000	4.0000
30	11p	1.0000	1.0000
31	12w	1.0000	4.0000
32	12p	1.0000	1.0000
33	PP repro	1.0000	2.0000
34	PP	1.0000	2.0000
35	13w	1.0000	4.0000
36	13p	1.0000	1.0000
37	14w	1.0000	4.0000
38	14p	1.0000	1.0000
39	15w	1.0000	4.0000
40	15p	1.0000	1.0000
41	16w	1.0000	4.0000
42	16p	1.0000	1.0000
43	RD2	1.0000	1.0000
44	PP	1.0000	2.0000
45	17w	1.0000	4.0000
46	17p	1.0000	1.0000
47	18w	1.0000	4.0000
48	18p	1.0000	1.0000
49	19w	1.0000	4.0000
50	19p	1.0000	1.0000
51	20w	1.0000	4.0000
52	20p	1.0000	1.0000
53	RD2	1.0000	1.0000

# Obrázek 2

## SOLAAR M AA Report

Operator Name: Standard  
Results File: C:\SOLAAR\MDATA\Results.slr

Report Date: 1.4.2008 11:22:20

### Sample Details

No.	Sample Id	Nominal Mass: 1.0000	Sample Mass	Dilution Ratio
54	RD3	1.0000	1.0000	2.0000
55	PP repro.	1.0000	1.0000	2.0000
56	21W	1.0000	1.0000	4.0000
57	21P	1.0000	1.0000	1.0000
58	1w opak.	1.0000	1.0000	4.0000
59	1p opak.	1.0000	1.0000	1.0000
60	19w opak	1.0000	1.0000	4.0000

### Spectrometer Parameters - Mg

Element: Mg  
Wavelength: 285,2nm  
Background Correction: D2  
Signal Type: Continuous  
Measurement Time: 4.0secs  
Use RSD Test: No

Measurement Mode: Absorbance  
Bandpass: 0,5nm  
High Resolution: Off  
Resamples: Fast  
Flter Mode: No

Lamp Current: 75%  
Optimise Spectrometer Parameters: No  
Number Of Resamples: 1

### Flame Parameters - Mg

Flame Type: Air-C2H2  
Nebuliser Uptake: 4secs  
Burner Height: 8,6mm

Fuel Flow: 1,0L/min  
Burner Stabilisation: 0mins  
Optimise Burner Height: No

Auxiliary Oxidant: Off  
Optimise Fuel Flow: No

### Sampling Parameters - Mg

Sampling: None

### Calibration Parameters - Mg

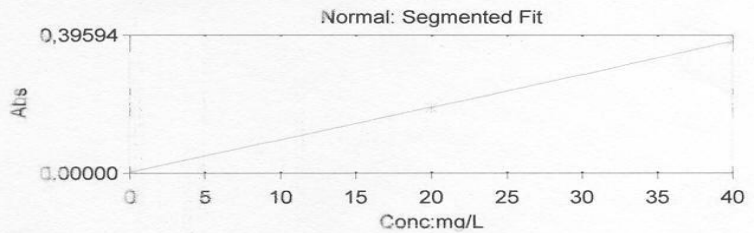
Calibration Mode: Normal  
Concentration Units: mg/L  
Excess Curvature Limits: -10% to +20%  
Standard 1 20,0

Line Fit: Segmented Curve  
Scaled Units: mg/L  
Rescale Limit: 10.0%

Use Stored Calibration: No  
Scaling Factor: 1,0000  
Failure Action: Flag and Continue  
Standard 2 40,0

### Solution Results - Mg

Min Curvature: 0%  
Max Curvature: 0%



Sample ID	Signal Abs	Rsd %	Conc mg/L	Corrected Conc mg/L	mmol/L	MgE	HCT
Mg Blank	0,0015		0,0	0,04114			
Mg Standard 1	0,1880		20,0				
Mg Standard 2	0,3772		40,0				
Mg RD2	0,2177		23,2	23,2	(21,1 - 26,1)		
Mg RD3	0,2001		21,3	42,6	(38,2 - 46,4)		
Mg PP	0,2001		21,3	42,6	(40, - 47,4)		
Mg PP repro.	0,2008		21,4	42,7	(40,8 - 42,7)		
Mg 1w	0,0710		7,4	29,8	1,23		
Mg 1p	0,1842		19,6	19,6	0,81	1,81 op.	42%
Mg 2w	0,0855		9,0	36,0	1,48	2,09	41%

Obrázek 3

**SOLAAR M AA Report**

Operator Name: Standard

Results File: C:\SOLAARMDATA\Results.sir

Report Date: 1.4.2008 11:22:20

**Solution Results - Mg**

Sample ID	Signal Abs	Rsd %	Conc ma/L	Corrected Conc ma/L		
Mg 2p	0,2243 0.2243		23,9 23.9	23,9	0,98	
Mg 3w	0,0900 0.0900		9,5 9.5	38,0	1,76	2,30 47%
Mg 3p	0,2054 0.2054		21,9 21.9	21,9	0,90	
Mg 4w	0,0899 0.0899		9,5 9.5	37,9	1,76	2,27 49%
Mg 4p	0,1999 0.1999		21,3 21.3	21,3	0,88	
Mg RD2	0,2184 0.2184		23,2 23.2	23,2		
Mg PP	0,2026 0.2026		21,6 21.6	43,1		
Mg 5w	0,0875 0.0875		9,2 9.2	36,9	1,72	47%
Mg 5p	0,1955 0.1955		20,8 20.8	20,8	0,86	2,33
Mg 6w	0,0923 0.0923		9,7 9.7	38,9	1,60	46%
Mg 6p	0,2255 0.2255		24,0 24.0	24,0	0,99	2,32
Mg 7w	0,0975 0.0975		10,3 10.3	41,2	1,69	2,41 52%
Mg 7p	0,2079 0.2079		22,1 22.1	22,1	0,91	
Mg 8w	0,0859 0.0859		9,1 9.1	36,2	1,49	2,32 42%
Mg 8p	0,2040 0.2040		21,7 21.7	21,7	0,89	
Mg RD3	0,2000 0.2000		21,3 21.3	42,6		
Mg PP	0,2017 0.2017		21,5 21.5	42,9		
Mg 9w	0,0930 0.0930		9,8 9.8	39,3	1,69	2,39 48%
Mg 9p	0,2068 0.2068		22,0 22.0	22,0	0,91	
Mg 10w	0,0781 0.0781		8,2 8.2	32,8	1,37	1,88 47%
Mg 10p	0,2014 0.2014		21,4 21.4	21,4	0,88	
Mg 11w	0,0764 0.0764		8,0 8.0	32,1	1,32	1,97 41%
Mg 11p	0,2009 0.2009		21,4 21.4	21,4	0,88	
Mg 12w	0,0866 0.0866		9,1 9.1	36,5	1,70	2,12 47%
Mg 12p	0,2259 0.2259		24,0 24.0	24,0	0,99	
Mg PP repro	0,2002 0.2002		21,3 21.3	42,6		
Mg PP	0,2010 0.2010		21,4 21.4	42,8		

Obrázek 4

**SOLAAR M AA Report**

Operator Name: Standard

Report Date: 1.4.2008 11:22:20

Results File: C:\SOLAAR\M\DATA\Results.sir

**Solution Results - Mg**

Sample ID	Signal Abs	Rsd %	Conc mg/L	Corrected Conc mg/L			
Mg 13w	0,0757		8,0	31,8	1,31		42%
	0.0757	3.3.2008 10:17:50					
Mg 13p	0,1920		20,4	20,4	0,84	1,96	
	0.1920	3.3.2008 10:18:33					
Mg 14w	0,0852		9,0	35,9	1,48		38%
	0.0852	3.3.2008 10:19:11					
Mg 14p	0,1981		21,1	21,1	0,87	2,48	
	0.1981	3.3.2008 10:19:48					
Mg 15w	0,0747		7,8	31,4	1,29		44%
	0.0747	3.3.2008 10:20:29					
Mg 15p	0,1716		18,2	18,2	0,75	1,98	
	0.1716	3.3.2008 10:21:08					
Mg 16w	0,0827		8,7	34,8	1,43		44%
	0.0827	3.3.2008 10:21:49					
Mg 16p	0,2216		23,6	23,6	0,97	2,02	
	0.2216	3.3.2008 10:22:25					
Mg RD2	0,2169		23,1	23,1			
	0.2169	3.3.2008 10:23:07					
Mg PP	0,2006		21,4	42,7			
	0.2006	3.3.2008 10:23:38					
Mg 17w	0,0858		9,0	36,1	1,49		49%
	0.0858	3.3.2008 10:27:34					
Mg 17p	0,1977		21,0	21,0	0,86	2,15	
	0.1977	3.3.2008 10:28:25					
Mg 18w	0,0935		9,9	39,4	1,62		50%
	0.0935	3.3.2008 10:29:06					
Mg 18p	0,2011		21,4	21,4	0,88	2,36	
	0.2011	3.3.2008 10:29:48					
Mg 19w	0,0628		6,6	26,3	1,08		37%
	0.0628	3.3.2008 10:30:27					
Mg 19p	0,1803		19,2	19,2	0,79	1,62	
	0.1803	3.3.2008 10:31:17					
Mg 20w	0,0801		8,4	33,7	1,39		49%
	0.0801	3.3.2008 10:32:01					
Mg 20p	0,1851		19,7	19,7	0,81	1,99	
	0.1851	3.3.2008 10:32:38					
Mg RD2	0,2262		24,1	24,1			
	0.2262	3.3.2008 10:33:17					
Mg RD3	0,2062		21,9	43,9			
	0.2062	3.3.2008 10:34:12					
Mg PP reprod.	0,2069		22,0	44,0			
	0.2069	3.3.2008 10:35:00					
Mg 21W	0,0908		9,6	38,3	1,58		47%
	0.0908	3.3.2008 10:35:57					
Mg 21P	0,1859		19,8	19,8	0,81	2,52	
	0.1859	3.3.2008 10:36:52					
Mg 1w opak.	0,0726		7,6	30,5			
	0.0726	3.3.2008 10:37:58					
Mg 1p opak.	0,1786		19,0	19,0			
	0.1786	3.3.2008 10:38:53					
Mg 19w opak	0,0637		6,7	26,7			
	0.0637	3.3.2008 10:39:40					

## 6. Diskuse

Soubor vzorků od 21 pacientů byl analyzován metodou FAAS na obsah hořčíku v krevní plazmě (MgP) a v erytrocytech (MgE). Získané hodnoty ukazují, že zvolená metoda je ke stanovenému účelu metodou vhodnou. Jak je patrné z grafu 1, závislost hladin hořčíku v plazmě a hořčíku v erytrocytech není jednoznačná. Naprostá většina hodnot MgP je v rozmezí referenčních hodnot 0,80 – 1,05 mmol/l. Jinak je tomu u hodnot MgE, kde se celá třetina naměřených dat pohybuje pod dolní referenční mezí. Zajímavé je porovnání průměrných hodnot MgP a MgE, kdy se ukazuje, že zatímco průměrná hodnota MgP leží blíže horní meze referenčního intervalu, je průměrná hodnota MgE velice blízko dolní meze referenčního intervalu. Uvedené skutečnosti potvrzují již uvedený fakt, že hodnota MgE, která dává informaci o hladině hořčíku v intracelulárním prostoru, je nenahraditelným údajem pro zjištění celkové saturace organismu hořčíkem. Zde je třeba zdůraznit, že na naměřené hodnoty je pohlíženo z čistě laboratorního hlediska. Pro hlubší analýzu korelace mezi hodnotami MgE a MgP by bylo třeba znát klinický stav každého pacienta a terapii, jež mu je indikována. Tyto údaje však nebyly k dispozici.

## 7. Závěr

Tato bakalářská práce se zabývá metodou plamenové atomové absorpční spektrometrie, která byla použita pro stanovení hořčíku v erytrocytech. Byl popsán princip i instrumentace FAAS, dále pak vlastnosti a funkce hořčíku v organismu. Metoda byla použita ke stanovení hořčíku v erytrocytech v reálných vzorcích od pacientů a u těchto vzorků bylo provedeno s porovnání hladin hořčíku v plazmě a erytrocytech.

Jak již bylo zmíněno, má hladina hořčíku v erytrocytech ve velkém počtu případů vyšší vypovídající hodnotu, než prostá hladina tohoto kovu v krevní plazmě, popřípadě v moči, o čemž mě přesvědčuje i ten fakt, že od zavedení stanovení hořčíku v erytrocytech stoupl počet vyšetřovaných pacientů.

## Literatura

---

<sup>1</sup> Atomová absorpční spektrometrie, sborník přednášek z kurzu 9. – 11.6. 1997 v Komorní Lhotce, 2THETA, Praha, 1998

<sup>2</sup> I. Kubeška, B. Moldon, Atomová absorpční spektrofotometrie, SNTL, Praha, 1967

<sup>3</sup> [http://fzp.ujep.cz/ktv/uc\\_texty/inan/inan\\_3.doc](http://fzp.ujep.cz/ktv/uc_texty/inan/inan_3.doc)

<sup>4</sup> Pavel Klouda, Moderní analytické metody, Pavel Klouda, Ostrava, 2003

<sup>5</sup> SOP/SOP pro laboratorní vyšetření OKB olomouc, Stanovení Mg v plazmě, v hemolyzátu FAAS

<sup>6</sup> Pracovní instrukce, OKB FN Olomouc, Mikrohematokrit – stanovení pro vyšetření Mg v erytrocytech

<sup>7</sup> Strumia, M.M., Hample, Hart, E.D. "An improved microhematocrit method. Amer. J. Clin. Patol., 24, 1954. s 1016