

This article was downloaded by:

On: 18 January 2011

Access details: Access Details: Free Access

Publisher Taylor & Francis

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



International Journal of Environmental Analytical Chemistry

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713640455>

Sur Une Nouvelle Méthode de Mesure Quantitative Du Cadmium Assimilé Par Des Embryons De Poulet

J. Gottofrey^a

^a Département D'Embryologie et De Teratologie Experimentales, Institut de Biologie Animale Faculte des Sciences, Fribourg, Switzerland

To cite this Article Gottofrey, J.(1984) 'Sur Une Nouvelle Méthode de Mesure Quantitative Du Cadmium Assimilé Par Des Embryons De Poulet', International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 17: 1, 43 — 56

To link to this Article: DOI: 10.1080/03067318408076967

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/03067318408076967>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

Sur Une Nouvelle Méthode de Mesure Quantitative Du Cadmium Assimilé Par Des Embryons De Poulet[†]

J. GOTTOFREY

Departement D'Embryologie et De Teratologie Experimentales Institut de Biologie Animale Faculte des Sciences CH—1700 Fribourg (Switzerland)

(Received September 12, 1983)

Nous avons développé une méthode de solubilisation du cadmium contenu dans du matériel biologique contaminé. A cet effet, nous avons imaginé et construit un appareillage assez imposant permettant de traiter jusqu'à 42 échantillons simultanément. Ce "digesteur" est composé de deux bains de sable chauffés, de deux supports latéraux sur lesquels les solutions peuvent refroidir, et d'un système d'évacuation des vapeurs toxiques formées. Suite à une minéralisation par voie humide avec $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, les déterminations cadmiques sont effectuées par spectrophotométrie d'absorption atomique.

La fiabilité de cette technique a été testée avec des embryons de poulets âgés de 17 jours dans lesquels nous avons injecté une quantité connue de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$.

Nous avons comparé notre méthode avec une technique de minéralisation par voie sèche. Cette dernière engendre des pertes inacceptables pour les problèmes que nous étudions. Les résultats obtenus grâce à notre méthode sont beaucoup plus précis et les pertes insignifiantes.

KEY WORDS: Chick embryo, Cadmium, Solubility, Atomic absorption spectrophotometry.

[†]Presented at the Workshop on "Carcinogenic and/or Mutagenic Metals (Environmental Chemistry, Analytics, Biological Effects)", Geneva, 13th Sept. 1983.

1. INTRODUCTION

En raison des nombreuses questions et problèmes non résolus que pose le cadmium, notamment sa toxicité pour l'embryon, nous avons développé la technique décrite ci-après.

Nous nous sommes intéressé à une technique simple et pratique de contamination d'oeufs de poule qui soit suffisamment précise. Par l'application de cette technique, il nous a été possible de déterminer la répartition du cadmium, d'une part entre le vitellus et l'albumen dans les oeufs contaminés, et d'autre part dans l'embryon lui-même. Nous avons également pu déterminer l'assimilation du cadmium par l'embryon et, dans une certaine mesure, son excrétion. Enfin, nous avons établi une méthode permettant la mesure quantitative du cadmium dans des échantillons biologiques, et faisant l'objet de cet article. A cet effet, nous avons également élaboré un appareillage adéquat.

2. MATÉRIEL

Des oeufs de poule de race Hubbard, provenant d'un élevage en batterie de poules inséminées artificiellement, et contaminés par diverses méthodes et diverses solutions de cadmium, ont été utilisés pour nos expériences. Les embryons eux-mêmes ont été étudiés après 17 jours d'incubation.

3. MÉTHODE

La plupart des méthodes de mesure du cadmium (titration complexométrique, microchimie, spectrophotométrie d'émission d'arc en courant continu, spectrophotométrie d'émission d'étincelles, spectrophotométrie de fluorescence atomique, méthode par fluorescence aux rayons X, polarographie, activation par neutrons,...) n'étant en général pas assez sensibles, nous avons effectué les analyses cadmiques par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Mais afin de pouvoir exploiter les avantages de la spectrophotométrie d'absorption atomique, il est nécessaire

auparavant d'amener en solution le cadmium présent les échantillons à analyser.

Dans ce but, nous minéralisons nos échantillons par voie humide selon une méthode décrite par Mueller et al.,¹ modifiée et adaptée dans nos laboratoires par nous-même. Afin de comparer cette méthode avec une autre voie de solubilisation du cadmium, nous incinérons trois séries d'échantillons.

3.1. Minéralisation par voie humide

De nombreux laboratoires n'ont pas encore totalement maîtrisé toutes les difficultés rencontrées lors de la détermination du cadmium dans des échantillons biologiques.² L'un des principaux obstacles réside en une nécessaire solubilisation sans perte de cadmium. La détermination exacte d'une très faible teneur en métal d'un tissu organique nécessite la destruction totale de ce dernier. Nous inspirant de méthodes de chimie alimentaire³ et principalement de la méthode de détermination du plomb dans les aliments de Mueller et al.,¹ nous minéralisons nos échantillons (oeufs, albumen, vitellus, embryons entiers, organes d'embryons) par voie humide avec $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$. Nous avons minéralisé au préalable 30 cigarettes de trois marques différentes par la même méthode. Les teneurs en cadmium mesurées par la suite au spectrophotomètre d'absorption atomique concordent parfaitement avec celles indiquées dans la littérature.^{2,4,5}

3.1.1. Principe

Le principe de cette minéralisation consiste à dissoudre totalement, à "digérer", l'échantillon par une solution acide et possédant un fort pouvoir oxydant. Le cadmium peut alors être dosé dans le minéralisat par spectrophotométrie d'absorption atomique.

3.1.2. Méthode

Réactifs:— HNO_3 fumant 100% (env. 1.52) p.a. (Merck);
—perhydrol 30% H_2O_2 p.a. (Merck).

Après avoir soigneusement pesé l'échantillon, nous le mettons dans

un récipient en verre. Puis 50 ml d'acide nitrique concentré p.a. sont versés prudemment sur cet échantillon (nous avons constaté que, pour éviter une réaction trop violente, des échantillons lyophilisés ne doivent absolument pas être traités de la sorte sans que l'on y ait préalablement ajouté un peu d'eau déminéralisée). Après quelques minutes, nous ajoutons 2 ml d'eau oxygénée p.a. à 30%. Cette solution est mise dans un bain de sable chauffé, puis elle est maintenue à ébullition jusqu'à réduction du volume de moitié environ. Après refroidissement de la solution, nous y rajoutons 10 ml d'acide nitrique concentré et 2 ml d'eau oxygénée, puis nous la portons à nouveau à ébullition. Cette opération est répétée deux fois. Puis la solution est évaporée grâce au bain de sable à environ 25 ml, transvasée dans un ballon jaugé où elle est complétée à 50 ml avec de l'eau déminéralisée, et enfin filtrée sous vide avec un entonnoir de Buchner.

Au total, nous avons donc utilisé 80 ml d'acide nitrique concentré et 8 ml de peroxyde d'hydrogène pour dissoudre chaque échantillon. Pour quelques organes moins importants minéralisés séparément (appareil urogénital, cerveau, cœur, yeux), nous n'avons employé que la moitié des quantités indiquées ci-dessus.

Jusqu'à ce que la solution refroidie soit filtrée, toutes les opérations, nécessitant six à huit heures, ont pu être réalisées grâce à un appareillage que nous avons dû mettre au point et que nous décrivons dans les pages qui suivent (Fig. 1 et 2).

Toute la verrerie utilisée est rincée à l'acide nitrique concentré, puis à l'eau déminéralisée.

Ainsi que pour la méthode d'incinération, parallèlement à chaque série d'échantillons, nous faisons un essai à blanc dans les mêmes conditions avec les seuls réactifs. La valeur de cet essai à blanc, mesurée par spectrophotométrie d'absorption atomique, est ensuite déduite de celles des échantillons.

3.1.3. Appareillage

Afin de minéraliser une grande quantité d'échantillons, le temps nécessité par les opérations de "digestion" étant relativement long, nous avons imaginé et construit un appareillage assez imposant, permettant de traiter jusqu'à 42 échantillons simultanément (Fig. 1 et 2).

Ce "digesteur" est composé de trois parties essentielles (Fig. 1). Il

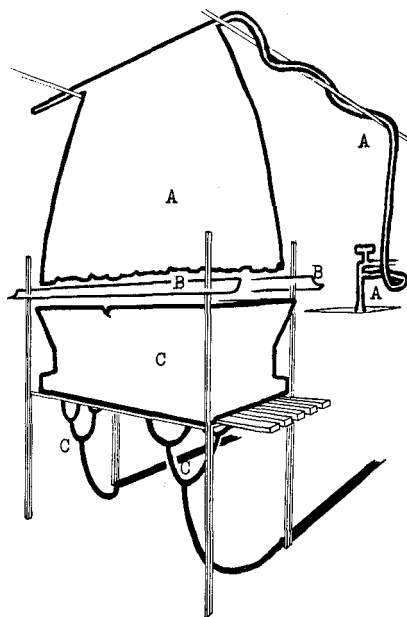


FIGURE 1 Schéma du digesteur: A, système d'évacuation des vapeurs; B, supports latéraux pour les solutions; C, source de chaleur (bains de sable).

s'agit de deux bains de sable chauffés par des becs Bunsen, de deux supports latéraux sur lesquels les solutions peuvent refroidir, et enfin d'un système d'évacuation des vapeurs toxiques formées par l'acide nitrique à ébullition.

Chaque bain de sable, contenu dans des cuves métalliques épaisses, et chauffé à environ 300°C par cinq becs Bunsen, est posé sur des briques réfractaires, elles-mêmes situées sur cinq barres métalliques (Fig. 2). Les interstices entre les cinq barres de métal laissent passer les tuyaux amenant le gaz. Pour des raisons évidentes de sécurité, il est en effet nécessaire que ceux-ci arrivent sous la table afin d'être éloignés le plus possible de la source de chaleur. En outre, vu la chaleur considérable dégagée par les becs Bunsen pour chauffer le sable, nous avons isolé les tuyaux en caoutchouc amenant le gaz par une couche isolante de 8 cm de Vetroflex doublée de papier d'aluminium réfléchissant la chaleur vers le haut. Le tout est monté sur une table métallique.

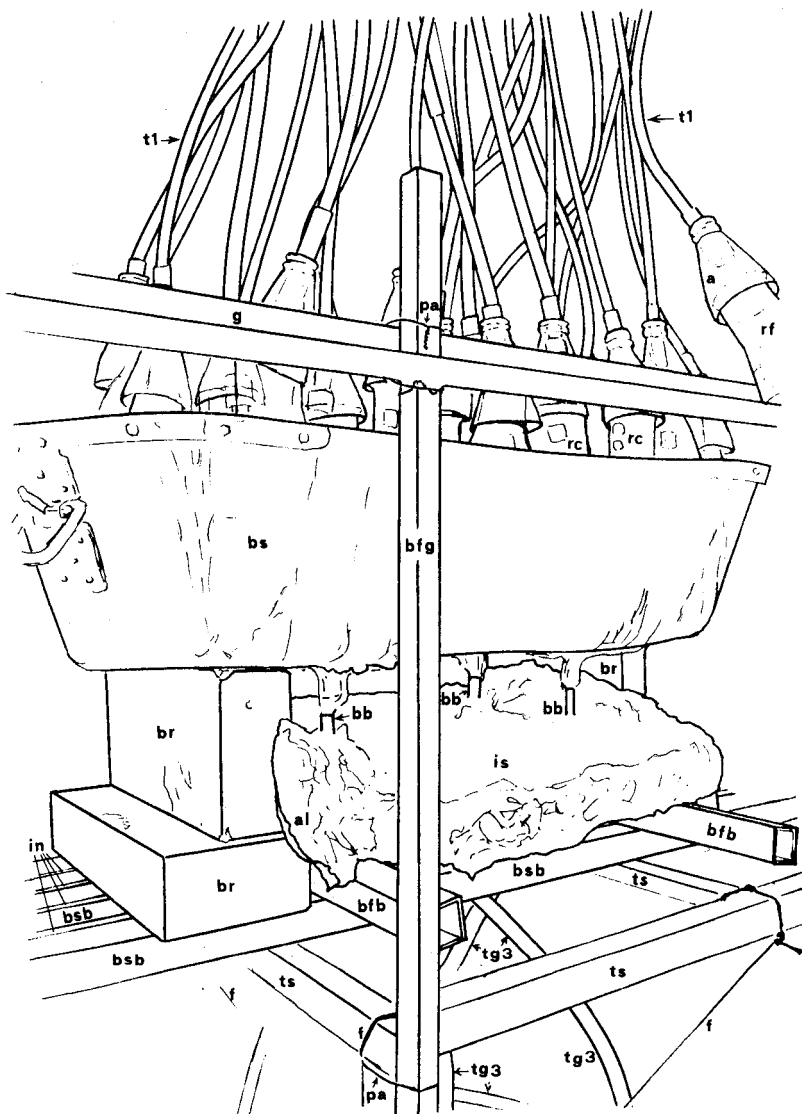


FIGURE 2 Source de chaleur du digesteur: a, adaptateur du système collecteur de vapeurs aux récipients utilisés (demi-bouteille de bière); al, papier d'aluminium; bb, becs Bunsen; bfb, barres de fixation des becs Bunsen; bfg, barre de fixation d'une gouttière de support; br, briques réfractaires; bs, bain de sable (cuve métallique contenant du sable); bsb, barres de support des baigns de sable; f, ficelle soutenant les tuyaux d'arrivée du gaz; g, gouttière de support pour les solutions se refroidissant; in, interstices servant au passage des tuyaux tertiaires d'arrivée du gaz; is, couche isolante (Vetroflex doublé de papier d'aluminium); pa, point d'attache par fil de fer; rc, récipients (Bechers) sur bain de sable; rf, récipient (Erlenmeyer) dont la solution se refroidit; t1, tuyaux souples en plastique du système d'aspiration des vapeurs aromatiques; tg3, tuyaux tertiaires d'arrivée du gaz; ts, table métallique de support (armature en métal sans plateau).

D'autre part, aux endroits où l'on aurait pu, par mégarde, se heurter aux tuyaux d'arrivée du gaz, ces derniers étaient protégés à l'intérieur de grosses barres métalliques creuses solidement fixées au sol et aux pieds de la table (Fig. 1).

Une autre partie extrêmement importante consiste en un système permettant d'une part d'aspirer les vapeurs dangereuses s'échappant lors de l'ébullition des solutions d'acide nitrique et de peroxyde d'hydrogène, et d'autre part de les dissoudre dans de l'eau (Figure 1). Un tuyau souple en plastique résistant aux vapeurs d'acides forts est fixé à une trompe à eau unique. A l'autre extrémité de ce tuyau un tube en PVC, percé de quarante-deux ouvertures, est fixé à environ 2.30 mètres du sol, à la verticale des deux bains de sable (Figure 3). L'extrémité opposée de ce tuyau collecteur rigide est fermée par un bouchon résistant aux vapeurs d'acides forts. Dans chacune des quarante-deux petites ouvertures est solidement fixé un petit tube de la même matière rigide, dont le diamètre s'accorde parfaitement à l'ouverture de manière à y être solidement fixé sans l'aide de colle. De chacun de ces petits tubes rigides part un autre tuyau souple, également résistant aux vapeurs d'acides forts. Enfin, à l'extrémité de chacun de ces tuyaux souples descendant vers les bains de sable est fixé, par un jeu de rondelles de tuyaux plastiques, la partie supérieure d'une bouteille de bière coupée en deux (Figure 2). Nous avons coupé ces bouteilles à l'aide d'une scie-diamants. Ainsi, il suffit de poser la demi-bouteille sur le récipient où chauffe la solution d'acide et d'eau oxygénée et de faire le vide par la trompe à eau pour que les vapeurs de cette solution soient collectées et amenées jusqu'au robinet où elles se dissolvent dans l'eau. Grâce à la forme évasée de la demi-bouteille de bière, ce système collecteur

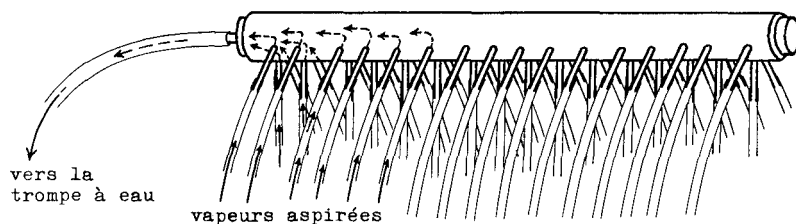


FIGURE 3 Tube collecteur (PVC) des vapeurs toxiques.

s'adapte sans problème à tous les diamètres de Bechers ou Erlenmeyers utilisés.

Enfin, la dernière partie importante de cet appareillage consiste en deux gouttières métalliques fixées de chaque côté des baigns de sable à des barres métalliques verticales (Figures 1 et 2). Ces barres verticales sont elles-mêmes attachées aux pieds de la table de support. Ces deux gouttières servent de support aux récipients dans lesquels les solutions refroidissent.

3.2 Fiabilité de cette méthode

Afin de tester la fiabilité de cette méthode de minéralisation dans $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, nous l'avons utilisée pour évaluer une quantité connue de cadmium préalablement injectée dans 11 embryons de poulet.

3.3 Incinération d'échantillons

Trois séries d'embryons, dont chacune est caractérisée par une méthode de contamination cadmique, un sel de cadmium, un solvant et une concentration déterminée, sont réduites en cendres dans un four à incinération. Chaque embryon est mis dans un creuset en porcelaine émaillé préalablement lavé avec de l'acide nitrique concentré p.a. (Merck). Puis le tout est lentement séché durant une heure sur la flamme d'un bec Bunsen. Finalement, l'embryon est chauffé à 550°C durant environ vingt-quatre heures dans l'incinérateur jusqu'à l'obtention de cendres blanches.

Celles-ci sont dissoutes dans 20 ml d'acide chlorhydrique fumant p.a. (Merck). Puis nous ajoutons 10 ml d'acide acétique 96% p.a. (Merck) et 10 ml d'eau déminéralisée. Le tout est ensuite filtré sous vide au moyen d'un entonnoir de Buchner. Enfin nous complétons la solution avec de l'eau déminéralisée jusqu'à 50 ml dans un ballon jaugé.

Par mesure de précaution, le filtre et le résidu sont minéralisés par voie humide selon la méthode décrite ci-dessous.

3.4 Mesures au spectrophotomètre d'absorption atomique

Suite à l'incinération ou à la minéralisation par voie humide avec

$\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, toutes les déterminations cadmiques sont effectuées par spectrophotométrie d'absorption atomique.

3.4.1. Appareil

Nous avons utilisé un spectrophotomètre d'absorption atomique Perkin-Elmer modèle 305 avec brûleur à trois fentes (acétylène/air) et compensateur au deutérium.

3.4.2. Conditions de mesures

Longueur d'onde	: 228.8 nm-UV
Fente	: no 4 (7 Å)
Source lumineuse	: lampe à cathode creuse
Courant	: 11 mA
Flamme	: C_2H_2 —Air (flamme oxydante bleue)

3.4.3. Méthode

Nous effectuons le dosage du cadmium par spectrophotométrie d'absorption atomique de tous nos échantillons en employant la méthode d'addition.

3.4.4 Sensibilité et limite de détection

La spectrophotométrie d'absorption atomique permet une très bonne détermination du cadmium, et ceci pratiquement sans interférences chimiques. Dans notre cas, la limite de détection est $0.025 \mu\text{g Cd/ml}$.

3.4.5. Interférences et méthode d'addition

L'une des principales difficultés rencontrée lors des mesures par spectrophotomètre d'absorption atomique réside en l'interférence produite par l'échantillon dissous. En général, cette interférence, variable à cause de la complexité de l'échantillon mesuré, est due à la chélation de l'anion métallique formant ainsi un complexe qui ne peut être dissocié dans la flamme acétylène-air. Des différences de viscosité des solutions à analyser peuvent également causer des problèmes. De plus, quelques produits, assez rares il est vrai, tel le silicone par exemple, peuvent interférer avec le dosage de cadmium.

Ces problèmes d'interférences chimiques ou spectrales, dus à la solution même à analyser, ainsi que de nombreux autres d'origine

inconnue, peuvent être détectés et résolus par la méthode d'addition.⁶

Ainsi, pour plus de sûreté, nous avons décidé d'utiliser cette méthode, et par la suite, nous avons constaté que ce choix était tout-à-fait judicieux.

4. RÉSULTATS

4.1. Fiabilité de la méthode de minéralisation par voie humide avec $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$.

$50 \mu\text{g Cd}^{++}$ sous forme d'une solution de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ont été injectés dans des embryons âgés de 17 jours.

Nombre d'embryons	: 11
Cadmium injecté	: $x = 50.00 \quad \mu\text{g Cd}^{++}$
Cadmium mesuré	: $x = 49.65 \pm 0.50 \mu\text{g Cd}^{++}$
Pertes	: $\Delta x = 0.35 \pm 0.50 \mu\text{g Cd}^{++}$
	$\frac{\Delta x}{x_{\text{injecté}}} = 0.7 \pm 1\%$

4.2. Comparaison des méthodes d'incinération et de minéralisation par voie humide avec $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$.

Les conditions d'intoxication cadmique des embryons prélevés après 17 jours d'incubation, et les teneurs en cadmium (x) mesurées dans ceux-ci après incinération (inc) pour les uns, ou minéralisation (min) par voie humide dans $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ pour les autres, sont indiquées dans le tableau I.

Ainsi, nous pouvons constater que l'erreur relative sur la mesure de la teneur en cadmium est nettement plus importante lorsque les embryons sont incinérés que lorsqu'ils sont minéralisés par voie humide dans $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$. De plus, $x_{\text{inc}}/x_{\text{min}}$ valant en moyenne $31 \pm 7\%$, la méthode d'incinération engendre donc une perte moyenne de cadmium de $69 \pm 7\%$ par rapport à la minéralisation.

5. DISCUSSION ET CONCLUSION

Afin d'étudier la toxicité du cadmium pour l'embryon de poulet,

TABLEAU I

Comparaison des méthodes d'incinération et de minéralisation par voie humide avec $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$. Les oeufs ont été immergés durant 4 heures dans une solution de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ puis mis en incubation. Au 17ème jour, les embryons ont été prélevés et analysés.

	Série A	Série B	Série C
Solvant	H_2O	H_2O	alcool
Concentration de Cd^{++}	0.1%	1%	0.1%
Embryons minéralisés	10	10	12
x_{\min} [$\mu\text{g Cd}^{++}$]	37.7 ± 7.2	81.8 ± 14.8	23.2 ± 1.9
$\frac{dx_{\min}}{x_{\min}}$ [%]	19	18	8
Embryons incinérés	10	10	12
x_{inc} [$\mu\text{g Cd}^{++}$]	12.6 ± 4.2	28.4 ± 9.7	6.1 ± 2.4
$\frac{dx_{\text{inc}}}{x_{\text{inc}}}$ [%]	33	34	39
$\frac{x_{\text{inc}}}{x_{\min}}$ [%]	33 ± 13	35 ± 13	26 ± 11

nous devons mesurer de faibles teneurs en cadmium d'oeufs contaminés ainsi que des embryons qui s'y étaient développés, par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Les pertes de cadmium lors de l'incinération d'embryons se sont révélées inacceptables pour les problèmes étudiés dans notre laboratoire. Aucune trace de ce métal n'ayant été détectée par la suite, ni dans les résidus laissés par les cendres de ces embryons, ni dans les filtres utilisés, nous pouvons affirmer que ces pertes se sont principalement produites par vaporisation de cadmium porté 24 heures à 550°C lors de l'incinération.

Nous avons donc été amené à développer une méthode de solubilisation sans perte du cadmium qui s'est révélée nettement plus précise que la méthode d'incinération. Le "digesteur" que nous avons imaginé et construit nous a donné entière satisfaction.

Lors de la purification des solutions résultantes, les pertes de cadmium dans les filtres sont tout-à-fait négligeables ($0.7 \pm 1.0\%$), et de plus, trop aléatoires pour être prises en considération. Elles varient normalement entre 0.0 et 1.0%, mais peuvent parfois être

relativement plus importantes lorsque la quantité de cadmium dans la solution à filtrer est faible. Cette éventuelle erreur relative plus importante est alors rendue insignifiante par le calcul des moyennes.

Le choix de la méthode d'addition s'est révélé tout-à-fait judicieux, vu les interférences chimiques ou spectrales dues aux nombreuses substances dissoutes dans les solutions à analyser lors de la minéralisation par voie humide des divers échantillons. Ainsi, grâce à la nécessaire méthode d'addition, au compensateur- D_2 du spectrophotomètre d'absorption atomique, et à l'essai à blanc mesuré parallèlement aux échantillons, toutes les interférences chimiques, physiques et spectrales ont pu être facilement compensées.

Ainsi, la méthode de minéralisation par voie humide utilisée et la spectrophotométrie d'absorption atomique se sont avérées assez pratiques et précises pour permettre un titrage du cadmium dans n'importe quel matériel biologique. Ceci permet de nombreuses applications dans l'étude tératologique du cadmium. Nous avons ainsi pu mesurer la répartition du cadmium entre le vitellus et l'albumine des oeufs lors d'une contamination par immersion de ces derniers. Un autre exemple extrêmement intéressant de l'application des méthodes citées plus haut est donné par l'étude de la distribution du cadmium dans l'organisme d'embryons contaminés. Ces deux exemples feront l'objet de publications ultérieures.

En conclusion, notre méthode de minéralisation par voie humide dans HNO_3/H_2O_2 , alliée à la spectrophotométrie d'absorption atomique, ouvre de nombreux horizons. Cette méthode pourrait évidemment aussi être envisagée pour d'autres métaux lourds, et appliquée à n'importe quelle espèce animale ou végétale.

Bibliographie

1. U. Mueller, E. Hauser, A. Kappeler, E. Merck, K. Steiner et H. Windemann, *Mitt. Gebiete lebensm. Hyg.* **68**, 126 (1977).
2. R. Lauwerys, *Criteria (dose/effect relationships) for cadmium* (Pergamon Press, Oxford, New York, Toronto, Sydney, Paris, Frankfurt, 1978), Chap. 4, pp. 25-42.
3. *Schweizerisches Lebensmittelbuch* (EDMZ Verlag, Bern, 1979), chap. 45, pp. 1-68.
4. E. E. Menden, V. J. Elia, L. W. Michael et H. G. Petering, *Environ. Sc. Technol.* **6**, 830 (1972).
5. D. T. Wescott et D. Spincer, *Tabakforschung* **7**, 217 (1974).
6. B. Welz, *Atom-Absorptions-Spektroskopie* (Verlag Chemie, Weinheim, 1975), 3rd ed., Chap. 6, pp. 99-138.

We attempted to determine the quantity of cadmium incorporated in hens eggs after immersion in cadmium solutions, and the cadmium concentration measured in embryos. We discussed equipment allowing simultaneous treatment of up to 42 samples, and called it "digestor". It consisted of two gas-heated sand baths, two stands for cooling down solutions and an evacuation system for toxic vapours.

Our method was based on wet mineralisation. It consisted of desintegrating experimental chick embryos in a $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ mixed solution. After heating and evaporating, the quantity of cadmium in the remnant was determined by atomic absorption spectrophotometry. The reliability of such a technique was tested by studying as controls 17 days-old chick embryos injected with a known quantity of $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$. It showed no loss of cadmium.

We also compared our procedure with a dry ashing method. The latter showed unacceptable losses and insufficient precision for the problems we wanted to investigate. Our method gave us much more precise results.

The equipment we developed has functioned wholly satisfactorily and allowed us to investigate for instance cadmium distribution and concentration in embryonic organs of 17 days-old chicks. It could also be useful for researches concerning other biological samples analyzed for different heavy metals.

