

Tesis de Posgrado

Acerca del contenido en fluor de hortalizas (lechuga, radicheta) y frutos (tomate) cultivados en suelos artificialmente regados con solución de fluoruro

Jäger, Ilsa Rosina

1957

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Jäger, Ilsa Rosina. (1957). Acerca del contenido en fluor de hortalizas (lechuga, radicheta) y frutos (tomate) cultivados en suelos artificialmente regados con solución de fluoruro. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0927_Jager.pdf

Cita tipo Chicago:

Jäger, Ilsa Rosina. "Acerca del contenido en fluor de hortalizas (lechuga, radicheta) y frutos (tomate) cultivados en suelos artificialmente regados con solución de fluoruro". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1957.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0927_Jager.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

1.19.3

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

"ACERCA DEL CONTENIDO EN FLUOR DE HORTALIZAS
(LECHUGA, RADICHETA) y FRUTOS (TOMATE) CUL-
TIVADOS EN SUELOS ARTIFICIALMENTE REGADOS
CON SOLUCION DE FLUORURO".

Rev. de Tesis: 927

Resumen de la
Tesis presentada por
Ilsa Rosina Jäger

para optar al título de Doctor en Química
(Orientación Analítica)

-Año 1957-

El trabajo de tesis presentado se refiere a la determinación cuantitativa del contenido en flúor de hortalizas, en particular lechuga (*Lactuca sativa*, variedad criolla blanca) y radicheta (*Cichorium intybus*, variedad fina de cortar) y frutos, de los cuales se eligió el tomate (*Lycopersicum esculentum*, variedad San Marzano), cultivados en suelos artificialmente regados con solución de fluoruro, cuyo principal objeto ha sido establecer la medida en que se fija el flúor procedente de los suelos. Como líquido de riego se empleó una solución de FNa (conteniendo 5 mg F⁻/l). Tanto la lechuga, la radicheta, como también las plantas de tomate fueron cultivadas en un cantero aislado (localidad de Florida, Provincia de Buenos Aires) a fin de facilitar el riego artificial. Este almácigo, por así llamarlo, podía ser cubierto con un techo especial en caso de lluvia con el objeto de que la tierra únicamente fuera mojada por riego artificial.

Operando sobre las plantas enteras de lechuga y radicheta, cosechadas en grado de madurez y sobre los frutos de tomate en idéntico estado, se ha determinado el contenido en flúor por incineración en presencia de carbonato de sodio como fijador de halógeno, destilación de flúor como ácido hidroflosilícico según la técnica de Willard y Winter y determinación final por la técnica colorimétrica de Lamar. Paralelamente también se efectuaron determinaciones análogas sobre los mismos frutos y vegetales (tesligos) cultivados en idénticas condiciones pero sin ser sometidas a riego con solución fluorada.

Los resultados experimentales obtenidos figuran resumidos en el cuadro que se detalla a continuación, en el que se indican los valores extremos de mínimo y máximo para los tres tipos de productos examinados.

CONTENIDO EN FLUOR DE PLANTAS DE LECHUGA Y RADICHETA Y DE FRUTOS DE TOMATE PROCEDENTES DE CULTIVOS CON Y SIN RIEGO FLUORURADO.

	Tipo de riego	Fluor (mg/Kg tal cual)	Fluor (mg/Kg seco)
Tomate (frutos)	Fluorurado	0,18 - 0,62	4,4 - 11,4
	normal	0,17 - 0,28	2,6 - 3,6
Lechuga (plantas)	Fluorurado	9,89 - 11,85	108,6 - 130,2
	normal	0,35 - 0,46	3,8 - 5,0
Radicheta (plantas)	Fluorurado	6,34 - 7,86	86,1 - 106,6
	normal	0,36 - 0,53	5,0 - 7,5

Del cuadro anterior se puede concluir que existe un comportamiento muy diferente en la acumulación de flúor por parte del fruto de tomate y de las plantas de lechuga y radicheta. En efecto, promediando los valores máximos y mínimos hallados y expresados en mg/^{kg, seco} se observa que el fruto de tomate obtenido con riego fluorurado con tiene 2,6 veces más flúor que el procedente de cultivo normal; en cambio la lechuga de cultivo fluorurado 27 veces más fluor que el cultivo normal y en el caso de la radicheta el valor observado es 15 veces mayor para el vegetal procedente de riego fluorurado.

Los valores de contenido en flúor hallados en frutos de tomate y en plantas de lechuga provenientes de cultivo normal pueden considerarse acordes con los consignados en la literatura para esos mismos productos.

La elevada concentración de flúor registrada en las plantas de lechuga y radicheta cuando proceden de cultivo fluorurado excede al máximo de 7 mg/Kg tal cual, propuesto por la "Food and Drug Administration" para productos alimenticios de origen vegetal. Estos resultados hacen presumir que la ingestión prolongada y continuada de esos vegetales en forma cruda, cuando proceden de cultivos en suelos ricos en flúor o que hayan sido regados en forma obligada con aguas que contienen ese halógeno en concentraciones elevadas, puede tener una incidencia desfavorable desde el punto de vista nutricional.

Ilsa R. Jaque

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

"ACERCA DEL CONTENIDO EN FLUOR DE HORTALIZAS
(LECHUGA, RADICHEA) y FRUTOS (TOMATE) CUL-
TIVADOS EN SUELOS ARTIFICIALMENTE REGADOS
CON SOLUCION DE FLUORURO".

Tesis presentada por
Ilsa Rosina Jäger

para optar al título de Doctor en Química
(Orientación Analítica)

TESIS: 937

Año
-1957-

Con la satisfacción del deber cumplido y con la emoción que se siente al terminar un trabajo de esta naturaleza, quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Dr. Pedro Cattáneo, padrino de esta tesis, por la eficiente dirección y ayuda recibida; a la Dra. María Helena Bertoni por su desinteresada cooperación; al Dr. José M. Bach, quien puso a mi disposición el equipo de destilación y al Sr. José Bauth por haberme facilitado el uso de laboratorios y material de trabajo.

Asimismo dejo constancia de mi agradecimiento a las autoridades de la Dirección Nacional de Química y de Obras Sanitarias de la Nación por haber permitido la realización de parte de este trabajo en sus laboratorios, como así también a La Química Bayer E.N. por todas las facilidades que me ha dispensado, agradecimiento éste que hago extensivo a todas aquellas personas que directa o indirectamente contribuyeron a alcanzar la meta.

1010

A MIS PAGES



I - INTRODUCCION

a) El flúor en la alimentación.

Siendo el flúor un elemento ubicuo, hasta ahora no se ha obtenido una dieta libre de flúor, no pudiendo por lo tanto ser colocado entre los elementos que actúan en pequeñas cantidades, esenciales para la nutrición animal. Se acepta sin embargo que, ingiriendo una cierta cantidad, por cierto pequeña, se obtiene una protección contra las caries dentales. El flúor se encuentra en cantidades variables en los tejidos calcificados del organismo, esmalte dental y huesos, principalmente formados por hidroxiapatita $3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3\cdot\text{Ca}(\text{OH})_2$. En esos tejidos la cantidad de flúor aumenta normalmente con la edad y la concentración puede elevarse en forma apreciable por ingestiones altas de flúor, como ocurre por ejemplo en personas que viven en regiones donde el agua contiene ese halógeno en concentraciones muy altas. Lo mismo ocurre con trabajadores industriales que manipulan compuestos fluorados. Esto significa que el flúor, a semejanza de muchos otros elementos minerales se acumula en las estructuras cal-

cificadas y según lo confirman estudios recientes con flúor radioactivo (1) es absorbido por los huesos y dientes, aún después del crecimiento. Por consiguiente, al no haber una prueba positiva que demuestre lo contrario, el flúor debería ser considerado como un elemento de importancia biológica que, actuando en pequeñas cantidades, confiere protección contra las caries, si bien como en el caso de otros elementos que también actúan en pequeñas cantidades, resulta nocivo para el organismo cuando se lo ingiere en cantidades más altas (x). Esto conduce a la consideración de la absorción y del metabolismo del flúor en el organismo. Como una de las fuentes principales de fluor debe citarse el agua, donde está presente como fluoruro. Además debe añadirse el flúor de los alimentos. Mc Clure (2) de los Estados Unidos ha proporcionado valores para la mayoría de los alimentos, pudiendo sus resultados ser aceptados, siempre teniendo en cuenta que las concentraciones en plantas y animales pueden sufrir variaciones de acuerdo a los valores del suelo y agua. Mc Clure estima que el promedio de la dieta estadounidense provee 0,25-mg de flúor por día. Los únicos elementos de la dieta que se excluyen por tener valores más altos son pescados de mar, otros alimentos marinos y té, aunque el té no es un elemento importante en la dieta de los Estados Unidos. Harrison (3) (4), trabajando en Nueva

(x) NOTA: La redacción de la presente reseña se ha visto facilitada por el reciente trabajo de Margaret M. Murray, aparecido en CHEMISTRY & INDUSTRY, Enero 5 de 1957.

Zelandia ha demostrado que en promedio, una infusión de té hecha con agua libre de flúor contenía 1 p.p.m. de flúor, demostrando también que el té no adiciona más que 0,5 mg a la ingestión total de flúor. Una alta consumición de pescado envasado, cuando las espinas están deshechas, elevaría considerablemente la ingestión. Una persona habituada a tomar té, al comer una cantidad promedio de pescado fresco y viviendo en una región donde el agua tiene 0,2 p.p.m. ingeriría un total de menos de 1 mg/día y si el valor del agua fuera elevado a 1 p.p.m., la ingestión se aumentaría a casi 2 mg/día. Esto sin considerar el hecho de que en la cercanía de muchas empresas industriales hay polvos y humos que, al contener flúor, pueden provocar serias intoxicaciones en los animales y también pueden incrementar la consumición de la población humana.

Lo mismo, no dejan de tener peligro las aplicaciones basadas en las propiedades antisépticas de los derivados fluorados, especialmente la aplicación en el dominio alimenticio (fabricación de la cerveza, de la leche condensada, del vino). La mayoría de las legislaciones prescriben la utilización de los compuestos fluorados como agentes de conservación de alimentos.

Entre los alimentos preparados por vía química debe prestarse atención a los fosfitos y pirofosfatos ácidos, que constituyen en general la base de las levaduras artificiales ("baking powder"), sobre todo en los países anglo-sajones. Du-

rante mucho tiempo esos compuestos se fabricaron a partir de los fosfatos de calcio naturales, que contenían cantidades relativamente grandes de fluoruro de calcio. También es importante considerar el caso de las harinas adicionadas de tales levaduras ("self raising flour") que en Estados Unidos representan el 50% de las harinas consumidas.

Pasemos a considerar ahora la absorción del flúor. Al respecto existe una pequeña duda acerca de si el fluoruro es la forma en que es absorbido, sabiéndose que hace a las células más permeables que lo normal. Para el valor en sangre existen pocos valores dignos de confianza, pero se sabe que el flúor es eliminado por la orina. La retención de flúor en el cuerpo es importante, especialmente cuando se consideran los valores más altos de ingestión. Recientemente, Largent (5) ha llegado a la conclusión de que la retención tiene lugar cuando se ingieren cantidades muy bajas, conclusión que se ve reforzada ante la evidencia de que el flúor en los huesos se incrementa con los años, aún ingerido en cantidades pequeñas.

En Inglaterra a excepción de aquellos pocos lugares donde el agua, contiene 1 p.p.m. o más, se ingiere alrededor de 1-2 mg/día, valor que cae perfectamente dentro del valor inocuo para gente normal. Tampoco hay evidencia que sugiera que el fluoruro proveniente del agua aún en concentraciones de más de 1 p.p.m., empleada en "fluoruración" tenga un efecto nocivo sobre el crecimiento en los seres humanos. El valor de ingestión de -

flúor que resulta tóxico no puede ser un valor absoluto pues depende de su absorción y por ende, probablemente de la composición de la dieta. También dependerá de la eficacia de eliminación por parte del riñón. La retención da lugar a un valor tóxico en los huesos, trastorno acompañado por osteoesclerosis y excesiva calcificación de tendones y ligamentos. Estos son cambios crónicos, necesitándose muchos años para producir modificaciones óseas que puedan ser evidenciadas por los rayos X. Roholm (6) en su trabajo clásico de intoxicación por flúor informó que entre personas expuestas al flúor a niveles peligrosos en una industria de criolita, el 80% se quejaba de síntomas gástricos. Por otra parte muchas empresas industriales de gran escala representan un peligro en lo que se refiere al flúor. Los más vulnerables son los animales que pastorean, porque se alimentan de los pastos contaminados, se vuelven rengos, no pueden comer y finalmente mueren. Este es un problema que en los últimos años se incrementa día a día por el aumento del uso de compuestos fluorados.

b) Reseña sobre los métodos de determinación en alimentos.

Se citan a continuación los métodos empleados para determinar el flúor en alimentos, según figuran en la bibliografía. Siendo generales los métodos de destrucción de materia orgánica con fijadores de halógeno, no se entrará aquí en detalles, ya que por otra parte se comentan en la parte experimental. Para la separación del flúor se emplea el método de Willard y Winter (7)

El principio consiste en transformar el flúor a dosar en ácido hidrofluosilícico o perclórico, en presencia de sílice (cuarzo pulverizado, perlas o fragmentos de vidrio, lana de vidrio). Una vez separado el flúor como ácido hidrofluosilícico, se procede al dosaje propiamente dicho.

Métodos colorimétricos: Utilizan casi siempre la reacción coloreada indicada en 1924 por De Boer (8) que se basan en los dos principios siguientes:

- a) Los iones Zr^{+++} con el alizarinsulfonato de sodio dan una coloración rojo-violeta estable en medio francamente clorhídrico.
- b) Esa coloración es destruída en solución ácida por los iones F^- que forman con el circonio un complejo muy estable y dejan en libertad al ácido alizarínsulfónico amarillo. Esa reacción, extremadamente sensible, permite determinar cantidades de flúor del orden de la $\%$. Como sal de circonio se usa generalmente el nitrato $(NO_3) Zr, 5H_2O$ y también el oxiclорuro $Cl_2OZr, 8H_2O$. De Boer y Basart (9), Barr y Thorogood (10), Charonnat y Roche (11) establecieron técnicas basadas en ese principio, siendo de interés para la determinación del contenido de flúor de aguas de consumo. Sanchis (12) demostró que diversos iones ejercen una acción perturbadora. Lamar (13) estudió la forma de suprimir totalmente su influencia preparando el reactivo en medio sulfúrico. El ion fosfato interfiere en cantidades superiores a 1 mg/l, el hierro, aluminio, arsénico, vanadio y cinc no interfieren en

cantidades inferiores a 5 mg/l. Cuando la concentración de los cloruros es menor de 1.000 mg/l prácticamente no interfieren. En este método también debe tenerse en cuenta la alcalinidad de la muestra. Otros autores y en particular Kolthoff y Stansby (14), lo mismo que Kraft y May (15), efectuaron la reacción de De Boer utilizando la purpurina o trihidroxi 1-2-4- antraquinona, mientras que Smith y Dutcher (16) utilizaron la quinalizarina o tetrahidroxi 1-2-5-8 antraquinona. Diversos autores usan indicadores con grupos químicos diferentes como ser la eriocrocianina (17) (18), el azul solocromo (19) (20) (21) (22). Otros han estudiado la utilización de la hematoxilina, materia colorante del Campeche (23) (24) (25).

Según Trubaut (26) cuyo trabajo resultó sumamente útil, sobre todo en lo referente a datos numéricos que en él se consignan, ya que en la bibliografía se citan escasos valores, los métodos basados en la reacción de De Boer son más sensibles. Schloemer (27) aplicó una modificación del método de Kolthoff y Stansby (14) para determinar flúor en alimentos. Zehnen (28) empleó el método de Kraft y May (15), haciéndolo más definido, Casares y Moreno Martín (29) aplicaron el test de la gota de agua para identificar al SiF_4 desprendido al tratar las cenizas de vegetales con ácido sulfúrico, completando la determinación por aplicación del reactivo de De Boer.

Métodos volumétricos

Willard y Winter (7) introdujeron el método de destilación en la determinación de flúor, el cual consiste en destilar a temperatura constante ácido hidroflocsilícico a partir de una solución acuosa con ácido sulfúrico o perclórico, efectuando la titulación en medio alcohólico con soluciones valoradas de nitrato de torio, usando como indicador alizarínsulfonato de sodio. Armstrong (30) tituló mejor los fluoruros en solución acuosa que alcohólica; Dahle, Bonnar y Wichman (31) demostraron la importancia del pH y de la cantidad de indicador en la titulación; Hoskins y Ferris (32) propusieron el uso de un "buffer" de ácido monocloroacético; Clifford y Mc Clure (33) estudiaron una titulación por retorno; Cattáneo y Karman (34) reprodujeron la técnica de Armstrong, pero precisaron las causas de error en las distintas etapas de la determinación, estableciendo una técnica de valoración "standard" que aplicaron a la determinación de flúor en productos orgánicos. Rowley, Grier y Parsons (35), para la determinación de flúor en vegetales usaron el método de Willard y Winter (7) empleando $(NO_3)_4Th$ con un "buffer" cloroacético para la titulación final. Remmert, Parks, Lawrence y Burney (36) calcinaron las muestras en presencia de CaO y SiO_2 , fundiendo las cenizas con hidróxido de sodio y destilando luego en presencia de $HClO_4$. Finalmente determinaron el flúor por unos de los métodos aceptados sin especificar cual de ellos.

II - DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL.

El presente trabajo se refiere a la determinación cuantitativa del contenido en flúor de hortalizas, en particular lechuga (*Lactuca sativa*, variedad criolla blanca) y radicheta (*Cichorium intybus*, variedad fina de cortar) y frutos, de los cuales se eligió el tomate (*Lycopersicon esculentum*, variedad San Marzano), cultivados en suelos artificialmente regados con solución de fluoruro. Tanto la lechuga, la radicheta, como también las plantas de tomate fueron cultivadas en un cantero aislado (localidad de Florida, Provincia de Buenos Aires) a fin de facilitar el riego artificial. Este almácigo, por así llamarlo, podía ser cubierto con un techo especial en caso de lluvia con el objeto de que únicamente la tierra fuera mojada por riego artificial. Como líquido de riego se empleó una solución de FNa (conteniendo 5 mg F⁻/l). El contenido en flúor de los materiales cosechados se determinó incinerando los mismos en presencia de CO₃Na₂ como agente fijador de halógeno, destilando luego el flúor como ácido hidrofúorico según la técnica de Willard y Winter (7) y efectuando la valoración según el método de Lamar (13). También se efectuaron determinaciones análogas sobre los mismos frutos y vegetales (testigos), cultivados en idénticas condiciones pero sin ser sometidas a riego con solución fluorada.

Los cuadros I, II, y III se refieren a los valores de contenido en flúor registrados en este estudio para las plan

tas de lechuga y radicheta y para los frutos de tomate. .

CUADRO I - LECHUGA (LACTUCA SATIVA, VARIEDAD CRIOLLA BLANCA)
CONTENIDO EN FLUOR DE PLANTAS PROCEDENTES DE CUL-
TIVO NORMAL Y CON RIEGO FLUORURADO. (x)

	Determinación	F ⁻ mg/Kg seco	F ⁻ mg/Kg tal cual
<i>Con Riego Fluorurado</i>	1	108,6	9,89
	2	113,2	10,75
	3	111,2	10,12
	4	120,4	10,96
	5	120,5	10,97
	6	130,2	11,85
	7	128,8	11,72
	8	128,7	11,71
	9	112,2	10,21
<i>Cultivo Normal (Testigos)</i>	1	5,0	0,46
	2	5,0	0,46
	3	3,8	0,35
	4	5,0	0,46

(x) Los productos fueron secados inicialmente al sol y finalmente por 10 horas a 70°C.

**CUADRO II - RADICHETA (CICHORIUM INTYBUS, VARIEDAD FINA DE CORTAR).
CONTENIDO EN FLUOR DE PLANTAS PROCEDENTES DE CULTIVO NORMAL Y CON RIEGO ARTIFICIAL. (x)**

	Determinación	F ⁻ mg/Kg seco	F ⁻ mg/Kg tal cual
<i>Con Riego Fluorurado</i>	1	86,1	6,34
	2	89,8	6,62
	3	95,0	7,00
	4	106,6	7,86
	5	91,1	6,71
	6	96,1	7,08
	7	104,8	7,72
	8	90,0	6,63
<i>Cultivo Normal (Testigos)</i>	1	7,5	0,53
	2	7,5	0,53
	3	5,0	0,36
	4	7,5	0,53

(x) Las plantas fueron secadas inicialmente al sol y finalmente por 10 horas a 70°C.

CUADRO III - TOMATE (LYCOPERSICON ESCULENTUM, VARIEDAD SAN MARZANO).
CONTENIDO EN FLUOR DE LOS FRUTOS PROCEDENTES
DE CULTIVO NORMAL Y CON RIEGO FLUORURADO.

	Determinación (x)	F ⁻ mg/Kg seco	F ⁻ mg/Kg tal cual
<i>Con Riego Fluorurado</i>	1	11,4	0,62
	2	10,7	0,55
	3	9,0	0,44
	4	8,8	0,47
	5	8,2	0,39
	6	10,7	0,53
	7	7,4	0,37
	8	4,4	0,18
	9	4,4	0,20
	10	8,2	0,40
	11	5,6	0,28
	12	7,5	0,37
<i>Cultivo Normal (Testigos)</i>	1	2,6	0,17
	2	3,0	0,21
	3	3,6	0,28
	4	2,8	0,21

(x) Cada determinación corresponde a un fruto entero.

Como un resumen de los cuadros anteriores se presenta el cuadro IV que registra los valores mínimos y máximos observados en cada caso con y sin riego fluorurado y expresados en mg/Kg seco y tal cual.

CUADRO IV - CONTENIDO EN FLÚOR DE PLANTAS DE LECHUGA Y RADICETA Y DE FRUTOS DE TOMATES PROCEDENTES DE CULTIVOS CON Y SIN RIEGO FLUORURADO.

	Tipo de riego	Flúor (mg/Kg tal cual)	Flúor (mg/Kg seco)
Tomate (frutos)	Fluorurado	0,18 - 0,62	4,4 - 11,4
	normal	0,17 - 0,28	2,6 - 3,6
Lechuga (plantas)	Fluorurado	9,89 - 11,85	108,6 - 130,2
	normal	0,35 - 0,46	3,8 - 5,0
Radicheta (plantas)	Fluorurado	6,34 - 7,86	86,1 - 106,6
	normal	0,36 - 0,53	5,0 - 7,5

Los resultados consignados en el cuadro IV muestran un comportamiento muy diferente en la acumulación de flúor por

parte del fruto de tomate y de las plantas de lechuga y radicheta. En efecto, promediando los valores máximos y mínimos hallados y expresados en mg/Kg seco, se observa que el fruto de tomate obtenido con riego fluorurado contiene 2,6 veces más flúor que el procedente de cultivo normal; en cambio la lechuga de cultivo fluorurado 27 veces más flúor que el cultivo normal y en el caso de la radicheta el valor observado es 15 veces mayor para el vegetal procedente de riego fluorurado.

Esto indica que la acumulación de flúor procedente del suelo, tan acentuada por parte principal de las hojas, podría tener inconvenientes notorios derivados de la ingestión prolongada y continuada de tales vegetales en forma cruda en aquellas regiones donde el suelo o el agua de empleo obligada para el riego, fuese de alto tenor en ese halógeno.

A continuación se citan los contenidos normales de flúor de algunas legumbres que figuran en el trabajo de Truhaut (26), a fin de compararlos con los resultados experimentales obtenidos en las determinaciones efectuadas sobre lechuga, radicheta y tomate en el presente trabajo.

VALORES NORMALES DE FLUOR

LEGUMERES (26)

	F mg/Kg tal cual	F mg/Kg seco	Bibliografía
apio	0,14	5,7	(39) (40) (41)
" hojas	8,5	---	(42)
repollo	0,12	7,97	(43) (39) (44) (41) (45)
lechuga	0,3	11,3	(43) (45) (42)
perejil	0,8	11,3	(45) (44) (42)
papas	0,13	3	(43) (39) (46) (42) (47) (41)
tomate	0,24	2,4	(43) (45) (42) (48).

En lo que respecta a trabajos similares, Schmith, Schmith y Vasich (37) encontraron que las plantas que crecían en suelos conteniendo concentraciones variables de flúor demostraron tener valores aumentados de flúor pero las cantidades no estaban en proporción directa con las añadidas al suelo. Las acelgas y las batatas absorbían más flúor que las habas y los tomates. En el trigo se encontró mayor proporción de

flúor en el tallo y en las hojas que en el grano. Wichmann y Dahle (38) efectuaron un cierto número de ensayos para conocer el flúor residual de vegetales tratados por derivados fluourados. Las cifras son: Para manzana 2 mg/Kg, repollo 3 mg/Kg en las hojas interiores y 34 mg/Kg en las hojas externas, apio 3-7 mg/Kg en la raíz y 77-135 mg/Kg en las hojas. Se ve que con la persistencia de derivados fluorados se corre el riesgo de obtener efectos nocivos si las legumbres y frutos tratados no son lavados antes de su consumición. La "Food and Drug Administration" ha propuesto un valor de 7 mg/Kg como máximo de flúor tolerable en los productos alimenticios de origen vegetal. (38 bis).

Relacionando la mención anterior referente a un máximo de 7 mg/Kg de flúor tolerable en productos alimenticios de origen vegetal con los valores consignados en el cuadro IV, se observa que en el caso de la lechuga los valores registrados para el vegetal procedente de suelo fluorurado exceden visiblemente a ese máximo.

III - PARTE EXPERIMENTAL

La determinación experimental de los contenidos en flúor se ha hecho según el siguiente plan:

- a) En primer lugar se estudió la técnica a seguir, efectuando ensayos de recuperación en presencia y en ausencia de CO_3Na_2 . Los líquidos se sometieron a destilación según la técnica descripta más adelante, partiendo de soluciones puras de FNa , a las que se agregaron cantidades determinadas de CO_3Na_2 .
- b) A fin de verificar si los valores eran inferiores a los interferentes, teniendo en cuenta que las cenizas de los vegetales son ricas en cloruros y previendo que en la destilación del ácido hidrofúosilícico se arrastra ácido clorhídrico, se efectuaron determinaciones de cloruros sobre partes alícuotas de los destilados.
- c) Técnica adoptada para la determinación de flúor en los alimentos estudiados.

a) RECUPERACION DE CANTIDADES CONOCIDAS DE FLUOR EN PRESENCIA Y EN AUSENCIA DE CO_3Na_2 .

Para separar el flúor de las sustancias interferentes se siguió la técnica original de Willard y Winter (7) aunque para la destilación se empleó un aparato especialmente diseñado (34) construido en vidrio pyrex con juntas esmeriladas para obtener destilados incoloros. El objeto de la pequeña columna, recu-

bierta exteriormente de amianto es evitar el arrastre de ácido que resulta prácticamente nulo, trabajando con una temperatura de 135°C en el líquido de arrastre.

En el balón de destilación se colocan 25 ml de ácido sulfúrico purísimo ($d = 1,84$), 0,1 g de cuarzo molido (lavado en caliente con ácido sulfúrico y calcinado) y 3 perlas de vidrio. Se calienta el balón hasta aproximadamente 120°C, haciendo llegar en ese momento vapor de agua, manteniendo luego la temperatura a 135°C durante el resto de la destilación. Sucesivamente fueron añadidos al balón frío los microgramos de flúor que figuran en los cuadros VI y VII medidos de soluciones de FNa puro. En cada caso la destilación se efectuó recogiendo el destilado en un matraz aforado de 250 ml sobre 5 ml de hidróxido de sodio N/10. La destilación se reguló de modo que en total se emplease entre 30-45 minutos. En la misma forma también se recogió un destilado en blanco. Todos los destilados recogidos fueron sometidos a la técnica colorimétrica de Lamar (13). Esta utiliza la acción decolorante del ión flúor sobre la laca que, en solución ácida, forman las sales de circonio con el alizarínsulfonato de sodio. La coloración rosada original de la laca pasa gradualmente al amarillo a medida que aumenta la concentración del ión flúor debido a la formación del ión complejo F_6Zr^{2-} .

Interferencias

El ión fosfato ($\text{PO}_4^{\frac{3-}{}}$) interfiere en cantidades superiores a 1 mg/l; el hierro, aluminio, arsénico, vanadio y cinc no interfieren en cantidades inferiores a 5 mg/l. No hay prácticamente interferencia de los cloruros cuando su concentración es menor de 1.000 mg/l. La influencia del ión sulfato es prácticamente despreciable hasta concentraciones de 500 mg/l.

Las aguas cuya alcalinidad excedede 100 mg/l (expresado en CO_3Ca) deben ser previamente neutralizadas con ácido nítrico 0,2 N. La reacción se efectúa dejando la muestra con aproximadamente 100 mg/l de alcalinidad (CO_3Ca). Por ejemplo si la alcalinidad es de 500 mg/l CO_3Ca se agregan 4 ml de ácido nítrico 0,2 N (sobre 100 ml de la muestra). Si la misma fuera de 380 mg/l CO_3Ca se agregarían 2,8 ml de ácido nítrico 0,2 N.

Determinación colorimétrica del fluor, (x) Técnica de W. Lamar (13).

Reactivos:

a - 1. Solución Patrón de fluoruro de sodio: Se disuelve 0,2210 g de fluoruro de sodio puro (p.a.) (secado a 110°C durante 2 horas) en agua destilada y se completa el volumen hasta 100 ml. Un ml de esta solución contiene 1 mg de ión fluor (F^-).

(x) NOTA: Esta técnica se emplea corrientemente en OBRAS SANITARIAS de la NACIÓN para determinar fluor en aguas.

a - 2. Solución diluida de fluoruro de sodio: Se mide 10 ml de la solución anterior y se diluye hasta 1 litro con agua destilada. Un ml de esta solución contiene 0,01 mg de ión fluór.

a - 3. Solución de alizarínsulfonato de sodio: Se disuelve 0,148 g de alizarínsulfonato de sodio (alizarina roja S) en agua destilada y se completa el volumen hasta 100 ml.

a - 4. Solución de sulfato de circonilo: Con ayuda de SO_4H_2 para facilitar su disolución se prepara una solución acuosa de sulfato de circonilo que contenga 5,15 mg de $\text{ZrO}_2/100$ ml de solución.

a - 5. Solución aproximadamente 1,8 N de ácido sulfúrico: Se vierten 50 ml de ácido sulfúrico ($d = 1,84$) para análisis, sobre unos 800 ml de agua destilada; se enfría y se completa el volumen hasta 1 litro.

a - 6. Solución de indicador ácido: Se toman 1,4 ml de la solución de sulfato de circonilo que contiene 5,15 mg de $\text{ZrO}_2/100$ ml se añaden 33,8 ml de solución de alizarínsulfonato de sodio. Se lleva a 500 ml con H_2O destilada y luego se completa a 1000 ml con SO_4H_2 1,8 N.

Para la preparación del indicador ácido se modificó el método de Lamar pues el nitrato de circonilo se hidroliza fácilmente y origina la precipitación de la laca.

a - 10. En un Erlenmeyer de 250 ml se vierte 100 ml de la muestra (destilada) y se agrega 10 ml exactamente medidos de solución de indicador ácido (a-6). Homogeneizar la mezcla. La comparación colorimétrica con los patrones se realiza pasando esta mezcla a un tubo Nessler (a-8) después de por lo menos dos horas de su preparación.

Es conveniente que la escala de patrones sea preparada si multáneamente con la muestra, o, a lo sumo, con 60 minutos de di ferencia. De esta manera a las 2 horas, aunque conviene que sean más (pues se estabilizan mejor los colores) puede realizarse la comparación colorimétrica.

a - 11. Si la muestra aparece más decolorada que el patrón No. 11 se debe realizar una nueva determinación sobre un volumen menor de muestra inicial y completando este volumen a 100 ml con agua destilada.

a - 12. Los resultados se expresan en mg/l como ión flúor (F^-) calculándose con la siguiente fórmula:

$$F^- \text{ (mg/l)} = n \times \frac{100}{v}$$

donde n es la concentración, en mg/l del patrón cuya coloración iguale a la de la muestra y v el volumen en ml de muestra usado en la determinación.

Si la coloración de la muestra es intermedia entre dos patrones consecutivos se tomará para n el valor medio correspondiente.

- - - - -

En los cuadros VI y VII de la página siguiente figuran los valores de recuperación obtenidos.

CUADRO VI - ENSAYOS DE RECUPERACION POR DESTILACION EN AUSEN-
CIA DE CO_3Na_2 . (x)

Microg de F^- ensayados	Microg de F^- recuperados	Diferencia	Error %
400	375	-25	-6,2
400	400	00	0,0
200	175	-25	-12,5
160	150	-10	-6,2
80	75	- 5	-6,2
400	400	00	0,0

CUADRO VII - ENSAYO DE RECUPERACION POR DESTILACION EN PRESEN-
CIA DE CO_3Na_2 . (xx)

Microg de F^- ensayado	Microg de F^- recuperado	CO_3Na_2 empleado	Diferencia	Error %
203,6	175	2,5	-28,55	-14,0
271,4	250	2,5	-21,40	- 7,9
203,6	200	5	- 3,55	- 1,7
67,9	75	5	+ 7,15	+ 10,5
135,7	125	7,5	-10,	- 7,9

(x) Se partió de una solución que contenía 16 mg F^- /l, empleándose 5; 10; 12,5 y 25 ml de la misma.

(xx) Se partió de una solución que contenía 30 mg FNa /l empleándose 5; 10; 15 y 20 ml de la misma.

b) INTERFERENCIAS POSIBLES

Como es sabido que en el método de Lamar (13) los cloruros interfieren en cantidades mayores que 1.000 mg/l, se efectuaron determinaciones de cloruros (aplicando el método de Mohr), sobre partes alícuotas de varios destilados. Estos se obtuvieron a partir de productos cosechados, aplicando la técnica descripta más adelante. Los valores encontrados oscilan entre 296 y 378 mg Cl/l, valores estos muy inferiores a los interferentes, razón por la cual no es necesario precipitar los cloruros antes de someter las cenizas al proceso de destilación.

c) DETERMINACION DEL FLUOR EN LOS PRODUCTOS COSECHADOS

De los productos estudiados la lechuga y la radicheta fueron sembradas a principio de setiembre siendo regadas diariamente según las necesidades (influencias climáticas) con 5 ó 10 litros de solución que contenía 5 mg de F⁻/l. Considerando que el líquido de riego se preparó con FNa puro y teniendo en cuenta el total de litros empleados hasta su cosecha a fines de diciembre, en total se añadieron 7,48 g de FNa.

En el caso de las plantas de tomates cultivadas a partir de fines de noviembre, que también fueron regadas con la misma solución, se añadieron en total 9,68 g de FNa siendo regadas diariamente con 10 litros de líquido de riego, hasta cosechar los frutos una vez maduros. Una vez recogidas las verduras y los tomates, primeramente se secaron al sol y finalmente por 10 horas a 70°C. Por otra parte se determinó la pérdida de agua por

secado en esa forma, a fin de considerarlo en los cálculos.

Adaptación de la técnica.

Al considerar la destrucción de la materia orgánica hubo que tener en cuenta el modo de impedir pérdidas de flúor. Al respecto existen numerosos trabajos. Scott y Henne (49), Hoskins y Ferris (50), Eberz, Lamb y Lachele (51), Rempel (52), Largent (53) y Mac Intire y Hammond (54) destacan las excelentes propiedades fijativas de los peróxidos de magnesio y calcio. Otros emplean compuestos de magnesio o calcio como los acetatos. Mac Clure (55) y Lockwood (56) emplearon nitrato de magnesio, hidróxido de sodio y acetato de calcio. Cattáneo y Karman (34) establecieron que para la determinación de flúor en presencia de materia orgánica, la calcinación a 500-550°C con 0,5 g de carbonato de sodio por gramo de materia orgánica era suficiente para evitar pérdidas de flúor. Para efectuar la incineración se pesan en una cápsula de platino porciones de 1g de producto previamente homogeneizado, añadiendo por cada gramo 5 ml de CO_3Na_2 p.a. al 10%. A continuación se evapora a seco sobre tela metálica, se carboniza también sobre tela, añadiendo después de cada carbonización nuevas porciones de 1 g de producto, con la correspondiente cantidad de solución de carbonato de sodio al 10%. Toda la masa se sigue carbonizando hasta total desprendimiento de productos gaseosos. Se deja enfriar, se añade una pequeña cantidad de agua destilada y se tritura con una varilla. Se repite el proceso de evaporación y finalmente se calcina en mu

fla eléctrica a 500-550°C durante 5 minutos. Se deja enfriar, se toma nuevamente por agua, se evapora y calcina por otros 5 minutos. Se repite este proceso hasta obtención de cenizas blancas.

En muchas circunstancias las muestras a calcinar eran muy voluminosas (8-10 g), como sucedía especialmente con los tomates, donde la sustancia seca generalmente tenía ese peso. En tales casos las muestras fueron distribuidas en dos cápsulas (de aproximadamente 5 cm de diámetro), reuniéndose el contenido de las mismas al finalizar la operación a fin de preparar las cenizas en forma conjunta para la destilación.

Preparación de las cenizas

Las cenizas se disuelven en 5 ml de agua destilada, se cubre la cápsula con vidrio de reloj. Agregar 0,6 ml de SO_4H_2 (1:1 en vol) por cada 5 ml de solución de CO_3Na_2 al 10% empleado en la calcinación; se lava el vidrio de reloj con pequeñas porciones de agua destilada, recogiendo los líquidos en una cápsula. La solución así obtenida se somete al proceso de destilación.

Destilación

La destilación se efectúa siguiendo la misma técnica que en el caso de los ensayos de recuperación, introduciendo cuantitativamente el líquido a destilar en el balón de arrastre. Se recoge el destilado desde el comienzo de la operación en un matraz aforado de 250 ml. que contenga 30 ml de OHNa N/10 para neutralizar la acidez clorhídrica debida a los cloruros conteni

dos en las cenizas. La destilación se da por terminada cuando el destilado es de 250 ml, lo cual demanda 30-45 minutos.

Técnica colorimétrica

De los 250 ml de destilado recogidos de cada muestra, 50 ml fueron destinados en cada caso para la determinación de la alcalinidad, dato previo necesario para efectuar la reacción colorimétrica. Los 50 ml se llevan a 100 ml, se agregan 4 gotas de heliantina y se valora con SO_4H_2 N/50. Los ml leídos multiplicados por 20 dan el valor correspondiente expresado en mg de $\text{CO}_3\text{Ca}/\text{l}$. Si la alcalinidad excede de 100 mg/l es necesario neutralizar con NO_3H 0,2N dejando la muestra con aproximadamente 100 mg/l de alcalinidad. Por ejemplo si la alcalinidad es de 500 mg $\text{CO}_3\text{Ca}/\text{l}$ se agregan 4 ml NO_3H 0,2N sobre 100 ml de muestra. Luego se practica la determinación colorimétrica en la misma forma como se ha indicado en los ensayos de recuperación.

- - - - -

En las páginas siguientes se detallan todos los valores experimentales hallados, tanto de los productos sometidos a riego artificial como de los cultivos normales.

CUADRO VIII - DETERMINACION DE FLUOR EN TOMATES CULTIVADOS CON RIEGO FLUORURADO

Muestra No.	Peso original g	Peso sust. seca g	Lectura mg F/l	F ⁻ mg/Kg tal cual	F ⁻ mg/Kg seco
1	160,22	8,78	0,4	0,62	11,4
2	225,36	11,72	0,5	0,55	10,7
3	171,97	8,34	0,3	0,44	9,0
4	160,38	8,51	0,3	0,47	8,8
5	192,98	9,11	0,3	0,39	8,2
6	187,92	9,38	0,4	0,53	10,7
7	135,45	6,80	0,2	0,37	7,4
8	140,08	5,67	0,1	0,18	4,4
9	122,77	5,66	0,1	0,20	4,4
10	186,37	9,16	0,3	0,40	8,2
11	178,01	8,88	0,2	0,28	5,6
12	133,61	6,68	0,2	0,37	7,5

4,4 - 11,4 mg F/Kg seco

Valores extremos

0,18 - 0,62 mg F/Kg tal cual

CUADRO IX. - DETERMINACION DE FLUOR EN TOMATES DE CULTIVO NORMAL

Muestra No.	Peso original g	Peso sust.seca g	Lectura mg F ⁻ /l	F ⁻ mg/Kg tal cual	F ⁻ mg/Kg seco
1	149,00	9,77	0,1 (x)	0,17	2,6
2	180,23	12,62	0,15(x)	0,21	3,0
3	132,03	10,26	0,15(x)	0,28	3,6
4	117,47	8,91	0,1 (x)	0,21	2,8

2,6 - 3,6 mg F⁻ / Kg seco

Valores extremos

0,17 - 0,28 mg F⁻ / Kg tal cual

(x) NOTA: Como en este caso los valores de flúor, eran inferiores a 0,2 mg/l se preparó un patrón intermedio entre 0 y 0,2 que correspondía a 0,1 mg F⁻/l.

CUADRO X - DETERMINACION DE FLUOR EN LECHUGA CULTIVADA CON RIEGO FLUORURADO.

Muestra No.	Peso original g	Peso sust.seca g	Lectura mg F ⁻ /l	F ⁻ mg/Kg tal cual	F ⁻ mg/Kg seco
1	101,15	9,205	1,0 (x)	9,89	108,6
2	102,28	9,308	1,1 (x)	10,75	118,2
3	98,85	8,996	1,0 (x)	10,12	111,2
4	100,39	9,136	1,1 (x)	10,96	120,4
5	100,31	9,129	1,1 (x)	10,97	120,5
6	101,29	9,128	1,2 (x)	11,85	130,2
7	102,36	9,315	1,2 (x)	11,72	128,8
8	102,43	9,322	1,2 (x)	11,71	128,7
9	117,52	10,695	1,2 (x)	10,21	112,2

108,6 - 130,2 mg F⁻
/Kg seco

Valores extremos

9,89 - 11,85 mg F⁻
/Kg tal cual

(x) NOTA: Las determinaciones se efectuaron sobre 25 ml de destilado completando el volumen a 100 ml.

CUADRO XI - DETERMINACION DE FLUOR EN LECHUGA DE CULTIVO NORMAL

Muestra No.	Peso original g	Peso sust.seca g	Lectura mg F/1	F ⁻ mg/Kg tal cual	F ⁻ mg/Kg seco
1	108,45	10 (x)	0,2	0,46	5,0
2	108,45	10 (x)	0,2	0,46	5,0
3	108,45	10 (x)	0,15	0,35	3,8
4	108,45	10 (x)	0,2	0,46	5,0

3,8 - 5,0 mg F⁻ / Kg seco

Valores extremos

0,35 - 0,46 mg F⁻ / Kg tal cual

(x) NOTA: Todas las determinaciones sobre los testigos de lechuga se efectuaron a partir de 10 g de sust. seca. Los pesos originales no se determinaron sino que se calcularon teniendo en cuenta la humedad promedio de 90,78 % determinada previamente.

CUADRO XII - DETERMINACION DE FLUOR EN RADICHETA CULTIVADA CON RIEGO FLUORURADO.

Muestra No.	Peso original g	Peso sust.seca g	Lectura mg F ⁻ /l	F ⁻ mg/Kg tal cual	F ⁻ mg/Kg seco
1	63,05	4,647	1,6	6,34	86,1
2	98,18	7,236	1,3 (x)	6,62	89,8
3	99,98	7,369	1,4 (x)	7,00	95,0
4	101,80	7,503	1,6 (x)	7,86	106,6
5	96,81	7,135	1,3 (x)	6,71	91,1
6	98,86	7,286	1,4 (x)	7,08	96,1
7	103,56	7,633	1,6 (x)	7,72	104,8
8	97,99	7,222	1,3 (x)	6,63	90,0

86,1 - 106,6 mg F⁻ / Kg seco

Valores extremos

6,34 - 7,86 mg F⁻ / Kg tal cual

(x) NOTA: Las determinaciones se efectuaron sobre 50 ml de destilado, completando el volumen a 100 ml.

CUADRO XIII - DETERMINACION DE FLUOR EN RADICHETA DE CULTIVO NORMAL

Muestra No.	Peso original g	Peso sust.seca g	Lectura mg F ⁻ /l	F ⁻ mg/Kg tal cual	F ⁻ mg/Kg seco
1	140,44	10 (x)	0,3	0,53	7,5
2	140,44	10 (x)	0,3	0,53	7,5
3	140,44	10 (x)	0,2	0,36	5,0
4	140,44	10 (x)	0,3	0,53	7,5

5,0 - 7,5 mg F⁻/Kg_{seco}

Valores extremos

0,36 - 0,53 mg F⁻/Kg. tal cual

(x) NOTA: Todas las determinaciones sobre los testigos de radicheta se efectuaron a partir de 10 g de sust. seca. Los pesos originales no se determinaron sino que se calcularon teniendo en cuenta la humedad promedio de 92,88% determinada previamente.

IV - CONCLUSIONES

- 1) Se presenta un estudio realizado sobre hortalizas: lechuga (*Lactuca sativa*, variedad criolla blanca) y radicheta (*Cichorium intybus*, variedad fina de cortar) y fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum*, variedad San Marzano) cultivados con riego fluorurado, cuyo principal objeto ha sido establecer la medida en que se fija el flúor procedente de los suelos.

- 2) Operando sobre las plantas enteras de lechuga y radicheta, cosechadas en grado de madurez y sobre los frutos de tomate en idéntico estado, se ha determinado el contenido en flúor por incineración en presencia de carbonato de sodio como fijador de halógeno, destilación de flúor como ácido hidroflocosilícico y determinación final por la técnica colorimétrica de Lamar. Paralelamente se efectuaron determinaciones análogas sobre los mismos vegetales y frutos procedentes de cultivo con riego normal.

- 3) Los resultados obtenidos figuran resumidos en el cuadro IV del presente estudio, con la indicación de los valores extremos de mínimo y máximo para los tres tipos de productos examinados. Del mismo se puede concluir que existe un comportamiento muy diferente en la acumulación de flúor por parte del fruto de tomate y de las plantas de lechuga y radicheta, pudiéndose deducir que el tomate que proviene de cultivo con riego fluorurado contiene

aproximadamente 2,6 veces más flúor que el procedente de cultivo normal; la lechuga y la radicheta, cuando proceden de cultivo non riego fluorurado, mostraron contener 27 y 15 veces más flúor respectivamente, en relación a los de cultivo normal.

- 4) Los valores de contenido en flúor hallados en frutos de tomate y en plantas de lechuga provenientes de cultivo normal pueden considerarse acordes con los consignados en la literatura para esos mismos productos.
- 5) La elevada concentración de flúor registrada en las plantas de lechuga y radicheta cuando proceden de cultivo fluorurado excede al máximo de 7 mg/Kg tal cual, propuesto por la "Food and Drug Administration" para productos alimenticios de origen vegetal. Estos resultados hacen presumir que la ingestión prolongada y continuada de esos vegetales en forma cruda, cuando proceden de cultivos en suelos ricos en flúor o que hayan sido regados en forma obligada con aguas que contienen ese halógeno en concentraciones elevadas, puede tener una incidencia desfavorable desde el punto de vista nutricional.

- - - - -

BIBLIOGRAFIA

- (1) - WALLACE - DURBIN, P., J. dent. Res., 33, 789. (1954).
- (2) MC CLURE, F.J., Publ. Health Rep., Wash., 64, 1061 (1949)
- (3) HARRISON, M.F., Brit. J. Nutrit., 3, 162, (1949).
- (4) HARRISON, M.F., Brit. J. Nutrit., 3, 166 (1949)
- (5) LARGENT, E.J., in "Fluoridation as a Public Health Measure", ed. Shaw, J.H., 1954 (Washington, D.C.: A.A.A.S.)
- (6) ROHLM, K., "Fluorine Intoxication", 1937 (London: H.K. Lewis).
- (7) WILLARD H.H. y WINTER O.B., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 5, 7 (1933).
- (8) DE BOER J.H., Chem. Weekbl., 21, 404, (1924).
- (9) DE BOER J.H. y BASART J., Z. Anorg. Chem., 152, 213 (1926).
- (10) BARR G. y THOROGOOD A.L., Analyst, 59, 378 (1934).
- (11) CHARONNAT R. y ROCHE S., C.R. Acad. Sc., 199, 1325, (1934).
- (12) SANCHIS J.M., Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed), 6, 134 (1934)
- (13) LAMAR W.L., Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.), 17, 148 (1945)
- (14) KOLTHOFF L.M. y STANSEY E., Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.), 6, 118 (1934).
- (15) KRAFT K. y MAY R., Ztschr. Physiol. Chem., 246, 233 (1937).
- (16) SMITH G.M. y DUTCHER H.A., Ind. Eng. Chem. (Anal. Ed.), 6, 64 (1934).
- (17) SAYLOR J.H. y LARKIN M.E., Analytical Chemistry, 20, 194 (1948).
- (18) WILLARD H.H. y HORTON C.A., Analytical Chemistry, 22, 1194 (1950)
- (19) MILTON R.F., LIDDEL H.F. y CHIVERS J.E., Analyst., 72, 43 (1947).

- (20) REVINSON D. y HARLEY J.H., Analytical Chemistry, 25, 794 (1953)
- (21) WALDO A.L. y ZIFF R.E., J.Lab. Clin. Med., 40, 601 (1952).
- (22) WILLARD H.H. y HORTON C.A., Analytical Chemistry, 22, 1194, (1950).
- (23) HUNTER C.J., MAC NULTY B.J. y TERRY E.A., Anal. Chim. Acta, 8, 351 (1953).
- (24) OKUNO H., J. CHEM. SOC. JAPAN, 62, 1158 (1941).
- (25) OKUNO H., J. Fac. Sc. Hokkaido, Imper. Univ. Serie III Chemie, 3, 95 (1942).
- (26) TRUBAUT R., Ann. Fals. Fraud., 558, 295 (1955).
- (27) SCHLOEMER A., Mikrochemie-Verein. Mikrochim. Acta, 31, 123(1943)
- (28) ZEHMEN H.V., Die Chemie, 57, 159 (1944).
- (29) CASARES J. y MORENO MARTIN F. Anal. fís. y quím. (Madrid), 40, 685 (1944).
- (30) ARMSTRONG W.D., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 8, 384 (1936).
- (31) DAHLE D., BONNAR R. y WICHMANN H.J., J.Assoc. Official Agricultural Chem., 21, 459 (1938).
- (32) HOSKINS y FERRIS, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 8, 6 (1936).
- (33) CLIFFORD y MC CLURE, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 11, 171 (1939).
- (34) CATTANEO P. y KARMAN G., An. Asoc. Quím. Arg., 32, 167 (1944).
- (35) ROWLEY R.J., GRIDER J.G. y PARSONS R.L., Anal. Chem. 25, 1061 (1953).
- (36) REMMERT L.F., PARKS T.D., LAWRENCE A.M. y MC BURNEY E.H., Anal. Chem., 25, 450 (1953).
- (37) SMITH V.H., SMITH M.C. y VASICH M., Arizona Agr. Expt Sta. Mimeographed Rept 77, 6 (1945).

- (38) WICHMANN H.J. y DAHLE D., Journ. Assoc. Off. Agric. Chem. (Anal. Ed.), 16, 612 (1933).
- (38 bis) Journal Agric. And Food Chemistry 22, 1133 (1954)
- (39) CLIFFORD P.A., Journ. Assoc. Off. Agric. Chem., 24, 350 (1945)
- (40) MARCOVITSH S., SHUEY G.H. y STANLEY W.W., Tennessee Agric. Exp. Sta. Bull, 162, 46 (1937)
- (41) CHENG L.T. y CHOU T.P., J. Chinese Physiol, 15, 263 (1940)
- (42) ROBINSON W.O. y EDGINGTON G., Soil Sc. 61, 341 (1946).
- (43) MACHLE W., SCOTT E.W. y TREON J., Amer. Journ. Hyg., 29, 139 (1939).
- (44) HAMERSA P.J., Union of S. Africa So. Bull, 236, Dept. of Agric. and Forestry Chem., 1943, Serie No. 172.
- (45) VON FELLEBERGH TH., Mittell. Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 34, 14 (1948).
- (46) MAC CLURE F.J., MITCHELL H.H., HAMILTON T.S. y KNISEN C.A., J. Ind. Hyg. Toxicol, 27, 159 (1945).
- (47) REID E., Journ. Chinese Physiol., 10, 259 (1936).
- (48) DAHLE D., Journ. Assoc. Off. Agric. Chem., 19, 228 (1936).
- (49) SCOTT E.W. y HENNE A.L. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 7, 299 (1935).
- (50) HOSKINS W.M. y FERRIS C.A. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 8, 6 (1936)
- (50) EBKRZ W.F., LAMB F.C. y LACHELE C.E., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 10, 259 (1938).
- (52) REMPEL H.G. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 11, 378 (1939).
- (53) LARGENT E.J., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 13, 93 (1941).

F O I B A
-39-

- (54) MAC INTIRE W.H. y HAMMOND J.W., Assoc. Official Agr. Chem.,
22, 231 (1939).
- (55) MAC CLURE F.J. Ind. Eng. Chem. Anal. Ed., 11, 171 (1939).
- (56) LOCKWOOD H.C. The Analyst, 62, 775 (1937).

[Handwritten signature]

Lisa R. Jäger