

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS



Determinación de Plomo en Sangre Normal
(C. V. Letonoffand J. G. Reinhold).



T E S I S

que presenta

Angela López Munguía

para su examen profesional de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

MEXICO, D. F.

1946



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Con inmensa gratitud a mi adorado padre
SR. LIC. D. HERMILO LOPEZ SANCHEZ
y a la memoria de mi inolvidable madre
SRA. DOÑA CONCEPCION MUNGUIA
DE LOPEZ SANCHEZ

A la distinguida señora doña
SOLEDAD OROZCO DE AVILA CAMACHO,
quien en mi infancia me distinguió
con su cariño,
y hoy ilumina mi vida con sus consejos
y palabras de aliento.

Con profundo agradecimiento
al señor Químico

JORGE ZUÑIGA NAJERA

bajo cuya bondadosa dirección
realicé este trabajo.

AL SR. ANGEL DE LA GARZA BRITO
Director de la Escuela de Salubridad e Higiene
por su gentileza al darme todas las
facilidades para llevar a cabo las experiencias
requeridas en este trabajo.

CON MIS RESPETOS
Y
GRATITUD
A
TODOS MIS MAESTROS.

SUMARIO

- I.—Introducción.
 - α.—Intoxicaciones Industriales y Domésticas.
 - b.—Absorción y Distribución.
 - c.—Eliminación.
 - d.—Síntomas y Signos de la Intoxicación.
 - e.—Tratamiento.

- II.—Métodos de Dosificación de Plomo en Materiales Orgánicos.
 - α.—Método seguido.
 - b.—Discusión del Método.

- III.—Resultados.
- IV.—Conclusiones.
- V.—Bibliografía.

I

Introducción

DETERMINACION DE PLOMO EN SANGRE NORMAL

I.—INTRODUCCION:

I

Este estudio es una aportación más al conocimiento de las intoxicaciones profesionales producidas por el plomo, teniendo como fin principal proporcionar una serie de datos acerca de la cantidad normal de plomo en la sangre.

El estudio de la acción tóxica del plomo fué realizado con anterioridad al Siglo II, antes de Cristo por Hipócrates y Nicandro, quienes relacionaron el cólico agudo, el estreñimiento, el dolor abdominal y la palidez en el envenenamiento por plomo.

Hasta el Siglo XVII se logró apreciar las formas leves de intoxicación y las investigaciones experimentales más antiguas que se conocen son las recogidas en el Tratado de Toxicología de Orfila en el año de 1814.

Se conocen con el nombre de Saturnismo, el padecimiento ocasionado por la presencia de plomo en el organismo y cuyo conjunto de síntomas se manifiestan en forma insidiosa y lenta. La intoxicación que produce se ha comparado con la sífilis por la diversidad de los tejidos vulnerables al ataque y por la variedad de los síntomas. Los signos precoces suelen ser débiles y si la intoxicación no se descubre y trata oportunamente progresa hasta constituir una enfermedad grave que puede originar la invalidez. Si la exposición al tóxico es ligera pueden pasar años antes de que aparezcan los síntomas, de dos enfermos igualmente expuestos uno puede padecer la forma grave mientras el otro permanece libre de manifestaciones.

Se pueden presentar dos clases de intoxicaciones por plomo: las industriales y las domésticas.

INDUSTRIALES.—El plomo y sus sales se usan en un gran número de industrias, pero las más peligrosas son aquellas en las que el polvo o humos

del plomo contaminan el aire. Las industrias que se consideran especialmente peligrosas son: a).—Las mineras, Fundiciones y Plantas de Refinación. b).—Manufactura de productos que contienen plomo como el alambre, planchas, balas, útiles de plomería. Acumuladores eléctricos, etc. c).—Fabricantes de sales de plomo y compuestos de éste, especialmente el óxido, el albayalde, el acetato, el nitrato, el carbonato, el sulfuro, el bromuro y el sulfato. d).—Aplicación y renovación de pinturas que contienen plomo, así como barnices e insecticidas. Entre éstos se encuentran los que pintan con brocha de aire, los vitrificadores, los que hacen el vidrio de alfarería, los que pintan y des-pintan buques y los que diseminan insecticidas en los árboles frutales. e).—Preparación e incorporación a la gasolina de antidetonantes, que contienen plomo como el tetraetilo de plomo.

Sin embargo, aquellas industrias en las que el plomo es el principal peligro, se encuentran bien controladas y por ello, si acaso, se presentan intoxicaciones benignas. Los accidentes se deben a descuidos individuales o faltas de disciplina.

Según Legge, el envenenamiento por plomo se puede presentar por la ingestión de uno o dos miligramos de plomo, diariamente, sin embargo las dosis que causan el envenenamiento por acumulación, pueden variar según la susceptibilidad del individuo, debida en parte a la variación en la alimentación, la fatiga, el alcoholismo, y las infecciones; por lo que es difícil señalar un mínimo. Grandes cantidades pueden ser ingeridas sin ningún trastorno, en cambio en individuos de higiene deficiente, pequeñas cantidades pueden causarlo.

DOMESTICAS.—Las intoxicaciones domésticas son de origen diverso y más bien accidentales. Se han presentado casos de intoxicación con el agua contaminada en las tuberías de plomo. Antiguamente eran comunes las intoxicaciones con cerveza, vino, sidra fabricada en vasijas de alfarería, cuyo vidriado contenía plomo.

ABSORCION Y DISTRIBUCION

Absorción.—Piel.—La absorción se efectúa por la piel únicamente en casos de abrasión del epitelio.

Vía subcutánea e intramuscular.—Esta puerta solamente interesa cuando las balas o perdigones se fijan en los tejidos.

Tracto gastro-intestinal.—En la mayoría de las intoxicaciones caseras, éste es el principal lugar de absorción. La secreción gástrica ácida, es capaz de disolver hasta el mismo plomo metálico, en cambio en medio alcalino lo precipita, como carbonato; la alimentación rica en calcio disminuye la absorción (4) que se realiza principalmente en el duodeno. La cantidad absoluta que se absorbe, no depende tanto de la cantidad sino del tiempo que el elemento permanece en el tubo digestivo.

Tracto respiratorio.—Esta es la vía más importante de absorción. La mayoría de las intoxicaciones industriales son producidas por las inhalaciones de polvo o humos que contienen plomo. Se presume que la absorción del plomo se verifique depositándose éste en las mucosas del conducto respiratorio, Blungart (5) y Minot (6), demostraron la posibilidad de absorción por las membranas respiratorias, incluso por las de las fosas nasales. Una vez que el plomo se ha depositado en las mucosas, se va disolviendo químicamente, de modo continuo, pero no es posible determinar con certidumbre en qué consiste este proceso. Tal vez se formen compuestos Plumboproteínicos solubles, también es posible que la elevada tensión de anhídrido carbónico produzca una atmósfera bastante ácida para que se disuelvan las partículas metálicas. Además es verosímil que éstas sean fagocitadas y así alcancen la circulación. No existe unanimidad de opiniones acerca de la forma circulante del plomo, la mayoría de investigadores entre ellos Aub (7) creen que se va transformando en fosfatos orgánicos o inorgánicos, contándose entre los posibles el bifosfato, el bifosfoglicerato, el fosfato de calcio y de plomo, etc., todos los cuales se les supone de acción nociva.

ELIMINACION

Cierta parte del plomo ingerido no alcanza la circulación general, pues llega a la bilis y es excretada en las heces; en cambio, el metal que penetra en el organismo por los pulmones, tiene acceso directo a todos los elementos del aparato cardiovascular. Quizá esta es la razón más importante de que el envenenamiento se produzca antes por inhalación que por ingestión de

los compuestos del plomo. Una vez que alcanza el torrente circulatorio, pasa al hígado y riñones que presentan las concentraciones más elevadas y de estos órganos emigra a los huesos, donde se depositan en las trabéculas en forma de fosfato neutro insoluble. Puede permanecer fijo en el esqueleto durante largo tiempo, sin ejercer allí sus efectos perjudiciales.

Las principales vías de excreción, son el tracto intestinal y los riñones.

Gran parte del plomo que aparece en las heces, durante la exposición al tóxico, representa el que no llegó a absorberse.

Kehoe (8) y sus colaboradores en 1933 indicaron que durante la exposición al plomo, el contenido en las heces guarda alguna relación con la intensidad de la exposición y sirve de índice aproximado de esta intensidad. En cambio la excreción urinaria indica en cierto modo la cantidad de metal que se encuentra en la circulación. Sin embargo, la eliminación renal no aumenta proporcionalmente al plomo ingerido sino queda rezagada, esto quiere decir que la absorción es menor cuando se toma gran cantidad de tóxico o que aumenta la cantidad de plomo que se deposita en los huesos.

El principal factor que determina la toxicidad del plomo, es el equilibrio entre su absorción, almacenamiento y eliminación. Se dice que el individuo está en equilibrio plúmbico, cuando la excreción es equivalente al ingreso del elemento y entonces no se produce depósito de plomo.

En cambio, si la ingestión aumenta por su exposición extraordinaria, la eliminación queda rezagada y se produce almacenamiento. Si el exceso de plomo no excretado se deposita pronto en los huesos, aún la entrada de cantidades relativamente grandes, originará pocos síntomas, pero si permanece en la circulación y tejidos blandos, aparece el síndrome característico de la intoxicación.

La cantidad de plomo en la sangre, no sólo depende del plomo absorbido (exógeno), sino también de la reintegración del plomo depositado en los huesos (3).

Factores que influyen en la distribución del plomo.

1.—La semejanza de conducta entre el plomo y el calcio respecto a la formación de fosfatos y al depósito de éstos en el esqueleto, condujo a la hipótesis fundamental de que los procesos metabólicos del plomo y del calcio son muy semejantes.

Así pues, la descalcificación del esqueleto traería la eliminación del plomo, las dietas pobres en calcio favorecen la eliminación del tóxico como

lo comprobó Aub (9). Shelling (10) hizo notar igualmente la relación entre el ión calcio y el ión fosfórico. Así pues, este autor señala que para que se logre la eliminación del tóxico, es necesario una dieta rica en fosfatos pobre en calcio.

2.—Los ácidos y las sales acidificantes (11) producen la eliminación del plomo por causar una disminución, en el p.H. sanguíneo.

3.—El bicarbonato de sodio produce la eliminación del plomo, porque alcaliniza el medio, pero no todas las sales que provocan esta reacción tienen este efecto (10).

4.—Los yoduros provocan la eliminación del tóxico. Aub (11) ha usado el yoduro de potasio.

5.—Aub y Hunter (12) usaron la hormona paratiroidea por tener la propiedad de dirigir la corriente cálcica del esqueleto a la sangre, en virtud de provocar la reducción del umbral de los fosfatos.

6.—Cuando se ingiere suficiente cantidad de los iones cálcico y fosfórico, la vitamina D aumenta el depósito de fosfato cálcico y de fosfato plúmbico en los huesos. Sin embargo, Shelling en 1935, basándose en observaciones sobre animales, apunta la posibilidad de que en sujetos que reciben calcio y vitamina D con ingestión suficiente en fosfatos, la vitamina puede favorecer de tal modo el depósito de fosfato cálcico en los huesos, que el catión plomo queda privado del anión fosfato y permanece en la circulación. Así, cree que la dieta pobre en fosfatos y rica en calcio, resulta aún menos favorable para el almacenamiento del metal en los huesos, en presencia de la vitamina D que en su ausencia.

Kehoe y sus colaboradores (13) (14) han investigado sobre el plomo normal de las heces, en la orina y en la sangre, encontrando que un adulto excreta diariamente en las heces de 0.25 miligramos a 0.40 miligramos de plomo en 24 horas. La eliminación en la orina varía de 0.02 a 0.010 miligramos en 24 horas y en la sangre se ha encontrado que existe alrededor de 0.030 miligramos por 100 c. c. de sangre.

Estos mismos investigadores revelaron que la alimentación proporciona de 0.22 a 0.35 miligramos de plomo.

Desde el punto de vista industrial, nos interesa saber que, según Kehoe (13), la exposición ocupacional está dentro del margen inocuo, si el promedio de eliminación fecal en los obreros no excede de 0.60 miligramos diarios

en las heces y la concentración media urinaria no pasa de 0.10 miligramos por litro. Puede esperarse la intoxicación, cuando el personal expuesto muestra una excreción media superior de 1.1 miligramos diarios en las heces y la concentración media en la orina de 0.15 miligramos por litro.

0.10 miligramos de plomo por litro de orina suelen corresponder a 0.06 a 0.07 miligramos en 100 c. c. de sangre, siempre que las condiciones de exposición sean sostenidas.

SINTOMAS Y SIGNOS DE LA INTOXICACION (15)

Signos y síntomas que se encuentran en los casos de saturnismo.—La cantidad de plomo que puede causar el envenenamiento, es variable, dependiendo de la susceptibilidad del individuo.

El diagnóstico precoz es difícil de realizarse, siendo de gran interés, por lo que es indispensable conocer los primeros síntomas de la intoxicación. Estos son: mal humor, inquietud, excitabilidad y palidez. Podemos notar también el ribete plúmbico gingival llamado también "línea de plomo" o línea de Borton, que es signo de absorción de plomo, pero no de intoxicación, aunque a veces puede presentarse en la absorción del mercurio, plata, bismuto, paladio y hierro por lo que no es un dato al que se le puede dar mayor importancia. Se cree que esta mancha está constituida por sulfuro de plomo, pudiéndose distinguir de la causada por el bismuto, en que aquella es granular (3).

En casos más avanzados se aprecia la ictericia, debida probablemente a la mayor destrucción de hematíes. También se aprecia un notable envejecimiento.

Respecto a los trastornos sufridos en el aparato digestivo, podemos decir que en el curso del saturnismo suele aparecer pronto la pérdida del apetito, náuseas y vómitos, sabor metálico, estreñimiento, cólico; éstos dos debido a la acción del plomo sobre la musculatura lisa del trayecto intestinal.

Los trastornos nerviosos son muy graves y a veces irremediables, los primeros síntomas son: irritabilidad, vértigos, cefalalgia e insomnio; estos síntomas pueden pasar desapercibidos a menos que se esté en el antecedente de que el paciente haya estado en contacto con el plomo.

Los síndromes neurológicos más comunes son: la parálisis saturnina, y la encefalopatía saturnina.

Parálisis.—Cuando la parálisis persiste durante largo tiempo, quizá nunca se pueda reparar completamente la atrofia muscular, no obstante que se ha comprobado que la lesión del nervio es perioxial y no del cilindro eje. Los músculos más fácilmente afectados son los que se utilizan con mayor frecuencia, se cree que sea debido a las lesiones de los filetes que inervan dichos músculos, entre éstos tenemos: (1) Extensores de la muñeca y dedos de la mano (nervio radial). (2) Extensores del pie y sus dedos (nervio peroneal). (3) Músculos pequeños de la mano. (4) Deltoides, bíceps, branqueal anterior y supinador largo. Los que más se afectan son los primeros, produciéndose "mano péndula" y "pie péndulo".

Casi siempre la parálisis afecta uno de los grupos mencionados, aunque a veces puede ser general ocasionada por la degeneración de las células pertenecientes al asta anterior de la médula.

Stieman (48) sugiere que la parálisis muscular selectiva puede deberse a trastornos metabólicos de la fosfocretina de esos músculos.

Encefalopatía.—La encefalopatía saturnina se presenta raras veces en los adultos, en cambio, en los niños puede ser síndrome inicial de la intoxicación por plomo. Es frecuente siempre que un niño presente aumento de presión intraqueanal sin síntomas definidos de localización, sobre todo cuando coexisten con fenómenos convulsivos y con muestras de irritación meníngea.

El diagnóstico se comprueba en las radiografías de los huesos largos, si en la metafisis se aprecian las características líneas de densidad.

La encefalopatía se cree que se debe a diferentes causas, pero las pruebas más aceptadas favorecen la teoría de que los síntomas se deben a la meningitis difusa.

El saturnismo no afecta de modo notable la presión sanguínea, se puede considerar que aumenta como una consecuencia refleja al dolor en el momento del cólico.

También se presenta el dolor muscular y de las articulaciones, así como algunos trastornos urinarios. La acción renal del tóxico se puede poner de manifiesto por la presencia de hemoglobina en la orina, de albúmina y de cilindros.

La eliminación del plomo en la orina en proporción mayor de 10 mili-

gramos por litro, se considera como un posible caso de intoxicación.

Trastornos Hemáticos.—Los trastornos del cuadro hemático que acompañan a la intoxicación, por el plomo son sumamente característicos y suelen ayudar a confirmar el diagnóstico. El metal afecta la médula ósea, según se ha dicho, y los mismos eritrocitos circulantes. En el curso de la exposición Jones (21) ha observado una policitemia pasajera precoz, que él atribuye a los efectos estimulantes del metal sobre la médula ósea; sin embargo, es más típica la anemia secundaria que caracteriza los períodos tardíos. La destrucción de hematíes no es lo bastante rápida para producir una profunda anemia. Por término medio, se cuentan 4.000,000 de eritrocitos por mm.³ con un valor hemoglobínico del 70 por 100. Sin embargo, la anemia las membranas celulares, con lo cual pierden elasticidad y se hacen quebradizas. Entonces, los traumatismos propios de la circulación rompen las células, y el sistema retículo endotelial las retira de la corriente sanguínea. Esta destrucción hemolítica es un estímulo para la médula ósea, que se traduce en el aumento de los reticulocitos. La reticulocitosis tiene importancia para el diagnóstico en los períodos iniciales de la intoxicación por el plomo.

Otro rasgo que ayuda considerablemente a determinar la causa del padecimiento es el puntado basófilo de los hematíes, aunque no sea exclusivo de la intoxicación por el plomo. Se desconoce el origen exacto de estas células, pero hoy se cree que son reticulocitos afectados por el plomo, que por degeneración de la trama han tomado ese aspecto característico. Whitby y Britton (16) demostraron que puede provocarse una marcada reticulocitosis inyectando plomo en la vena. Las células punteadas tardan en aparecer, y su número permanece constante, hasta que una segunda inyección del veneno provoca un nuevo aluvión de reticulocitos. Sólo después de esto, aumenta otra vez la cifra de elementos moteados.

En un caso dado de saturnismo, puede interpretarse de diferentes maneras la significación de los eritrocitos puntados, pero es posible señalar los siguientes hechos: a) Las células punteadas no aparecen en todos los casos de intoxicación por el plomo. 2) Su presencia en el torrente circulatorio no constituye una indicación definida de envenenamiento por el plomo, pues se las encuentra en otros estados, y aun en la sangre normal. 3) Aunque su número no suele estar relacionado con la gravedad de la intoxicación, los valores que pasan de un 5 por 100 son más comunes en el saturnismo que en cualquier otro padecimiento.

Tratamiento.—El tratamiento se funda en suprimir la exposición al plomo y alterar la distribución del plomo en el organismo. Si se ve al enfermo durante un episodio tóxico agudo, puede conseguirse alivio temporal con la terapéutica sintomática.

Tal vez se necesite la morfina para dominar el dolor de los cólicos, pero han de ensayarse antes los antiespasmódicos, como el calor, atropina, nitritos y papaverina, y las sales intravenosas de calcio. Para aliviar el estreñimiento y apresurar la eliminación intestinal del plomo, resultan eficaces los purgantes salinos. Los síntomas encefalopáticos pueden requerir sedantes y medidas médicas o quirúrgicas encaminadas a disminuir la presión intracranial. Cuando aparecen neuritis periféricas, han de instituirse los procedimientos físicos que tienden a evitar las deformidades y atrofas. Debe tratarse la anemia con cantidades suficientes de sales de hierro.

Sin embargo, el objetivo principal es el conseguir que el plomo salga de la circulación y se deposite en los huesos, donde pierde su actividad. Como ya se ha dicho, esto se logra con una dieta rica en calcio y fosfatos. Para este fin, la leche es ideal, porque su relación de calcio o fósforo favorece el depósito del calcio en los huesos; también puede recetarse fosfatos cálcicos. Además, conviene asegurar una provisión suficiente de vitamina D. Los síntomas tóxicos suelen ceder a los pocos días de instaurar este procedimiento. La misma terapéutica debe usarse con los enfermos que padecen saturismo crónico y se encuentran en mal estado físico, pero no están en episodio agudo. Conviene transportar al esqueleto el plomo de los tejidos blandos y la circulación, para que el enfermo pueda recuperar su vigor normal y su estado de buena nutrición.

En circunstancias ordinarias, el plomo de los huesos no produce efectos tóxicos. Sin embargo, como la acidosis moviliza el fosfato terciario (fosfato neutro de plomo insoluble), no hay ninguna seguridad de que el tóxico vaya a permanecer en el esqueleto. La experiencia demuestra que las infecciones y los trastornos metabólicos que producen acidosis llevan el plomo de los huesos a la circulación. En tal caso, el enfermo se encuentra en la difícil situación de hacer frente al episodio tóxico agudo, sobrepuesto a la enfermedad que ocasionó la movilización del metal. Cuando la afección es grave, como la neumonía, la carga adicional de los síntomas saturninos agudos puede ser un factor decisivo para el resultado de la enfermedad. Así, pues, hemos de considerar el importante problema terapéutico de si una vez depositado el plomo en los huesos y fortalecido al enfermo, debe procederse a su movilización deliberada, para conseguir la eliminación.

La cuestión ha sido resuelta en sentidos contrarios. Un grupo de investigadores pone en duda que sea razonable exponer deliberadamente a un individuo sano a la acción tóxica del plomo, con el riesgo de un envenenamiento (Gray y Greenfield), (17). Otros opinan que tarde o temprano puede producirse inopinadamente la movilización aguda, y es mejor suscitar la excreción del plomo esquelético en condiciones de escrupulosa vigilancia médica, cuando el individuo goza de buena salud y está preparado para resistir la prueba. Sin embargo, Kehoe y colaboradores (8) presentan pruebas de que la eliminación del plomo se produce espontáneamente. Analizaron los tejidos de ocho individuos autopsiados, que dos años antes habían sufrido grave exposición al plomo y en quienes no se había empleando ningún procedimiento de eliminación del metal. En todos los casos, el contenido del plomo en el organismo resultó hallarse dentro de los límites normales. De ahí llegaron a la conclusión de que, aun después de exposiciones graves, el metal abandona lentamente el organismo, y su concentración queda reducida a los límites normales al cabo de seis a ocho meses. Según estos resultados, poco puede ganarse con quitar el plomo deliberadamente a los intoxicados. Sería muy interesante conocer la historia dietética de los casos que presenta Kehoe, pues el de tipo común suele ingerir escasa cantidad de calcio.

En el caso de emplear un procedimiento para conseguir eliminación del plomo, puede adoptarse el método de Gray (18). Durante el curso de la cura, el paciente debe estar en las mejores condiciones físicas posibles, y conviene hospitalizarle. Para realizarla sin peligro, sirve de guía el siguiente criterio (Belynap) (14): hemoglobina, más de 80 por 100; cuenta de hematíes, más de 4.000,000; células punteadas, menos de 5,000 por cada 1.000,000 de eritrocitos; eliminación urinaria de plomo, inferior a 0.15 mg. diarios. La movilización del metal se consigue administrando una dieta pobre en calcio y rica en fosfato (relación 1.4/, combinada con sales acidificantes. Puede usarse cloro o nitrato de amonio, a la dosis de un gramo por hora durante ocho a diez horas diarias. Usando el ácido fosfórico, se cumplen dos requisitos: producción de acidosis y provisión del ión fosfato. La dosis es de 5 c. c. por hora, 12 veces al día. No puede hacerse una exposición didáctica sobre el tiempo que dura el tratamiento. Lo mejor es analizar la orina con frecuencia, continuando la cura hasta que la excreción de plomo quede dentro de los límites normales. No conviene hacer una serie única demasiado prolongada, porque pueden aparecer síntomas de saturnismo crónico. Si después de tres semanas del tratamiento el metal continúa eliminándose en grandes cantidades, ha de sus-

penderse la cura, para reanudarla más adelante. Cuando se adoptan estas precauciones, el proceso de depuración no suele ir acompañado de reacciones enojosas.

A veces se utiliza el extracto paratioideo para promover la liberación del plomo en el esqueleto y favorecer así la excreción. La dosis es de 40 a 80 unidades diarias. Si se emplea este medicamento debe hospitalizarse al paciente y seguir de cerca los niveles de calcio y fósforo, para evitar reacciones aviesas.

Algunas veces, se utiliza el yoduro potásico para favorecer la excreción del plomo en los enfermos ambulantes. Se dan 15 gotas de solución acuosa saturada, dos veces al día, durante tres o cuatro días. Esta cura se repite cada tres o cuatro semanas, hasta que el enfermo deja de eliminar plomo en exceso como respuesta a la medicación.



II

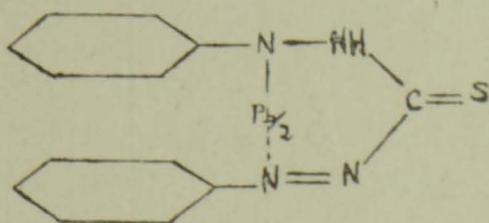
Métodos de Dosificación de Plomo
en Materiales Orgánicos.

II METODOS DE DOSIFICACION DE PLOMO EN MATERIALES ORGANICOS

Contamos con dos tipos de métodos para el análisis del plomo en materiales orgánicos: los Espectrográficos y los Colorimétricos.

Los métodos Espectrográficos (19, 20, 21, 22, 23), son de gran exactitud y rapidez, pero tienen el inconveniente de que el espectrógrafo que se requiere para las determinaciones es de elevado costo y no está al alcance de todas las Instituciones.

Entre los métodos colorimétricos tenemos dos: los que usan la Ditiizena (Difenil-tio-cabazona) (21, 24, 25, 26, 27, 28), que aprovecha la propiedad que tiene éste de extraer al plomo de los compuestos orgánicos formando el complejo colorido siguiente:



Por último tenemos el método Colorimétrico que usa la S-Difenilcarbazi-
da (47) por haberse encontrado que es un reactivo cuantitativo para el cromo.

La S-Difenilcarbazi-
da, reacciona con el cromo del cromato de plomo produciendo una coloración roja que se puede medir colorimétricamente.

Este fué el método elegido para nuestras determinaciones. La razón que nos indujo para escogerlo estuvo condicionada por los materiales y medios de que disponíamos para nuestro trabajo.

La técnica presenta algunas ventajas sobre los métodos anteriormente mencionados, como son los de utilizar operaciones familiares al laboratorista por lo que es posible su aplicación en cualquier momento en que sea necesario. Es de gran sensibilidad, pudiéndose cuantear hasta décimos de microgramo.

Técnica.—Medir exactamente 10 c. c. de sangre usando como anticoagulante una solución saturada de oxalato de sodio, (0.3 c. c. bajo en contenido de Pb) y colocarlos en una cápsula de vitreosil de 30 c. c. con boca; y que contiene 5 c. c. de agua destilada libre de Plomo. Evaporar a sequedad en una placa caliente, aumentando gradualmente la temperatura para disminuir el peligro de que haga espuma y se riegue. Pasar la cápsula a una mufla eléctrica y calentar a baja temperatura hasta que el material se carbonice; elevar la temperatura a 400-500° C. y continuar calentando hasta completar la calcinación. Enfriar la cápsula y agregar 1 c. c. de ácido nítrico concentrado, (2 c. c. si la cantidad de cenizas es grande), lavando las paredes de la cápsula. Evaporar cuidadosamente a sequedad en una plancha caliente y volver a colocarlos en la mufla y continuar calentando hasta que desaparezca todo vestigio de carbón, (generalmente cerca de 30 minutos).

Cuando se enfríe agregar 5 c. c. de HCl al 20% lavando las paredes como antes. Evaporar cuidadosamente hasta cerca de un tercio del volumen en una plancha caliente cubierta con asbesto evitando la evaporación a sequedad, enfriar, agregar 2 c. c. de solución de citrato de sodio al 20% (nuevamente lavando las paredes de la cápsula), y una gota de rojo de fenol; mientras se agita con agitador Pyrex agregar hidróxido de amonio concentrado, hasta que el indicador se vuelva púrpura. Filtrar a través de papel filtro Whatman número 40, recibiendo directamente en un tubo de centrifuga de 15 c. c. que se ha seleccionado como capaz de recibir el precipitado.

Lavar la cápsula y papel cuatro veces con 1 c. c. de hidróxido de amonio. 0.1 N. Agregando suficiente ácido acético al 25% para cambiar el indicador a amarillo naranja (evitar el exceso de ácido; generalmente bastan de una a tres gotas).

Usando una pipeta calibrada agregar precisamente 1 c. c. de solución estándar de acetato de plomo que contiene 0.01 miligramos de plomo seguido de 1 c. c. de acetato de amonio al 40% agregado de manera que baje cualquier material que se haya quedado adherido a las paredes del tubo. Agregar 1 c. c. de solución de cromato de potasio al 30% mezclando com-

pletamente por agitación, pero sin raspar las paredes del tubo evitando salpicar la solución concentrada de cromato. Cubrir y dejar en reposo durante la noche.

Quitar el agitador y lavar el material adherido en el tubo con 3 c. c. de $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ al 0.4%. Centrifugar 10 minutos a 2,400 r.p.m., decantar el líquido sobrenadante, invertir el tubo y dejar escurrir durante 5 minutos. Secar cualquier líquido remanente en la boca del tubo. Lavar con 10 c. c. de ace-

tato de amonio al 0.4% teniendo cuidado de lavar todas las porciones de la superficie interna del tubo, suspender el precipitado agitando con el agitador ligeramente y lavar el agitador como antes. Centrifugar durante 10 minutos, decantar y escurrir 5 minutos. Repetir el lavado con otra porción de 10 c. c. de solución de acetato de amonio. Centrifugar de nuevo y después de escurrir 10 minutos, secar la boca del tubo. Colocar el agitador y agregar 3 c. c. de HCl al 10% lavando el agitador y las paredes del tubo.

Agitar hasta disolver el precipitado y agregar 10 c. c. de solución de difenilcarbazida, quitar el agitador, y mezclar por inversión. Dejar en reposo 10 minutos para desarrollo del color.

Medir el color en colorímetro fotoeléctrico, (filtro verde transmisión máxima 540 milimicras) o comparar en el colorímetro con soluciones estándar de cromato de plomo con difenilcarbazida como sigue:

Medir 3 c. c. de cada una de las soluciones estándar de cromato de plomo en tubos de ensayo, agregar 10 c. c. de solución de difenilcarbazida, mezclar y dejar en reposo 10 minutos para desarrollo del color, el color es estable durante una hora o más.

La fórmula siguiente nos da la cantidad de miligramos de plomo en 100 c.c. de sangre.

$$\text{mg. de Pb x 100 c.c.} = \frac{\text{S x 0.03 (0.06) x 0.5 Blanco}}{\text{U}}$$

Donde S es la lectura del estándar, U lectura del desconocido, 0.03 y 0.06 representan las concentraciones de plomo en las dos soluciones estándar. El Blanco incluye el plomo añadido (0.01 miligramo) más el plomo presente en los reactivos.

Para determinar el Blanco se miden 5 c.c. de agua libre de plomo y

5 c.c. de FeCl_3 , catalizador y anticoagulante. Evaporar a sequedad y calcinar en la mufla eléctrica, una vez que se enfríe proceder como se ha descrito para sangre. Ya conocida la cantidad de plomo en los reactivos empleados en la preparación de la muestra, puede abreviarse el trabajo omitiendo esta parte del procedimiento y colocando en su lugar un tubo control conteniendo el plomo añadido y los reactivos.

Para preparar dicho tubo control incluido en cada grupo de muestras, medir 5 c. c. de agua libre de plomo en un tubo de centrifugas (de 5 c. c.) y

gota de ácido acético al 25%, exactamente 1 c.c. de la solución estandard de acetato de plomo, 1 c.c. de acetato de amonio al 40%, y 1 c.c. de cromato de potasio al 30%, tratando de acuerdo con las intrucciones marcadas para muestras problemas.

Al resultado que representa el plomo tomado (0.01 miligramos) mas el plomo en los reactivos, agregar la cantidad de plomo (si lo hay) encontrado en los reactivos usados para preparar la muestra y que se conocieron con el blanco, restar este valor de la cantidad total de plomo encontrada en la muestra.

REACTIVOS USADOS:

1.—Agua destilada. Para la preparación de reactivos y uso en el método; se libera de plomo redestilándola en destilador Pyrex después de la adición de unas gotas de ácido fosfórico.

2.—Acido acético al 25% y 1%. Acido acético glacial diluído con agua. Acetato de amonio al 40% en agua filtrada. Acetato de amonio al 0.4% preparada de la anterior y almacenada en frío.

4.—Hidróxido de amonio concentrado, reactivo de calidad.

5.—Hidróxido de amonio aproximadamente O.IN. Diluir 7 c.c. del concentrado a 100 c.c.

6.—Difenilcarbazida al 0.02%. Poner 100 mg. de s-difenilcarbazida pulverizada, en vaso de 1,000 c.c. Agregar 500 c.c. de agua destilada libre de amoníaco, cubrir con vidrio de reloj y disolver completamente por ebullición durante varios minutos, agitando si fuera necesario. Enfriar, diluir a 500 c.c. y guardar en frasco ámbar. Se conserva durante dos meses a la temperatura ambiente.

7.—Ácido clorhídrico al 20%. Destilar partes iguales de ácido concentrado y agua destilada en aparato de destilación Pyrex.

8.—Ácido clorhídrico al 10%. Diluir 23 c.c. del concentrado a 100 c.c. con agua.

9.—Ácido nítrico concentrado, especialmente libre del Pb.

10.—Cromato de potasio al 30%. Disolver 60 grs. de cromato en agua destilada y diluir a 200 c.c. Si es posible, dejar en reposo durante 14 días o más, antes de filtrar a través de papel Whatman No. 44 el cual ha sido lavado con solución de cromato antes de usarse. La solución filtrada antes de ese tiempo deberá volverse a filtrar después de 14 días.

11.—Rojo de fenol, solución acuosa al 0.03%.

12.—Citrato de Sodio Cristalizado al 20%, disuelto en agua y filtrando la solución.

13.—Solución standard de acetato de plomo. Disolver 0.183 grs. de $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en ácido acético al 1% y diluir exactamente a 100 c.c. Cada centímetro cúbico contiene 1 mgr. de plomo.

14.—Solución standard diluida de acetato de plomo. Diluir 1 c.c. de la anterior a 100 c.c. con ácido acético al 1%. Cada centímetro cúbico contiene 0.010 mg. de plomo.

15.—Solución standard de cromato de plomo. Disolver 39 mg. de cromato de plomo en ácido clorhídrico al 10% y diluir 100 c.c. en frasco volumétrico, 1 c.c. contiene 250 microgramos de plomo. Se conserva tres meses o más en el refrigerador. Para hacer los standards 1 y 2 se diluyen 2 c.c. y 4 c.c. respectivamente a 50 c.c. con ácido clorhídrico al 10% obteniendo así soluciones equivalentes a 0.01 y 0.02 mg. de Pb en 1 c.c. Será estable en frío al menos durante tres semanas.

Cuando se requiere la filtración, implica el uso de papel libre de cenizas lavado con agua libre de Pb. El material de vidrio deberá ser Pyrex o Silicatos. Los discos de sílice se conservan en HCl concentrado y los tubos de centrífuga en la solución limpiadora, después de lavarlos con escobillón y jabón cuidadosamente. Antes de usar los discos y tubos, se lavan con agua de la llave, destilada y libre de plomo. Raramente el material de silicato contiene Pb. Los discos nuevos deberán quemarse y tratarse con HCl concentrado antes de su uso.

Discusión del Método.—Se adoptó la calcinación porque podía adap-

tarse fácilmente a las necesidades para la precipitación en tubo de centrifuga. La adición de 5 c.c. de agua libre de Pb a la sangre y el FeCl_3 , catalizador del suero o plasma, disminuyen el tiempo necesario para la calcinación. La rápida combustión, el sobrecalentamiento o el calentamiento prolongado durante la calcinación, ocasionando pérdidas serias de Pb. La importancia de una técnica apropiada para la calcinación ha sido subrayada por Fairhall (31). En el método presente la calcinación y la preparación de la solución de cenizas para el análisis sigue de manera general el procedimiento descrito por Horwitt y Cowgill (36). La filtración de la solución de cenizas separa la materia insoluble que puede interferir con el volumen propio del cromato precipitado. La cantidad de tal material es mínima y no se pierde plomo.

Se tiene precaución para evitar el efecto interferente de los fosfatos en el análisis de plomo con el uso de pequeñas muestras a las que se les agregan pequeñas cantidades conocidas de plomo para acelerar la formación de precipitado y asegurar un volumen suficiente para la centrifugación. La presencia de citrato asegura la no interferencia por fosfatos. El plomo se precipita directamente como cromato de la solución de las cenizas del material que se analiza. El cromato precipitado se separa y lava por centrifugación. El éxito de la separación del cromato precipitado por centrifugación depende del uso del tubo de centrifugación apropiado.

Los autores han usado tubos de centrifuga Pyrex de 15 c.c. graduados seleccionados conforme a las siguientes medidas: capacidad 16 a 17 c.c., diámetro de 3 a 3.5 milímetros en el fondo con curvatura de 1.5 a 1.75 m.m. de radio interno. El criterio más importante es que el tubo retenga sin romperse el paquete de precipitado cuando se invierte durante el escurrimiento.

Lo apropiado de los tubos puede establecerse efectuando una prueba rápida con una cantidad conocida de solución standard de plomo. Los tubos que fallan para recobrar la cantidad de plomo añadido se rechazan. La limpieza apropiada es esencial.

Se lava el precipitado de cromato dos veces con solución de acetato de amonio. Un solo lavado cuidadoso deja escurriendo menos de un microgramo de cromo, sin embargo se ha incluido un segundo lavado para asegurar una remoción completa del cromato soluble.

El reactivo usado para el desarrollo de calor consta de una solución acuosa diluída de S-Difenilcarbazida, mas una solución concentrada de ácido acético usada por Cazeneuve (29) y otros investigadores. La modificación

en las condiciones para el desarrollo de color estabiliza éste durante horas. Se ha reportado los resultados obtenidos por comparación en colorímetro visual y fotocolorímetro (44).

Precipitación de un cromato doble de plomo.

El cromato precipitado en las condiciones descritas, difiere del cromato ordinario de Pb en que están presentes dos equivalentes de cromato por cada equivalente de plomo. Por esta razón se ha introducido en el cálculo el factor 0.5.

La formación de un cromato diferente del cromato ordinario de plomo, no fué anticipada y sólo se sospechó una irregularidad cuando se obtuvieron resultados del doble constantemente de los esperados. Se preparó entonces cromato de Pb en gran escala, pero bajo condiciones similares a las establecidas en el método excepto que el precipitado se filtró en una Buchner. La titulación con tiosulfato estableció la presencia de dos equivalentes de se CrO_4^{2-} 10 veces suspendiéndolo en agua y secó a 110°C durante la noche. cromato para cada uno de Pb. La concentración de color por equivalente de plomo formada al tratarlo con difenilcarbazida, fué exactamente el doble de la dada por una solución standard de cromato de plomo.

La baja solubilidad del compuesto, junto con la reacción, prácticamente neutra, en la cual se forma el precipitado excluye el bicromato de plomo. Parece probable, por tanto, que se formará un cromato doble de Pb y K como el obtenido por Lachaud y Le Pierre (42) y por Groger (35) en condiciones diferentes. El análisis de 0.0125 g. de precipitado de cromato para el K, por el método de cloroplatinato, dió 0.00162 g. de K, comparado con un valor teórico de 0.0018 g. requeridos para el $\text{PbCrO}_4 \cdot \text{K}_2\text{CrO}_4$. La evidencia obtenida indica, por tanto, que se forma este último compuesto.

El cromato doble se forma sólo dentro de un límite de pH 7.4 a 6.6 determinado por el electrodo de vidrio. Cuando se disminuye más el pH, el contenido de cromato del precipitado desciende hasta un pH de 5.4 o menos, formando cromato de plomo. Cuando se seleccionaron las condiciones para precipitar el Pb como cromato no se dudó que dependía de un compuesto raro, más que en el tan bien estudiado de cromato de plomo. La doble sensibilidad ganada por el uso del cromato doble, junto con los resultados constantes obtenidos por el análisis de soluciones conocidas de sales de Pb, determinaron su elección. Sin embargo, es enteramente fácil, alterando el pH de la precipitación, llevar a cabo el método basado en la separación del cromato ordinario de Pb. Esto se hizo durante varios meses

mientras se desarrollaba la técnica y antes de que se conociera la existencia del cromato doble y se apreciara la ventaja ofrecida para su uso. Los resultados fueron satisfactorios. El cromato doble es suficientemente estable a los lavados con solución de acetato de amonio. No se descompone con el agua fría o caliente.

Los métodos antiguos para la determinación de Pb precipitándolo como cromato han considerado la importancia de separar el Pb de otros metales antes de proceder con la precipitación del cromato de plomo. Sin embargo, Funk y Schormuller (34) encontraron que el Pb podía precipitarse cuantitativamente de soluciones conteniendo cobre, mercurosos o mercúricos. Así también Keraoglanov y Michov (39) establecieron que el plomo podía separarse como cromato del Cu, Ag, Ni, Ca, Ba, Sr, Mn, Zn, Cd, Al y Fe. Por esta razón estos autores establecieron que no había dificultad en la precipitación del plomo como cromato en presencia de metales que se conoce tienen cromatos insolubles.

Las modificaciones que hicimos al método original fueron las siguientes:

1.—En lugar de evaporar el agua de las sangres una vez que se colocaron en las cápsulas, haciendo uso de la placa caliente, se colocaron durante la noche en la estufa a la temperatura de 100-110°C. y en seguida se llevaron a la mufla, siguiendo las indicaciones del método.

2.—En vez de evaporar el ácido nítrico agregado y el ácido clorhídrico como lo marca la técnica, se empleó una placa metálica con baño de arena calentada con mechero y teniendo las precauciones señaladas.

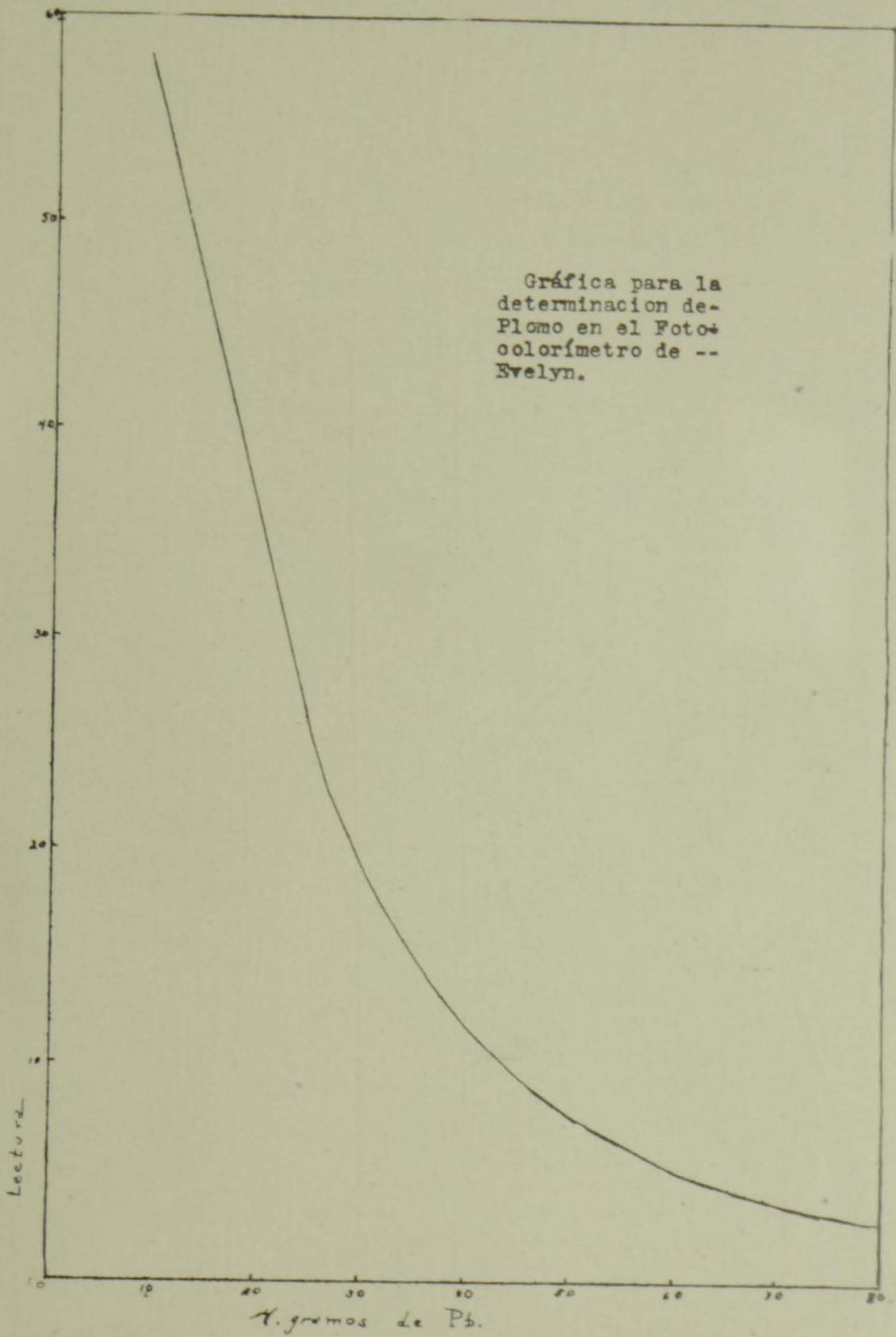
3.—La concentración del ácido acético del 25% fué sustituida por una más diluida para evitar el exceso, usando una al 15%. (7).

4.—Como no contamos con el número suficiente de cápsulas de vitreosil, ni agitador Pyrex usamos cápsulas de porcelana barnizada y agitadores de vidrio común y corriente, teniendo cuidado de hacer los "blancos" en cada caso.

5.—El fotocolorímetro usado fué el de Evelyn con filtro verde de 540 micras como lo señala el método.

6.—Para la determinación de las concentraciones de plomo en la sangre del problema se construyó la gráfica I con solución estándar de acetato de plomo diluidas a diferente concentración y aplicando la misma técnica para la precipitación del plomo.

7.—Las sangres utilizadas en las determinaciones fueron extraídas con toda precaución, lavando las jeringas y todo el material utilizado con agua destilada y bidestilada. Además las personas que las donaron fueron interrogadas acerca de que si en su vida habían estado en peligro de una posible intoxicación por plomo.



III

Resultados

RESULTADOS

Nombre.	Microgr. de Pb. en 100 c.c. de sangre.
1	D. M. 0.00
2	M. C. 0.00
3	J. R. 0.00
4	D. C. 0.00
5	A. C. 2.50
6	J. V. 2.50
7	L. F. 2.50
8	M. Q. 2.50
9	A. V. 2.75
10	J. R. 2.94
11	M. J. 2.94
12	P. C. 2.94
13	J. F. 3.00
14	A. R. 3.19
15	L. G. 3.19
16	P. R. 4.50
17	Ma. de S. L. 4.95
18	T. H. 5.00
19	A. G. 5.00
20	C. R. 5.00
21	J. C. 5.00
22	E. O. 5.00
23	L. M. 5.50
24	T. T. 5.88
25	A. M. 5.88
26	P. P. 6.00
27	T. G. 6.00
28	E. CH. 6.25
29	M. A. 6.25
30	A. F. 6.75
31	B. G. 6.77
32	M. CH. 6.77
33	A. G. 8.00
34	E. O. 8.00
35	A. S. 8.50
36	S. R. 9.00
37	F. M. 9.31
38	A. R. 9.31
39	E. M. 9.31
40	R. F. O. 9.31

RESULTADOS

Nombre.	Microgr. de Pb. en 100 c.c. de sangre.
41	C. L. 9.31
42	J. R. 9.31
43	M. O. 9.80
	E. A. 10.00
45	M. T. 10.00
46	P. P. 10.78
47	L. M. 10.70
48	E. C. 10.78
49	M. A. 10.78
50	J. P. 11.50
51	I. H. 11.75
52	E. G. 12.00
53	E. M. 12.24
54	J. L. A. 12.24
55	P. G. 12.24
56	M. P. 12.24
57	G. B. 12.24
58	A. M. C. 12.70
59	B. C. 12.74
60	H. A. 12.74
61	A. R. 12.74
62	C. F. 12.75
63	J. M. 13.75
64	J. P. 13.75
65	M. J. H. 15.00
66	T. C. 15.25
67	F. Q. 15.42
68	A. H. 15.42
69	R. C. 15.50
70	D. A. 15.70
71	J. de la R. 16.00
72	J. E. 16.25
73	D. S. 16.25
74	J. Z. 16.25
75	H. G. 16.67
76	R. M. 16.75
77	J. C. 17.25
78	E. M. 18.00
79	F. L. 18.00
80	H. O. 18.00

RESULTADOS

Nombre.	Microgr de Pb. en 100 c.c. de sangre.
81	J. F. 18.00
82	R. V. 18.50
83	C. L. 18.62
84	J. M. 20.00
85	M. E. 21.25
86	P. G. 21.25
87	B. G. 21.25
88	G. D. 21.25
89	G. O. 21.70
90	R. V. 22.25
91	L. G. de D. 22.50
92	M. S. 23.50
93	G. H. 24.00
94	J. V. 25.00
95	P. A. 25.00
96	E. M. 25.00
97	V. V. 26.00
98	T. V. 27.45
99	B. M. 27.50
100	T. V. 27.65
101	J. C. 28.00
102	M. R. S. 28.00
103	V. B. 28.00
104	C. G. 28.00
105	C. G. 28.75
106	M. P. 28.75
107	J. C. 28.92
108	M. Q. 30.00
109	S. P. 31.25
110	J. M. 31.66
111	C. P. 32.35
112	L. Z. 32.50
113	R. L. 33.00
114	J. C. 33.38
115	M. M. 33.70
116	A. F. 33.75
117	L. C. P. 33.75
118	A. J. 35.50
119	J. C. 37.50
120	P. V. de O. 38.50

RESULTADOS

Nombre.	Microgr. de Pb. en 100 c.c. de sangre.
121 M. P.	39.12
122 C. M.	39.20
123 M. G.	39.21
124 S. L.	39.26
125 E. O.	40.00
126 L. G.	42.40
127 G. P.	43.75
128 M. G. de O.	43.50
129 M. C.	43.75
130 M. de la L. R.	43.00
131 C. C.	43.75
132 A. L.	44.00
133 T. C.	45.00
134 A. O.	45.10
135 J. G.	45.10
136 C. C.	46.00
137 G. O.	46.25
138 D. S.	46.80
139 J. T.	46.80
140 J. R.	49.00
141 R. D. L.	50.00
142 M. T.	50.00
143 Z. G. C.	50.00
144 R. Y.	50.00
145 T. L.	50.00
146 E. L.	51.25
147 C. G.	52.50
148 L. N.	56.50
149 J. R.	56.50
150 J. V.	58.75

IV

Conclusiones

IV

CONCLUSIONES

Según la técnica descrita, podemos darnos cuenta que el método empleado es de manipulación minuciosa pero sencilla, que se puede llevar a cabo en cualquier laboratorio que cuente con aparatos como un Colorímetro Fotoeléctrico, una mufla cuya temperatura pueda controlarse, una campana para gases, etc.

Así pues, consideraremos que el método es apropiado para aplicarse como una ayuda en el diagnóstico, al establecer la presencia de envenenamiento o absorción de plomo.

Los resultados obtenidos en las 150 determinaciones que se llevaron a cabo, están de acuerdo con la cifra media normal de 0.03 mg. en 100 c.c. de sangre que citan Kaplan y Mc Donald, Willoughdy y Wilkins (46), habiéndose encontrado cifras normales tan altas como de 0.06 mg. de plomo en 100 c. c.



V

Bibliografía

V

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Goodman and Gilman. 2,801, 1935.
- 2.—Callier. Outlines of Industrial Medical Practice. 1,229, 1940.
- 3.—Lanza and Goldberg. Hygiene. 430, 1939.
- 4.—Lederer L. G. and Bind F. C. Effect of Calcium and phosphorus in retention of lead by growing organism. J. Am. M. A. 114, 2457, 1940.
- 5.—Blumgart H. L. Lead Studies (6). Absorption of lead by the upper respiratory passages. J. Indust. Hyg. 5, 153, 1923.
- 6.—Minot A. S. Lead Studies. The distribution of lead in the organism after absorption by the gastro-intestinal tract. J. Indust. Hyg. 6, 125, 1924.
- 7.—Aub J. C. Biochemical behavior of lead in the body. J. Am. M. A. 104, 87, 1935.
- 8.—Kehoe R. A. Thamann Faud, Cholak J. On normal absorption and excretion of lead. J. Indust. Hyg. 15, 257, 1933.
- 9.—Aub. J. C. and Hunter. D. Lead studies; effect of parathyroid hormone on excretion of lead and of calcium, in patients suffering from poisoning. J. Med. 20, 123, 1927.
- 10.—Shelling D. H. Effect of dietary calcium and phosphorus on toxicity of lead in rat rationate of phosphate therapy. Prac. Soc. Expr. Biol. and Med. 30, 248, 1932.
- 11.—Aub. J. C. Fairhall L. T. Minot A. S. and Reznikoff P. Lead Poisoning Medicine, 4, 1-250, 1925.
- 12.—Steiman, S. E. The action of Lead in phosphocreatine in the muscular paralysis of lead poisoning. Am. J. Physiol. 126, 261-269. 1939.

- 13.—Kehoe R. A. Personal Communication 1939.
- 14.—Kehoe R. A. Normal absorption and Excretion of lead. *J. Am. M. A.* 104, 90, 1935.
- 15.—Jones R. R. Symptoms in early stages of industrial plumbism. *J. Am. M. A.*
- 16.—Whitby and Britton C. J. C Relation of Stippled cell and polychromatic cell to reticulocyte *Lancet* 1, 1173, 1933.
- 17.—Gray I. and Greenfield I. Lead poisoning. Newer Concepts in treatment. *New York State. J. Med.* 38, 1313, 1938.
- 18.—Gray I. Recent progress in Treatment of plumbism. *J. Am. M. A.* 104, 200, 1935.
- 19.—Blumber H. and T. F. Mac Nair. *Scott. Bull Johns Hopkins Hosp.* 56, 32, 1935.
- 20.—Scott Gordon H. J. H. Mc Millen. "The Spectrographic Determination of Lead in blood from Normal Human subject". *Am. J. Med. Soc.* 195, (5), 622, 1938.
- 21.—Hubbord D. M. "Determination of Lead. A. Photometric dithiozone method as applied to certain Biological Material. *Ind. and Eng. Chem*". 9, 493, 1937.
- 22.—Bombach K. "Determination of Lead by Dithizone". Modification and improvement on Hubbard Clifford-Wichman Method as applied to Biol. Mat. *Ind. and Eng. Chem.* 11, 400, 1939.
- 23.—Schuts J. and Goldber M. A. Photometric routine Estimation of Traces of Lead By Dithizone. *Ind. and Eng. Chem. And. Ed.* 15, 155, 1943.
- 24.—Ross J. R. and Lucas C. C. A new method for the determination of minute amounts of Lead in Urine. *J. Biol. Chem.* 11, 285, 1935.
- 25.—Fairhall L. T. and R. G. Kenan. A rapid method for the micro-analysis of Lead. *J. Am. Chem. Soc.* 63, 3076, 1941.
- 26.—Willsins E. S. Willoughby C. E. Smith F. L. Determination of minute amounts of lead in Biol. Mat. *Ind. and Eng. Ann. Ed.* 7, 33, 1935.
- 27.—Jacob Chalok and Kool Bombach "Determination of lead in Biological materials *Ind. and Eng. Chem.* 13, 583, 1941.
- 28.—Fisher E. and Leopoldi G. The quantitative determination of heavy metals with dithizone.
- 29.—Cazeneuve P. *Bull. Soc. Chem. Paris* 23, 701, 1900. 25, 761, 1901.

- 30.—Cholak J. Hubbard D. M. MacNair. R. R. and Story R V. *Ind. Eng: Chem: Anal. Ed.* 9, 488, 1937.
- 31.—Fairhall L. T. *Am. J. Pub. Health.* 28, 825, 1938.
- 32.—Fairhall L. T. *J. Biol. Chem.* 60, 485, 1924.
- 33.—Fairhall L. T. *J. Ind. Hyg.* 15, 289, 1924.
- 34.—Funk H. and Schormuller J. Z. *Anal Chem.* 82, 361, 1930.
- 35.—Groger M. *Ibid.* 55, 192, 1907.
- 36.—Horwitt M. K. and Cowgill G. R. *J. Biol. Chem.* 119, 553, 1937.
- 37.—Jones B. *Analyst* 55, 318, 1930.
- 38.—Kaplan E. and McDonald J. M. *J. Pharm. Exptl. Therap.* 63, 17, 1936.
- 39.—Karaoglanov Z. and Michor M. Z. *Anal Chem.* 103, 11, 1935.
- 40.—Kehoe R. A. Thamann F. and Cholak J. J. *Ind. Hyg.* 18, 42, 1936.
- 41.—Lachud Mand Leperrie. C. *Compt. Rend.* 110, 1035, 1890.
- 42.—Letonoff T. V. *J. Lab. Clin. Med.* 20, 1293, 1935.
- 43.—Riggs H. Letonoff T. V. and Reinhold J. G. Unpublished.
- 44.—Sandford A. H. Sheard C. and Osterberg A. E. *Am. J. Clin. Path.* 3, 405, 1933.
- 45.—Smith F. L. Rathnell T. K. and Marcil G. C. *Ibid* 8, 471, 1939.
- 46.—Willoughby C. E. and Wilkins E. S. *J. Biol. Chem.* 124, 639, 1939.
- 47.—T. V. Letonoff and J. C. Reinhold *Ind. and Eng. Chem. Anal. Ed;* 12, 280, 1940.

