

UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGIA

Contaminantes inorgánicos de la leche
de consumo humano

Vº Bº

EL CATEDRÁTICO

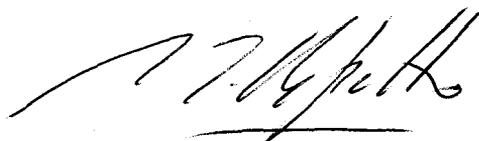


Fdo: Dr. J. Ma Trillo

Catedrático Q. Inorgánica

Vº Bº

EL DIRECTOR



Fdo: Dr. Manuel Repetto

Prof. de Toxicología.

U N I V E R S I D A D D E S E V I L L A

F A C U L T A D D E F A R M A C I A

DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGIA

Trabajo presentado por Emilia
Montoro Sández para optar al
grado de Licenciada en Farmacia.

Emilia Montoro Sández

Sevilla. Octubre de 1979.

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
BIBLIOTECA

Mi agradecimiento al Dr. D. Manuel Repetto, Profesor de Toxicología y Director del Instituto Nacional de Toxicología de Sevilla , que hizo posible este trabajo con su orientación y dirección.

Mi agradecimiento también al Dr. D. Miguel López-Artíguez por su paciencia y constante ayuda.

Quisiera expresar también mi agradecimiento al Dr. D. Domingo Martínez y a la Dra. Ma Paz Giménez que facilitaron e hicieron más agradable mi trabajo.

Y, finalmente, agradezco a todos los componentes del Instituto Nacional de Toxicología y a todos aquellos que contribuyeron de una u otra forma a la realización de este trabajo.

INTRODUCCION.

En la leche de vaca se encuentran metales pesados en pequeñas cantidades, que al exceder ciertos límites de concentración pueden provocar alteraciones en sus propiedades e incluso producir intoxicaciones en los consumidores.

De ahí, que existan gran número de trabajos en los que se estudian las causas productoras de valores anormales de estos elementos, así como los diferentes métodos analíticos más convenientes para su identificación y cuantificación.

Los altos valores de estos elementos en la leche pueden explicarse a través de la cadena alimentaria. Las plantas constituyen, directa o indirectamente, una de las principales fuentes de oligoelementos de la alimentación animal y humana.

La concentración de los oligoelementos en los vegetales puede variar según los suelos de cultivo, la naturaleza y la cantidad de abono empleado, las especies y variedades de plantas cultivadas, y la contaminación del ambiente.

La composición de los alimentos de origen animal, en particular la carne, la leche y los huevos, puede depender de la clase de vegetales que los animales consuman y de los

suplementos minerales que les suministran en el pienso.

El hombre, como último eslabón de la cadena alimentaria, al ingerir un exceso de estos elementos metálicos, puede llegar a sufrir intoxicaciones crónicas y más raramente agudas.

La posibilidad de intoxicación por el consumo de leche con alta concentración en estos elementos, nos ha estimulado a realizar un estudio analítico de las leches que principalmente se consumen en la región andaluza, utilizando para ello diferentes métodos de espectrofotometría de absorción atómica.

Hemos elegido los elementos que a nuestro juicio tienen un mayor interés desde el punto de vista toxicológico. Estos elementos son: plomo, cadmio, cobre, zinc, mercurio y arsénico.

Hubo que desistir de la investigación de arsénico y mercurio por dificultades de adquisición del hidruro de boro y sodio, reactivo necesario para su determinación, por lo que finalmente nos concretamos a: plomo, zinc, cadmio y cobre.

P A R T E T E O R I C A .

CONCEPTO Y FORMACION DE LA LECHE.

Según C.A.E. la leche se define como el producto obtenido del ordeño de las hembras de mamíferos sanas y bien alimentadas, efectuado sin interrupción, higiénico, regular y completo, desprovista de calostros y con características organolépticas normales.

La leche es un producto líquido segregado por las glándulas de los mamíferos; dentro de estas glándulas hay unos alveolos que son los acines, están formados por dos capas celulares: una interior que es la capa secretora y otra capa externa que es contráctil y está formada por células mioepiteliales. Las especies propiamente lecheras tienen un conducto galactóforo que se comunica con las células acines por medio de un conducto central (Kon 1961).

La secreción láctea es el producto de la actividad especial del epitelio de los acines glandulares que en el momento de la lactancia adquieren un gran desarrollo. La secreción láctea se instaura normalmente después del parto; durante todo el embarazo se produce una hiperplasia de todo el tejido conjuntivo y se va desarrollando la ubre lentamente. Se pueden distinguir dos fases (Reynolds 1969) :

1.-Fase proliferativa: En esta fase el crecimiento de la mama está ligado al funcionamiento del ovario. En el ovario se

forma el folículo de Graft y se producen dos tipos de hormonas:

- a) Estrógenos: actúan sobre la hipófisis y al mismo tiempo mandan un mensaje a la zona proliferativa de la mama, preparándola para su desarrollo. En esta fase aumenta la vascularización, se desarrollan los conductos galactóforos y se inicia el crecimiento y desarrollo de los alveolos.
- b) Progesterona: se produce en el cuerpo amarillo del ovario, manda su mensaje a la hipófisis y se queda allí. Esta hormona termina la preparación de la leche que había sido iniciada por los estrógenos, acaba de formar los alveolos y las células acinosas se rellenan de unos granulos que serán posteriormente el calostro. Las células acinosas mandan un estímulo a la hipófisis y desencadenan la producción de leche.

2.- Fase secretora: Esta fase se desencadena por la producción de prolactina por parte de la hipófisis, también intervienen la corteza suprarrenal produciendo corticosteroides que actúan directamente sobre la mama desencadenando la producción de leche.

CARACTERISTICAS DE LA LECHE.

La leche no es un alimento completo, sólo sirve en los primeros meses de vida porque es deficiente en hierro, pero el recién nacido tiene reservas de hierro en el hígado y por eso puede utilizarla como único alimento.

Las características de este alimento lo hacen insustituible, sobre todo en la alimentación infantil. El valor biológico es más alto que el de las carnes, pescados, etc. Su valor energético es elevado, 650 cal./l. de leche.

La leche se presenta como una dispersión acuosa que contiene algunos de sus componentes disueltos como sales, vitaminas e hidratos de carbono; otros en estado coloidal como proteínas y otros emulsionados como las grasas.

Otras características importantes de la leche son (Tobias 1976) :

- Color: el color de la leche ha de ser blanco porcelana y un poco amarillento en primavera cuando la vaca pasta en prados verdes o en zonas de regadíos.
- Olor: debe recordar ligeramente el olor de las vaquerías.
- Sabor: dulzón
- Punto crioscópico: 0,550.
- Densidad: 1,028 - 1,030.
- pH: 6,5 - 6,8

COMPOSICION DE LA LECHE.

La leche está formada por glúcidos en forma de lactosa, prótidos como la caseína y lípidos. La lactosa no se forma en ningún sitio del organismo, por lo que se deduce que debe ser fabricada dentro del tejido glandular mamario.

La lactosa, lactoalbúmina y lactoglobulina no pueden ser transportadas por la sangre, luego han de formarse en la propia glándula; para ello utiliza las proteínas del plasma principalmente la fracción globulínica. Si realizamos un análisis de las proteínas antes de entrar en la mama, veremos que hay un contenido glucoproteico que ha desaparecido a la salida (D. Rose 1968).

La grasa o lípidos proceden de dos orígenes:

- 1.-De la que se adiciona con la alimentación; se puede evidenciar marcando los ácidos grasos y al poco tiempo de ser ingeridos se ven aparecer en la leche.
- 2.-De la movilización de las grasas de reserva para convertirlas en grasa de la leche. Esto no es un proceso pasivo ya que son modificadas parte de las grasas (Richardson 1968).

Los minerales son los que proceden del aporte sanguíneo igual sucede con las vitaminas, aunque el ácido ascórbico puede sintetizarse en distintas proporciones según la raza, especie etc.

El aporte de calcio, fósforo y otros procede de los minerales tomados en la alimentación, si no son suficientes se movilizan las cantidades de calcio y fósforo de los huesos.

COMPOSICION CUANTITATIVA DE LA LECHE.

	<u>C.A.E.</u>
Grasas.....	3,0%
Hidratos de carbono.....	4,2 %
Proteinas.....	3,2 %
Cenizas.....	0,65%
Acidez.....	0,2 %
Impurezas.....	1 grado
Extracto seco magro.....	8,2 %
Lactosa.....	3,2 %

COMPOSICION CUALITATIVA DE LA LECHE.

Proteinas.

El C.A.E. exige un mínimo de 3,2 % de proteínas en la leche. En la leche se distinguen tres fracciones proteicas:

1.-F. de caseina= es la más abundante, alcanza el 76-86 %

2.-F. sérica = alcanza el 14 %

3.-F. de inmunoproteinas = del 2-14 % del total.

Estas fracciones se diferencian entre sí, en que la caseina precipita a pH 4,6 y las otras dos precipitan alrededor de 90° C. La fracción sérica es soluble en soluciones se misaturadas de sulfato amónico y las inmunoproteínas no.

La caseina tiene en su estructura fundamental un fosfoproteido en el que el fosfórico está combinado formando los caseinatos correspondientes (Burg 1947). La caseina se subdivide en tres fracciones:

- Alfacaseina : cuantitativamente representa el 63 %
- Betacaseina : " " 28 %
- Gammacaseina : " " 17 %

En la caseina se encuentran representados todos los aminoácidos esenciales. Se encuentra combinada con el calcio y gracias a esto es soluble en la leche, si se extrae el cal cio deja de ser soluble y se coagula.

En la fracción sérica se encuentran la betalactoglobulina A, la betalactoglobulina B y la alfalactoalbúmina.

La alfalactoalbúmina es la fracción más importante, no vehicula nunca anticuerpos, se coagula a 72° C. y no da glicocola por hidrólisis. Las betalactoglobulinas A y B son de bajo peso molecular y dan glicocola en su hidrólisis.

La fracción de las inmunoproteínas sólo representa el 2-4 % del total de las proteínas; es la fracción minoritaria pero de gran importancia en los calostros y en los primeros momentos de formación de la leche. En ella van vehiculados todos los elementos inmunitarios, esto se debe a la seroalbumina y a la alfa lactoglobulina.

HIDRATOS DE CARBONO.

Los hidratos de carbono están representados por la lactosa, ésta se encuentra en estado libre y es de gran importancia porque aporta energía y además produce ácido láctico por transformación. El C.A.E. exige un mínimo de 4,2 % de hidratos de carbono.

La leche de mujer tiene más lactosa que la de vaca, las más similares a la leche de mujer son la de yegua y la de burra con un 6,7 % de lactosa (Whittier 1944).

GRASAS.

La grasa se encuentra formando una emulsión perfecta, es la responsable del color blanco y está formada por glicéridos de ácidos grasos saturados e insaturados. Los más importantes son : butírico, caproico, láurico, mirístico y esteárico; también tiene otros lipoides como los fosfolípidos, lecitinas, colessterinas, carotinas y otras. Vehiculan las vitaminas liposolubles A, E y D.

Las grasas de encuentran en la leche formando pequeños corpúsculos de 1-4 micras en forma de pequeños balones con - puestos de una capa de grasa y una cubierta de naturaleza proteica; ambas capas están muy unidas y por eso es muy difícil extraer las grasas de la leche, ya que están aisladas por la película proteica que las protege de los disolventes (Jack 1965).

CENIZAS. O SALES MINERALES.

La leche de vaca tiene un mínimo de 0,65 % de cenizas y contiene potasio, calcio, fósforo, azufre, cloro y poco hierro. Se encuentran formando complejos como el fósforo en los fosfoproteidos y el azufre en los aminoácidos azufrados.

VITAMINAS.

La leche lleva cantidades suficientes de vitaminas:

-Hidrosolubles: B₁ , B₂ , B₃ , B₉, B₁₂ , ácido ascórbico.

-Liposolubles: A, E, D, no tiene vitamina K.

La vitamina C se inactiva al hervir la leche; cuando las vacas toman menos verde, la leche tiene menos vitamina A. (Anon 1963).

FERMENTOS.

La leche al ser un producto natural lleva suficientes fermentos con funciones específicas. Se dividen en:

1.-Hidrolasas: éstas a su vez se dividen en:

- Estearasas: -Lipasas
- Oleasas
- Fosfatasas
- Pectidasas: -Caseasa
- Glucosidasas: -Lactasas

2.-Oxidoreductasas: -Peroxidasas

- Catalasas
- Deshidrasas
- Aldehidrasas
- Reductasas

Todas se destruyen a 80° C. Las catalasas existen en la leche natural en pequeña proporción pero aumentan por la acción microbiana. Las reductasas y aldehidrasas reducen los aldehidos y el azul de metileno; no son características de la leche natural, sino productos de la acción microbiana.

GASES.

La leche contiene disuelto el 5 % del nitrógeno total, también contiene carbónico y oxígeno.

ACIDEZ.

La acidez de la leche se debe al ácido láctico, al carbono disuelto, al ácido cítrico y a las funciones ácido-orgánicas de las sustancias albuminoideas (Govorkov 1950).

FACTORES QUE AFECTAN LA COMPOSICION DE LA LECHE.

La leche al ser un producto de fabricación biológica, puede estar sometido a diversas influencias en su elaboración y habrá ciertos factores que determinen su composición, características y cantidad. Estos factores son:

1.-La alimentación.

Bakanov en 1978, demuestra que la irrigación y fertilización de los pastos con macronutrientes, no afecta la cantidad de trazas de elementos ni la producción de leche de vaca. Una alimentación de carbohidratos afecta poco el contenido de K, Na, Ca, y Mg de la leche, pero contribuye a aumentar el P.

Aumentando el contenido de cobre en la ración alimenticia de la vaca por adición de 248-543 mg. de SO_4Cu /cabeza/día, hasta que el suministro de la ración sea aproximadamente 300 mg. de Cu/cabeza/día, no se afecta la producción de leche ni su contenido en grasa, aunque es posible que exista una relación entre el cobre suministrado y el contenido en proteínas de la leche (Shwarz 1978).

La adición de ocho compuestos de plomo a la comida del ganado, aumenta la concentración de plomo en leche, sólo si la concentración de plomo en la comida sobrepasa

de 80-90 mg. de Pb/Kg. de comida seca. El animal sano no se afecta por una concentración de plomo ≤ 250 mg./Kg. de comida (Bluethgen 1978).

Proporciones altas de fertilizantes en pastos para vacas, no afectan la producción de leche pero aumentan el total de proteínas y caseína de la leche y tienden a aumentar el peso y el tamaño de la caseína micelar. Trazas de elementos como suplementos en la dieta, aumentan la producción de leche de 4-5,1 %, así como el total de proteínas y caseína de la leche además, aumentan el peso medio y el tamaño de las micelas de caseína y mejoran el sabor, olor y otras características físicas de la leche (L. N. Zlotina-Shumyatskaya 1978).

En la región Erevan, donde las dietas del ganado son deficientes en Cu, I, y Co, se adiciona a la comida 10 mg. de K ó 10 mg. de K y 30 mg. de Cl_2Co /cabeza/día durante dos meses y la producción de leche aumenta 4,06 y 12,8 % respectivamente. Si se le adicionan 100 mg. SO_4Cu y 5 mg. KI, la producción de leche aumenta 12,3 % y la grasa de la leche un 0,1 % (Avakyan 1977).

2.-La contaminación ambiental.

Biancani en 1977 analiza el contenido de plomo en muestras de leche y observa un nivel máximo de 90-97 μg Pb/l.

durante el verano y en las zonas próximas a carreteras, este nivel es más alto que el de las áreas de campo abierto, sugiriendo esto que el tráfico de automóviles es la principal fuente de polución.

Ghelberg en 1972 investiga también la concentración de plomo en la atmósfera, el nivel encontrado es $42,0-27,6 \mu\text{g} \%$ frente al nivel de $4,5 \mu\text{g} \%$ de plomo en áreas rurales sin polución.

En un distrito rural y en una región industrial con una lluvia de partículas radioactivas de 75 y 150-1000 Tons/Km² respectivamente, se encontraron las siguientes cantidades de oligoelementos (cuando son diferentes los valores para la región industrial, se dan entre paréntesis):

Zn.....	4200-4800 μg .	As.....	52-85 μg .
Mn.....	28- 51 "	Pb.....	27 (55-79) μg .
Ba.....	8- 51 "	Cd.....	2,5(4-12) "
Ni.....	42- 57 "	Ag.....	7 (12-13) "
Cu.....	187- 280 "	Mo.....	22 (47-74) "

Esta investigación fué realizada por Stanek en 1970.

Maffeo en 1976 analiza la concentración de plomo en leche de los alrededores de Milán y observa que las concentraciones altas se dan en áreas con un alto grado de industrialización y superan el nivel de tolerancia general aceptado

para la leche; también observa que en estas áreas, el plomo se encuentra en altas cantidades en el suelo de granjas, forrajes y vísceras de animales.

3.-Las distintas estaciones.

En primavera y verano, las concentraciones de Co, Cu y Fe de la leche son un 50 % menores que en invierno, pero la del Zn es un 30 % mayor. La leche de granjas tiene un contenido mayor de estos elementos que la leche tratada (M. I. Usyakikh 1960).

Friedrich Kiermeier en 1962 determina el contenido en Cu de la leche y el contenido promedio es 31,6 μ /l. en invierno y 19,8 μ /l. en verano. Observa que la leche de localidades con superficie de suelo ácido tiene un 45 % menos de Cu que la leche de localidades de suelo neutro o básico.

Wiechen en 1973 investiga el contenido de Hg en la leche en polvo procedente de distintas localidades de la República Federal Alemana y llega a la conclusión de que no influyen las diferencias estacionales ni el distinto origen de la muestra en la cantidad de Hg de la leche.

4.-Las condiciones atmosféricas.

Luquet en 1978 estudia la composición mineral de la leche desde 1974 a 1976 en Francia y encuentra diferencias muy

grandes en su composición, debido a la sequía, que afecta las concentraciones de Na, Ca y P. Desde 1974 a 1976 se estabiliza el bajo nivel de Ca y P, disminuye el de Fe y Cu y se mantiene el de Mn y Zn. Los niveles de estos elementos minerales tienden a ser bajos, excepto los del Zn.

5.-El sistema de ordeño.

Labuschagne en 1977 analiza 89 muestras de leche de vaca ordeñada a mano y 74 muestras ordeñadas a máquina. La leche ordeñada a máquina tiene valores más altos de ácidos grasos libres que las ordeñadas a mano.

Los niveles de Fe, Zn y Cu, cuando la leche es ordeñada a máquina, aumentan un 63, 26 y 14 % respectivamente; el nivel de Co no cambia (Khrisanfova 1971).

6.-El periodo de lactancia.

Ashton en 1977 observa que el contenido de cobre de la leche de oveja, manifiesta una marcada declinación al avanzar el periodo de lactancia. El contenido de Fe es 4-4,5 veces mayor en los calostros que en la leche, el Zn es 4,5-5 veces mayor, el Cu es 4-5 veces mayor y el Co es 6-28 veces mayor.

Al final del periodo de lactancia el Fe y Zn son 1,5 y Co dos veces mayores que el contenido en leche normal. (Barabanshchikov 1977).

Murphy en 1977 encuentra que el contenido de Cu en un volumen de leche pasteurizada es más grande que el nivel en dógeno, sugiriendo alguna contaminación. La aparente contaminación del Cu es más grande en invierno que en verano, pero no se observa una contaminación similar con el Fe.

El contenido de Zn en la leche humana y de vaca depende del periodo de lactancia (Isakov 1970).

	<u>L. humana.</u>	<u>L. de vaca.</u>
Primer mes de lactancia.....	371 mg. %	374 mg. %
Ultimo mes de lactancia.....	104 "	307 "
Calostros	729 "	930 "

El contenido máximo de Zn se encuentra en los calostros y va disminuyendo progresivamente con el periodo de lactancia. Durante el primer día de lactancia, el contenido de Cu en la leche humana es mayor que el de la leche de vaca y es menor el contenido de Fe y Ni (Stovbun 1964).

7.-Raza y especie.

La leche de oveja contiene más Ca, P, Mg, Mn, Zn y Na (mg./l.) que la leche de vaca, sobre todo al principio de la lactancia. Se aprecian cantidades de As en la leche de oveja, también es apreciable el F en la leche de oveja, pero no se aprecia en la leche de vaca (Mahieu 1978).

Franzman (1977) determina los niveles de Al, As, Ca, Cd, Co, Cu, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se y Zn en leche y pelo de alce (Alaska) y los compara con los obtenidos en leche bovina. Los niveles de Al, Fe, Se y Zn son más elevados en la leche de bovinos, mientras que los otros elementos son similares en ambas especies. Los niveles de Ca y Mg son más bajos en pelo que en leche. Estudia también la influencia del "stress" durante la lactancia en el nivel de concentración de estos elementos, especialmente Ca y Mg.

Grebennikov en 1963 determina las concentraciones presentes de Cu, Ti, Si, Al, y Mn en la leche humana (I), vaca (II), cabra (III), yegua (IV) y oveja (V).

(I) contiene 0,0117 % y (III) contiene 0,0006% de Cu. Las concentraciones de Ti son aproximadamente las mismas en I, IV y V, y la concentración en II y III es baja. Las concentraciones de Si, Al y Mn son bajas en I.

	<u>Mujer.</u>	<u>Vaca.</u>	<u>Cabra.</u>	<u>Yegua.</u>
Agua.....	87,40	87,00	85,70	86,60
Proteínas.....	1,25	3,50	4,30	2,02
Caseína/Albúmina....	0,66	2,60	6,10	0,49
Glúcidos.....	7,00	4,80	5,00	5,90
Lípidos,,.....	3,50	3,50	7,70	1,60
Cenizas.....	0,25	0,75	0,80	0,51
Calorías.....	64,50	64,70	106,50	46,50

8.-Tratamiento de la leche.

Boccia en 1976 determina las trazas de elementos en muestras de leche cruda, pasteurizada, conservada y condimentada; observa que el contenido de las trazas no está influenciado por el tratamiento térmico de la leche, pero está generalmente aumentado por la adición de condimentos (cacao, café, aromas, etc.).

En varias provincias italianas (Benevento, Caserta, Nápoles y Salerno) el contenido medio de plomo en leche cruda es 0,247 mg./kg. Después de la pasteurización la concentración de plomo es: en leche íntegra 0,337 mg./kg, en leche íntegra almacenada 0,346 mg./kg, en leche desnatada almacenada 0,315 mg./kg y en leche desnatada con aditivos 0,291 mg./kg. (Gregorio 1977).

Bruhn en 1977 analiza 225 muestras de leche recogidas en diferentes áreas de California. Califica las muestras de leche como: regular, extra-rica, no grasa y poco grasa. Observa que la leche poco grasa y no grasa tienen una concentración de proteínas y zinc mayores que la de la leche regular y extra-rica.

9.-Salud.

Kisza en 1969 estudia la variación de las trazas de elementos contenidos en leche de vaca con enfermedad en

las ubres, observa que el cobre, hierro, zinc y manganeso están en cantidades superiores en la leche de vacas enfermas

RIESGOS DEL CONSUMO DE LA LECHE.

1.-Leche como antídoto.

Antes se recomendaba mucho la administración de leche en cualquier caso de intoxicación por vía oral o inhalatoria, sin embargo hoy se ha demostrado que en algunos tipos de intoxicaciones no sólo no debe usarse, sino que además está contraindicada.

1.1.-Debe usarse como antídoto en los casos de intoxicación por:

-Acidos: En caso de ingestión por ácidos, se utiliza la leche como emoliente y se recomienda no provocar vómito, beber poco a poco dos vasos de agua o más con hidróxido cálcico o magnésico, o con medicamentos antiácidos (geles de aluminio-magnésico para la gastritis) o jabón al 10%. Evitar el bicarbonato sódico, beber después un vaso de leche y huevos batidos. No tomar alimentos. Vigilancia respiratoria (Edema) y circulatoria (Chock).

-Alcalis: Lejías, amoníaco, etc. Se recomienda no provocar vómito, beber dos vasos de agua con acético, vinagre o limón al 10 %. Beber un vaso de leche y claras de huevos. No tomar alimentos. Vigilancia de las funciones respiratoria y circulatoria.

1.2.-Está contraindicada su administración en caso de intoxicación por:

-Hidrocarburos y disolventes orgánicos: Petróleos, gasolina, aguarrás, pinturas, ceras, abrillantadores de muebles, detergentes, etc.. No se debe provocar el vómito, dar varias cucharadas de aceite de parafina, no dar aceite vegetal ni animal ni leche. Dar agua.

-Sustancias orgánicas en general: Medicamentos, insecticidas sólidos etc.. Se recomienda provocar el vómito, dar dos cucharadas de carbón activo (no el llamado antídoto universal) o permanganato potásico al 1% con dos vasos de agua. No dar leche, aceites vegetales, ni grasas animales.

-Sustancias inorgánicas: Fósforo elemental, cerillas, triquitruques, sales mercuricas, sales de plomo, óxidos metálicos etc. No tomar leche ni grasas vegetales o animales.

En todos estos casos está contraindicada la leche, porque en ella se solubilizan los tóxicos fácilmente y pasan mucho más rápido a la sangre por facilitarse su absorción.

2.-Infecciones por la leche.

Entre las infecciones que se pueden producir por la leche, las más importantes son: tuberculosis, fiebre tifoidea y paratífica generalmente provocadas por maniobras de adulteración, difteria, fiebre aftosa, fiebre Q, poliomyelitis, brucelosis.

De todas estas enfermedades, la brucelosis es la que se produce principalmente por la leche en la actualidad. Es una enfermedad de declaración obligatoria.

En el código de la O.M.S. figura con el número 023. Es producida por la Brucella abortus, este microorganismo puede vivir de 2-3 semanas en la leche, 60 días en el queso y de 2-3 meses en la mantequilla.

Los quesos fermentados no tienen posibilidad de contagiar, ya que el germen no es capaz de vivir en ellos.

El germen entra por vía digestiva y se elimina por las excretas. La mucosa digestiva es la puerta de entrada en las zonas urbanas, siendo en las zonas rurales

el contacto directo del trabajador con el animal infectado, en España se considera como una enfermedad profesional.

Esta enfermedad se da más en hombres y escasamente en niños. Es posible el contagio interhumano por orina y por heces.

3.-Contaminantes Químicos.

3.1.-Contaminantes orgánicos.

Entre los contaminantes orgánicos, los más importantes son los plaguicidas. Los residuos de plaguicidas en la leche y productos lácteos, presentan gran importancia debido a que se acumulan en el tejido adiposo de las vacas y son excretados a la leche.

El grupo de la serie del DDT y el metoxicloro son los constituyentes más frecuentes de los residuos encontrados en la leche: (Carter 1949).

El lindano y los representantes del grupo aldrín-di Aldrín-endrín son detectados con menos frecuencia, debido a que su empleo está limitado o a la dificultad de su detección a débiles concentraciones.

La contaminación de la leche resulta del empleo indiscriminado de aerosoles sobre las ubres de las vacas, o

en los alrededores de los establos, o a la ingestión de alimentos o forrajes contaminados. Este último origen es el más importante.

La polución resulta del uso, en condiciones inadecuadas, de aerosoles sobre los cultivos o de la dispersión resultante al tratar con tales aerosoles los cultivos no forrajeros situados cerca de los cultivos de forraje o de los pastos.

Todo residuo encontrado en la leche se considera como un agente adulterante. Durante un periodo de dos años se han analizado 31.548 muestras de leche y de productos lácteos, los resultados obtenidos indican que los restos de DDT, DDE, DDD y metoxicloro en la mayoría de los casos, son muy inferiores a 0,1 ppm. en toda la leche y 2,5 ppm. en la materia grasa (Heinemann 1963).

El problema de los insecticidas se complica por la toxicidad de sus metabolitos. El aldrín consumido en la comida de vaca, se convierte en dieldrín y el heptacloro se convierte en su metabolito heptacloro-epóxido. Estos metabolitos son más tóxicos que el compuesto del que derivan. El DDT se convierte en DDE que es un compuesto menos tóxico.

Los problemas de sinergismo y potenciación están incluidos en los efectos de los metabolitos y otros compuestos no insecticidas, que pueden estar en el sistema biológico del animal

Los hidrocarburos clorados son mucho más persistentes en la leche, puesto que están concentrados y almacenados en la grasa del animal y son transportados a la grasa de la leche.

3.2.-Contaminantes inorgánicos.

Desde el punto de vista del análisis de alimentos, el término "trazas de elementos" se refiere a los elementos inorgánicos (frecuentemente metales), que pueden estar presentes en los alimentos en cantidades usualmente por debajo de 50 ppm. y que tienen algún significado toxicológico o nutricional.

Calvery (1942) clasifica ampliamente las trazas de elementos de acuerdo con su efecto en tres clases:

- Elementos esencialmente nutritivos: Co, Cu, Fe, I, Mn, Zn....
- Elementos no nutritivos y no tóxicos: Al, B, Cr, Ni, Sn, etc. los cuales no causan ningún efecto cuando están en cantidades que no exceden las 100 ppm.
- Elementos no nutritivos y tóxicos: As, Sb, Cd, F, Pb, Hg, Se etc., los cuales tienen un efecto nocivo en dietas que contienen menos de 100 ppm.

Según Cotzia, un oligoelemento se podrá considerar como esencial cuando cumpla los siguientes requisitos:

- 1.-Estar presente en todos los tejidos sanos de todos los se
res vivientes.
- 2.-Su concentración es aproximadamente constante en todos los
animales.
- 3.-Su supresión ocasiona, de forma reproducible, el mismo ti-
po de trastornos fisiológicos y estructurales, independien-
temente de la especie animal considerada.
- 4.-Su adición previene o hace desaparecer estos trastornos.
- 5.-Estos trastornos inducidos por su deficiencia van siempre
acompañados de cambios bioquímicos persistentes y especí-
cos.
- 6.-Estos cambios bioquímicos pueden prevenirse o curarse, cuan-
do se previene o se cura la deficiencia.

La Organización Mundial de la Salud en el número 532 de 1973 establece la cantidad permitida de los oligoelementos en la leche de mujer y leche de vaca. La concentración se expresa en la siguiente tabla.

<u>ELEMENTO</u>	<u>L. DE MUJER</u>	<u>L. DE VACA</u>
Zinc	3-----5 $\mu\text{g/ml}$.	3-----5 $\mu\text{g/ml}$.
Cobre	0,62--0,89 " a 0,15--0,17 " b	0,6 "
Cromo	0,04--0,08 "	0,013 "
Selenio	0,013-0,053 "	0,005--0,067 "
Cobalto	0,5--27 $\mu\text{g/l}$.	
Magnesio	0,023-0,05 mg/ml.	0,09---0,24 mg/ml
Manganeso	0,007-0,4 g/ml.	
Estaño		10-----40 $\mu\text{g/l}$.
Niquel		0,03 $\mu\text{g/ml}$.
Cadmio		<1-----20 $\mu\text{g/l}$.
Molibdeno		18-----120 "
Plomo	"contenido muy próximo al de leche de vaca"	0,02----0,08 $\mu\text{g/ml}$.
Arsénico		0,03----0,06 "
Boro		0,5-----1,0 "

a: Al principio de la lactación

b: Después de varios meses de lactación

En la leche de vaca se encuentran metales pesados en pequeñas cantidades, que al exceder ciertos límites de concentración, pueden provocar alteraciones en sus propiedades e incluso producir intoxicaciones en los consumidores.

El hombre al ingerir por los alimentos un exceso de estos elementos metálicos, puede llegar a experimentar intoxicaciones crónicas y más raramente agudas.

Los cuatro elementos objeto de nuestro estudio se encuentran normalmente en la leche de vaca.

El zinc se encuentra asociado en cierto grado a la caseína y a la fracción inmunoglobulínica y sólo se encuentran trazas en forma libre.

Nassi en 1972 determina el contenido de zinc en leche y calostros humanos por espectrofotometría de absorción atómica y encontró las siguientes cantidades:

	<u>Total.</u>	<u>Combinado.</u>	<u>Libre.</u>
1 ^{er} día en los calostros.....	826	83,4	16,6 $\mu\text{g}\%$
4 ^o " " " "	504	80,9	19,1 "
Leche	386	80,3	19,7 "

El mismo autor en 1975 estudia la distribución del Zn en las fracciones proteicas de la leche, llegando a la conclusión de que el Zn está predominantemente ligado a la caseína. En la leche íntegra natural, las concentraciones de Zn son más elevadas que en las leches artificiales (leche en polvo, etc..).

En 1976 estudia el metabolismo del zinc y su distribución en la leche; el 79,8% está en la caseína, el 20,2% está en la fracción de las inmunoglobulinas y menos del 0,1% se encuentra en forma libre.

Todas las especies animales poseen una gran tolerancia para este elemento, cuya toxicidad es reducida por el contenido en hierro y cobre.

El cobre es un constituyente fundamental de la ración alimentaria del hombre. En el hombre no se conocen deficiencias debido al cobre, ya que este elemento está muy difundido en todos los alimentos.

Las ingestiones altas de Zn pueden causar intoxicación aguda, pero no parece ser que el cobre constituya un tóxico acumulativo al menos para los individuos con niveles normales de ceruloplasmina, su proteína transportadora.

El sabor y el valor nutritivo de la mayoría de los alimentos son afectados en manera adversa por el contenido en cobre, cuando este contenido pasa de ciertos límites.

La leche no puede considerarse como una buena fuente de Cu en la alimentación; la concentración de Cu en leche varía con la especie, la fase de lactación y el Cu que recibe el animal en la ración.

Es de destacar el hecho de que gracias a los procesos tecnológicos a que se somete la leche: pasteurización, desecación o envasado en recipientes metálicos, puede resultar una contaminación variable de Cu, que algunas veces puede duplicar el contenido normal.

El calostro es notablemente más rico en Cu que la leche emitida pasado cierto tiempo.

El contenido de cobre natural en la leche depende de varios factores:

J. W. Menger (1959) observa que el contenido de Cu natural en la leche ,es alto durante el primer día del periodo de lactancia y que éste, declina gradualmente a niveles normales al final de la lactancia.

También se ve afectado por el tipo de ordeño que se emplee, así en muestras de leche ordeñadas a mano, el contenido promedio de Cu es inferior al de muestras de leche ordeñadas a máquina, esta contaminación se atribuye al contacto de la leche con el Cu de la superficie de las máquinas ordeñadoras (W. P. Rogers 1966).

Reemplazando las partes de Cu de las máquinas ordeñadoras que puedan estar en contacto con la leche, por acero inoxidable o plástico, el contenido de Cu de la leche contaminada disminuye considerablemente (Samuelson 1964).

El cobre natural se encuentra asociado a la membrana de los glóbulos de grasa de la leche, mientras que el Cu extraño está en combinación con las proteínas del suero de la leche (Menger 1959).

R. L. King (1959) usa trazadores radioactivos para determinar la distribución del Cu en la leche y puede distinguir fácilmente el cobre natural del cobre adicionado. El Cu natural no es dializable y el añadido sí. La cantidad de metal libre aumenta cuando el valor del pH disminuye a 3,0.

Samuelson en 1969 determina la distribución del Cu añadido a la leche usando $^{64}\text{CuCl}_2$. El 90 % se encuentra unido a las proteínas del suero, caseína y β -lactoglobulina y el 10% se encuentra unido a los glóbulos de grasa.

El plomo es un elemento no esencial en la leche, pero puede aparecer como contaminante tanto por ingestión de la vaca como por los procesos de su industrialización.

El mayor inconveniente de este elemento está en el hecho de que tiende a acumularse en el organismo, llegando a producir intoxicaciones crónicas. Una ingesta con un contenido elevado de Pb, causa acumulación de este elemento en los tejidos con el paso del tiempo.

Biancani (1976) estudia y compara el contenido de plomo en muestras de leche procedentes de distintas zonas. Observa que el contenido de plomo es más elevado en las muestras de leche procedentes de zonas urbanas próximas a carreteras que en las zonas rurales. Esto sugiere que el tráfico de automóviles es la principal fuente de polución.

El Cd no es un elemento esencial en la leche, su presencia proviene de las fuentes naturales de la geosfera y otras fuentes resultantes de la actividad humana, tal como abonos (superfosfatos etc..).

En un medio ácido, las plantas pueden absorber cantidades importantes de este elemento.

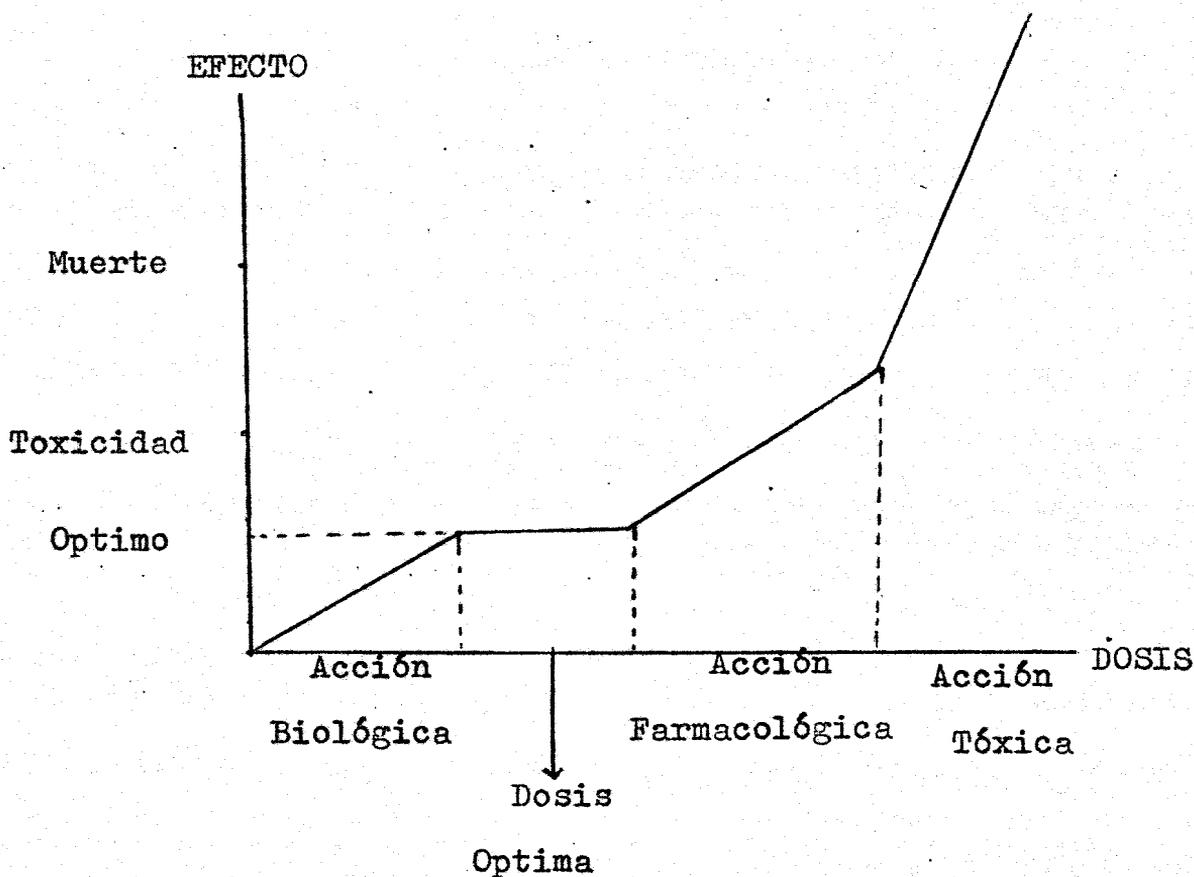
En los alimentos, el contenido de este elemento suscita considerable inquietud por los efectos de su acumulación excesiva en el organismo.

El Cd alimentario se fija sobre todo en los riñones y, en menor medida, en el hígado y otros órganos.

ESTUDIO TOXICOLOGICO DE CADA ELEMENTO.

Hemos de considerar que en general, todos los oligoelementos son tóxicos si se ingieren a niveles suficientemente altos y durante un periodo suficientemente mantenido.

Cada elemento posee un espectro de acciones que dependen de la dosis, del tiempo de ingestión y del estado nutricional del animal. Esto fué señalado ya hace mucho tiempo por el gran investigador G. Bertrand (1949) y recientemente Venchikov (1973), lo visualizó mediante el diagrama siguiente: en un sistema de coordenadas se enfrentan dosis (en abscisas) a efectos (en ordenadas).



La primera parte de la curva, muestra un efecto creciente al aumentar la dosis hasta que se alcanza un máximo, correspondiente a la dosis óptima, de esta manera queda expresada la "acción biológica" del elemento.

El máximo mantenido en la zona óptima por dosis crecientes, expresa el suplemento óptimo y la función normal.

Al aumentar progresivamente la dosis, llega un momento (se inicia de nuevo un ascenso en la curva) en que entramos en una fase de irritación y estimulación de ciertas funciones, que expresan la "acción farmacológica" del elemento. En esta fase el elemento actúa como un medicamento, independientemente de un estado de carencia.

A dosis más altas aparecen signos de toxicidad y finalmente muerte, que expresan la "acción tóxica".

En algunos elementos por ejemplo, el fluor para el hombre y el cobre para los corderos, el margen entre dosis de acción biológica y dosis tóxica es muy estrecho.

ESTUDIO TOXICOLOGICO DEL ZINC.

Vallee en 1957 hace un breve resumen de las características más importantes del zinc y su significado biológico en el hombre. Suficientes pruebas demuestran que el Zn está en el cuerpo combinado con dos tipos de proteínas:

a) Como metaloenzima en el que el zinc es una parte integral de un sistema enzimático importante, como es la anhidrasa carbónica, que actúa en la regulación del intercambio de CO_2 .

b) Como complejo metal-proteína en el que el zinc está libremente unido a una proteína, la cual actúa como mecanismo de transporte en el cuerpo.

Metabolismo.

La ingesta humana de zinc es aproximadamente 10-15mg./día, el cual es principalmente excretado por el intestino. Las heces contienen aproximadamente 10 mg. y la orina 0,4mg. El contenido normal de zinc en tejido humano varía de 10 a 200 $\mu\text{g/g}$. de tejido fresco. La mayoría de los órganos, incluyendo el páncreas, contienen 20-30 $\mu\text{g/g}$. (Vallee 1959).

El hígado, hueso y músculos voluntarios contienen de 60-180 $\mu\text{g/Zn/g}$. de tejido.

Excepcionalmente en la próstata se presentan grandes cantidades ($860 \pm 100 \mu\text{g/g.}$) y en la retina ($500-1000 \mu\text{g/g.}$). La cantidad total de zinc en personas adultas se estima ser de 2 g. El zinc no se almacena preferentemente en los tejidos.

La sangre íntegra del hombre contiene aproximadamente $900 \mu\text{g\%}$ de Zn, de los cuales el suero contiene aproximadamente $80-160 \mu\text{g\%}$. Los leucocitos tienen el 3% del Zn total de la sangre; los niveles de Zn en sangre no sufren variaciones estacionales ni diurnas, ni tampoco diferencias entre distintos sexos. Los diabéticos tienen un nivel normal de zinc en sangre.

Sólo pequeñas cantidades de Zn son absorbidas y almacenadas en los tejidos de perros, gatos y ratas alimentados con compuestos de zinc durante largos periodos. Los lugares principales de almacenamiento son el hígado y el páncreas (K. R. Drinker 1927).

Una inyección intravenosa de Zn^{65} radioactivo, demuestra que el hígado, páncreas y riñón almacenan grandes cantidades de Zn^{65} , pero la capa muscular y la mucosa del intestino delgado, contienen cantidades relativas.

La excreción es: más del 50% de la dosis se excreta por heces y el 2% en la orina de ratones en 170 horas (G. Sheline en 1943).

El zinc es un componente activo de la anhidrasa carbónica, la eliminación del zinc produce una inactivación del enzima, el cual es el responsable en el intercambio del CO_2 (Vallee 1959).

El zinc es también un componente de la carboxipeptidasa que rompe el grupo amino terminal de los péptidos; un átomo de zinc se combina con una molécula de enzima.

El zinc es esencial para la acción de cuatro deshidrogenasas, éstas son: alcohol-deshidrogenasa del hígado y levadura, ácido láctico-deshidrogenasa y glutamato-deshidrogenasa. Hay de 2 a 4 moles de Zn por molécula de enzima. Su presencia en hígado y retina puede explicar la alta concentración de Zn en estos sitios.

Toxicidad.

Las sales de Zn son astringentes, corrosivas de la piel e irritantes en el tracto gastrointestinal; a causa de esta última acción, cuando son ingeridas actúan como eméticos. El ión Zn, sin embargo, es poco absorbido para inducir una intoxicación aguda sistémica.

Después de grandes dosis , se absorbe bien y puede producir un colapso como consecuencia de perjudicar seriamente a la membrana de las mucosas bucal y gastroentérica. Muchas intoxicaciones son producidas al ingerir bebidas ácidas que están en recipientes galvanizados (Callender 1924)

A las 3-12 horas siguientes a la ingestión se originan fiebre, nauseas, vómitos, calambres de estómago y diarreas. La concentración emética en el agua está en un rango de 675-2280 ppm. El umbral de concentración del sabor para las sales de Zn es aproximadamente 15ppm.; las sales solubles de Zn a 30 ppm. le dan un aspecto lechoso al agua y a 40 ppm. le dan un sabor metálico.(Hinman 1938).

La dosis letal del Zn administrado por vía oral a ratones es 57 mg./kg.(Jaeger 1931). Cuando se administra por vía parenteral, el Zn produce una depresión del SNC, causando temblor y parálisis de las extremidades.

La inyección subcutanea de lactato de zinc en una dosis equivalente a 57mg.Zn/Kg., mata a un gato después de tres días (Jaeger 1931). Por vía oral las sales solubles de Zn son 100 veces menos tóxicas que las sales de Cd con las que el Zn es corrientemente contaminado.

Drinker, Thompson y Marsh en 1927 administran 175-1000 mg. ZnO/día a perros y gatos durante un periodo de 3-53 semanas y observan que esta concentración es tolerada. En los perros ocurre glicosuria y en algunos gatos degeneración de las fibras del pancreas. No perjudica a ratas a las que se les administra 0,5-34,4mg. ZnO/día durante un periodo de 1 mes a 1 año. Resultados similares se obtienen con el $ZnCO_3$.

Wältner y Waltner (1929) informan que algunas sales de Zn en la alimentación de ratas producen anemia y osteoporosis; sin embargo un 2% de Zn metálico en la dieta no es perjudicial. Si se administra acetato de zinc en la comida de ratas durante 4 meses en dosis de 10-15 mg. diarios y 50 mg. de malato de zinc en la comida de gatos durante 10 días-2 meses, se observa que no causa intoxicación.

Salant, Sutton y Nelson (1937) llegan a la conclusión de que 0,1% de Zn es tolerado por ratas, pero más del 0,5% reduce su capacidad de reproducción y un 1% inhibe el crecimiento, causa anemia y muerte. Las sales de Zn en la dieta son algo más tóxicas para los cerdos.

Murthy en 1977 estudia el efecto tóxico del Zn en ratas a las que les administra Cd(17,2 g/ml.) y (o) Pb(0,5%) por vía oral en el agua de bebida y en la comida; estas

ratas tienen una dieta pobre en cobre y zinc. Observa que el Zn metabólico (nivel del Zn en el suero) es disminuido por el Cd, pero aumenta cuando se administra el Cd junto con el Pb.

R. W. Armstrong en 1967 analiza la leche y su relación con el cáncer de estómago en Islandia. Las muestras de leche se tomaron de granjas donde residen personas con cáncer de estómago y de granjas que no tienen historia de cáncer. Se encontró que los valores de Fe y Zn son significativamente altos en la leche de granjas con historial de cáncer.

ESTUDIO TOXICOLOGICO DEL COBRE.

El cobre está ampliamente distribuido en la naturaleza y tiene diversas funciones en las plantas y animales. Algunas concentraciones en ciertas plantas y animales son varias veces más grandes que las otras trazas de metales. Cantidades minúsculas en agua son tóxicas para algas, bacterias y otras formas unicelulares.

El cobre es un elemento esencial para animales y para el hombre porque es necesario para la formación de eritrocitos y hemoglobina (Hart 1925 y Cartwright 1947). Es necesario también para enzimas oxidantes como catalasa, peroxidasa, citocromo-oxidasa y muchos otros (Dawson 1945).

Metabolismo.

La absorción del cobre por el tracto gastrointestinal, como la de todos los elementos esenciales, es limitada.

La media de la ingesta total diaria de cobre en adultos es 2-2,5 mg., de los cuales 0,25 mg. son excretados en la orina. Al aumentar la toma de cobre, no se afecta la excreción urinaria. La excreción fecal de cobre es 10-20 veces la de la orina. La retención de Cu para esta toma es de 0,8 mg., aproximadamente.

Kehoe, Cholak y Storey (1940) nos informan sobre el contenido de cobre en varios órganos humanos en mg.% de tejido fresco:

Hígado.....o,710	Músculo.....o,125
Riñón.....o,166	Estómago.....o,107
Corazón.....o,190	Intestino.....o,110
Bazo.....o,085	Costilla.....o,37-0,47
Pulmón.....o.110	Huesos largos....1,19

El contenido en el hígado está aumentado en 2,40 mg.% en niños. La sangre contiene 0,114 mg.% con algo más en las células que en el plasma.

Toxicidad.

La inhalación de polvos, humos y vapores de sales de Cu, producen congestión de la membrana de la mucosa nasal, ulceración con perforación del tabique nasal en ocasiones y a veces congestión faríngea.

El Cu metálico en humos o sales produce dulzor, sabor metálico, salivación, náuseas, vómitos, dolor gástrico, gastritis hemorrágica, diarrea, calambres en el parto y finalmente rigidez muscular y abatimiento. También una hipertermia, conocida como "fiebre del bronce".

En exposiciones crónicas el hígado, riñón y bazo pueden ser dañados y puede desarrollarse una anemia, aunque la intoxicación crónica semejante a la primera es desconocida.

El contacto de la piel con las sales de cobre puede producir eczema, debido a una sensibilización. El contacto con el ojo produce conjuntivitis, edema del párpado, ulceración y turbidez de la cornea.

El sulfato de cobre administrado en la dieta de ratas a una concentración de 500ppm. produce un retraso en el crecimiento; una concentración de 4000 ppm. causa inanición y muerte (R. Boyden 1938).

Una intoxicación por Cu en animales puede dañar el hígado, riñón y bazo; ovejas que toman sales en la dieta conteniendo 5-9% CuSO_4 , sufren un ataque imprevisto de anorexia, anemia hemolítica, ictericia y hemoglobinuria, seguidas de muerte en uno o dos días.

La necrosis del hígado, riñón y bazo manifiesta severos cambios degenerativos.

ESTUDIO TOXICOLOGICO DEL CADMIO.

Metabolismo.

La distribución del cadmio en ratas a las que se les administra CdCl_2 en el agua durante un año, a seis niveles distintos de concentración desde 0,1-50 ppm. de Cd, es aproximadamente de $1 \mu\text{g/g}$ en el hueso, $50 \mu\text{g/g}$ o más en el riñón y $40 \mu\text{g/g}$ en el hígado cuando se les administra una concentración elevada (Decker 1958).

La retención del Cd es alrededor del 0,17% para el riñón a una concentración de 2,5-50 ppm. de Cd. El porcentaje de retención para el hígado aumenta con la dosis; es de 0,4% para una concentración de 50 ppm. El CdO administrado en la comida a cerdos durante 3 días a 68 y 91 mg./lb. de comida, tiene una distribución similar (Forney 1955).

Se han hecho numerosos estudios sobre el metabolismo del Cd usando Cd^{115} , Carlson en 1957 lo administra a ratas y conejos por vía oral, intravenosa y subcutánea. Después de la ingestión en ratas, el 88% del Cd^{115} se excreta fecalmente, un 1% se queda en riñón y un 1% en hígado.

En el hueso o en los tejidos blandos se encuentra poco o ningún Cd^{115} . En el pulmón aparece una pequeña cantidad de Cd^{115} , pero esta disminuye con el tiempo.

Alrededor del 20% de la dosis intravenosa en ratas, se excreta por las heces a las 72 horas y algo o ningún Cd^{115} se excreta por orina. La distribución del Cd^{115} como sulfato es uniforme en el hígado, mientras en el riñón la corteza acumula gran cantidad y el contenido de la médula es bajo. El pancreas acumula grandes cantidades con distribución uniforme. El bazo contiene pequeñas cantidades de Cd^{115} concentrado en la región capsular o subcapsular. La distribución del Cd^{115} radioactivo en la sangre de conejos, muestra más del 90 % en este tejido en la red celular y cuantitativamente emigra con la hemoglobina (Carlson 1957).

En cuatro individuos que presentan síntomas de envenenamiento por Cd, se observa la misma distribución que en animales y concuerda con la encontrada en trabajos alemanes e ingleses; aparece un alto contenido de Cd (145 g/g. de tejido húmedo) en riñón, hígado, pancreas y tiroides (Friberg 1957).

Del riñón de caballo se aísla una única proteína llamada metalotionina y contiene 4,8% de Cd, 1,1% de Zn y 7,1% de S molecular. La metalotionina, ya sea una proteína natural o una proteína formada por combinación con derivados metálicos exógenos, es impura (Margoshes 1957).

Se ha demostrado "in vitro" que el Cd inactiva a ciertos enzimas unidos a grupos SH; también es inhibida la fosforilación oxidativa por concentraciones bajas de Cd (Simon 1947)

El EDTA y ciertos iones divalentes (Mn, Co, Ni) intervierten el efecto del Cd. Parece ser que parte de la toxicidad del Cd, puede estar relacionada con el grado de combinación a los grupos SH de los sistemas enzimáticos.

Toxicidad aguda.

La ingestión de sales de Cd induce salivación, ataques de asfixia, vómitos persistentes, dolores abdominales, tenesmo y diarreas, vértigo y pérdida de la consciencia. La gastroenteritis catarral y ulceral, congestión, infarto pulmonar y hemorragia subdural originan necrosis. El CdCl_2 es un poderoso emético.

Cuando las sales de cadmio se inyectan subcutáneamente, inducen inflamación, coagulación y necrosis en el lugar de la inyección. La acción irritante es causada principalmente por el Cd, sin embargo, los animales de experimentación sufren una irritación pulmonar cuando inhalan humo de CdO (Prodan 1932).

Toxicidad crónica.

Cuando en la dieta de gatos se les administra Cd(20ppm) éste es tolerado sin producción de vómitos. Si la cantidad administrada es de 250 ppm., impide el crecimiento normal de la rata e induce enfermedad y muerte. La anemia es frecuente a concentraciones bajas (Alsberg 1919).

A cinco grupos de ratas se les administra agua que contiene de 0,1-10 ppm. de Cd durante un año y no muestran efectos tóxicos ni cambios histológicos en la sangre o en otros tejidos. La toxicidad aumenta cuando las dietas son pobres en proteínas (Fitzhugh 1944).

El contenido de cadmio en el hígado y riñón aumenta en proporción a la cantidad tomada en la comida, indicando la posibilidad de toxicidad eventual.

La repetida administración subcutanea de sulfato de cadmio a conejos , produce un daño grave en los túbulos renales, no afecta al glomérulo pero produce proteinuria después de 56 6 semanas de tomar una dosis de 0,65 mg./kg., también produce anemia, cirrosis hepática e hiperplasia esplénica. (Dalhamn 1957).

ESTUDIO TOXICOLOGICO DEL PLOMO.

La intoxicación crónica por plomo es la más frecuente de las intoxicaciones profesionales; se produce habitualmente en la industria de acumuladores, cerámicas, recuperación de viejos metales, tuberías etc.. En la actualidad, es la principal intoxicación causada por la contaminación ambiental urbana.

En la mayoría de los casos no se trata de intoxicación aguda, sino de intoxicación de carácter medio o subagudo, o incluso intoxicaciones débiles que producen una sintomatología muy parcial. La afectación depende mucho de la forma química (orgánica o inorgánica) del compuesto de plomo y la vía de penetración. Las formas inorgánicas de plomo son absorbidas por vía oral y pulmonar, en tanto que las formas orgánicas lo hacen por vía oral, pulmonar y percutánea (M. Repetto 1974).

Metabolismo.

Las dosis tóxicas para provocar saturnismo agudo (generalmente por vía digestiva) son grandes; se necesitan más de 5 g. de acetato de plomo (equivalente a 1 g. o más de plomo metálico). Sin embargo, 1 mg. de Pb absorbido diariamente es suficiente para dar lugar a un saturnismo crónico en pocos meses.

El vapor y el óxido de Pb se absorben a través del alveolo pulmonar pasando rápidamente a la sangre. El Pb absorbido por vía digestiva llega al hígado y se elimina en su mayor parte por la bilis, que se une a las heces y lo derivan al exterior, otra parte se elimina por el riñón y glándulas salivares. En cantidades superiores (hasta 1 mg. diario) la eliminación por la orina y saliva no alcanza a compensar los nuevos aportes y éste se fija y acumula en las vísceras y depósitos naturales (Warner-Chilcott 1967).

Si la absorción es superior a 1 mg. diario, la plumbemia se eleva a cifras que lesionan elementos sanguíneos y los tejidos, es decir, existe un periodo de absorción, otro de impregnación (saturnismo latente) y otro de manifestaciones clínicas (saturnismo confirmado).

Es interesante destacar que una absorción crónica de pequeñas dosis puede dar lugar a fijación del metal, con un saturnismo prácticamente asintomático, que en un momento puede revelarse como consecuencia de enfermedades, factores ambientales etc, que hagan movilizar el plomo de los huesos hacia el torrente circulatorio (M. Repetto 1974).

Se pueden reagrupar tres tipos de síntomas: abdominales, neuromusculares y los perjudiciales del SNC; las anomalías hematológicas y renales son también muy frecuentes. El daño

neuromuscular y el del SNC se observan en caso de una larga exposición al Pb, mientras que el síndrome abdominal se ve sobre todo en las intoxicaciones que se desarrollan de modo lento e insidioso.

SINDROME ABDOMINAL.

Comienza frecuentemente por síntomas vagos como la anorexia, cefaleas o la constipación y además por persistencia de un sabor metálico. Los dolores abdominales se conocen bajo el nombre de "cólicos de plomo" ; se producen dolores paroxísticos violentos contractando clásicamente con la ausencia de defensa abdominal (Delwaide 1968).

SINDROME NEUROMUSCULAR.

Aparece por una astenia de los grupos musculares. La parálisis confirmada ataca de modo simétrico a los extensores de las muñecas y de los dedos; la hipotonía de las manos y muñecas, a veces se extiende hasta los pies. A veces el ataque es unilateral, o predomina en el lado más utilizado, o sólo ataca a algunos grupos musculares.

Después de cesar la exposición y el tratamiento por quelantes puede observarse una parálisis residual en la extensión de la mano. Los dolores musculares y articulares sin relación

con la polineuritis, se achacan a la gota saturnina (Delwai de 1968).

ENCEFALOPATIA SATURNINA.

El ataque del SNC es conocido bajo el nombre de encefalopatía saturnina; es la manifestación más seria de la intoxicación. Se produce raras veces en los adultos y es la consecuencia de una absorción rápida e intensa del metal; aparece por irritabilidad e inestabilidad extremas con ataxia. Se desarrolla hasta un síndrome confusional con accesos delirantes, a veces hasta un coma convulsivo.

Los niños resultan especialmente afectables de encefalopatías por su SNC en desarrollo, y a veces les quedan secuelas convulsivas o parálisis y retraso mental, aunque más frecuentemente permanecen problemas de comportamiento, de capacidad de abstracción y autodisciplina. La sintomatología recuerda frecuentemente la hipertensión intracraneal. La mortalidad se da en el 25% de los casos (Ehrlich 1966).

ANOMALIAS HEMATOLOGICAS.

La más conocida es la presencia de hematíes con basófilos granulados, estas granulaciones no son específicas del saturnismo, pero se asocian a otros signos de intoxicación ;

una cifra de 35.000 hematíes puntuados por millón de eritrocitos tiene un cierto significado.

La anemia hipocrómica es más frecuente en los adultos que las granulaciones basófilas, va acompañada por reticulocitosis, hiperhemolisis esplénica e histiocitaria.

El plomo inhibe al enzima que sintetiza al porfobilinógeno a partir del ácido deltaaminolevulínico (ALA), aumentando la excreción urinaria de ALA hasta que las cantidades producidas queden normales. En lo que concierne a la cadena de las porfirinas, nos encontramos con una aparente paradoja: la intoxicación plúmbica se acompaña de un aumento de las porfirinas urinarias, ahora bien, la síntesis de estas porfirinas es inhibida en el origen.

En realidad, en las intoxicaciones plúmbicas la cantidad absoluta de hemoglobina formada es fuertemente reducida, sin embargo, los intermediarios aparecen en cantidades aparentemente notables como consecuencia de diversos bloqueos enzimáticos, lo que trae como consecuencia la acumulación de productos no transformados donde el principal es la coproporfirina III.

Uno de los intermediarios más precoces en aparecer en la orina es la protoporfirina IX.

Como consecuencia del bloqueo de su vía de utilización principal, se nota un aumento de hierro sérico (Gaultier 1961).

DOLOR RENAL.

El dolor renal es a veces el revelador del saturnismo entre los niños o entre los bebedores de alcohol ilegalmente destilado en alambiques que contienen plomo.

La insuficiencia renal complicada con gota e hipertensión es debida a una fibrosis intersticial que limita las posibilidades de eliminación del complejo Pb-EDTA (Morlan 1966).

ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

1.-Fundamento.

La aplicación analítica de la absorción atómica parte del hecho de que los átomos de los metales presentan una fuerte absorción de longitudes de onda características, que coinciden con las líneas del espectro de emisión del metal en cuestión.

Para pasar un átomo de un estado o nivel energético a otro, según el modelo de Bohr, la diferencia de energía entre los dos estados, debe suministrarse desde el exterior, si el cambio es hacia el nivel de mayor excitación, o bien, si el cambio es hacia un nivel de menor energía, el exceso de ésta, es emitido en forma de radiación cuya frecuencia viene definida por la ecuación de Plank $E=h\nu$

Se ha comprobado que en una llama a 3000° K., el número de átomos de un metal, en el nivel n_1 (de mayor excitación) es prácticamente despreciable frente al número de los que se hallan en el nivel n_0 (de baja o nula excitación). (Elwell 1961).

Desde otro punto de vista, la emisión debida a los átomos en el nivel E_1 , que caen al nivel inferior E_0 , se debe a una pequeñísima fracción de los átomos que se hallan

en la llama y depende en gran parte de la temperatura de ésta, mientras que el número de átomos capaces de absorber la energía de una resonancia concreta, son prácticamente la mayoría e independiente de la temperatura de la llama.

En principio parece que cualquier salto de energía a partir del nivel de baja excitación, será utilizable para observar la absorción, sin embargo, se ha comprobado que no todas las líneas del espectro de emisión sirven por igual y que su selección, sobre todo para metales pesados, es un tanto empírica y función del instrumental utilizado.

La absorción atómica se funda pues en que, si sobre un vapor atómico hacemos pasar una radiación de una frecuencia capaz de ser absorbida por aquellos átomos, la disminución en la intensidad de aquella radiación es proporcional a la concentración de átomos y al espesor del vapor atómico, y viene regulado por la ley de Lambert-Beer.

2.-Equipo.

Para realizar análisis por absorción atómica, se requieren tres cosas fundamentales:

- a) Una fuente de energía electromagnética
- b) Un atomizador, en el sentido estricto de la palabra
- c) Un espectrofotómetro, que permita medir la disminución de la intensidad de la radiación al pasar por el vapor atómico (absorbímetro). De ahí el nombre de Espectrofotometría de Absorción Atómica.

Vamos a considerar a continuación las principales características de cada una de estas partes.

2.1.-Fuente de radiación.

Si se emplease una fuente de energía continua, por ejemplo una lámpara de hidrógeno, las líneas de absorción que son extremadamente estrechas (del orden de $0,02 \text{ \AA}$), unicamente serían medibles con instrumentos ópticos de un alto poder de resolución, que está muy lejos del límite a que se llega con los aparatos más precisos que se fabrican. Por otra parte, la energía de la lámpara de hidrógeno, para líneas tan estrechas, es demasiado baja y el método resultaría muy poco sensible.

La solución propuesta por Walsh elimina estas dificultades, empleando una fuerte fuente de energía muy fina, de una amplitud aproximadamente igual a la de las líneas de resonancia, con lo que la absorción del centro de esta línea puede medirse.

Ello se consigue con las llamadas lámparas de cátodo hueco, en las que éste es precisamente del metal que interesa analizar, el cual al ponerse incandescente, emite el espectro característico, del que se puede seleccionar fácilmente una línea concreta.

Existen lámparas cuyo cátodo es una aleación de varios metales (hasta ocho), con lo que se pueden efectuar mediciones sin necesidad de cambiar la fuente de energía, sin embargo su vida es bastante corta.

2.2.-Atomizador.

Consiste en un mecanismo que permite la obtención de un vapor atómico a partir de una muestra, de tal forma que la composición no sea alterada. El método más favorable consiste en pulverizar una disolución junto con los combustibles en la llama.

En estas condiciones, se produce un ensanchamiento de la línea de resonancia (efecto Doppler), sin embargo ello es un factor constante que si bien disminuye la sensibilidad, a bajas concentraciones la relación entre absorción y concentración es lineal.

La llama emite radiaciones de la misma longitud de onda medida, lo cual puede dar lugar a errores por defecto

en el resultado, aunque en muchos casos es despreciable esta emisión, se corrige modulando la fuente de energía y colocando un amplificador sincrónico en el circuito de recepción de la señal.

Una alta concentración de átomos y partículas en la llama, puede ser causa de reflexión y dispersión excesiva del haz, con el consiguiente aumento en la medida de absorción, ésto se corrige disminuyendo el caudal de toma del pulverizador o diluyendo la disolución problema.

Existen numerosos diseños de mecheros y métodos de atomización que van desarrollándose conjuntamente para técnicas de emisión y creemos que las mejores posibilidades de la absorción atómica están en esta parte del aparato.

2.3.-Espectrofotómetro.

Dado que la medición se efectúa sobre una línea ya inicialmente muy fina, parece no ser necesario un monocromador, así los primeros aparatos funcionaban con filtros, sin embargo para obtener una buena sensibilidad se utilizan prismas de cuarzo, como en los espectrofotómetros UV.

La medición de la intensidad generalmente se hace con células fotomultiplicadoras y un galvanómetro. Los aparatos pueden de ser de simple o doble haz, notándose una

notable tendencia entre los fabricantes hacia los aparatos de haz doble.

Debido a los ruidos de fondo de la llama, en algunos casos cuesta ajustar el galvanómetro de medida, y ésta resulta poco precisa, ello puede mejorarse con un registrador de absorción-tiempo, que permite escoger un valor medio con facilidad (Lockyer 1964)..

3.-Técnica de trabajo.

En la literatura de cada aparato, se dan las mejores líneas de emisión de la lámpara para cada elemento.

La longitud de onda se selecciona una vez que la lámpara está a regimen, es decir, presenta una energía de emisión constante.

La muestra a analizar debe prepararse en forma de disolución en agua o en un disolvente orgánico, a tal concentración que la viscosidad sea baja, para facilitar la pulverización uniforme, y la concentración salina también baja, inferior al 1%, para disminuir al máximo los ruidos de fondo de la llama.

Al mismo tiempo, se preparan una serie de disoluciones patrones, lo más semejantes posibles a la disolución

problema. Debe cuidarse la buena alineación de la lámpara, llama y parte óptica del aparato empleado.

El tamaño y carácter oxidante o reductor de la llama, pueden ajustarse con el caudal de acetileno y aire. También debe controlarse el número de mililitros de disolución que se pulverizan por minuto.

Fijadas todas estas variables, que son las condiciones en que se efectúa la medición, se ajusta el cero del aparato, introduciendo agua o la disolución de fondo en el pulverizador; luego se mide la absorción de las disoluciones patrón y problema, para lo que se requieren de 10 a 12 segundos para cada una. También puede seguirse el método de adición de patrones a la misma disolución problema.

Los valores hallados de absorción se pasan a absorbancias y se construye el gráfico correspondiente.

Dada la diversidad de variables en las condiciones de trabajo, estas líneas de calibración de un elemento es preferible comprobarlas para cada serie de mediciones, lo cual se ve facilitado por la gran rapidez con que éstas efectúan (W. Slavin 1964).

4.-Interferencias.

La gran ventaja de la Absorción Atómica, sobre otros procedimientos son las pocas interferencias de orden químico y de tipo espectral, probablemente porque se trabaja con unas propiedades físicas de los átomos en un nivel de baja excitación, y con radiaciones muy finas. Sin embargo, ningún método está libre de limitaciones, y éste no es una excepción.

Las interferencias que se presentan pueden clasificarse en tres grupos.(Robinson 1961).

4.1.-Interferencias del método.

La mayoría de ellas se sitúan en la atomización de la muestra, especialmente en la llama, sea por la presencia de una fuerte concentración salina u otras causas que la perturben, de tal forma que las mediciones son poco precisas.

Es muy importante la preparación de la muestra a ser pulverizada, debiéndose recurrir en algunos casos a métodos de extracción para evitar una excesiva dilución del tal objeto del análisis al querer mantener una concentración baja en residuo seco.

4.2.-Interferencia de cationes.

Se han hecho numerosos estudios sobre este punto, registrándose varias interferencias que se atribuyen a la formación de compuestos intermetálicos termoestables, como por ejemplo Zn-Mg, Zn-Al, etc..; con todo, este tipo de interferencias es mucho menor que en la espectrofotometría de llama.

La dificultad de formación de óxidos termoestables de algunos elementos como Al, Ti, Mo, W, y Si, puede solucionarse empleando combustibles que den mayor temperatura a la llama, aunque parece mejor solución atomizar la muestra en atmósfera inerte, como en espectrografía.

4.3.-Interferencias de aniones.

Si bien en principio los aniones no presentan ninguna absorción, algunos como el fosfato, pueden dar lugar a sales termoestables que enmascaren a algunos metales, como el calcio.

Como referencia pueden tomarse las temperaturas de fusión de las distintas sales de un metal, para escoger el anión más idóneo para el análisis, así para el caso del C el cloruro funde a 770°C, el nitrato a 560°C y el trifosfato a 1670°C, luego se escogería el nitrato en principio;

también son orientativos los calores de formación (Mezies 1960).

5.-Aplicaciones.

Es importante el interés que desde todos los sectores de la química analítica, se ha puesto en la puesta a punto de métodos por absorción atómica, quizá debido a la importancia del análisis de trazas de metales.

Se conocen hoy métodos para unos 50 elementos, siendo los que han sido objeto de mayor estudio: los alcalinos, alcalinotérreos, hierro, cobre, zinc, plomo, manganeso, cobalto, níquel, cadmio, arsénico, estaño, antimonio y bismuto.

El campo de aplicación de esta técnica es amplísimo resolviendo cualquier problema de determinación de elementos metálicos en muestras diversas. De particular interés podemos citar, la determinación de metales tóxicos en fluidos biológicos como sangre y orina.

En productos alimenticios como, leche, pescado, bebidas alcohólicas, aguas, etc., y también muestras para el estudio de la contaminación ambiental.

En sangre completa los metales que más corrientemente se analizan por ser tóxicos son: Pb, Cd, Hg, As, Cr.....

Elementos naturales poco tóxicos, son igualmente determinados por esta técnica y así tenemos por ejemplo el calcio, magnesio, sodio y potasio.

En los análisis bromatológicos, el análisis de metales tóxicos se convertirá en una técnica de rutina y lo mismo puede decirse del control de aguas y de la polución ambiental.

El interés de la aplicación de este método analítico se centra en la gran sensibilidad y en las pocas interferencias que generalmente se presentan, lo cual simplifica la preparación de la muestra en comparación con otros métodos instrumentales.

Para análisis de urina en los que el tiempo es muy importante, esta técnica presenta una ventaja indiscutible para las trazas de alcalinotérreos y metales pesados (Willis 1963).

P A R T E E X P E R I M E N T A L .

1.-METODO.

Las muestras de leche se mineralizaron por tratamiento húmedo oxidante según se detalla más adelante. De las disoluciones acuosas se extrajeron los metales mediante quelación, excepto en el caso del zinc que se valoró directamente.

Las soluciones de los quelatos se atomizaron en el espectrofotómetro para el cobre o se inyectaron mediante navecillas (sampling boats), previa evaporación.

La determinación cuantitativa se efectuó por dos procedimientos: comparación con disoluciones patrones y por el método de las adiciones.

2.-INSTRUMENTACION.

Las determinaciones de plomo y cadmio se han llevado a efecto con el empleo de un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 290 B, equipado con dispositivo "Sampling Boat" proporcionado por la misma casa. Los datos experimentales han sido tomados en la cartilla de registro de un registrador Perkin-Elmer modelo 56.

Las determinaciones de cobre y zinc se han realizado con un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer

m modelo 372, equipado con un corrector de deuterio. Los datos experimentales han sido obtenidos a partir de las lecturas en absorbancia dadas por el instrumento con un tiempo de integración de 2 segundos. Las condiciones operatorias de los sistemas instrumentales quedan expuestas en la tabla 1

TABLA 1.

Condiciones operatorias.

	<u>Pb.</u>	<u>Cd.</u>	<u>Cu.</u>	<u>Zn.</u>
Longitud de onda(μ).....	283,3	228,8	324,8	213,
Anchura de rendija(μ).....	0,7	0,7	0,7	0,
Corriente lámpara(mA).....	5	4	30	20
Velocidad registro(mm/min)..	60	60	-	-
Presión acetileno(Kp/cm ²)...:	1,2	1,2	1,2	1,
Flujo acetileno(divisiones).	13,9	13,9	32	32
Presión aire(Kp/cm ²).....	3	3	3	3
Flujo aire(divisiones).....	14,1	14,1	70	70
Ampliación escala (x).....	1	1	-	-

3.-MUESTRAS.

Para nuestro estudio hemos empleado tres marcas de leche esterilizada procedentes de las siguientes Centrales Lecheras: Sevilla (Cunia), Córdoba (Colecor), Badajoz(Ce vera).

Una marca de leche descremada de la Central Leche-
ra Asturiana (Asturiana) y otra marca de leche homogenei-
zada elaborada por Granja Castelló S.A. de Mollerusa (Lé-
rida) (Castillo).

4.-REACTIVOS.

4.1-Mezcla oxidante ácido nítrico-ácido perclórico 1:1 (v/v)

Se toman 100 ml. de ácido nítrico concentrado y se
mezclan uniformemente con 100 ml. de ácido perclórico co-
centrado.

4.2-Hidróxido sódico 0,5 N.

Se toman 0,2 g. de hidróxido sódico anhidro y se l-
van a un matraz aforado de 100 ml. y se completa el volu-
men hasta el enrase con agua.

4.3-Acido sulfúrico concentrado.

4.4-Solución de dietilditiocarbamato sódico al 1% en agua.

Se toma 1,0 g. de dietilditiocarbamato sódico y se
disuelve en 100 ml. de agua.

4.5-Solución de pirrolidinditiocarbamato amónico al 1% en a

Se toma 1,0 g. de pirrolidinditiocarbamato amónico
y se disuelve en 100 ml. de agua.

4.6-Metil-isobutil-cetona.

100 ml. de metil-isobutil-cetona se saturan con 100 ml. de agua destilada en un embudo de decantación; tras agitación durante varios minutos, se despreja la capa acuosa y se recoge la capa orgánica.

5.-SOLUCIONES PATRONES.

5.1-Solución madre de plomo (1000 ppm.).

Se disuelven 1,598 g. de nitrato de plomo en 1 litro de solución de ácido nítrico al 1% en agua (v/v).

5.2-Solución de trabajo de plomo (1 ppm.).

Con una pipeta contrastada se toman 0,1 ml. de la solución madre de plomo, se llevan a un matraz aforado de 100 ml. y se completa el volumen hasta el enrase con agua.

5.3-Solución madre de cobre (1000 ppm.).

Disolver 1,000 g. de cobre metal en un volumen mínimo de solución de ácido nítrico al 50% en agua. Diluir a 1 litro con la misma solución de ácido nítrico anterior.

5.4-Soluciones patrones de cobre.

A partir de la solución madre se preparan soluciones conteniendo 0,1, 0,25, 0,50 y 1 ppm. de Cu

5.5-Solución madre de cadmio (500 ppm.).

Disolver 0,500 g. de cadmio metal en un volumen mínimo de ácido clorhídrico al 50% en agua (v/v). Diluir a 1 litro con la misma solución.

5.6-Solución de trabajo de cadmio (0,5 ppm.).

Con una pipeta contrastada se toman 0,1 ml. de la solución madre de cadmio; se llevan a un matraz aforado de 100 ml. y se completa el volumen con agua destilada hasta el enrase.

5.7-Solución madre de zinc (500 ppm.).

Disolver 0,500 g. de zinc metal en un volumen mínimo de ácido clorhídrico al 50% en agua (v/v) y diluir a 1 litro con ácido clorhídrico al 1% en agua (v/v).

5.8-Soluciones patrones de zinc.

A partir de la solución madre se preparan soluciones conteniendo 0,1, 0,5, y 1 ppm.

Similarmente se prepara un patrón de 10 ppm. para ser empleado cuando la determinación se realiza por el método de las adiciones.

6.-PREPARACION DE LAS MUESTRAS.

6.1-Preparación de muestra para la determinación del plomo.

10 ml. de leche exactamente medidos, se diluyen con 25 ml. de agua destilada y en un vaso de precipitados de 250 ml., se tratan con 10 ml. de solución oxidante ácido nítrico-ácido perclórico y en caliente. La calefacción se mantiene hasta que la solución residual es ligeramente amarillo pajizo en caliente o incolora en frío.

En caso negativo, se vuelven a añadir otros 10 ml. de la mezcla oxidante hasta conseguir que la solución resulte incolora y transparente. Una vez fría, se diluye con un poco de agua y se ajusta el pH entre 2,2-2,8 con hidróxido sódico 0,5 N. El conjunto se lleva con agua a 50 ml. en matraz aforado (solución A).

Se toman cuatro alícuotas de 10 ml. de la solución. Inmediatamente después, a tres de ellas y con micropipeta automática se le adicionan respectivamente: 0,5, 1 y 1,5 ml. de la solución de plomo de 1 ppm. Cada alícuota se trata en embudo de decantación con 1 ml. de solución de pirrolidinditiocarbamato amónico al 1% y 5 ml. de metil-isobutil-cetona. Se agitan fuertemente durante 3 minutos recogiendo las respectivas fases orgánicas.

Con micropipeta automática se toman 0,2 ml. de las distintas fases orgánicas y se colocan sobre navetas de tantalio. Se deja evaporar la dietil-isobutil-cetona al vacío o en estufa a 30°C. y las muestras están en condiciones de ser medidas en el espectrofotómetro.

6.2-Preparación de muestra para determinación de cadmio.

10 ml. de leche exactamente medidos, se diluyen con 25 ml. de agua destilada, y en un vaso de precipitados de 250 ml. se tratan con 10 ml. de solución oxidante ácido nítrico-ácido perclórico y en caliente. La calefacción se mantiene hasta que la solución residual es ligeramente amarillo pajizo en caliente o incolora en frío.

En caso negativo se vuelven a añadir otros 10 ml. de la mezcla oxidante hasta conseguirse que la solución residual sea incolora y transparente. Una vez fría se diluye con un poco de agua y se ajusta el pH entre 6-7 con hidróxido sodio 0,5 N. y se lleva en matraz aforado a 50 ml. (solución B).

Se toman 4 alícuotas de la solución B; acto seguido se toma a tres de ellas y con micropipeta automática, se le añaden respectivamente: 0,5, 1 y 1,5 ml. de la solución de cadmio de 0,5 ppm.

Cada alícuota se trata en un embudo de decantación con 1 ml. de solución de dietilditiocarbamato sódico al 1% y 5 ml. de metil-isobutil-cetona. Las fases orgánicas se separan y se llevan 0,2 ml. de cada una a las navetas de tántalo para, tras evaporación del disolvente, ser medidas en el espectrofotómetro.

6.3-Preparación de muestra para determinación de cobre.

Tras el tratamiento oxidante de los 10 ml. de leche la solución resultante sin necesidad de ajustar el pH, se lleva a 100 ml. con agua destilada en un matraz aforado (solución C).

En un embudo de decantación se tratan con 1 ml. de pirrolidinditiocarbamato amónico y 5 ml. de metil-isobutil-cetona, se agitan fuertemente y se separa la fase orgánica que puede ser atomizada directamente en el espectrofotómetro.

Paralelamente, las soluciones patrones de cobre de 0,25, 0,50 y 1 ppm. son tratadas, queladas y extraídas como en el caso de la muestra de leche. Si se sigue el método de las adiciones, la solución C se divide en cuatro alícuotas de 20 ml.; a tres de ellas se adicionan respectivamente 1, 2 y 3 ml. de solución de Cu de 1 ppm. La quelación-extracción se realizan igual que en el caso anterior.

6.4-Preparación de muestra para determinación de zinc.

5 ml. de leche diluidos con 25 ml. de agua destilada se tratan con 10 ml. de solución ácido nítrico-ácido clórico y 1 ml. de ácido sulfúrico concentrado.

El conjunto se calienta hasta solución transparente e incolora. Una vez fría, se lleva a 100 ml. con agua destilada (solución D). Esta solución se puede atomizar directamente en el espectrofotómetro. Paralelamente, se tratan soluciones patrones de zinc de 0,1, 0,5 y 1 ppm.

En el caso de que se siga el método de las adiciones, la solución D se divide en cuatro alícuotas de 20 ml.; a tres de ellas se le añaden respectivamente 1, 2 y 3 ml. de solución de zinc de 10 ppm. y todas ellas se llevan a 100 ml. con agua destilada. Estas soluciones también se atomizan directamente en el espectrofotómetro.

7.-CALIBRACION.

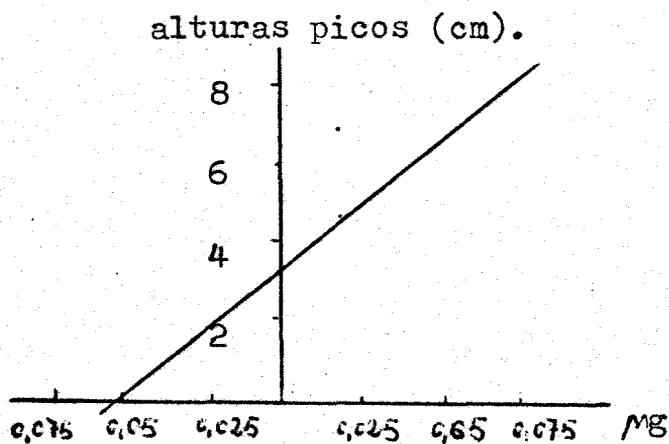
Para evitar las interferencias debidas a la propia leche, se sigue en todas las determinaciones el método de adiciones.

La altura del pico de registro o la lectura de la absorbancia correspondiente a la concentración del elemento

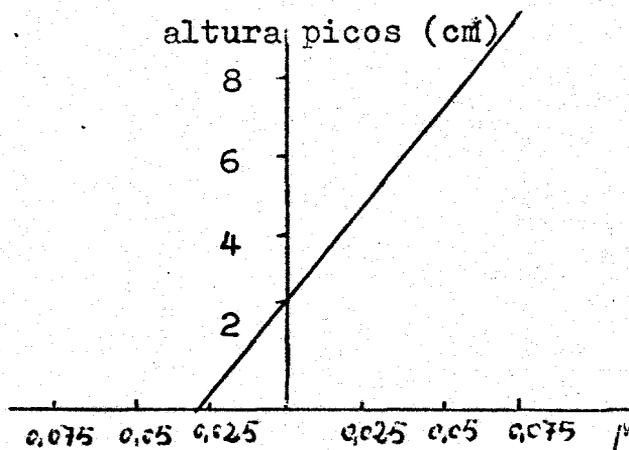
en la muestra problema, y a aquella más la cantidad añadida a cada una, al ser llevadas a una gráfica nos dará la curva de calibrado.

En abscisas se representan los valores del elemento en microgramos y en ordenadas se representan las alturas del pico de registro o las lecturas en absorbancias.

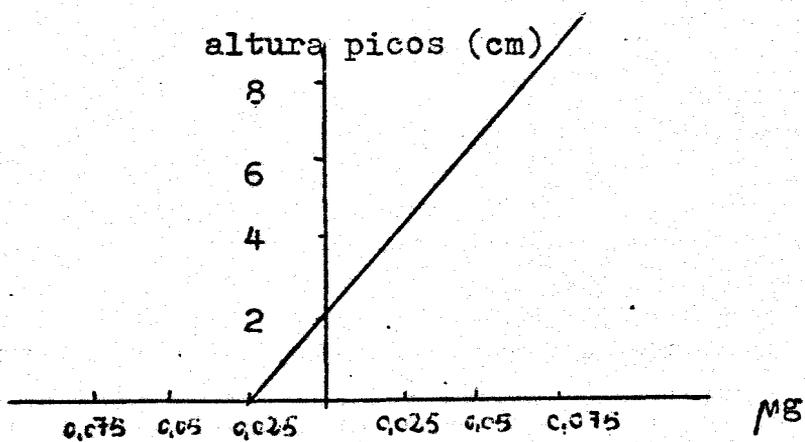
CURVAS DE CALIBRADO DEL CADMIO.



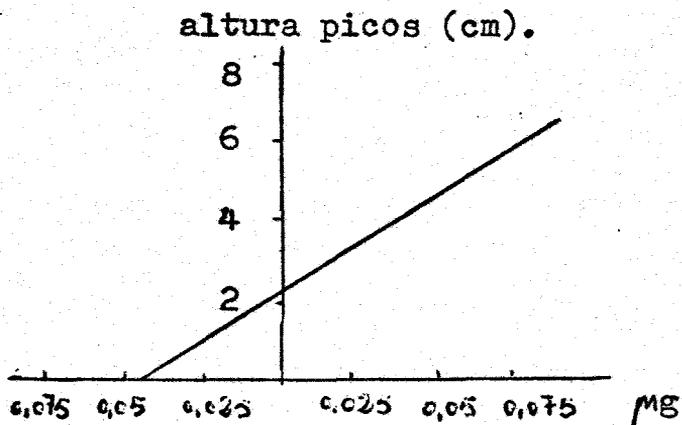
ASTURIANA



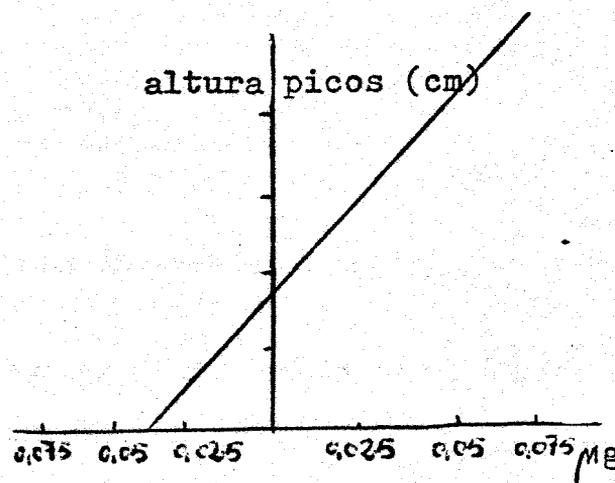
CASTILLO



CERVERA

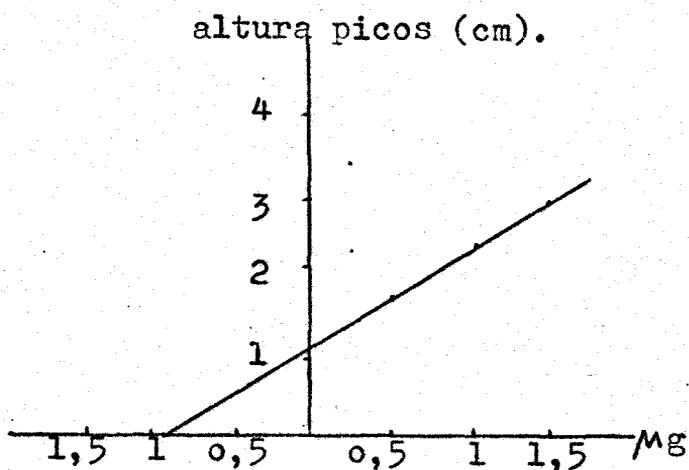


COLECOR

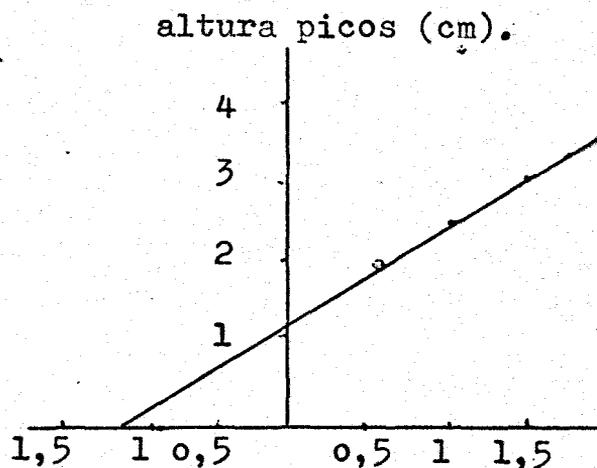


GUNIA

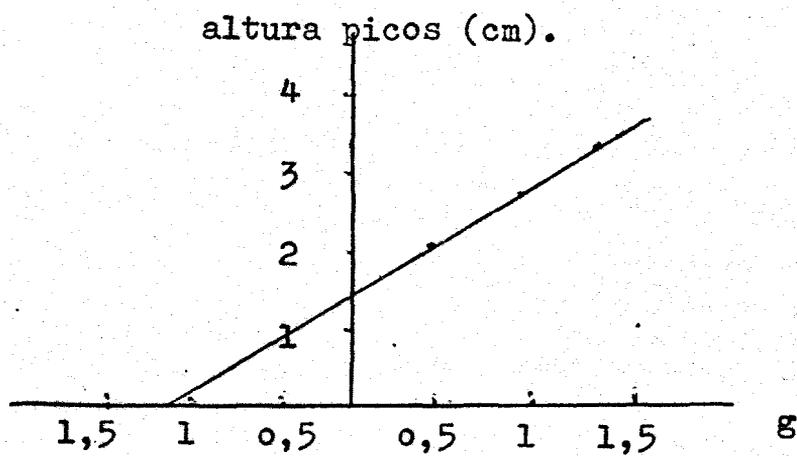
CURVAS DE CALIBRADO DEL PLOMO.



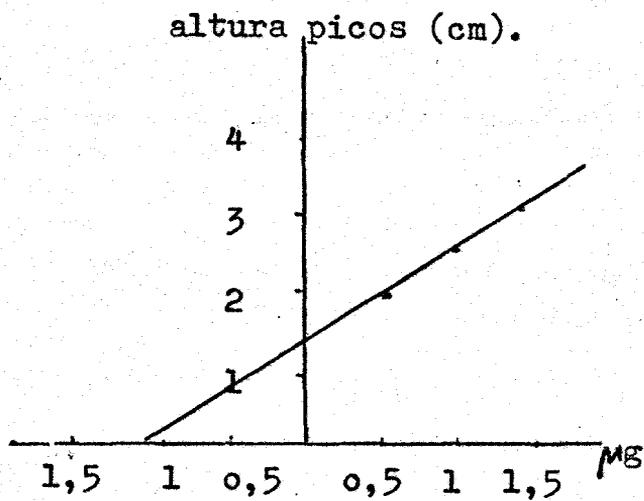
CASTILLO



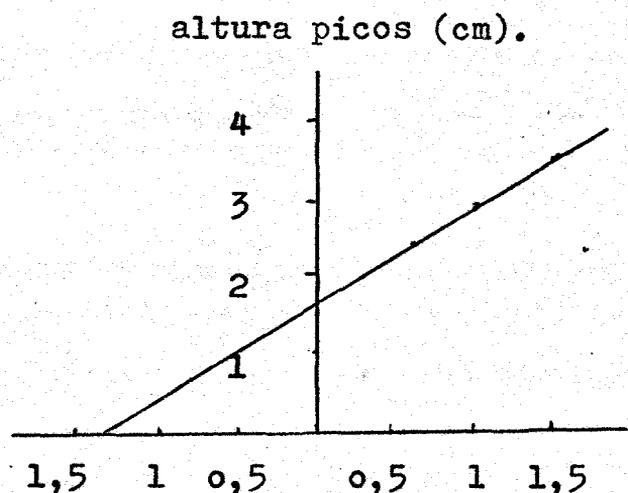
ASTURIANA



CERVERA

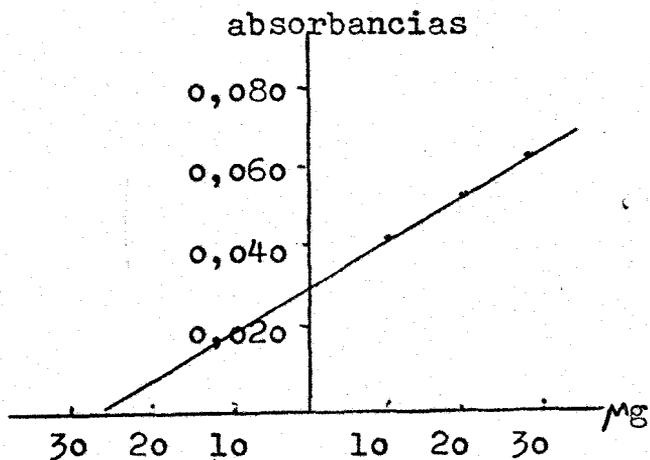


COLECOR

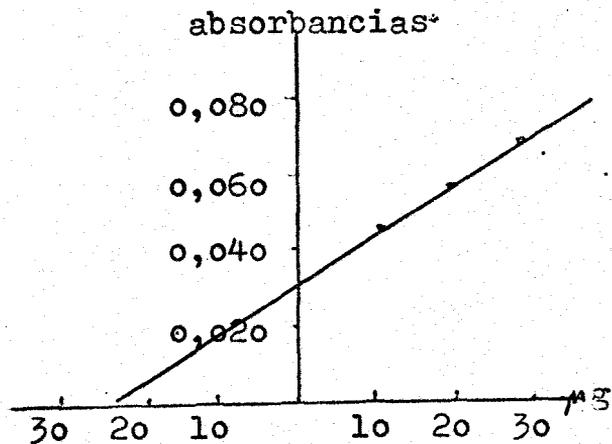


CUNIA

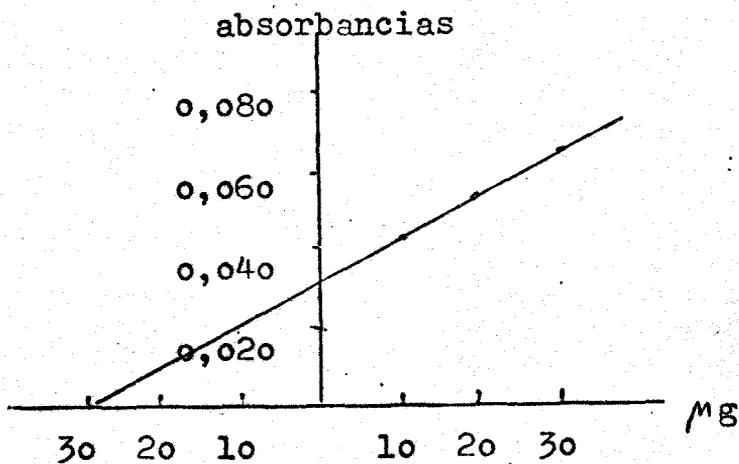
CURVAS DE CALIBRADO DEL ZINC.



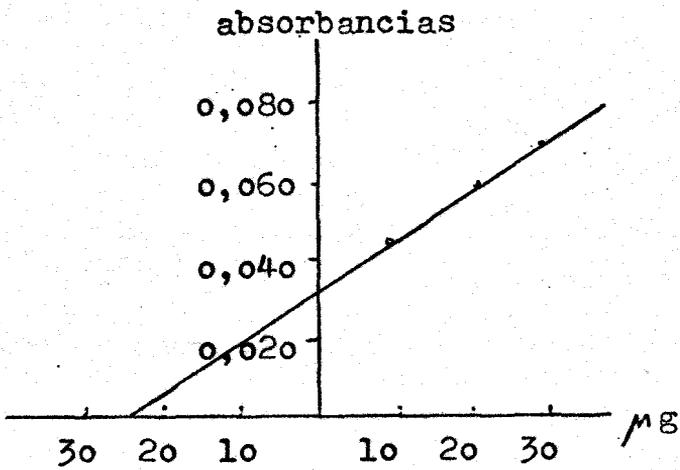
ASTURIANA



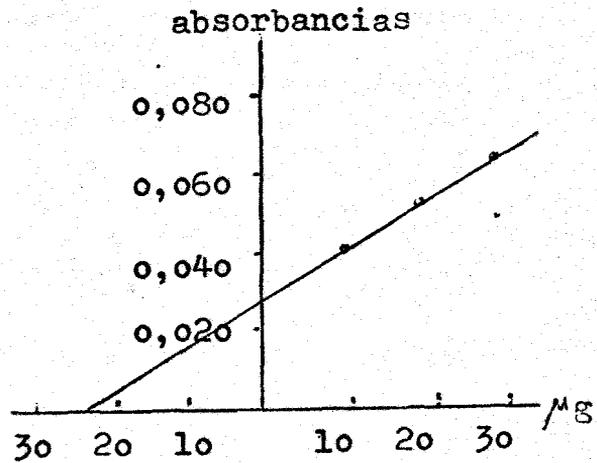
CASTILLO



CERVERA

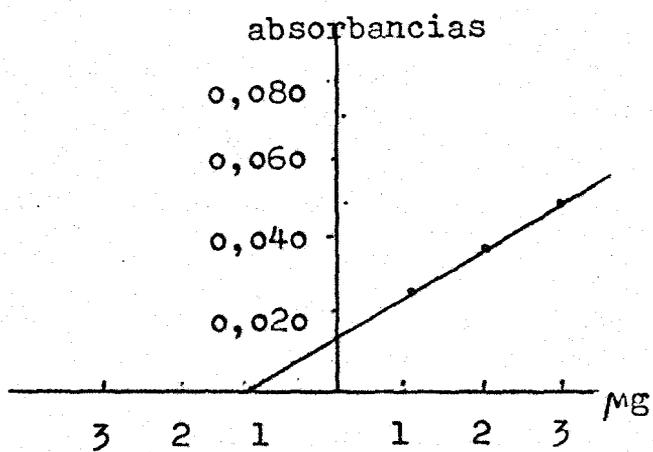


COLECOR

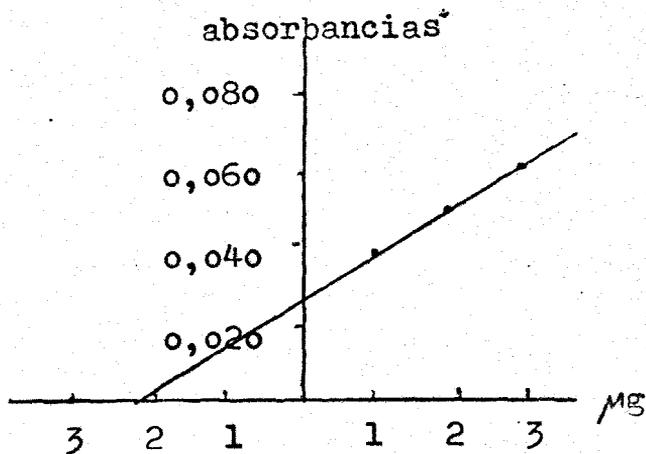


CUNIA

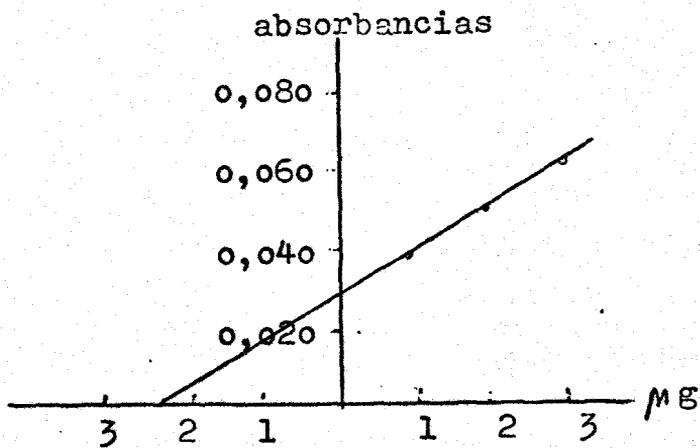
CURVAS DE CALIBRADO DEL COBRE.



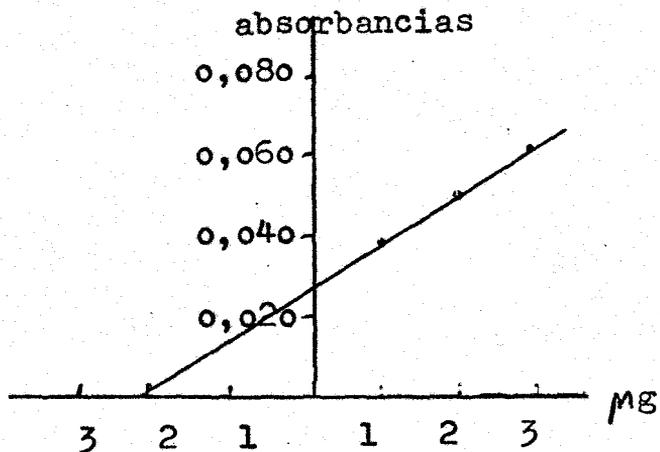
ASTURIANA



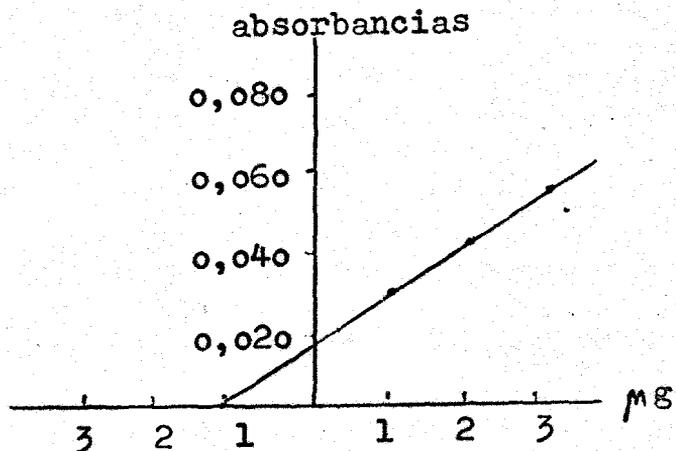
CASTILLO



CERVÈRA

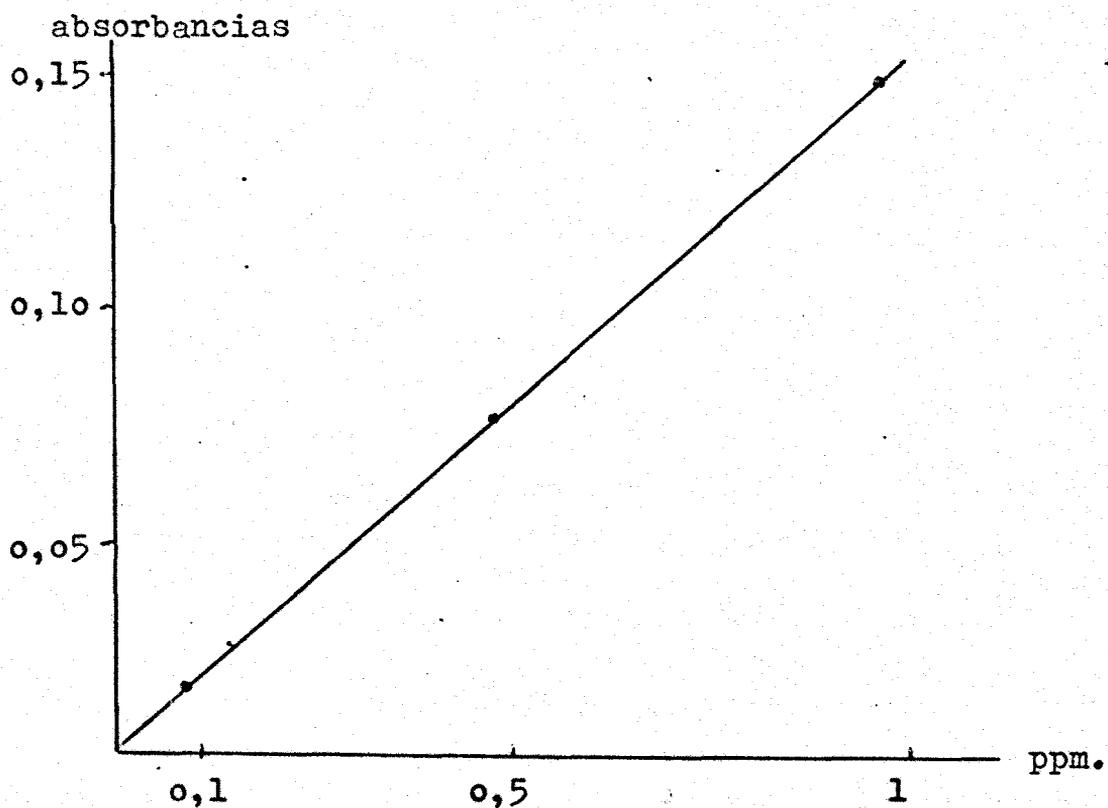


COLECOR.

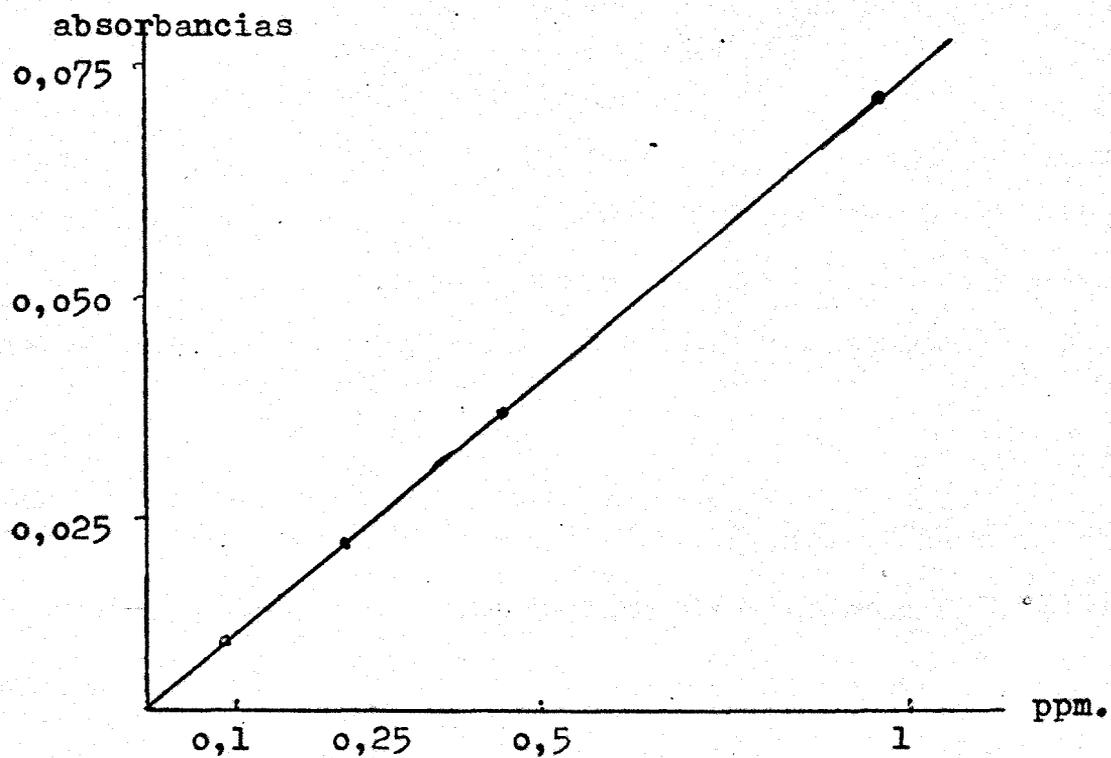


CUNIA

CURVA PATRON DEL ZINC.



CURVA PATRON DEL COBRE.



8.-CALCULOS.

Cuando se sigue el método de las adiciones, el cálculo de la concentración del elemento en la muestra problema se efectúa a través de la expresión:

$$\text{Concentración del metal en leche(ppm.)} = \frac{A \times B}{C \times D \times 10}$$

A = Cantidad del elemento obtenido en la gráfica correspondiente (en microgramos).

B = Volumen total de la solución resultante de la digestión (en ml.).

C = Volumen correspondiente a la alícuota tomada (en ml.)

D = Volumen inicial de leche.

Cuando se sigue el método de las soluciones patrones, la concentración del elemento se calcula directamente a partir de la correspondiente curva patrón.

9.-RESULTADOS.

En las siguientes tablas se exponen los resultados obtenidos para cada muestra de leche y para cada elemento.

RESULTADOS OBTENIDOS PARA EL PLOMO POR EL METODO DE LAS ADICIONES .

LECHE ASTURIANA.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,60 ppm.	0,0475 ppm.
2	0,42 "	0,0400 "
3	0,55 "	0,0225 "
4	0,50 "	0,0024 "
5	0,45 "	0,0275 "

LECHE CASTILLO.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,45 ppm.	0,0111 ppm.
2	0,37 "	0,0490 "
3	0,50 "	0,0135 "
4	0,44 "	0,0165 "
5	0,60 "	0,0635 "

LECHE CERVERA.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,65 ppm.	0,0065 ppm.
2	0,60 "	0,0315 "
3	0,75 "	0,0435 "
4	0,62 "	0,0190 "
5	0,69 "	0,0135 "

LECHE COLECOR.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,45 ppm.	0,042 ppm.
2	0,60 "	0,033 "
3	0,56 "	0,013 "
4	0,50 "	0,017 "
5	0,56 "	0,013 "

LECHE CUNIA.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,72 ppm.	0,016 ppm.
2	0,87 "	0,091 "
3	0,67 "	0,009 "
4	0,55 "	0,030 "
5	0,69 "	0,001 "

En el siguiente cuadro se exponen los valores medios de los resultados obtenidos.

<u>MUESTRA</u>	<u>CONCENTRACION</u>	<u>D. STANDARDS</u>	<u>Nº ENSAYO.</u>
Asturiana	0,50 ppm.	0,0279	5
Castillo	0,47 "	0,0144	5
Cervera	0,66 "	0,0228	5
Colecor	0,53 "	0,0236	5
Cunia	0,70 "	0,0294	5

RESULTADOS OBTENIDOS PARA EL Cd. METODO DE ADICIONES.

LECHE ASTURIANA.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,025 ppm.	0,0014 ppm.
2	0,020 "	0,0021 "
3	0,025 "	0,0014 "
4	0,025 "	0,0014 "
5	0,025 "	0,0014 "

LECHE CASTILLO.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,016 ppm.	0,0029 ppm.
2	0,010 "	0,0012 "
3	0,009 "	0,0016 "
4	0,010 "	0,0012 "
5	0,010 "	0,0012 "

LECHE CERVERA.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,011 ppm.	0,0002 ppm.
2	0,009 "	0,0010 "
3	0,012 "	0,0009 "
4	0,011 "	0,0001 "
5	0,011 "	0,0001 "

LECHE COLECOR.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,020 ppm.	0,0010 ppm.
2	0,018 "	0,0003 "
3	0,017 "	0,0007 "
4	0,018 "	0,0003 "
5	0,018 "	0,0003 "

LECHE CUNIA.

<u>Nº Ensayo</u>	<u>Concentración</u>	<u>Desviación standards.</u>
1	0,025 ppm.	0,0017 ppm.
2	0,025 "	0,0017 "
3	0,017 "	0,0035 "
4	0,025 "	0,0017 "
5	0,025 "	0,0017 "

En el siguiente cuadro se exponen los valores medios de los resultados obtenidos para el cadmio.

<u>MUESTRA</u>	<u>Nº ENSAYO</u>	<u>CONCENTRACION</u>	<u>D. STANDARDS</u>
Asturiana	5	0,025 ppm.	0,0015 ppm.
Castillo	5	0,011 "	0,0016 "
Cervera	5	0,011 "	0,0005 "
Colecor	5	0,018 "	0,0005 "
Cunia	5	0,023 "	0,0021 "

RESULTADOS OBTENIDOS PARA EL Zn.M. ADICIONES Y PATRONES.

LECHE ASTURIANA.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	4,90	4,20	0,0266	0,0433
2	4,90	4,20	0,0266	0,0433
3	4,90	4,20	0,0266	0,0433
4	4,90	4,20	0,0266	0,0433
5	5,00	4,40	0,0066	0,0233
6	5,00	4,40	0,0066	0,0233
7	5,10	4,60	0,0400	0,0900
8	5,20	4,50	0,0733	0,0566
9	4,90	4,20	0,0266	0,0473
10	5,00	4,40	0,0066	0,0233

LECHE CASTILLO.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	5,00	4,40	0,0966	0,0300
2	5,00	4,40	0,0966	0,0300
3	5,10	4,60	0,1300	0,0966
4	4,70	4,50	0,0033	0,0633
5	4,50	4,70	0,0700	0,1300
6	4,80	4,40	0,0300	0,0300
7	4,60	4,20	0,0366	0,0366
8	4,40	4,30	0,1033	0,0033
9	4,50	4,30	0,0700	0,0033
10	4,50	4,30	0,0700	0,0033

LECHE CERVERA.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	4,40	4,10	0,0366	0,1066
2	4,50	4,20	0,0033	0,0733
3	4,80	4,60	0,0966	0,0600
4	4,70	4,50	0,0633	0,0266
5	4,10	3,80	0,1366	0,2066
6	4,90	4,90	0,1300	0,1600
7	5,00	5,00	0,1633	0,1933
8	4,60	4,30	0,0300	0,0400
9	5,10	5,10	0,1966	0,2266
10	4,00	3,70	0,1700	0,2400

LECHE COLECOR.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	4,60	4,50	0,0100	0,0000
2	4,20	4,80	0,1433	0,1000
3	4,20	4,20	0,1433	0,1000
4	4,60	4,50	0,0100	0,0000
5	5,10	4,20	0,1566	0,1000
6	5,20	4,80	0,1900	0,1000
7	4,60	4,50	0,0100	0,0000
8	4,80	4,40	0,0566	0,0333
9	4,80	4,30	0,0566	0,0666
10	4,20	4,30	0,1433	0,0666

LECHE CUNIA.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	5,00	4,50	0,0200	0,0533
2	5,00	4,50	0,0200	0,0533
3	5,10	4,40	0,0533	0,0200
4	5,10	4,40	0,0533	0,0200
5	5,20	4,60	0,0866	0,0866
6	5,30	4,70	0,1200	0,1200
7	4,80	4,20	0,0466	0,0466
8	4,70	4,10	0,0800	0,0800
9	4,60	4,00	0,1133	0,1133
10	4,60	4,00	0,1133	0,1133

En el siguiente cuadro se exponen los valores medios de los resultados obtenidos para el zinc.

Muestra.	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
Asturiana	4,98	4,33	0,0266	0,0433
Castillo	4,69	4,31	0,0706	0,0426
Cervera	4,64	4,42	0,1026	0,1333
Colecor	4,63	4,50	0,0919	0,0566
Cunia	4,94	4,34	0,0706	0,0706

RESULTADOS OBTENIDOS PARA EL Cu. M. ADICIONES Y PATRONES.

LECHE ASTURIANA.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	0,17	0,14	0,0066	0,0133
2	0,18	0,12	0,0100	0,0066
3	0,16	0,11	0,0033	0,0033
4	0,16	0,11	0,0033	0,0033
5	0,16	0,11	0,0033	0,0033
6	0,15	0,09	0,0000	0,0033
7	0,15	0,09	0,0000	0,0033
8	0,15	0,09	0,0000	0,0033
9	0,12	0,08	0,0100	0,0066
10	0,12	0,08	0,0100	0,0066

LECHE CASTILLO.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	0,36	0,24	0,0133	0,0100
2	0,35	0,23	0,0100	0,0066
3	0,33	0,22	0,0033	0,0033
4	0,33	0,22	0,0033	0,0033
5	0,33	0,22	0,0033	0,0033
6	0,32	0,21	0,0000	0,0000
7	0,31	0,21	0,0033	0,0000
8	0,30	0,20	0,0066	0,0033
9	0,29	0,20	0,0100	0,0033
10	0,28	0,19	0,0133	0,0066

LECHE CERVERA.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	0,37	0,25	0,0133	0,0100
2	0,36	0,23	0,0100	0,0033
3	0,35	0,23	0,0066	0,0033
4	0,34	0,22	0,0033	0,0000
5	0,33	0,22	0,0000	0,0000
6	0,33	0,22	0,0000	0,0000
7	0,31	0,21	0,0066	0,0033
8	0,31	0,21	0,0066	0,0033
9	0,30	0,21	0,0100	0,0033
10	0,29	0,20	0,0133	0,0066

LECHE COLECOR.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	0,37	0,25	0,0100	0,0100
2	0,36	0,24	0,0066	0,0066
3	0,36	0,24	0,0066	0,0066
4	0,35	0,23	0,0033	0,0033
5	0,34	0,22	0,0000	0,0000
6	0,34	0,22	0,0000	0,0000
7	0,33	0,21	0,0033	0,0033
8	0,32	0,21	0,0066	0,0033
9	0,31	0,20	0,0100	0,0066
10	0,31	0,20	0,0100	0,0066

LECHE CUNIA.

Ensayos	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
1	0,30	0,20	0,0166	0,0200
2	0,28	0,16	0,0100	0,0066
3	0,28	0,16	0,0100	0,0066
4	0,28	0,16	0,0100	0,0066
5	0,25	0,14	0,0000	0,0000
6	0,25	0,14	0,0000	0,0000
7	0,23	0,11	0,0066	0,0100
8	0,23	0,11	0,0066	0,0100
9	0,21	0,10	0,0133	0,0133
10	0,21	0,10	0,0133	0,0133

En el siguiente cuadro se exponen los valores medios de los resultados obtenidos para el zinc.

Muestra.	Concentración (ppm.).		Desviación standards (ppm.).	
	Adiciones.	Patrón.	Adiciones.	Patrón.
Asturiana	0,15	0,10	0,0046	0,0052
Castillo	0,32	0,21	0,0066	0,0039
Cervera	0,33	0,22	0,0069	0,0033
Colecor	0,34	0,22	0,0056	0,0046
Cunia	0,25	0,14	0,0086	0,0086

En la siguiente tabla se expresan las concentraciones medias de los resultados obtenidos para los distintos elementos analizados. Dichas concentraciones van expresadas en ppm.

RESULTADOS OBTENIDOS POR ADICIONES.

<u>Muestra.</u>	<u>Plomo.</u>	<u>Cadmio.</u>	<u>Zinc.</u>	<u>Cobre.</u>
Asturiana	0,50	0,025	4,98	0,15
Castillo	0,47	0,011	4,69	0,32
Cervera	0,66	0,011	4,64	0,33
Colecor	0,53	0,018	4,63	0,34
Cunia	0,70	0,023	4,94	0,25

RESULTADOS OBTENIDOS POR PATRONES.

<u>Muestra.</u>	<u>Zinc.</u>	<u>Cobre.</u>
Asturiana	4,33	0,10
Castillo	4,31	0,21
Cervera	4,42	0,22
Colecor	4,50	0,22
Cunia	4,34	0,14

D I S C U S I O N .

DISCUSION.

Aunque Morgan y col. (1964) encuentran óptimo el volumen de partida de 25 ml. de leche, nosotros hemos decidido disminuirlo al objeto de evitar la excesiva adición de mezcla oxidante, que produce una alta concentración de ácidos en la solución final, lo que se traduce en interferencias en el momento de las medidas; la sensibilidad de las técnicas así lo permiten.

En la cuantificación de los metales pesados analizados se han seguido con fines comparativos los métodos de las adiciones y los patrones. A la vista de los resultados obtenidos, se observa que cuando se usan patrones de cobre y zinc, los valores obtenidos son más bajos que cuando se sigue el método de las adiciones. Esta observación se explica por la influencia que tiene la matriz en las determinaciones.

La amplia bibliografía consultada con relación a los valores de concentración de los elementos considerados que aparecen en la leche de vaca, nos demuestra que estos valores son muy variables e irregulares.

Las causas que originan esta gama de valores diferentes pueden atribuirse a varios factores: tipo de leche (descremada, condensada, en polvo, etc.), región en la que se encuentran ubicados los animales (zonas industriales, rurales etc),

época del año en la que la leche es recogida (tiempo seco, lluvioso, etc.).

Nosotros, y únicamente con fines comparativos, hemos elegido los valores en leche de vaca dados por Underwood en 1971 y recogidos en el informe nº 532 de la O.M.S., los cuales se encuentran reflejados en el siguiente cuadro.

<u>ELEMENTO.</u>	<u>LECHE DE VACA (ppm.).</u>
Plomo	0,02 - 0,08
Cadmio	0,001-0,02
Cobre	0,6
Zinc	3 - 5

Los valores de zinc encontrados por nosotros son bastante uniformes en todas las muestras, y comparados con los del cuadro anterior están dentro de los márgenes de Underwood.

En todas las muestras investigadas aparecen Cd, y Cu con niveles de concentración que podemos considerar como admisibles. En el caso del plomo, los valores son mucho más altos de lo que se podían esperar.

Consideramos que la causa de esta concentración elevada puede ser triple: contaminación durante los procesos industriales, empleo de plaguicidas plúmbicos y polución ambiental procedente de los supercarburantes.

C O N C L U S I O N E S .

CONCLUSIONES.

1.-En todas las muestras de leche analizadas hemos hallado los elementos inorgánicos buscados: plomo, cadmio, zinc, y cobre.

2.-Con el método seguido y la técnica instrumental utilizada, se ha encontrado que el volumen de muestra óptimo es de 5-10 ml, inferior al de 25 ml empleados por diversos autores.

La reducción del volumen de leche evita las interferencias producidas por la alta concentración de ácidos en la solución final, consecuente a la excesiva adición de mezcla oxidante.

3.-Cuando se determina cobre y zinc por el método de disoluciones patrones, los valores obtenidos son más bajos que cuando se sigue el método de las adiciones. Esta discordancia se debe a la influencia de la matriz.

4.-Los niveles hallados oscilan entre 0,47-0,70 ppm. para el plomo, 0,011-0,025 ppm. para el cadmio, 4,63-4,98 ppm. para el zinc y 0,15-0,34 ppm. para el cobre.

5.-Podemos considerar los valores señalados en la conclusión anterior como bastante uniformes, y comprendidos en los

márgenes recogidos en el informe nº 532 de la O.M.S.

6.-A pesar de lo expuesto en el párrafo anterior existen gran des diferencias entre los resultados hallados por nosotros y los publicados por diversos autores, entre los que también existe importante dispersión de niveles.

Consideramos que tales diferencias pueden atribuirse a varios factores: tipo de leche, región donde se encuentra ubicado el animal, época del año en la que se recoge la muestra, tipo de ordeño, periodo de lactancia, tratamiento de la leche, etc.

7.-Las concentraciones de cadmio, cobre y zinc encontradas por nosotros en todas las muestras analizadas, pueden con siderarse como admisibles según la citada publicación de la O.M.S.

8.-Los valores de plomo encontrados en todas las muestras son hasta un 11,4% más altos que los del informe citado.

9.-Consideramos que la causa de la elevada concentración plúmbica puede ser triple: contaminación durante los pro cesos industriales, empleo de plaguicidas plúmbicos y po lución ambiental procedente de los supercarburentes, con afectación directa de los animales o por intermedio de los alimentos.

B I B L I O G R A F I A .

ALSBERG, C. L. Y COL.

"Study toxicologic of cadmium".

J. Pharmacol. (1919), 13, 504.

ANON.

"The non-fat composition of milk"

Dairy Council. Digest. (1963), 3, 1-4.

ARMSTRONG, R. W. Y COL.

"Milk and stomach cancer in Iceland. Spectrographic analysis of milk in relation to stomach cancer mortality in Iceland"

Acta. Agr. Scand. (1967), 17(1), 30-2.

ASHTON, W. M. Y COL.

"Studies on ewes milk. VI. The content of some trace elements"

J. Agric. Sci. (1977), 88, Pt. 3, 529-31

AVAKYAN, A. S.

"Effect of copper, cobalt and iodine on the milk productivity of cows".

Izv. S-Kh. Nauk. (1976), 19(9), 70-3.

BAKANOV, V. N. Y COL.

"Mineral composition of the blood and milk of cow under different grazing conditions".

Izr. Timiriazevsk. S-Kh. Akad. (1978), 2, 168-74.

BARABANSHCHIKOV, N.V. Y COL.

"Content of trace elements in the colostrum and milk of Ayrshire and black-pied breed cows"

Molochn. Prom-st. (1977), 7, 39-42.

BIANCANI, M. Y COL.

"Lead content in milk products taken from the Permignano-Reggiano cheese district".

Sci. Tec. Latt-Casearia (1976), 27(4), 313-22.

BLUETHGEN, A. Y COL.

"Animals experiments on the carry-over of toxic trace elements from feeds into milk".

Kiel. Milchwirtsch. Forschungsber. (1978), 30(2), 139-55.

BOCCIA, A. Y COL.

"Trace elements in samples of cows milk after different treatments".

Ig. Med. (1976), 68(3), 299-306.

BOYDEN, R. Y COL.

"Chronic effects of copper".

J. Nutrition. (1938), 15, 397.

BRUHN, J. C. Y COL.

"Lead and cadmium in California raw milk".

J. Dairy. Sci. (1976), 59(10), 1717

BURG, P. Y COL.

"The condition of casein in milk".

Neth. Milk Dairy J. (1947), 1, 11

CALLENDER, G. E. Y COL.

"Toxicity of zinc salts".

Ind. Eng. Chem. (1924), 16, 164.

CARLSON, L. A. Y COL.

"Metabolism of cadmium".

Scand. J. Clin. Lab. Invest. (1957), 9, 1

CARTER, R. H. Y COL.

"DDT content of milk from a cow sprayed with DDT"

J. Econ. Entomol. (1949), 42, 708.

CARTWRIGHT, F. Y COL.

Blood. (1947), 2, 111

En Patty, A. Ind. Hyg. and Toxic. (1962), Interscience Publishers. vol. II, 2^a ed., 1035-1200.

DALHAMN, T. Y COL.

Ac. Pharm. Toxicol. (1955), 11, 168.

En Patty, A. (obra anterior).

DAWSON, C. R. Y COL.

"Advances in protein chemical".

J. Biol. Chem. (1945), 2, 179.

DECKER, L. E. Y COL.

Arch. Ind. Health. (1958), 18, 228.

En Patty, A. (obra ya citada).

DELWAIDE, P. Y COL.

"Le saturnisme : lesions biochimiques et semiologie biologique

Ann. Biol. Clin. (1968), 26, 987.

DRINKER, K. R. Y COL.

"Metabolism of zinc".

Am. J. Physiol. (1927), 80, 31-65.

DRINKER, THOMPSON Y MARSH.

"Metabolism of zinc".

Am. J. Physiol. (1927), 81, 284.

ELWELL, W. T. Y COL.

"Atomic Absorption Spectrophotometry".

Pergamon. Press. Oxford. (1961), 1, 1.

EHRlich, G. E. Y COL.

"Saturnism gout".

Arch. Envir. Int. Med. (1966), 118, 572-575.

FITZHUGH, O. G. Y COL.

J. Pharmacol. Exptl. Therap. (1944), 72, 15.

En Patty, A. (obra ya citada).

FORNEY, R. B. Y COL.

"Metabolism of cadmium".

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. (1955), 90, 13.

FRANZMANN, A. W. Y COL.

"Moose milk and hair element levels and relations".

J. Wildl. Dis. (1976), 12(2), 202-7.

FREJAVILLE, J. P. Y COL.

"Intoxication chronique du plomb".

Toxicol. Clin. et An. (1971), Flammarion Med.-Sci. 541-543.

FRIBERG, L. Y COL.

Acta Pathol. Microbiol. Scand. (1957), 41, 96 y

Arch. Ind. Healt. (1957), 16, 27.

GAULTIER, M. Y COL.

"L'interet diagnostique et therapeutique des dosages des porphyrines dans le saturnisme".

Extrait des Entretiens de Bichat (1961), 245-247.

GHELBREG, N. W. Y COL.

"Lead content of milk in an area with nonferrous metallurgical industry".

Igiene. (1972), 21(1), 17-22.

GOVORKOV, B.

"Physical constants of milk products".

Moloch. Prom. (1950), 10, 37.

GREBENNIKOV, E. P. Y COL.

"Nutritional value of milk of different animal species in connection with their trace element content".

Rostovsk. Sb. (1962), 202.

Gregorio, P. Y COL.

"Lead contamination of cows milk".

Ig. Med. (1976), 69(4), 296-305.

Gunther, F. A.

"Pesticides in milk".

Residue. Reviews. (1965), 8, 74-116

HART, E. B. Y COL.

J. Biol. Chem. (1925), 65, 67.

En Patty, A. (obra ya citada).

HEINEMAN, H. E. Y COL.

"Pesticide residues in milk".

Assoc. Food. Drug. Off. U.S. Quart. Bull. (1963), 23, 121.

HINMAN, J. Y COL.

Water. Works. Assoc. (1938), 30, 484.

En Patty, A. (obra ya citada).

ISAKOV, Kh. I. Y COL.

"Relations between the zinc content in milk and duration of lactation".

Molodykh. Univ. (1967), 70-3.

JACK, E. L. Y COL.

"Chemistry of milk fat".

J. Dairy Sci. (1965), 39, 1-25.

JAEGER, H.

"Physiological response of zinc".

Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol. (1931), 159, 139

KEHOE, R. A. Y COL.

"Metabolism of copper".

J. Nutrition. (1940), 19, 582 y (1940), 20, 85.

"Normal metabolism of lead".

Arch. Envir. Health. (1964), 8, 232-243.

KHRISANFOVA, L. P. Y COL.

"Level of zinc, iron, copper and cobalt in milk dependent on the individual features of cows".

TSKHA. (1971), 157, 117-20.

KIERMEIER, F. Y COL.

"Copper content of cow milk. I. The copper content differences of milk samples delivered at the public dairy at Weihenstephan"

Z. Lebensm-Untersuch. (1961), 115, 410-16.

KING, R. L. Y COL.

"Relations of natural and added copper and iron in milk".

J. Dairy Sci. (1959), 42, 780-90.

"Relations of natural copper in milk to incidence of spontaneous oxidized flavor".

J. Dairy Sci. (1959), 42, 420-7.

"Copper distribution in milk during early lactation".

J. Dairy Sci. (1963), 46, 11-13.

KISZA, J. Y COL.

"Variations of trace element contents in the milk of cows with udder disease".

Milchwissenschaft. (1969), 24(5), 281-3.

KON, S. K. Y COL.

"Milk: the mammary gland and its secretions".

Academic Press. (1961), vol I and II, New York.

LABUSCHAGNE, J. H. Y COL.

"The copper, iron and free fatty acid content of industrial milk as influenced by different milkings systems".

S. Afr. J. Dairy Technol. (1976), 8(4), 195-9.

LOCKYER, R.

Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation.

(1964), 3, Intersciens. Publ., New York.

LUQUET, F. M. Y COL.

"Variations in the mineral compositions of milk during the summer of 1976. The effect of drought".

Lait. (1977), 57(568), 509-20.

MAFFEO, G. Y COL.

"Observations on lead pollutions in milk".

Arch. Vet. Ital. (1976), 27(3-4), 84-7.

MAHIEU, H. Y COL.

"Content of individual milk and the mixture of mineral matter and urea".

Aliment. Vis. (1977), 65(2), 183-250.

MARGOSHES, M. Y COL.

"The distribution of cadmium".

J. Am. Chem. Soc. (1957), 79, 4813.

MENGER, J. W. Y COL.

"Natural and added copper in milk".

Dairy Sci. Abstr. (1957), 19, 146-7.

MEZIES, A. C.

"Spectrophotometri Absorption Atomic".

Analytical Chemistry (1960), 32, 899.

MORGAN, M. E.

"The determination of copper in milk by atomic absorption spectroscopy".

Atomic. Abs. Newsletter. (1964), 3(21), 43-45.

MORLAN, J. M.

"Nephropathy in chronic lead poisoning".

Arcg. Int. Med. (1966), 118, 17-30.

MURPHY, J. J. Y COL.

"Seasonal variations of copper and iron in Irish milk".

J. Dairy Res. (1977), 44(2), 325-34.

MURTHY, L. Y COL.

"A study of the combined toxic effects of oral cadmium and lead in rats".

Trace. subst. Env. Health. (1975), 9, 395-340.

NASSI, L. Y COL.

"Atomic absorption spectrophotometric in the determinations of total, free and bound zinc in human colostrum and milk".

Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. (1972), 48(5), 86-9.

"Zinc in protein fractions of humans and milk cow milk".

Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. (1974), 50(12), 907-11.

"Zinc in natural and artificial milk".

Ann. Sclavo. (1975), 17(6), 849-58.

OBIOLS, J.

"Espectroscopía de Absorción Atómica".

Afinidad (1965), nº 237, 173-5.

PATTY, A. F.

"Industrial Higiene and toxicology".

Interscience Publishers. (1962), vol. II, 2ª ed., 1035-200.

PEARSON, D.

"The chemical analysis of foods".

Churchill. Livingstons. (1976), 7ª ed., 27-106.

PRODAN, L.

J. Ind. Hyg. (1932), 14, 132-151.

En Patty, A. (obra ya citada).

REPETTO, M. Y COL.

"Mecanismos de la intoxicación plúmbica".

Acta 2ª Jornadas Toxicológicas españolas. (1974).

REYNOLDS, M. Y COL.

"Lactogénesis".

Philadelphia. Univ. of Pennsylvania Press (1969).

RICHARDSON, T.

"Studies on milk fat and milk fat fractions".

Avi. Publishing Co. Westport. Conn. (1968).

ROBINSON, J.

"Interferences chimiques".

Analytical Chemistry. (1961), 33, 1067

ROGERS, W. P.

"Copper contamination in milk production and butter manufacture

J. Dairy Technol. (1965), 20(4), 200-5.

SALANT, SUTTON Y NELSON.

Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. (1937), 36, 211.

En Patty, A. (obra ya citada).

SAMUELSON, E. G.

"The influence of copper-containing equipment on the development of oxidized flavor in bulk milk".

Rep. Natl. Dairy Assoc. SMR. (1964), 77, 42.

"Copper content in milk and the distribution of copper to some various phases of milk".

Milchwissenschaft. (1966), 21(6), 335-41.

"Copper in milk".

Symp. Pap. Discuss. (1967), 203-14.

SHELINE, G. F. Y COL.

J. Exptl. Med. (1934), 78, 151.

En Patty, A. (obra ya citada).

SHWARZ, F. J. Y COL.

"Supplemental feeds of high copper content for dairy cows".
Landwirtsch. Forsch. (1978), 31(4), 317-26.

SIMON, F. P. Y COL.

Arch. Biochem. (1947), 12, 283.
En Patty, A. (obra ya citada).

SLAVIN, W.

"Analysis instrumentation".
Plenum. Press. (1964), New York.

STANEK, J.

"Content of trace elements in cow milk in areas with solid
industrial fallout".
Cesk. Hyg. (1969), 14(9-10), 310-14.

STOVBUK, A. T. Y COL.

"Data on the trace element composition of human milk and
various modifications of cow milk".
Med. Inst. (1962), 5, 38-9.

TOBIAS, J. Y COL.

"Organoleptic properties of dairy products".
Unv. Illinois. (1976), 3, 76-80.

UNDERWOOD, E. J.

"Trace elements in human and animal nutrition".
Acad. Press. (1971), 3^a ed., 71, New York.

VALLEE, B. L. Y COL.

Arch. Ind. Health. (1957), 16, 147. y

Physiol. Rers. (1959), 39, 443.

En Patty, A. (obra ya citada).

VSYAKIKH, M. J.

"Content of trace elements (Co, Cu, Zn, Fe) in milk".

Inter. Dairy Congr. (1959), 3, 1761-5.

WALTNER, Y WALTNER

Pathol. Pharmacol. (1929), 141, 123.

En Patty, A. (obra ya citada).

WHITTIER, E. O.

"Lactose and its utilization".

J. Dairy Sci. (1944), 27, 505.

WILLIS, J. B.

"Methods of biochemical analysis".

Interscience Publ. (1963), vol. II, 408, New York.

ZLOTINA-SHUMYATSKAYA, L. M.

"Phisicochemical composition of milk and cheese with the introduction of trace elements in the rations of cows maintained on a pasture".

Dokl. TSKHA. (1976), 225, 43-8.

INDICE.

	<u>Pagina.</u>
I.-INTRODUCCION	5
II.-PARTE TEORICA	7
1.-Concepto y formación de la leche	8
2.-Características de la leche	10
3.-Composición de la leche	11
-Composición cuantitativa	12
-Composición cualitativa	12
4.-Factores que afectan la composición de la leche	18
5.-Riesgos del consumo de la leche	26
-Leche como antídoto	26
-Infecciones por la leche	28
-Contaminantes químicos	29
.C. orgánicos	29
.C. inorgánicos	31
6.-Estudio toxicológico de cada elemento	39
-Estudio toxicológico del zinc	41
-Estudio toxicológico del cobre	47
-Estudio toxicológico del cadmio	50
-Estudio toxicológico del plomo	54
7.-Espectrofotometría de absorción atómica	60
-Fundamento	60
-Equipo	61

	<u>Página.</u>
-Técnica de trabajo	65
-Interferencias	67
-Aplicaciones	69
III.-PARTE EXPERIMENTAL	71
1.-Método	72
2.-Instrumentación	72
3.-Muestras	72
4.-Reactivos	74
5.-Preparación de las muestras	77
6.-Calibración	80
7.-Cálculos	87
8.-Resultados	87
IV.-DISCUSION	100
V.-CONCLUSIONES	103
VI.-BIBLIOGRAFIA	106