Determinación de cadmio y plomo en cabello

Lilia Araujo^{1*}, Avismelsi Prieto², Graciela González¹ y Yaritza Guanipa¹

¹Laboratorio de Análisis Químico-Electroquímica, Ciclo Básico, Facultad de Ingeniería,
Universidad del Zulia, Maracaibo-Venezuela. Fax: 58-61-512197 o 598527.

²Departamento de Química, Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia Maracaibo,
Venezuela. Fax: 58-61-418682.

Recibido: 18-02-97 Aceptado: 15-07-97

Resumen

Se determinó los niveles de cadmio y plomo en el cabello de 135 habitantes de la ciudad de Maracaibo (Venezuela), 35 de ellos expuestos ocupacionalmente al tetraetilo de plomo. La cuantificación se realizó mediante Espectrofotometría de Absorción Atómica con llama. Las concentraciones de cadmio en las 135 muestras de cabello presentaron niveles menores al máximo sugerido en la literatura (2,40 µg/g). La concentración media encontrada para cadmio y plomo en las 100 personas no expuestas ocupacionalmente fue 0.49 ± 0.37 µg/g y 26.5 ± 24.1 µg/g respectivamente. Para el plomo se encontró diferencias signitificativas (p =0.01) entre las personas no expuestas y expuestas ocupacionalmente al tetraetilo de plomo, donde estos últimos presentaron una concentración media para plomo mayor a 30 µg/g que es el nivel máximo propuesto en la literatura para poblaciones urbanas. En los expendedores de gasolina el nivel medio para cadmio fue 0.62 ± 0.46 µg/g y el de plomo 51.5 ± 11.9 µg/g.

Palabras clave: Cabello; cadmio; plomo.

Determination of cadmiun and lead in hair

Abstract

Lead and cadmiun concentrations in random hair samples of 135 volunteers from Maracaibo city (Venezuela), were determined in this work, 35 of these samples belong to occupational exposure men. Flame atomic absorption spectrophotometry was the analytical technique used. All the studied hair samples showed cadmium levels lower than that suggested in the literature (2.40 μ g/g). Cadmiun and lead mean concentrations of 0.49 \pm 0.37 μ g/g and 26.5 \pm 24.1 μ g/g were respectively found in the hair of 100 males and females non-occupational exposed. The lead levels of occupational and non-occupational volunteers exposed were significantly different (p = 0.01), and the occupational exposed men showed lead concentration higher than 30 μ g/g, which is the literature suggested value for urban pupulation. The mean concentrations of cadmium and lead among the 35 ocupational exposed men were 0.62 \pm 0.46 μ g/g and 51.5 \pm 11.9 μ g/g.

Key words: Cadmium; hair; lead.

Autor para la correspondencia.

Introducción

El cadmio y el plomo son metales tóxicos al hombre ya que pueden provocarle trastornos de salud, tales como disturbios metabólicos en la sangre y en los huesos, anemia, esterilidad, daños al riñón, hígado y al sistema nervioso central (1-4).

La contaminación con metales son generalmente medidas estudiando fluidos y sustancias del cuerpo humano de fácil acceso. El cabello ha demostrado ser uno de los mejores indicadores para monitorear metales en exposiciones continuas y de larga duración, por ser un bioconcentrador de elementos metálicos (5).

Estudios sobre la evaluación de los niveles de cadmio y plomo en el cabello de poblaciones expuestas y no expuestas ocupacionalmente a estos metales han sido reportados en la literatura (5-8) así como también la variación en la concentración de estos metales con la edad, sexo y el hábito de fumar [8-10].

Dada la toxicidad del cadmio y plomo, y las exposiciones crónicas a ellos, se crea la necesidad de determinar en el cabello, los niveles de cadmio y plomo, como un parámetro indicador del grado de exposición. En este trabajo se presenta la cuantificación, por espectrofotometría de absorción atómica con llama, de los niveles de cadmio y plomo en muestras de cabello de habitantes adultos no expuestos y expuestos ocupacionalmente al tetraetilo de plomo de la ciudad de Maracaibo, así como también la variación en la concentración de cadmio y plomo encontrada en función del sexo, edad y condición de fumador.

Materiales y Métodos

Reactivos

Se utilizó CdSO₄. 8/3H₂O (99%) y una ampolla de Pb(NO₃)₂, ambos marca Riedel de Haen, para preparar las solu**ciones** madre de 1000 mg/L en cadmio y plomo respectiva-

mente. Las soluciones patrón empleadas en la calibración fueron preparadas diariamente por dilución de la solución madre con agua desionizada, previo a las determinaciones espectrofotométricas. Para el lavado de las muestras de cabello se empleó detergente no iónico Tween de Nuclear-Chicago, éter de pétroleo y acetona grado analítico marca Merck. Para el enjuague se utilizó agua destilada en vidrio y desionizada. El HClO₄ y HNO₃ utilizado para la digestión de las muestras fueron grado analítico, marca Fisher.

Equipos

Se utilizaron espectrofotómetros de absorción atómica marca Perkin Elmer modelo 3030 y un Varian modelo SpectrAA-20, ambos equipados con corrector de fondo de lámpara de deuterio. Se empleó una bomba de vacio marca General Electric durante el lavado y secado de las muestras de cabello.

Muestreo

Se recolectaron al azar, en varios sitios de la ciudad de Maracaibo, 100 muestras de cabello de personas adultas de ambos sexos no expuestas ocupacionalmente al cadmio y al plomo, y 35 muestras de personas que trabajan en estaciones de servicio de gasolina. Todos los participantes fueron interrogados acerca de la edad, empleo de colorantes o desrrices en el cabello, hábito de fumar y características de su trabajo. Del muestreo se excluyeron personas con cabello pintado o desrrizado. Las porciones de cabello de aproximadamente 3 cm fueron obtenidas de cortes normales de cabellos realizados por profesionales de la peluquería y utilizando tijeras de acero inoxidable. Las muestras de aproximamente 5 g, fueron guardadas en bolsas de polietileno hasta el momento de su análisis.

Tratamiento y análisis de las muestras

Previo al análisis cada muestra de cabello fue cortada de aproximadamente 1 cm de largo y dividida en dos replicas de alrededor de 2 gramos. Seguidamente fueron lavadas, para eliminar los metales adsorbidos que no

forman parte de la estructura endógena del cabello y finalmente mineralizadas por vía húmeda.

Para el lavado del cabello se empleó una modificación de la metodología reportada por Jamali y Allen (11). Las muestras de cabello fueron lavadas sucesivamente con 20 mL de éter de pétroleo por 10 mínutos, 20 mL de solución de detergente etoxilado no iónico al 8 % p/v por 10 mínutos y abundante agua desionizada. Seguidamente con 10 mL de acetona y se secaron por succión al vacío. Finalmente las muestras fueron secadas al aire sobre papel de filtro por 30 mínutos.

Para la mineralización se colocaron las submuestras de cabello en vasos de precipitado y se les adicionaron a cada una 20 mL de HNO₃/HClO₄ (5:1) concentrados y perlas de ebullición, se taparon los vasos con vidrios de reloj, y se colocaron en planchas de calentamiento para efectuar la digestión bajo condiciones de calentamiento suave. La digestión se realizó hasta obtener cenizas totalmente blancas. Seguidamente las cenizas fueron disueltas en 1,00 mL de ácido nítrico concentrado y diluidas con agua desionizada hasta 10,00 mL (8).

Para el análisis de cadmio y plomo en las muestras de cabello, se empleó la espectrofotometría de absorción atómica con llama, aire-acetileno y aspiración directa. Se utilizaron las longitudes de onda de 228,8 nm y 283,3 nm para las lecturas de Cadmio y plomo respectivamente. La ranura fue de 0,7 nm y se empleó corrector de fondo de lámpara de deuterio en ambos casos. La cuantificación fue realizada con el método de la curva de calibración, en el rango entre 0 y 1,0 mg/L para el caso del cadmio y de 0 a 10,0 mg/L en el del plomo. El rango analítico óptimo reportado para el cadmio es de 0,05 - 2,0 mg/L y para el plomo de 1,0 - 20,0 mg/L (12).

Se utilizó el método de adición estándar para evaluar la existencia de interferencias de matriz. Para corregir las cantidades de cadmio y plomo presentes en los reactivos utilizados, se prepararon por cada grupo de muestras digeridas, soluciones blancos conteniendo iguales volúmenes de ácidos que las muestras de cabello.

Para determinar el porcentaje de recuperación de los dos analitos, se tomaron muestras de cabello con bajo contenido de cadmio y plomo y se les salpicó antes de iniciar la digestión con 60,0 µg de plomo y 1,0 µg de cadmio.

Los niveles de cadmio y plomo reportados para las muestras se compararon con valores máximos sugeridos en la literatura, debido a que hasta donde concierne a los autores, no se encontró información aportada por entes oficiales en cuanto a los niveles máximos permitidos en cabello.

Resultados y Discusión

Las pendientes de las curvas de adición estándar y de calibración no presentaron diferencias significativas (t de student, P = 0,05). Esto demostró que el análisis estuvo libre de interferencias de matriz.

El estudio de recuperación produjo valores medios de 92,7 ± 2,0 y 94,8 ± 1,1 % para cadmio y plomo respectivamente (n=5). Estas recuperaciones son adecuadas y comparables a las reportadas por otros autores (8). La desviación estándar relativa fue menor del 2,4 %, mostrando buena precisión.

Las 100 personas muestreadas (49 mujeres y 51 hombres), que representaron la población estudiada no expuesta ocupacionalmente a los metales cadmio y plomo, tenían edades comprendida entre los 15 y 82 años, encontrandose una media artimética de 34 \pm 14 años. En la Tabla 1, se presentan estos datos y los intérvalos y promedios de edades encontradas por sexo.

Tabla 1
Intervalos y promedios de edad y concentración de cadmio y plomo en las muestras de cabello

	Mujeres n = 49	Hombres n = 51	Global (Hom+Muj) n = 100
Intervalo de edad (años)	15 - 82	16 - 72	15 - 82
Media de edad (años) x ± s	32 ± 14	36 ± 14	34 ± 14
Intervalo de concentraciónde Cadmio (µg/g)	0,10 - 1,55	0,04 - 1,63	0,04 - 1,63
Concentración media para Cadmio. $[\mu g/g] \vec{x} \pm s$	0,44 ± 0,35	0,54 ± 0,38	0.49 ± 0.37
íntervalo de concentraciónde Plomo [µg/g]	2,4 - 59,2	1,9 - 95,8	1,9 - 95,8
Concentración media para plomo. (µg/g) x ± s	18,4 ± 12,5	34,4 ± 29,6	26,5 ± 24,1

 $[\]bar{x}$ = media Aritmética

Cadmio y plomo en el cabello de la población no expuesta ocupacionalmente

Los resultados del análisis de las muestras para la determinación de los niveles de cadmio y plomo (Tabla 1) demostraron que toda la población estudiada (n=100) tenía en el cabello tanto plomo como cadmio. La concentración mínima y máxima para cadmio encontrada en la población global fue de 0,04 y 1,63 μ g/g respectivamente, con una concentración promedio de 0,49 \pm 0,37 μ g/g.

Al analizar el contenido de cadmio en las muestras de cabello en función del sexo, se observa en la Tabla 1 que los hombres resultaron tener una concentración media de cadmio $(0.54\pm0.38~\mu g/g)$ ligeramente mayor respecto a las mujeres $(0.44\pm0.35~\mu g/g)$, sin embargo la comparación estadistica entre las concentraciones medias de cadmio (t de student, p = 0.05), no mostró diferencias significativas entre ellas. Lo cual demuestra que el sexo en las muestras analizadas no es un parámetro importante para diferenciar los niveles de cadmio en la población no expuesta. De allí que la concentración promedio repre-

sentativa de cadmio es la global (0.49 ± 0.37) μg/g). Con esta primera evaluación del nivel de cadmio en cabello de pobladores de la ciudad de Maracaibo, no expuestos ocupacionalmente al cadmio, se demostró que el nivel de concentración encontrado, está por debajo del nivel máximo sugerido (2,40 μg/g) para cadmio en la literatura (13). El valor promedio global fue mayor que los reportados en Arabia Saudita (0,19 \pm 0,19 μ g/g; n = 22) y Sudan $(0.18 \pm 0.43 \,\mu g/g; n = 59)$, semejantes a los de Inglaterra $(0.47\pm0.71 \,\mu\text{g/g}; \, n = 66) \,\text{y mas}$ bajos que los reportados para Calcuta en la India $(1.40 \pm 0.80 \,\mu\text{g/g}; \, n = 71) \,(8.10)$. Al comparar la desviación estándar presentada por los resultados obtenidos en este trabajo con los valores reportados en la literatura, se podría asumir que la población aguí estudiada se desenvuelve en un medio ambiente más uniforme que la de los países arriba mencionados.

Los niveles de plomo en el cabello, obtenidos para la población adulta no expuesta ocupacionalmente, son presentados también en la Tabla 1, donde se observa que el valor mínimo y máximo encontrado fue 1,9 y

s = desviación estándar

95,8 µg/g respectivamente y una concentración media de 26,5 ± 24,1 µg/g para la población global. Los hombres presentaron una concentración media para plomo de 34,4 ± 29,6 μg/g que resulta ser mayor que 18,4 ± 12.5 µg/g correspondiente a las mujeres. La comparación estadística (t de student) entre estos valores, mostró diferencias significativas (p = 0,05) entre la concentración de plomo encontrada en ambos sexos. Contrario a lo expuesto para el cadmio, el nivel de plomo encontrado depende del sexo. Los niveles de plomo en los hombres exceden el limite sugerido en la literatura (30 µg/g) (6). Estos resultados podrían indicar que el hombre recibe mayores dosis de plomo del medio donde se desenvuelven, o en su defecto que las mujeres

tienen mayor capacidad para eliminar este elemento. Debido a los bajos valores de plomo encontrados en las mujeres, el promedio global no excede el limite sugerido en la literatura para el contenido de plomo en el cabello.

Se estudió el efecto de la condición de fumador sobre el nivel de cadmio y plomo en el cabello de los adultos muestreados en forma global y por sexo. La Tabla 2 muestra los datos encontrados. En ella se observan las concentraciones medias de cadmio para los hombres fumadores $(0.51 \pm 0.42 \ \mu g/g)$ y no fumadores $(0.55 \pm 0.36 \ \mu g/g)$, de las mujeres fumadoras $(0.57 \pm 0.40 \ \mu g/g)$ y no fumadoras $(0.42 \pm 0.34 \ \mu g/g)$. y la población global fumadora $(0.53 \pm 0.41 \ \mu g/g)$ y la no fumadora $(0.48 \ 0.53 \pm 0.41 \ \mu g/g)$

Tabla 2

Intervalos y promedios para la edad y concentraciones de Cadmio y plomo en el cabello de mujeres y hombres fumadores y no fumadores

	Mujeres Fumadoras n = 14	Mujeres No Fumadoras n = 35	Hombres Furnadores n = 17	Hombres No Fumadores n = 34	Global Fumadores n = 31	Global No Fumadores n = 69
Intervalo de edad (años)	26 - 54	15 - 82	19 - 72	16 - 70	19 - 72	15 - 82
Media de edad (años) x ± s	41± I1	30 ± 14	40 ± 15	34 ± 13	41 ± 14	32 ± 14
Intervalo de Cadmio (µg/g) Concentra-	0,15 - 1,25	0,10 - 1,55	0,11 - 1,63	0,04 - 1,36	0,11 - 1,63	0,04 - 1,55
ción media de cadmio. $(\mu g/g) \bar{x} \pm s$	0,57 ±0,40	0,42± 0,34	0.51 ± 0.42	0,55± 0,36	0,53± 0,41	0,48± 0,35
Intervalo de Plomo (µg/g)	7,0 - 59,2	2,4 - 50,9	2,4 - 87,2	1,9 - 95,8	2,4 - 87,2	1,9 - 95,8
Concentra- ción media de plomo. $(\mu g/g) \overline{x} \pm s$	21,4±17,4	17.9±11,7	39,1± 39, 8	31,4±23,2	33,9± 31,8	24,2 ± 18,3

x = media Aritmética

s = desviación estándar

 \pm 0,35 µg/g), comparando estos dos últimos valores pareciera que el hábito de fumar incrementara el nivel de cadmio en el cabello, pero la comparación estadística entre las concentraciones medias, para hombres, mujeres y población global no mostró diferencias significativas (p = 0,05) entre fumadores y no fumadores. A pesar de que una persona fumadora tiene mayor exposición a cadmio que otra persona no fumadora (1), los resultados encontrados podrían indicar que las personas muestreadas no son fumadoras crónicas.

En el caso del plomo, las variables fumadores y no fumadores estudiadas por sexo y para la población global, presentaron una tendencia al incremento de la concentración con el hábito de fumar, tal y como puede observarse en la Tabla 2. Sin embargo, el estudio estadístico (t de student), no mostró diferencias significativas (p= 0,05) entre los valores medios de plomo cuando se compararon los diferentes segmentos de fumadores y

no fumadores. Estos resultados permiten verificar que el hábito de fumar no es la causa de las diferencias encontradas en los niveles de plomo en los hombres y las mujeres (Tabla 1). El comportamiento en cuanto a los resultados de plomo y cadmio respecto a la condición de fumador y no fumador fue similar.

Para determinar la variación de las concentraciones de cadmio, encontradas en el cabello de hombres y mujeres en función de la edad, se graficó la concentración promedio de cadmio por edad versus la edad, los resultados se presentan en la Figura 1. En el caso de las mujeres se observa que el nivel de cadmio en el cabello presenta una ligera tendencia a aumentar con la edad, mientras que para los hombres se obtuvo una tendencia a la disminución del nivel del metal con el envejecimiento. La variación encontrada en los hombres de la población estudiada, fue similar a la reportada por Petering et al. (14),

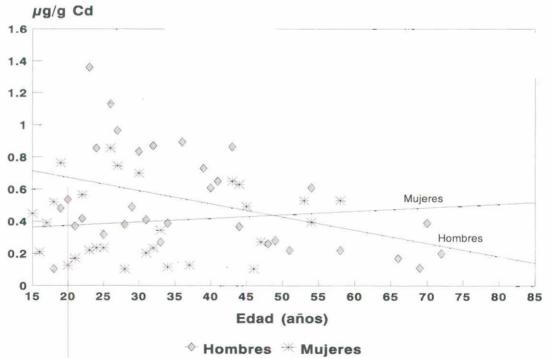


Figura 1. Variación de la concentración de Cd en función de la edad.

en un estudio realizado en Cincinnati, Estados Unidos. Sin embargo, no se encontró en la literatura información que explique las posibles causas del comportamiento en hombres y mujeres.

Similarmente se evaluó, para las mujeres y los hombres la variación de la concentración de plomo en el cabello con respecto a la edad, la Figura 2 muestra los resultados obtenidos, donde se observa que en ambos casos se presenta la tendencia a la disminución del nivel de plomo con el envejecimiento. Un resultado similar, para los hombres obtuvieron Burguera et al. en un estudio realizado sobre adultos residentes en la ciudad de Mérida (15), donde entre las razones citadas para explicar el comportamiento, se tiene la mayor vulnerabilidad de los tejidos jovenes y las variaciones de pH gastrointestinal en los jovenes, que permiten incrementar la absorción del plomo.

Cadmio y plomo en el cabello de la población expuesta ocupacionalmente al plomo

Los resultados del estudio realizado en los 35 trabajadores de las estaciones de servicio de gasolina (representando a la población expuesta ocupacionalmente al plomo), se presenta en la Tabla 3, donde se muestran los intervalos y promedios de edad y concentraciones de cadmio y plomo. La concentración promedio para plomo resultó ser 51,5 ± 11,9 μg/g, al comparar estadísticamente este valor con el de los hombres $(34.4 \pm 29.6 \,\mu\text{g/g})$ y el de la población global (26,5 \pm 24,1 μ g/g) no expuesto ocupacionalmente, se encontró diferencias significativas (p = 0,01) como era de esperarse. La razón de este alto nivel de plomo en el cabello de los trabajadores, se debe a la exposición ocupacional al tetraetilo de plomo, presente en la gasolina usada en nuestro país y al particulado de las emisiones, provenientes de los tubos de escapes de los automóvi-

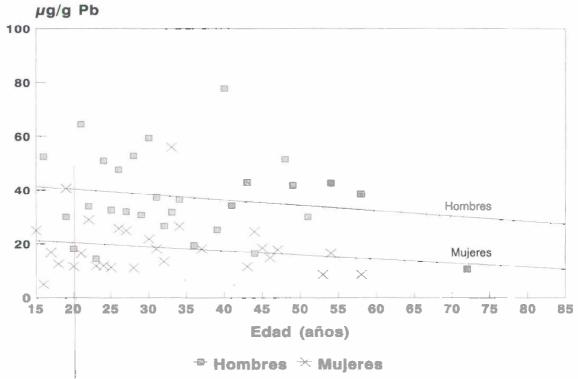


Figura 2. Variación de la concentración de Pb en función de la edad.

Tabla 3
Intervalos y promedios de edad y concentración de cadmio y plomo en las muestras de cabello de los expendedores de gasolina (n = 35)

Intervalo de edad (años)	23 - 48
Media de edad (años) $\bar{x} \pm s$	32 ± 8
Intervalo de Concentración	
de Cadmio (µg/g)	0,19 - 2,28
Concentración media para	
Cadmio $(\mu g/g) \bar{x} \pm s$	0.62 ± 0.46
Intervalo de Concentración de	
Plomo (µg/g)	34,6 - 73,2
Concentración media para	
plomo (µg/g)	$51,5 \pm 11,9$
$\overline{x} \pm s$	

Concentracion de Pb (µg/g)

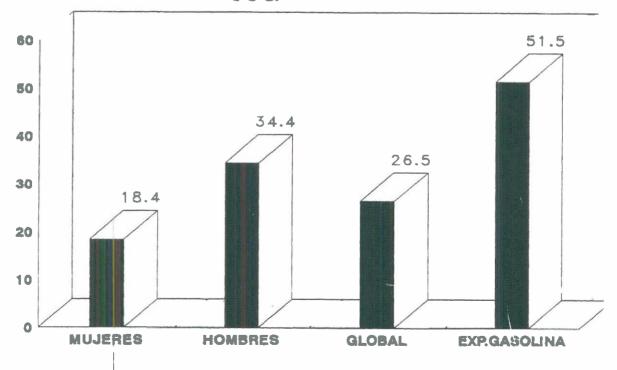


Figura 3. Concentraciones medias de Pb en Mujeres, Hombres, Global y Expendedores de gasolina.

les. La concentración de $51,5\pm11.9~\mu g/g$ de plomo es del mismo orden que el reportado por Burguera et al. $(48,7\pm17.5~\mu g/g;~n=53)$ en un estudio realizado en trabajadores de estaciones de servicio de gasolina de la ciudad de Mérida, y es menor al valor máximo (110 $\mu g/g$ de plomo) propuesto para trabajadores expuestos al plomo (15).

En relación al nivel medio de cadmio encontrado, tanto en los trabajadores expendedores de gasolina $(0.62\pm0.46~\mu g/g)$ como en los hombres $(0.54\pm0.38~\mu g/g)$ y población global $(0.49\pm0.37~\mu g/g)$ no expuesta ocupacionalmente al tetraetilo de plomo, se determinó estadísticamente que no existe diferencia significativa (p=0.01) entre sus valores, como era de esperarse, ya que el cadmio no es un elemento abundante en la gasolina.

Conclusiones

Las concentraciones encontradas de cadmio en todas las muestras analizadas, fueron menores que el nivel máximo sugerido en la literatura (2,40 µg/g). El sexo fue significativamente determinante en los niveles de plomo encontrados en las muestras de cabello estudiadas. Los hombres presentaron 34,4 \pm 29,6 µg/g y las mujeres 26,5 \pm 24,1 µg/g, siendo el nivel máximo sugerido en la literatura de 30 µg/g de plomo.

El contenido de cadmio y plomo encontrado en el cabello de los hombres muestreados, disminuyó en función de la edad. Para las mujeres la concentración de plomo disminuyó con la edad, mientras que los niveles de cadmio registraron un leve incremento.

La variable de fumador y no fumador no mostró diferencias significativas en los resultados obtenidos para cadmio y plomo en ambos sexos.

El nivel medio de plomo encontrado en el cabello de los expendedores de gasolina (51.5 \pm 11.9 μ g/g) reflejan la exposición ocupacional al metal, sin embargo el mismo es inferior al nivel máximo propuesto para exposiciones ocupacionales (110 μ g/g).

Agradecimiento

Al INPELUZ, CONDES y CONICIT por haber utilizado parte de sus equipos en el desarrollo de este trabajo.

Referencias Bibliográficas

- FRIBERG L., KJELLSTROM T., NORDBERG G., PISCATOR M. Handbook on the toxicology of metals. Elsiever/North Holland Biomedical Press, pp. 356-474, 1979.
- CASARETT, DOULLS. Toxicology-The Basic Science of Poisons. Mc Graw-Hill, pp. 634-646, 1991.
- O'NEILL P. Environmental Chemistry. George Allen and Unwin, pp. 193-208, 1985.
- NAKAGAWA H., NISHIJO M., MORIKAWA Y., TABATA M., SENARA M., KITAGAWA Y., KAWANO S., ISHIZAKI M., SUGITA N., NISHI M., KIDO T., NOGAWA K. Arch Environ Health 48: 428-435, 1993.
- 5. MOON J., DAVISON A., SMITH T., FADL S. Sci Total Environ 72: 87-112, 1988.
- MOKHTAR M., AWALUDDIN A., FONG C., WOOJDY W. Bull Environ Contam Toxicol 52: 149-154, 1994.
- 7. WIBOWO A., HERBER R., DAS H., ROELE-VELD N Y, ZIELHUIS R. *Environ Res* 40: 346-356, 1986.
- 8. AHMED A., ELMUBARAK A. Bull Environ Contam Toxicol 45: 139-148, 1990.
- FRERY N., GIRARD F. MOREAU T., BLOT P., SAHUQUILLO J., HAJEM S., ORSSAUD D., HUEL G. Bull Environ Contam Toxicol 50: 736-743, 1993.
- CHATTOPADHYAY C., JOSHI C., SAMAD-DARK K. Bull Environ Contam Toxicol 45: 177-180, 1990.
- 11. JAMALL I., ALLEN P. Bull Environ Contam Toxicol 44: 350-356, 1990.
- 12. PERKIN-ELMER CORPORATION. Analytical Methods for Atomic Absorption Spec-

- trophotometry. Norwalk (USA), pp. 3.3, 1982.
- 13. ROBARDS K., WORSFOLD P. *Analyst* 116: 549-567, 1991.
- 14. PETERING H., YEAGER D., WITHERUP S Arch Environ Health 27: 327-330, 1973.
- BURGUERA J. L., BURGUERA M., RONDON
 C., RIVAS C., BURGUERA J. A., ALARCON
 J Trace Elem Electrolytes Health Dis
 21-26, 1987.