

31. Roberto INTONTI e Dante RENZI. — La determinazione delle ceneri del pane.

Riassunto. — Si propone un nuovo metodo per determinare le ceneri del pane fondato sul dosaggio del cloruro di sodio e delle ceneri direttamente sul pane e sulla conoscenza dell'azione del residuo fosforico sul cloruro di sodio.

S'identificano alcune cause di errore del metodo cosiddetto ufficiale, che valgono a chiarire la reale portata del metodo ed a spiegare i risultati anomali.

Résumé. — On a étudié une nouvelle méthode pour doser les cendres dans le pain, méthode qui est suffisamment exacte et plus rapide que la méthode officielle.

Le procédé est essentiellement le suivant: 5 g de pain sec et broyé sont incinérés pendant six heures dans un moufle chauffé à 550-600° C; on pèse les cendres, on les reprend avec de l'eau acidifiée par l'acide nitrique, on ajoute un excès de solution N/10 de nitrate d'argent, on chauffe pendant quelques minutes jusqu'à ébullition, et après refroidissement, on titre l'excès de nitrate d'argent. On obtient ainsi la quantité de chlore restée dans les cendres.

A 2 g de pain sec et broyé on ajoute environ 100 cm³ d'eau, 5 cm³ d'acide nitrique concentré et un excès d'une solution titrée (N/10) de nitrate d'argent; on chauffe et tient le tout pendant quelques minutes à légère ébullition, et après refroidissement on titre l'excès de nitrate d'argent; on a ainsi la quantité de l'ion chlore, et par conséquent du chlorure de sodium, présente dans le pain. Par différence on obtient la quantité de chlore perdue pendant l'incinération, que l'on ajoute au poids des cendres; de cette somme on soustrait le chlorure de sodium présent dans le pain, et l'on obtient ainsi les cendres exemptes de chlorure de sodium.

Au pourcentage ainsi obtenu on apporte une correction fondée sur l'hypothèse que pour chaque 4 gramme-atomes de chlore perdus pendant l'incinération 1 gramme-atome d'oxygène soit fixé; il suffira alors de soustraire le produit obtenu multipliant pour 2,24 la quantité de chlore perdue pendant l'incinération des 5 g de pain.

Lorsqu'il est possible, il faudra soustraire l'apport de cendres dû au levain employé pour la panification.

On précise enfin quelques causes d'erreur dans la méthode officielle, dont on fixe la portée réelle, en expliquant les anomalies qui en découlent dans les résultats obtenus par cette méthode.

Summary. — A new method has been studied for determining the ash content in bread, which method is sufficiently exact and more rapid than the official one.

The procedure consists mainly of the following points: 5 g of dried and finely ground bread are incinerated for 6 hours in a muffle heated to 550-600° C; the ashes are weighed, and water acidified with nitric acid is added thereto, then also an excess of a N/10 solution of silver nitrate, the whole being heated to ebullition for few minutes; after cooling, the excess of silver nitrate is titrated. Thus, the quantity of chlorine remained in the ashes is determined.

To 2 g of dried and finely ground bread approximately 100 ml of concentrated nitric acid and an excess of a titrated solution of silver nitrate (N/10) are added; the whole is heated and kept gently boiling for some minutes, and after cooling the excess of silver nitrate is titrated. Thus, the quantity of chlorine ion, and therefore, of sodium chloride contained in the bread is obtained. By difference, the amount of chlorine lost during incineration is reckoned, which is added to the weight of the ashes; from the sum thus formed the sodium chloride present in the bread is subtracted, thus obtaining the amount of the ashes free from sodium chloride.

To the percent proportion calculated in this way a correction is made on the assumption that for each 4 gram-atoms of chlorine lost during the process of incineration, one gram-atom of oxygen is fixed; it will then suffice to subtract therefrom the product obtained by multiplying by 2,24 the amount of chlorine lost during the incineration of 5 g bread.

Whenever possible, it will be required to subtract that portion of ashes which may be due to the leaven used for the panification.

Finally, some causes of errors in the official method are pointed out, whose actual bearing and anomaly of results are explained.

Zusammenfassung. — Es ist eine neue Methode zur Bestimmung des Aschengehaltes im Brot studiert worden, die hinlänglich genau und rascher als die offizielle ist.

Das Verfahren ist wesentlich das folgende: 5 g des trockenen und gemahlenen Brotes werden 6 Stunden lang im Muffelofen bei 550°-60° geglüht; die Asche wird gewogen, mit Salpetersäure angesäuertem Wasser aufgenommen, und ein Ueberschuss von N/10 Silbernitratlösung hinzugefügt, einige Minuten auf Siedehitze erwärmt und nach dem Erkalten, der Ueberschuss an Silbernitrat titriert. Man erhält auf diese Weise die Chlormenge der Aschen.

Zu 2 g getrocknetem und gemahlenem Brot, werden ca. 100 cm³ Wasser, 5 cm³ konz. Salpetersäure und ein Ueberschuss titrierter (N/10)

Silbernitratlösung zugesetzt; man erhitzt einige Minuten lang bei leichtem Sieden und titriert nach dem Erkalten den Ueberschuss an Silbernitrat. Man erhält die Menge Chlor-Ion und somit die im Brot enthaltene Natriumchloridmenge. Die Differenz ergibt die während der Veraschung verlorene Chlormenge; diese wird zum Gewicht der Aschen hinzugefügt: von der Summe zieht man die Natriumchloridmenge des Brotes ab; man erhält somit die Natriumchlorid freien Aschen.

Der erhaltene Prozentsatz wird einer Korrektur unterzogen, in der Annahme, dass für 4 Atomgramme bei der Veraschung verloren gegangenes Chlor, 1 Atomgramm Sauerstoff fixiert wird. Es genügt somit das Produkt, welches man durch multiplizieren der während der Veraschung von 5 g Gramm Brot verlorenen Menge Chlor mit 2,24 erhält, abzuziehen.

Wenn möglich sollte man die Aschenmenge der zur Brotbereitung benützten Hefe abziehen.

Es werden auch einige Fehlerquellen der offiziellen Methode identifiziert, ihre Tragweite festgestellt und die unregelmässigen Ergebnisse erläutert.

Un metodo per il dosaggio delle ceneri del pane è considerato soddisfacente se dà percentuali di ceneri uguali, o molto vicine, a quelle della farina adoperata per la preparazione del pane. Ciò presuppone che il metodo adottato per la determinazione delle ceneri della farina sia esatto. Queste, come è noto, si determinano carbonizzando in capsula di platino o di porcellana del diametro di circa cm 7, tarata con pesafiltro, g 10 di farina essiccata ed incenerendo poi in muffola riscaldata a 550°-600° fino ad ottenere le cosiddette ceneri bianche, il che si raggiunge in genere, dopo 5-6 ore. Non si può senz'altro ammettere che durante la carbonizzazione ed il successivo incenerimento, non si abbiano perdite di componenti volatili o che, posto che queste si verificano debbano poi nella stessa misura riscontrarsi anche durante l'incenerimento del pane. Vi sarebbe anzi fondato motivo per ritenere che — analogamente a quanto già si è notato in altri alimenti — si abbia qualche perdita di costituenti volatili ⁽¹⁾; specialmente quelle in fosforo dovrebbero essere sensibili a giudicare da quanto si verifica sui semi di soia il cui contenuto in fosforo dosato sulle ceneri ottenute in crogiuolo di platino, si abbassa di circa il 15 % (da 0,043 a 0,037) ⁽²⁾.

Ci è sembrato utile pertanto determinare la percentuale in fosforo di alcuni campioni di farina, a diverso tasso di abbruttamento, sia sulle

(1) J. KÖNIG e W. SCHREIBER, *Biochem. Z.*, 184, 105 (1927).

(2) A. BAURLE, W. RIEDEL e K. TÄUFEL, *Z. Untersuch. Lebensm.*, 67, 274 (1934).

ceneri, sia distruggendo la sostanza organica con acido solforico e nitrico. Le ceneri sono state riprese con acqua ed acido nitrico, mentre il residuo solfonitrico è stato evaporato fino ad eliminare quasi tutto l'acido solforico in modo da ridurre al minimo la quantità di idrato sodico occorrente per la neutralizzazione e quindi di solfato sodico, — che a differenza del solfato ammonico — non disturba la precipitazione del fosforo eseguita secondo il classico procedimento di Woy. Con l'occasione si è sperimentato anche il metodo ponderale al molibdato di ammonio ⁽³⁾ usando il fattore di N. Von Lorenz 0,0144 per passare dal peso del precipitato a quello del fosforo, ottenendo risultati sufficientemente concordati con il metodo di Woy.

I valori ottenuti, riportati nella tabella 1, dimostrano però che in questo caso le perdite in fosforo dovute all'incenerimento sono trascurabili e non hanno, ai fini del lavoro, particolare significato. In un primo tempo la determinazione delle ceneri del pane si eseguiva incenerendo in muffola, riscaldata al calore rosso-scuro, g 10 di pane secco e macinato; nelle ceneri così ottenute si dosava l'ione cloro e si detraeva dalla percentuale di ceneri la corrispondente quantità di cloruro di sodio. A. Cutolo ⁽⁴⁾ del Laboratorio Chimico Municipale di Napoli, fece rilevare, fin dal 1914, che questo procedimento portava a percentuali di ceneri più elevate di quelle delle corrispondenti farine e precisamente riscontrò che campioni di pane preparati in Laboratorio con il 2 % di cloruro di sodio e con farine aventi le seguenti percentuali di ceneri:

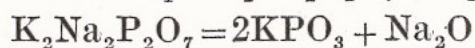
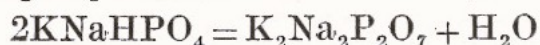
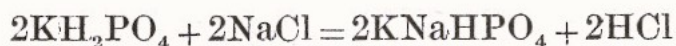
0,32; 0,48; 0,67; 1,61

diedero all'analisi rispettivamente:

0,53; 0,79; 0,96; 1,92.

Inoltre dimostrò, con una serie di accurate esperienze, che l'errore era da attribuirsi all'azione sul cloruro di sodio del residuo fosforico P_2O_5 , che liberava il cloro fissando invece il sodio corrispondente.

Più recentemente B. F. Lutter e G. Bot ⁽⁵⁾ hanno esposto lo stesso concetto ed hanno avanzato l'ipotesi che si verificassero reazioni di questo tipo:



A. Cutolo propose anche un metodo che consisteva essenzialmente nell'incenerire il pane in presenza di un alcali, a cui era riservato il

⁽³⁾ N. VON LORENZ, Landw. Versuchstat., 55, 183 (1901).

⁽⁴⁾ Boll. Soc. Naturalisti Napoli; Atti, 26, 69 (1914).

⁽⁵⁾ Cereal Chem., 24, 485 (1947).

compito di fissare il cloro e che qui descriviamo in succinto poichè la memoria originale non è facilmente consultabile. In una capsula tarata *A* si pesano g 10 di pane secco e macinato, s'inceneriscono in muffola al calore rosso-scuro e si pesano le ceneri. In una capsula *B* si pesano g 10 dello stesso pane, si aggiungono cm³ 4-5 di soluzione alcoolica di potassa al 5 %; si dissecca la miscela a b. m., ed infine si incenerisce in muffola senza pesare il residuo.

Si ripigliano le ceneri delle due capsule con acqua acidulata con acido nitrico in modo da ottenere soluzioni acide e si determina il cloro con il metodo di Vohlard. Per differenza si ha il cloro perduto durante l'incenerimento della capsula *A* che si aggiunge al peso delle ceneri della capsula *A*; si ha così il valore delle ceneri totali dalle quali si detrae tutto il cloruro di sodio ottenuto nella determinazione fatta nella capsula *B*.

Egli ottenne così le seguenti percentuali:

0,328; 0,509; 0,648; 1,605

mentre quelle delle corrispondenti farine erano rispettivamente:

0,32; 0,48; 0,67; 1,61.

Questo metodo, nonostante i suoi pregi, non è tuttavia diffuso, probabilmente non tanto per la sua laboriosità, ma perchè è difficile incenerire in presenza di un alcali; neanche a noi è difatti riuscito, anche dopo molte ore di riscaldamento in muffola al calore rosso-scuro, di eliminare il residuo carbonioso ed abbiamo dovuto eseguire ripetute lisciviazioni con acqua acidulata per cercare di asportare tutto il cloruro di sodio.

Assodato che i risultati errati dovevano attribuirsi alla presenza del cloruro di sodio, furono studiati diversi procedimenti per cercare di eliminarlo prima di procedere all'incenerimento del pane, ma solo il metodo fondato sulla separazione della parte solubile del pane — che è quella che contiene il cloruro di sodio — ha trovato pratica applicazione. E' ritenuto il più esatto ed è applicato abitualmente — tanto che è conosciuto sotto la dizione di metodo ufficiale — nonostante sia lungo e porti talvolta a risultati inspiegabilmente errati. Ci è sembrato utile studiarlo da vicino per cercare di individuare le cause di errori e trarre poi eventualmente profitto di tali conoscenze per studiare un nuovo procedimento che avesse possibilmente i requisiti richiesti ad ogni metodo analitico e cioè sufficiente precisione, rapidità e facilità di esecuzione.

PARTE SPERIMENTALE

Per quanto il metodo ufficiale sia molto noto, riteniamo utile riportarlo per soffermarci sui dettagli.

Grammi 5 si pongono in un becher con circa cm^3 50 di acqua distillata, si agita con una bacchetta di vetro e si lascia riposare una notte (sono sufficienti anche due ore). Si decanta su filtro senza ceneri, si lava 3-4 volte per decantazione, si fa cadere la massa sul filtro e si lava fino a scomparsa della reazione dell'ione cloro. In genere basta raccogliere cm^3 200 di liquido. Il filtrato e le acque di lavaggio si evaporano a b. m. in capsula di platino; il residuo si carbonizza rapidamente su fiamma ordinaria e s'incenerisce poi in muffola già riscaldata a 550° per il tempo strettamente necessario (20-25 minuti). Le ceneri così ottenute si pesano e vi si dosa il cloro col metodo di Vohlard; detraendo la corrispondente quantità di cloruro di sodio dal peso delle ceneri, si ha il valore delle ceneri solubili del pane. Il residuo invece raccolto sul filtro si secca in stufa, s'incenerisce in muffola (almeno 5-6 ore a 550° - 600°) e si pesa. Il peso trovato si aggiunge a quello delle ceneri solubili, ottenendosi così il valore delle ceneri totali del pane.

In genere è tollerata nelle ceneri del pane una maggiorazione di 0,05 sulle ceneri della farina con cui il pane è preparato.

Lo abbiamo applicato a diversi tipi di pane preparati in Laboratorio adoperando farine a ceneri note, quantità conosciute di cloruro di sodio, acqua distillata e g 20 di lievito (avente il 2,01 % di ceneri) per 1 kg. di farina.

TABELLA I.

LE PERCENTUALI SI RIFERISCONO A 100 PARTI DI PRODOTTO SECCO

Prove	P r o d o t t i	% P_2O_5 (con $\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{HNO}_3$)	% P_2O_5 (Ceneri-6 ore in muffola)
1	Farina: ceneri 0,63 % . . .	0,26	0,26
2	» 0,85 % . . .	0,45	0,44
3	» 1,03 % . . .	0,53	0,528
4	Pane: ceneri 0,85 %, NaCl 2,15 % .	0,44	0,45
5	Pane: ceneri 0,85 %, NaCl 0,00 % .	0,45	0,39
	Pane: ceneri 0,85 %, NaCl 2,15 %		
6	a) parte solubile . . .	0,23	0,24
7	b) parte insolubile . . .	0,15	0,06
	Pane: ceneri 0,63 %, NaCl 2,40 %		
8	b) parte insolubile . . .	0,14	0,06
	Pane: ceneri 1,03 %, NaCl 2,25 %		
9	b) Parte insolubile . . .	0,25	0,04
10	Lievito . . .	0,97	

Per quanto concerne la porzione solubile si è rilevato che:

a) se ci si limita a riprendere le ceneri con acqua ed acido nitrico e nella soluzione così ottenuta si determina direttamente l'ione cloro, si rischia di non dosarlo tutto specialmente se non si ha cura di riscaldare. Occorre invece aggiungere alla soluzione un eccesso di soluzione titolata (N/10) di nitrato di argento, riscaldare per qualche minuto fino

ad incipiente ebollizione, raffreddare e poi titolare l'eccesso di nitrato di argento. Così operando si è ritrovata la stessa quantità di cloruro di sodio sia dopo 10 minuti che dopo 35 minuti di sosta in muffola della porzione solubile. Evidentemente una parte del cloro rimasta nelle ceneri non è allo stato ionico, ma bensì legato a complessi, che si decompongono col prolungarsi del riscaldamento in muffola od a caldo in presenza di un eccesso di nitrato di argento (tabella II).

b) la percentuale di cloruro di sodio riscontrata nelle ceneri solubili, anche seguendo il procedimento indicato precedentemente, è inferiore, sia pure di poco, a quella presente nel pane. Si ha quindi una perdita di cloro che evidentemente deve verificarsi all'inizio dell'incenerimento se già si nota dopo dieci minuti, mentre la corrispondente quantità di sodio resta nelle ceneri, fissata dal residuo fosforico:

c) le percentuali di fosforo ritrovate nelle ceneri della porzione solubile o distruggendola con miscela solfonitrica, sono risultate identiche (tabella I, prova 6). Non si hanno dunque — come del resto era da attendersi — perdite di fosforo durante l'incenerimento della porzione solubile.

Per quanto riguarda invece la porzione insolubile, si è constatato che la percentuale di P_2O_5 determinata sulle ceneri è notevolmente inferiore a quella ottenuta distruggendola con miscela solfonitrica (tabella I, prove 7-8-9).

TABELLA II.

LE PERCENTUALI SI RIFERISCONO A 100 PARTI DI PANE SECCO

P a n e		NaCl nelle ceneri solubili tenute per 10 minuti a 550° T i t o l a z i o n e		NaCl nelle ceneri solubili tenute per 25 minuti a 550° T i t o l a z i o n e		NaCl nelle ceneri solubili tenute per 35 minuti a 550° T i t o l a z i o n e	
Ceneri della farina %	NaCl aggiunto ‰	Freddo %	Caldo %	Freddo %	Caldo %	Freddo %	Caldo %
1,03	2,25	1,96	2,10	2,03	2,10	2,05	2,10
0,68	2,25			2,18	2,21		
0,85	2,15			1,98	2,08		
1,53	2,44			2,23	2,27		

In conclusione sono state rilevate le seguenti cause di errore: quelle in a) ed in b) che portano a valori più elevati e quella sulla porzione insolubile che al contrario, porta a valori più bassi. Tuttavia per un fortuito compenso di errori, il metodo dà in generale risultati soddisfacenti; allorchè però tale compenso viene meno, si hanno allora quei inattesi risultati errati di cui si è detto in principio. Per migliorarlo non basta considerare una sola causa di errore, chè anzi si corre il rischio di peggiorarlo, ma occorre valutarle tutte. Evidentemente questo non è praticamente attuabile giacchè si complicherebbe un metodo che è già abbastanza laborioso.

Nuovo metodo. — Il metodo che proponiamo tiene conto delle constatazioni fatte da A. Cutolo circa l'azione del residuo fosforico sul cloruro di sodio e della necessità da noi rilevata di eseguire il dosaggio dell'ione cloro nelle ceneri, a caldo in presenza di un eccesso di nitrato d'argento. Per conoscere però la quantità di ione cloro presente inizialmente nel pane invece di seguire l'artificio suggerito da A. Cutolo di incenerire in presenza di un alcali, proponiamo di applicare al pane un procedimento già sperimentato con successo su altri alimenti — ad es. tonno sott'olio — e che qui riesce particolarmente efficace per la facilità con cui tutto il cloruro di sodio del pane passa in soluzione.

In una beuta della capacità di circa cm^3 400, si portano g 2-3 di pane secco e finemente macinato, si aggiungono non meno di cm^3 100 di acqua, cm^3 5 di acido nitrico concentrato ed un eccesso di soluzione N/10 di nitrato di argento; si riscalda lentamente e si mantiene a leggera ebollizione per non più di una diecina di minuti, agitando di frequente; dopo raffreddamento si diluisce se occorre per attenuare il colore giallo e si titola l'eccesso di nitrato di argento con solfocianato. Bisogna però aver cura di non prolungare il riscaldamento oltre il necessario e di evitare una vivace ebollizione per impedire che la soluzione si colori in giallo intenso il che rende disagiata la titolazione. A parte si pesano in una capsula di platino o di porcellana tarata in pesafiltro, g 5 di pane secco e macinato, si carbonizzano a piccola fiamma e si lasciano poi in muffola riscaldata a $550-600^\circ$ per 6 ore. Si pesa di nuovo la capsula, si riprendono le ceneri con acqua acidificata con acido nitrico, si porta la soluzione in una beuta della capacità di circa cm^3 300, si aggiunge un eccesso di soluzione N/10 di nitrato di argento, si riscalda qualche minuto agitando e, dopo raffreddamento, si rititola con solfocianato. Per differenza si ha il cloro perduto durante l'incenerimento, che si aggiunge al peso delle ceneri; da questa somma si detrae il cloruro di sodio ottenuto nella determinazione eseguita direttamente sul pane; si ha così il valore delle ceneri del pane esenti da cloruro di sodio.

TABELLA III.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Prove	Ceneri della farina	NaCl nel pane	Cl in g 5 di pane	Cl. rimasto nelle ceneri di 5 g di pane	Cl. perduto nello incenerimento di g 5 di pane	Ceneri del pane	Ceneri del pane corrette per il lievito	Correzioni per lo ossigeno	Ceneri corrette
	%	%	mg	mg	mg	%	%	mg	%
1		2,25	68,21	54,63	13,58	0,72	0,68	30,4	0,65
2	0,63	1,21	36,60	18,86	17,74	0,95	0,91	39,7	0,87
3	0,85	2,15	65,40	44,63	20,77	0,93	0,89	46,0	0,85
4	1,03	2,40	72,65	51,29	21,36	1,14	1,10	47,8	1,05
5	1,53	2,44	73,95	45,80	28,15	1,60	1,56	63,0	1,50

Nella tabella III (colonna 7) sono riportati i risultati ottenuti applicando questo metodo a diversi tipi di pane preparati in laboratorio. Le differenze tra le percentuali delle farine e quelle del pane corrispondente, si attenuano ove si consideri che da queste ultime bisogna detrarre l'apporto dovuto alle ceneri del lievito, che — essendosi adoperato lievito al 2,01% di ceneri e nella misura di g 20 per chilo di farina — rappresenta il 0,04% del valore delle ceneri. I valori così corretti sono riportati nella colonna 8 della stessa tabella.

Si migliora il metodo apportandovi una correzione fondata sulla ipotesi che le reazioni tra il residuo fosforico P_2O_5 ed il cloruro di sodio siano tali che, in definitiva, per ogni 4 grammo-atomi di cloro che si volatilizzano, si fissino alle ceneri non solo 4 grammo-atomi di sodio, ma anche un grammo-atomo di ossigeno. Per tener conto dell'ossigeno entrato in combinazione basterà, a conti fatti, sottrarre dalla percentuale di ceneri, il prodotto ottenuto moltiplicando per il fattore 2,24 la quantità di cloro perduta nello incenerimento di g 5 di pane.

Nella colonna 9 della tabella III sono riportate le correzioni per le singole prove e nella 10 le percentuali di ceneri corrette.

Questi risultati definitivi possono considerarsi soddisfacenti.

Il metodo proposto è anche scevro da errori per quanto riguarda le perdite di fosforo; infatti le determinazioni eseguite sul pane sia distruggendolo con la miscela solfonitrica, sia sulle ceneri ottenute lasciando il pane per sei ore in muffola riscaldata a 550-600°, dimostrano che allorchè il pane contiene cloruro di sodio non si hanno perdite di fosforo durante l'incenerimento (tabella I, prove 4-5).

La tabella II ci dice inoltre che le perdite di cloro durante l'incenerimento del pane aumentano come era nelle previsioni — con il tasso di abbruttamento della farina e sono indipendenti, per i tipi considerati — dalla quantità di cloruro di sodio.

ESEMPIO

1) Cloruro di sodio in g 5 di pane secco	g 0,1078
2) Cloro in g 5 di pane secco	» 0,0654
3) Peso delle ceneri di g 5 di pane secco	» 0,1334
4) Cloro nelle ceneri	» 0,0447
5) Cloro perduto (0,0654—0,0447)	» 0,0207
6) Ceneri + cloro perduto (0,1334 + 0,0207)	» 0,1514

- 7) Ceneri + cloro (perduto—cloruro di sodio (0,1541—0,1078) » 0,0463
- 8) Idem, ma riferito a g 100 di pane secco » 0,9260
- 9) Correzione per le ceneri del lievito (0,0260—0,040) . . » 0,8860
(in questo caso si sottrae 0,040)
- 10) Correzione per l'ossigeno (0,8860—0,046) » 0,84
(si sottrae il prodotto: 0,2077 per 2,24)

Roma. — Istituto Superiore di Sanità. Laboratorio di Chimica. 15 maggio 1949.

