

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**  
**ESCUELA DE QUÍMICA**



**DETERMINACIÓN DE FLUORUROS**  
**POR POTENCIOMETRÍA DIRECTA EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**VELIA RUTH SOSA GÓMEZ**

PARA OPTAR AL GRADO DE:  
**LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, ABRIL DE 2004

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**  
**ESCUELA DE QUÍMICA**



**DETERMINACIÓN DE FLUORUROS**  
**POR POTENCIOMETRÍA DIRECTA EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:  
**VELIA RUTH SOSA GÓMEZ**

ASESORES:  
**DR. NÉSTOR GUILLERMO ORELLANA VELADO**  
**DR. FRANCESCO FAGIOLI**

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, ABRIL DE 2004

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA  
ESCUELA DE QUÍMICA**

**DETERMINACIÓN DE FLUORUROS  
POR POTENCIOMETRÍA DIRECTA EN AGUAS DE CONSUMO HUMANO**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:  
VELIA RUTH SOSA GÓMEZ**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:  
LICENCIADA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**ASESORES:**

**DR. NÉSTOR GUILLERMO ORELLANA VELADO**

**DR. FRANCESCO FAGIOLI**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, ABRIL DE 2004**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

RECTORA

**Dra. MARÍA ISABEL RODRÍGUEZ**

SECRETARIA GENERAL

**Licda. LIDIA MARGARITA MUÑOZ VELA**

FISCAL

**Lic. PEDRO ROSALÍO ESCOBAR**

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

DECANO

**MSc. FRANCISCO ANTONIO CHICAS BATRES**

DIRECTORA DE LA ESCUELA DE QUÍMICA

**MSc. ROSARIO AMANDA RIVAS DE ZEPEDA**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
POR SU VALIOSA COLABORACIÓN EN LA COMPLEMENTACIÓN DE ESTE  
TRABAJO**

Particularmente por su colaboración:

**DR. GUILLERMO ALFONSO AGUIRRE ESCOBAR**

**DR. MIGUEL ÁNGEL VALDEZ GUILLÉN**

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios por estar siempre conmigo*

*A mis asesores*

*Por su oportuna ayuda, experiencia y total disposición en el desarrollo y culminación de  
este trabajo*

*A mis padres y hermano*

*Por brindarme su apoyo incondicional para seguir siempre adelante*

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>I</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>V</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>VII</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>VIII</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>X</b>
<b>1. FUNDAMENTO TEÓRICO</b>	<b>1</b>
1.1. HISTORIA DE LA RELACIÓN FLUORURO-CARIES	1
1.2. METABOLISMO DE FLUORUROS	2
1.3. FLUORACIÓN DEL AGUA POTABLE	4
1.4. INTOXICACIÓN POR FLUORURO	5
1.5. FLUOROSIS	6
1.6. MÉTODOS PARA DETERMINAR FLUORURO EN AGUA DE CONSUMO HUMANO	9
1.6.1. <i>PRINCIPIOS GENERALES DE POTENCIOMETRÍA</i>	10
1.6.2. <i>AJUSTADOR DE FUERZA IÓNICA</i>	11
1.6.3. <i>MÉTODO DEL ELECTRODO SELECTIVO DE IONES FLUORURO</i>	14
1.6.4. <i>TÉCNICA DE GRAN</i>	16
1.6.5. <i>INTERFERENCIAS DEL MÉTODO</i>	16
1.7. VALIDACIÓN DEL MÉTODO	17
1.7.1. <i>LINEALIDAD</i>	18
1.7.2. <i>PRECISIÓN</i>	20
1.7.3. <i>REPETIBILIDAD</i>	20
1.7.4. <i>REPRODUCIBILIDAD</i>	21

1.7.5.	<i>LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN</i>	21
1.7.6.	<i>EXACTITUD</i>	26
<b>2.</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL</b>	<b>28</b>
2.1.	METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS	28
2.1.1.	<i>DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE FLUORURO</i>	29
2.1.2.	<i>DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE ERIOCROMO CIANINA R</i>	29
2.1.3.	<i>DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE 1,10-FENANTROLINA</i>	31
2.1.4.	<i>EQUIPO UTILIZADO</i>	31
2.1.5.	<i>REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FLUORURO</i>	32
2.1.6.	<i>REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ALUMINIO</i>	33
2.1.7.	<i>REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HIERRO</i>	34
2.2.	CUANTIFICACIÓN DE FLUORURO EN LAS MUESTRAS DE AGUA	35
2.3.	DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANALÍTICAS DEL MÉTODO	35
2.3.1.	<i>LINEALIDAD DEL MÉTODO</i>	35
2.3.2.	<i>REPETIBILIDAD DEL MÉTODO</i>	36
2.3.3.	<i>REPRODUCIBILIDAD</i>	37
2.3.4.	<i>LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN</i>	37
2.3.5.	<i>EXACTITUD DEL MÉTODO</i>	38
2.4.	DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANALÍTICAS APLICANDO LA TÉCNICA DE GRAN	39
2.4.1	<i>LINEALIDAD</i>	39
2.4.2	<i>LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN</i>	40
2.4.3	<i>EXACTITUD</i>	40
<b>3.</b>	<b>DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	<b>41</b>
3.1.	LINEALIDAD DEL MÉTODO	41

3.2.	REPETIBILIDAD DEL MÉTODO	43
3.3.	REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO	47
3.4.	LÍMITE DE DETECCIÓN	50
3.5.	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	54
3.6.	EXACTITUD DEL MÉTODO	56
3.7.	PARÁMETROS DE VALIDACIÓN APLICANDO LA TÉCNICA DE GRAN	59
3.7.1.	<i>LINEALIDAD</i>	59
3.7.2.	<i>LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN</i>	61
3.7.3.	<i>EXACTITUD</i>	63
3.8.	CUANTIFICACIÓN DE FLUORURO EN LAS MUESTRAS DE AGUA	65
3.9.	CLASIFICACIÓN DEL TIPO DE FLUOROSIS DENTAL DIAGNOSTICADA	87
	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>91</b>
	CONCLUSIONES	91
	RECOMENDACIONES	94
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>95</b>

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1.1. Fluorosis dental-Clasificación de Dean	7
Tabla 1.2. Concentraciones de sustancias interferentes	17
Tabla 3. 1. Resultados de la curva de calibración típica (1).	42
Tabla 3. 2. Resultados de las curvas de calibración típica (2) y (3).	44
Tabla 3. 3. Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración (1), (2) y (3).	47
Tabla 3. 4. Resultados de las curvas de calibración de los analistas 1 y 2 en el día 1.	48
Tabla 3. 5. Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración elaboradas por los analistas (1) y (2).	50
Tabla 3. 6. Resultados de la curva de calibración típica (1) para la determinación del LD y límite de linealidad.	52
Tabla 3. 7. Resultados obtenidos en la determinación del LD.	53
Tabla 3. 8. Resultados de la curva de calibración típica (1) para la determinación del límite de linealidad aplicando la prueba t-Student.	55
Tabla 3. 9. Resultados de la determinación del límite de linealidad aplicando la prueba t-Student.	56
Tabla 3. 10. Resultados del ensayo (1) del % de recobro utilizando la curva de calibración típica.	57
Tabla 3. 11. Resultados del ensayo (2) del % de recobro utilizando la curva de calibración típica.	58
Tabla 3. 12. Resultados de las curvas de calibración (1), (2) y (3) aplicando la técnica de Gran.	60

Tabla 3. 13. Curva de calibración (1) para la determinación del LD y el LC aplicando la técnica de Gran.	62
Tabla 3. 14. Resultados de la determinación de LC y LD con la técnica de Gran	63
Tabla 3. 15. Resultados del % de recobro Aplicando la técnica de Gran.	64
Tabla 3. 16. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Ozatlán	68
Tabla 3. 17. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Ozatlán	69
Tabla 3. 18. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Concepción Batres	70
Tabla 3. 19. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Concepción Batres	70
Tabla 3. 20. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Ereguayquín	71
Tabla 3. 21. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Ereguayquín	71
Tabla 3. 22. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de San Buenaventura	72
Tabla 3. 23. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de San Buenaventura	73
Tabla 3. 24. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Nueva Granada	74
Tabla 3. 25. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Nueva granada	74
Tabla 3. 26. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de El Triunfo	75

Tabla 3. 27. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de El Triunfo	75
Tabla 3. 28. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Santiago de María	76
Tabla 3. 29. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Santiago de María	77
Tabla 3. 30. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de California	78
Tabla 3. 31. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de California	78
Tabla 3. 32. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de San Francisco Javier	79
Tabla 3. 33. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de San Francisco Javier	79
Tabla 3. 34. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de San Agustín	80
Tabla 3. 35. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de San Agustín	80
Tabla 3. 36. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Usulután	81
Tabla 3. 37. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Usulután	82
Tabla 3. 38. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Usulután	83
Tabla 3. 39. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Usulután	84

Tabla 3. 40. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Tecapán	85
Tabla 3. 41. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Tecapán	86

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. 1 Vías metabólicas de fluoruros	3
Figura 1. 2. Clasificación Normal	8
Figura 1. 3. Clasificación de fluorosis. Cuestionable	8
Figura 1. 4. Clasificación de fluorosis. Muy Leve	8
Figura 1. 5. Clasificación de fluorosis. Muy Leve	8
Figura 1. 6. Clasificación de fluorosis. Leve	8
Figura 1. 7. Clasificación de fluorosis. Leve	8
Figura 1. 8. Clasificación de fluorosis. Moderada	9
Figura 1. 9. Clasificación de fluorosis. Severa o Intensa	9
Figura 1. 10. Curvas de comparación entre el logaritmo de la actividad y el logaritmo de la concentración.	12
Figura 1. 11. Gráfica de calibración para un electrodo selectivo de iones típico	22
Figura 1. 12. Determinación del LD utilizando la curva de calibración típica.	23
Figura 3. 1. Curva de calibración típica (1).	43
Figura 3. 2. Curva de calibración típica (2).	45
Figura 3. 3. Curva de calibración típica (3).	45
Figura 3. 4. Curva de calibración típica 1 elaborada por el analista (2) día (1).	49
Figura 3. 5. Gráfica de la determinación del LD y límite de linealidad utilizando la curva de calibración típica.	53
Figura 3. 6. Curva de calibración (1) aplicando la técnica de Gran.	61
Figura 3. 7. Clasificación Severa.	87

Figura 3. 8. Clasificación Severa.	88
Figura 3. 9. Clasificación Severa.	88
Figura 3. 10. Clasificación severa para dientes superiores y clasificación moderada para los dientes inferiores.	89
Figura 3. 11. Clasificación Leve.	89
Figura 3. 12. Clasificación Muy Leve.	90

## RESUMEN

El fluoruro se puede encontrar de forma natural en algunas fuentes de agua de consumo humano. Las concentraciones bajas de fluoruro entre 0.5 y 1.0 mg/L en el agua previenen las caries dentales, sin embargo, se ha comprobado que concentraciones altas pueden causar efectos deletéreos a la salud, entre estos el más conocido es el desarrollo de fluorosis. La fluorosis puede ser de dos tipos: dental o esquelética.

El presente trabajo tiene como función principal determinar la concentración de fluoruro en agua de consumo humano en el departamento de Usulután, utilizando para ello el método de potenciometría directa con electrodo selectivo de iones fluoruro y de acuerdo a los resultados establecer si existe riesgo de desarrollar fluorosis dental.

Para asegurar que el método utilizado para la determinación de fluoruro, brinda resultados confiables, se determinaron sus propiedades analíticas; comprobando mediante los parámetros de validación establecidos, que el método cumple con estos en las condiciones de trabajo empleadas.

La determinación de fluoruro en agua de consumo humano se realizó en doce municipios del departamento de Usulután, donde estudios anteriores no realizaron muestreos exhaustivos para la determinación del ion. Los resultados se correlacionaron con la salud dental de los residentes de las zonas, que presentaron concentraciones de fluoruro superiores al valor máximo permisible por la Norma Salvadoreña Obligatoria para la Calidad del Agua Potable <sup>(15)</sup>.

La concentración más alta de fluoruro se localizó en la Hacienda San Mauricio del cantón El Paso del Gualache jurisdicción del municipio de Tecapán, siendo esta de 3.46 mg/L; diagnosticándose diferentes tipos de fluorosis dental desde muy leve a severa de acuerdo a la clasificación de Dean <sup>(2)</sup>.

## INTRODUCCIÓN

Por años se ha considerado que el fluoruro previene las caries dentales, es por ello que se le encuentra presente en muchos productos de higiene bucal y como aditivo en algunos alimentos. Por otro lado, algunos países han decidido implementar la fluoración del agua potable o de la sal de mesa como medida de prevención de enfermedades dentales.

Sin embargo, su utilización ha sido cuestionada por investigaciones que han demostrado que prolongadas exposiciones a dosis superiores a las establecidas por los estándares internacionales de la calidad del agua potable, pueden tener efecto deletéreo sobre los huesos y esmalte dentario, enfermedad conocida como fluorosis.

La fluorosis puede ser de dos tipos: fluorosis dental y fluorosis esquelética, ambas irreversibles; sin embargo, la fluorosis dental es considerada muchas veces como un problema meramente estético, no así la fluorosis esquelética. Además, el exceso de fluoruro puede causar otros problemas de salud, como: cáncer de huesos; mal funcionamiento de la tiroides; se cree que puede aumentar el riesgo de defectos de nacimiento; muertes perinatales y otras enfermedades en investigación <sup>(6)</sup>.

En la investigación titulada *Estudio de concentraciones de fluor en fuentes de agua de consumo humano en El Salvador* <sup>(1)</sup>, desarrollada por el Ministerio de Salud Pública y la Asociación Nacional de Acueductos y Alcantarillados en el año 2002, se identificaron zonas con concentraciones naturales de fluoruro superiores a 1.5 mg/L, valor máximo establecido por la norma salvadoreña para la calidad del agua potable <sup>(15)</sup> y por normas internacionales <sup>(14)</sup>. En este estudio, se realizaron muestreos puntuales en muchos municipios del país; sin embargo estos muestreos no se realizaron en forma exhaustiva en aquellos departamentos catalogados con alto contenido de fluoruro.

En el presente trabajo, se determinó el contenido de fluoruro en agua de consumo humano, para lo cual se realizaron muestreos exhaustivos en zonas del departamento de Usulután que no fueron consideradas por el estudio del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social <sup>(1)</sup>, utilizando para la determinación de fluoruro el método 9214 de la

American Standards for Testing and Materials <sup>(21)</sup> (ASTM): “Determinación potenciométrica de fluoruro en muestras acuosas con electrodo selectivo de iones” (Potentiometric determination of fluoride in aqueous samples with ion selective electrode).

La investigación propuesta comprendió varias etapas de desarrollo en la parte experimental, como la validación del método 9214 de la ASTM; elección de zonas a muestrear, planificación de muestreos; toma de muestras; análisis de las muestras y correlación de los resultados con la evaluación dental de los habitantes de zonas, que presentaron fuentes de agua de consumo humano con concentraciones de fluoruro superiores al valor máximo permitido por la norma salvadoreña de la calidad del agua potable, para lo cual se contó con la colaboración de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador.

## OBJETIVOS

### Objetivo General

Determinar el contenido de fluoruro en aguas de consumo humano en el departamento de Usulután y de acuerdo a los resultados, establecer si las fuentes de agua examinadas son un riesgo a la salud dental de los habitantes del lugar.

### Objetivos Específicos

- 1) Validar el método 9214 de la ASTM: “Determinación potenciométrica de fluoruro en muestras acuosas con electrodo selectivo de iones <sup>(21)</sup>.”
- 2) Realizar muestreos exhaustivos de fuentes de agua de consumo humano en municipios del departamento de Usulután.
- 3) Aplicar la metodología validada en la determinación de la concentración de fluoruro a las muestras de aguas recolectadas, provenientes de las zonas seleccionadas.
- 4) Determinar a través de los resultados del análisis de las muestras, si las zonas seleccionadas de los municipios presentan valores de concentración de fluoruro iguales o superiores al valor máximo permisible por la Norma Salvadoreña Obligatoria Para La Calidad Del Agua Potable.
- 5) Realizar evaluaciones dentales a algunos habitantes de aquellas zonas estudiadas en donde la concentración de fluoruro, sea igual o mayor a 1.5 mg/L, lo cual se llevará a cabo por profesionales del área de Odontología de la Universidad de El Salvador.

- 6) Establecer mediante la correlación de la concentración de fluoruro y la evaluación dental si los habitantes han desarrollado fluorosis dental.
  
- 7) Indicar los diferentes tipos de fluorosis dental diagnosticados por los profesionales en Odontología.

## **1. FUNDAMENTO TEÓRICO**

El fluoruro ha sido utilizado como un agente preventivo de las caries dentales, encontrándose presente en productos de higiene bucal, en algunas fuentes de agua y por implementación legal de la fluoración del agua potable con sales solubles de fluoruros <sup>(2)</sup>.

Sin embargo hay evidencias científicas de la relación existente entre fluorosis y concentraciones altas de fluoruro en agua de consumo humano. Existen diferencias de opinión científica en relación al tema; algunos científicos aseguran que concentraciones de fluoruro en el agua de consumo humano, comprendidas dentro de las normas internacionales de la calidad del agua potable <sup>(14)</sup>; ayudan a la prevención de las caries dentales; sin embargo, otros investigadores opinan que además de generar un problema estético dental, la presencia de fluoruro en el agua de consumo humano, puede ser un factor de riesgo en el desarrollo otro tipo de enfermedades <sup>(4, 6, 7, 8)</sup>.

### **1.1. HISTORIA DE LA RELACIÓN FLUORURO-CARIES**

Desde 1901 J.M. Eagar publicó en Washington sus hallazgos sobre las condiciones dentales que caracterizaban a los inmigrantes italianos, cuya infancia había transcurrido en Nápoles quienes presentaban dientes con su esmalte alterado y manchas café parduscas; sugiriendo que la causa de ello podría ser la presencia de algún agente en el agua potable<sup>(2)</sup>.

Luego en 1906 Frederick S. McKay, con la colaboración de G. V. Black, informaron un hallazgo similar en 26 comunidades de Colorado Springs, catalogándolos de imperfección endémica del esmalte dentario de causa desconocida y le llamaron esmalte moteado.

Basándose en la conjetura de Eager del origen de la alteración dentaria lograron cambiar los suministros de agua de las comunidades más afectadas, observando varios años después que los niños dejaron de presentar las anomalías dentarias antes observadas <sup>(2, 3)</sup>. Posteriormente en 1931 H. B. Churchill, analizó el agua de las comunidades donde se presentaban mayores cantidades de esmaltes moteados, informando un alto contenido de fluoruro en el agua (13 mg/L) <sup>(2)</sup>.

Experimentos posteriores en ratas blancas, perros y ovejas establecieron que existía una estrecha relación entre el fluoruro presente en el agua y el esmalte moteado, denominado como “fluorosis dental endémica crónica” en 1936 por H. Trendly Dean; quién en sus estudios estableció que a mayor contenido de fluoruro en el agua, se observa mayor severidad del grado de fluorosis dental, al igual que una mayor resistencia a las caries <sup>(2)</sup>.

De acuerdo a los estudios epidemiológicos de 1945 y 1954 de Dean la concentración óptima del ion fluoruro en el agua que ayude a prevenir las caries pero que no cause el desarrollo de fluorosis es de 1 mg/L.

Estos datos fueron confirmados y el rango óptimo de concentración fue precisado por D. F. Striffler en 1958, relacionando el grado de fluorosis dental con la concentración de fluoruros y la temperatura ambiente media anual <sup>(2)</sup>.

## **1.2. METABOLISMO DE FLUORUROS**

De acuerdo a la *Agency for Toxic Substances and Disease Registry ATSDR*, la principal forma de penetración del fluoruro en el organismo, se debe a la ingesta de sales solubles de este ion <sup>(4, 5)</sup>.

El fluoruro proveniente de sales solubles como el fluoruro de sodio, se absorbe casi completamente en el intestino delgado en forma de ion fluoruro (75 % a 90 %) y se sabe que también en el estómago en forma de HF a través de las células de la mucosa gástrica; el

tiempo medio de absorción es de 30 minutos, de modo que la concentración máxima en el plasma generalmente se produce en la primera hora. Sin embargo cuando el ion fluoruro proviene de fuentes naturales como alimentos o bebidas (pescado y té) su absorción es de 50 %. La absorción depende además de la acidez del contenido gástrico manteniéndose una relación directa, es decir a mayor acidez mayor absorción de fluoruro <sup>(2, 5)</sup>.

Hidrólisis del fluoruro de sodio:



Vías Metabólicas Normales de Fluoruros:

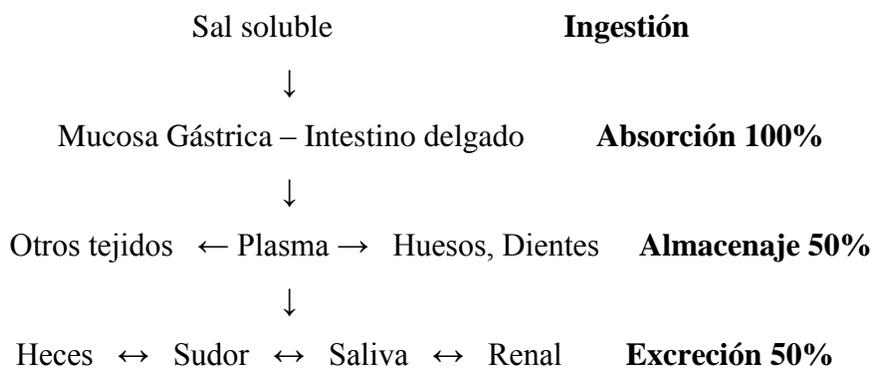


Figura 1. 1 Vías metabólicas de fluoruros

De acuerdo al esquema anterior, la principal vía de excreción del fluoruro es renal, ya que llega a ser aproximadamente un 50% de lo absorbido, en la cual influyen factores como: la magnitud de la ingesta, el flujo urinario, el pH de la orina, la edad y la salud renal del individuo. En general mientras mayor sea la ingesta, el flujo urinario y la edad, mayor es la excreción de fluoruro. En cuanto al pH urinario, mientras más ácido, mayor es la retención de fluoruro, debido a una mayor reabsorción a nivel renal, en forma de ácido fluorhídrico <sup>(1, 4)</sup>.

### 1.3. FLUORACIÓN DEL AGUA POTABLE

Generalmente la presencia de fluoruro en el agua de consumo humano, se atribuye a dos tipos de orígenes principales:

- 1) Origen natural; en este caso, el agua contiene el fluoruro derivado de minerales solubles como fluoro-apatitas.
- 2) Origen artificial, por adiciones controladas de sales como Hexafluorosilicato de sodio ( $\text{Na}_2\text{SiF}_6$ ); o fluoruro de sodio (NaF). En zonas donde la fluoración ha sido establecida por la ley para prevenir las caries dentales <sup>(2, 5)</sup>.

Debido a los beneficios asociados a la ingesta de pequeñas dosis de fluoruro, algunos países han decidido agregarlo al agua potable. Sin embargo, algunos investigadores consideran que los riesgos a los que se expone la salud son mayores que los beneficios que se podrían obtener <sup>(4, 6)</sup>.

Un factor de riesgo lo constituye la presencia de una alta concentración de fluoruro en el agua potable, ya que aún concentraciones de fluoruro en rangos comprendidos entre 0.7 mg/L y 1.2 mg/L pueden provocar fluorosis en grados leves <sup>(2, 9,10)</sup>.

Otro factor de riesgo lo constituye la dificultad de controlar la dosis de fluoruro que cada individuo recibe, ya que además de la cantidad adicionada al agua potable, existen otras fuentes de ingestión, entre las que se pueden citar: bebidas procesadas con agua fluorada, té, productos de higiene dental, suplementos de fluoruro (gotas y tabletas de fluoruro), sal común fluorada, residuos de pesticidas en alimentos y otros <sup>(2, 11)</sup>. Además, se debe considerar la absorción del fluoruro y los factores que influyen para la excreción renal de este; lo cual se explicó en la sección anterior <sup>(2, 5)</sup>.

Respecto a los suplementos de fluoruros, numerosos estudios concluyen que son un importante factor de riesgo en el desarrollo de fluorosis dental, ya que pueden ser prescritos en forma no apropiada. Debido a esto, la Organización Mundial de la Salud ha recomendado que los suplementos se usen con moderación, racionalidad y criterio de riesgo; su aplicación como medida de salud pública debe ser muy limitada y su uso en prevención de caries debería ser reevaluado o reconsiderado <sup>(2, 5)</sup>.

#### 1.4. INTOXICACIÓN POR FLUORURO

Las normas internacionales para la calidad del agua de consumo humano, de acuerdo a organizaciones como el Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria (CEPIS), la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), establecen una concentración máxima permisible de fluoruro de 1.5 mg/L, pero que varía de acuerdo a la legislación de cada país <sup>(14)</sup>. En El Salvador la Norma Salvadoreña Obligatoria para la Calidad del Agua Potable, establece un nivel máximo permisible de fluoruro de 1.5 mg/L <sup>(15)</sup>.

Según índices internacionales las fuentes de agua de acuerdo a su concentración de fluoruro y a su capacidad de prevenir caries dentales se clasifican como <sup>(1)</sup>:

- 1) Bajo para un rango de concentración de 0.0-0.30 mg/L
- 2) Medio para un rango de concentración de 0.31-0.5 mg/L
- 3) Óptimo para un rango de concentración de 0.51-1.0 mg/L
- 4) Alto para un rango de concentración de 1.1 mg/L

Se ha comprobado que dosis elevadas de fluoruro pueden causar detrimentos a la salud, provocando el apareamiento de fluorosis, mal funcionamiento de la tiroides, cáncer de huesos y algunos efectos secundarios que incluyen daños al sistema nervioso y otros efectos que se estudian actualmente <sup>(7, 8, 12, 13)</sup>.

La intoxicación aguda por ingesta de fluoruro en términos generales, depende de la edad y el peso del sujeto, la cual se estima entre 32 y 64 mg de fluoruro por Kg de peso corporal. Por otro lado, se debe considerar que para manifestar una intoxicación crónica importante por ingesta, debe efectuarse en cierta época de la vida, por períodos muy prolongados y en dosis que superen a las indicadas como terapéuticas <sup>(2, 4)</sup>.

La intoxicación crónica de fluoruro manifestada como fluorosis, constituye un problema mundial y es endémico en áreas donde el contenido de fluoruro es alto, principalmente en aquellas zonas en que se encuentra en forma natural en el agua de consumo humano. Un caso muy conocido es la India donde se localizan zonas con

concentraciones de fluoruro muy altas en fuentes de agua subterránea, reportándose el desarrollo de fluorosis esquelética <sup>(12)</sup>.

Información reciente muestra que la fluorosis es endémica en al menos 25 países alrededor del mundo, entre estos se pueden mencionar: La India, donde se han reportado concentraciones de fluoruro de hasta 38.5 mg/L; México; Kenia; el sur de África donde los niveles de fluoruro varían de 1 mg/L a 25 mg/L; Australia; China y otros <sup>(33)</sup>.

## 1.5. FLUOROSIS

La intoxicación crónica de fluoruro causa fluorosis, la cual puede ser de dos tipos: fluorosis esquelética o fluorosis dental.

### **Fluorosis esquelética**

Es un incremento anormal en la densidad de los huesos, causada por la ingesta de altas concentraciones de fluoruro en el agua <sup>(16)</sup>. El fluoruro por ser una toxina acumulativa, altera el funcionamiento de las articulaciones y clínicamente se manifiesta por la incapacidad para movilizar las extremidades superiores e inferiores <sup>(5, 16)</sup>.

### **Fluorosis dental**

Es definida como una hipomineralización del esmalte dentario, caracterizada por grandes porosidades superficiales y subsuperficiales, mayores que las encontradas en el esmalte normal, como consecuencia de la ingesta excesiva de fluoruro durante el período del desarrollo dentario, específicamente durante los cinco primeros años de vida. Su severidad depende de la concentración plasmática de fluoruros y la susceptibilidad del huésped. Clínicamente esta caracterizada por opacidades color blanco tiza, de variada extensión que afectan a dientes homólogos, estas tinciones son características de las formas más severas de fluorosis. En la tabla 1.1 se presentan los grados de fluorosis dental y sus características, según la clasificación de Dean <sup>(2, 5)</sup>.

Tabla 1.1. Fluorosis dental-Clasificación de Dean

CLASIFICACIÓN	CLAVE	CARACTERÍSTICAS O CRITERIOS
NORMAL	0	Esmalte de superficie suave, apariencia translúcida vitrificada, color blanco crema pálido.
CUESTIONABLE O DISCUTIBLE	1	Esmalte con ligeras alteraciones en su translucidez, que pueden presentar desde unas franjas blancas a manchas blancas ocasionales. Esta clasificación se utiliza cuando lo normal no se justifica.
MUY LEVE O MUY LIGERA	2	Pequeñas áreas opacas color blanco tiza, esparcidas horizontalmente en el esmalte, que afecta a menos del 25% de la superficie vestibular
LEVE O LIGERA	3	Las franjas blancas opacas se extienden sobre la superficie abarcando menos del 50% de ella.
MODERADA	4	Toda la superficie dentaria esta afectada, apreciándose marcada atrición y tinciones color marrón café que alteran el aspecto del diente
SEVERA O INTENSA	5	La totalidad de la superficie dentaria esta alterada por marcadas hipoplasias. La forma del diente puede estar afectada. Fosas, grietas y manchas café afectan la mayoría de los dientes dándoles una apariencia de corroídos

Las características clínicas de la clasificación de fluorosis dental de acuerdo a Dean, presentadas en la tabla anterior, se ilustran mejor con las siguientes figuras correspondientes a cada clasificación.



Figura 1. 2. Clasificación Normal



Figura 1. 5. Clasificación de fluorosis. Muy Leve



Figura 1. 3. Clasificación de fluorosis. Cuestionable



Figura 1. 6. Clasificación de fluorosis. Leve



Figura 1. 4. Clasificación de fluorosis. Muy Leve



Figura 1. 7. Clasificación de fluorosis. Leve



Figura 1. 8. Clasificación de fluorosis.  
Moderada



Figura 1. 9. Clasificación de fluorosis.  
Severa o Intensa

### Métodos de defluoración para agua de consumo humano

Básicamente existen dos técnicas de tratamiento de agua para remover el fluoruro de fuentes de agua de consumo humano, estas son: floculación y adsorción.

La floculación consiste en flocular los iones fluoruro, utilizando floculantes comúnmente empleados en el tratamiento de agua potable como sal de aluminio hidratada.

La técnica de adsorción consiste en filtrar el agua a través de una columna empacada con un adsorbente fuerte como: alumina activada, carbón activado o resina de intercambio iónico<sup>(33)</sup>.

### 1.6. MÉTODOS PARA DETERMINAR FLUORURO EN AGUA DE CONSUMO HUMANO

Entre los métodos más utilizados para la determinación de fluoruro en agua de consumo humano se encuentran los siguientes: Potenciometría directa, Espectrofotometría y Cromatografía Iónica. De estos, el más utilizado es el método de potenciometría directa con electrodo selectivo de iones fluoruro. Las principales ventajas de este sobre los otros es que es sencillo, económico, reproducible, exacto y produce una respuesta rápida<sup>(22)</sup>.

### 1.6.1. PRINCIPIOS GENERALES DE POTENCIOMETRÍA

La potenciometría es un método analítico extremadamente versátil y como su nombre sugiere involucra medidas del potencial de una celda galvánica. Cada celda consiste en dos semiceldas y para calcular el potencial de cada semicelda se utiliza la ecuación de Nernst<sup>(17, 18, 19)</sup>.

Los electrodos son mejor descritos como selectivos más que como específicos. Los electrodos que responden a un ion en específico, son conocidos como electrodos indicadores, la selección y uso de estos electrodos es la clave de la potenciometría<sup>(19)</sup>. Por lo tanto es conveniente expresar la ecuación de Nernst en una forma general, la cual es aplicable a todos los tipos de electrodos selectivos de iones y su representación es:

$$E(\text{celda}) = E' \pm \left( \frac{RT}{nF} \right) \ln a_i \quad (1)$$

Donde:

$E'$  = es una constante, incorporando el potencial del electrodo de referencia y el potencial estándar de la semicelda conteniendo la solución bajo investigación.

$R$  = constante de los gases,  $8.314 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ .

$T$  = temperatura ambiente expresada en escala absoluta (298 K).

$n$  = moles de electrones de la semirreacción.

$F$  = constante de Faraday ( $96485.3 \text{ C mol}^{-1}$ ).

$\ln$  = logaritmo natural.

$a_i$  = actividad del ion en investigación.

$\pm$  = se utilizan para indicar en la ecuación si se trata de un catión (+) o de un anión (-).

### 1.6.2. AJUSTADOR DE FUERZA IÓNICA

Como se indica en la ecuación de Nernst el término “ $\ln$ ” se refiere a logaritmo natural (a la base  $e$ ) pero en la práctica es más conveniente usar el logaritmo de la base 10 (escrito como  $\log$ ), de la siguiente forma:

$$\ln a = 2.303 \log a$$

Por lo que la ecuación de Nernst se escribe como:

$$E(\text{ celda }) = E' \pm \left( 2.303 \frac{RT}{nF} \right) \log a_i \quad (2)$$

La constante proporcional entre el potencial medido y el logaritmo de la actividad del ion es  $0.0591/n$ . En la práctica valores de la constante proporcional entre  $0.0550/n$  y  $0.0591/n$  son referidos como Nernstianos. Estrictamente hablando esto es incorrecto, pero electrodos con respuesta entre este rango son aceptables para propósitos analíticos, si son propiamente calibrados. Valores debajo de  $0.0550/n$  son denominados sub-Nernstianos e indica generalmente una mala preparación del electrodo. Esta constante es generalmente referida como la pendiente del electrodo<sup>(19)</sup>.

Hasta ahora se ha utilizado el término actividad en lugar de concentración, pero en química analítica se requiere de valores de concentración. La razón principal es que aunque la gráfica del potencial contra el logaritmo de la actividad produzca una línea recta (A), como se observa en la Figura 1.10 la preparación de estándares con actividades exactas es virtualmente imposible<sup>(17, 19)</sup>.

Por otro lado, si se grafica el potencial contra el logaritmo de la concentración, se obtiene una relación casi lineal para concentraciones bajas, pero claramente curva para concentraciones altas<sup>(17)</sup>, representada como curva B en la Figura 1.10.

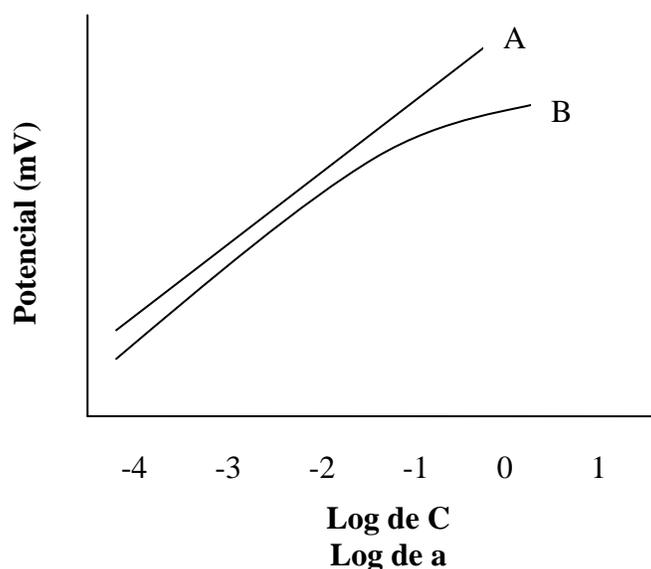


Figura 1. 10. Curvas de comparación entre el logaritmo de la actividad y el logaritmo de la concentración.

Curva de calibración sin ajustador de fuerza iónica, para un electrodo selectivo graficando el potencial contra el logaritmo de la actividad (A) del ion y el logaritmo de la concentración (B) del ion

La razón de este comportamiento se debe a que en soluciones bien diluidas, el efecto inter-iónico es mínimo (iones bien separados) y la actividad se aproxima a la concentración; pero a concentraciones altas, aumenta la fuerza inter-iónica, por lo que aumentan las interacciones iónicas, produciéndose la desviación de la línea <sup>(19)</sup>.

Para sobrellevar estos problemas y obtener una línea recta directamente de las medidas de concentración, el procedimiento es modificado. A cada estándar y muestra se le adiciona una cantidad fija de un ajustador de fuerza iónica; éste consiste en una solución relativamente concentrada de un electrolito, el cual no debe reaccionar con los reactivos de la solución y no debe participar en la reacción del electrodo. Esta relación puede deducirse si se toma en cuenta que la actividad está relacionada con la concentración por la siguiente ecuación <sup>(17)</sup>:

$$a_i = C_i \gamma_i \quad (3)$$

Donde:

$C_i$  = concentración del ion

$\gamma_i$  = coeficiente de actividad

El coeficiente de actividad es una función de la fuerza iónica total de todos los iones presentes en la solución, por lo que para soluciones diluidas se puede utilizar la ecuación de Debye Hückel <sup>(17,19)</sup>.

$$\log \gamma_i = A z_i^2 I^{1/2} \quad (4)$$

Donde A es una serie de constantes incluyendo la temperatura, la constante dieléctrica y el número de Avogadro; que para soluciones acuosas a 25 °C es igual a 0.512 y  $z_i$  es la magnitud de la carga del ion (generalmente 1 ó 2) <sup>(17)</sup>. Si la fuerza iónica total de todos los estándares y muestras se hicieron iguales, entonces el coeficiente de actividad ( $\gamma_i$ ) será constante <sup>(19)</sup>. En tal caso la ecuación 2 se convierte en:

$$E(\text{celda}) = E' \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log c_i \gamma_i$$

Distribuyendo el logaritmo:

$$E(\text{celda}) = E' \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log \gamma_i \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log c_i$$

Para un ion dado,  $n$  es una constante y como el coeficiente de actividad ( $\gamma_i$ ) es constante para una fuerza iónica total ajustada:

$$\left( \frac{0.0591}{n} \right) \log \gamma_i = \text{Constante}$$

Esta constante puede ser combinada con  $E'$  para dar una nueva constante  $E^*$ , por lo que la ecuación (2) se escribe como <sup>(17)</sup>:

$$E(\text{celda}) = E^* \pm \left( \frac{0.0591}{n} \right) \log c_i \quad (5)$$

Así, a una fuerza iónica total constante, la medida del potencial es directamente proporcional al logaritmo de la concentración. El ajustador de fuerza iónica mantiene constante a esta fuerza iónica total, aunque se trate de una solución relativamente concentrada. Al agregar el ajustador a todos los estándares y muestras, todas las medidas se llevan a cabo a la misma fuerza iónica total y consecuentemente a un coeficiente de actividad constante <sup>(17,19,20)</sup>.

### 1.6.3. MÉTODO DEL ELECTRODO SELECTIVO DE IONES FLUORURO

El método utilizado para determinar fluoruro en agua de consumo humano en este trabajo, es el recomendado por la Sociedad Americana para Ensayo y Materiales, conocida por sus siglas en inglés como ASTM (American Society for Testing and Materials), método 9214: “Determinación potenciométrica de fluoruro en muestras acuosas con electrodo selectivo de iones” (Potentiometric determination of fluoride in aqueous samples with ion selective electrode), siendo adecuado para concentraciones de fluoruros comprendidas entre 0.1 mg/L y más de 10 mg/L <sup>(21)</sup>.

El agregar un ajustador de fuerza iónica total, conocido por sus siglas en inglés como TISAB (Total Ionic Strength Adjustment Buffer), libera a este método de la mayoría de las interferencias que se puedan presentar en un método espectrofotométrico <sup>(22)</sup>.

El fluoruro se determina por potenciometría directa, utilizando un electrodo selectivo de iones y un electrodo de referencia conectados a un potenciómetro con escala expandida en milivoltios <sup>(22)</sup>.

La calibración se realiza por el Método de Calibración Directa, este es el procedimiento más simple y más comúnmente utilizado <sup>(23)</sup>. La curva de calibración se construye diluyendo agua destilada y TISAB en una relación 1:1, a esta solución en la cual se encuentran inmersos los electrodos de fluoruro y de referencia, se adiciona una serie de cantidades de volúmenes conocidos del estándar de fluoruro y por cada adición se mide la diferencia del potencial.

La curva de calibración se construye graficando el potencial contra el logaritmo de la concentración, a la cual nos referimos también como curva de calibración típica en los siguientes apartados <sup>(24)</sup>.

Posteriormente se determina la linealidad y la pendiente de la curva de calibración, si la curva cumple con la ecuación de Nernst se dice que el electrodo tiene una respuesta Nernstiana; siendo válido utilizar la ecuación de la línea recta para determinar la concentración del ion bajo investigación en las muestras <sup>(19)</sup>. La muestra se diluye 1:1 con TISAB, y se mide su potencial <sup>(24)</sup>.

En la construcción del gráfico de la curva de calibración, debe considerarse el volumen de las adiciones, si este es menor que el 10% del volumen total de la dilución agua destilada-TISAB, el efecto de dilución no produce errores muy grandes, pero si el volumen de las adiciones totales es igual al 10% del volumen total, el efecto de dilución debe ser considerado, por lo que las concentraciones teóricas de la curva de calibración deben ser corregidas, al graficar el potencial contra el logaritmo de la concentración <sup>(19)</sup>.

Sin embargo, la utilización de la curva de calibración típica tiene un inconveniente, el cual consiste en que no pueden hacerse determinaciones de concentración cerca del límite de detección, porque la línea recta de calibración se vuelve curva cerca de este punto <sup>(19)</sup>, perdiéndose la relación lineal entre el potencial y el logaritmo de la concentración, en tal caso, la utilización de la ecuación de la línea recta para la cuantificación de fluoruro no sería válida. Por lo cual es necesario el uso de una técnica especial de graficación conocida como el método de Gran <sup>(23, 24)</sup>.

#### 1.6.4. TÉCNICA DE GRAN

Al inicio de los años cincuenta, Gunnar Gran trabajando en titulaciones potenciométricas desarrolló una técnica especial de graficación, para la determinación del punto de equivalencia, que se basa en la extrapolación de una curva de línea recta. Con el tiempo otros investigadores han aplicado la técnica de Gran para la determinación de iones, utilizando electrodos selectivos <sup>(19)</sup>.

Este método se utiliza para la cuantificación de iones cerca del límite de detección, pero a diferencia de la curva de calibración típica, la técnica de Gran consiste en graficar la potencia  $10^{(-E/b)}$  directamente contra la concentración del ion, donde  $E$  es el potencial y  $b$  es la pendiente de la curva típica, obteniéndose una recta; así, aplicando el método de mínimos cuadrados se pueden determinar concentraciones de fluoruro cerca del límite de detección, obtenido considerando una curva de calibración típica <sup>(23, 24)</sup>.

#### 1.6.5. INTERFERENCIAS DEL MÉTODO

En la siguiente Tabla 1.2 se presentan las principales interferencias del método, dentro de las cuales el hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y el aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) son las más relevantes, ya que forman complejos con el fluoruro que no son medidos por el electrodo selectivo de iones <sup>(22)</sup>.

El complejo iónico aluminio-fluoruro es aproximadamente diez veces más estable que el complejo hierro-fluoruro <sup>(21)</sup>. Al agregar el TISAB se pueden eliminar estas interferencias, por el rompimiento de los complejos <sup>(20, 22)</sup>.

Tabla 1.2. Concentraciones de sustancias interferentes

Sustancia	Concentración (mg/L)
Alcalinidad (CaCO <sub>3</sub> )	7,000
Aluminio (Al <sup>3+</sup> )	3.0
Cloruro (Cl <sup>-</sup> )	20,000
Cloro	5,000
Color y Turbidez	-----
Hierro (Fe <sup>3+</sup> )	200
Hexametáfosfato ([NaPO <sub>3</sub> ] <sub>6</sub> )	50,000
Fosfato (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	50,000
Sulfato (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	50,000

El TISAB es una solución amortiguadora con un pH entre 5 y 5.5, que contiene citrato de sodio, el cual rompe los complejos metal-fluoruro para reducir al mínimo la formación de estos. Pero si las concentraciones de hierro (Fe<sup>3+</sup>) y aluminio (Al<sup>3+</sup>) alcanzan los valores indicados como interferentes en la Tabla 1.2, la muestra de agua debe someterse a un proceso de destilación previo a la determinación de fluoruro; de lo contrario, no se obtendría la concentración real de fluoruro presente en la muestra de agua, debido a que el fluoruro no puede ser cuantificado por el electrodo al formar complejos metal-fluoruro<sup>(22)</sup>.

### 1.7. VALIDACIÓN DEL MÉTODO

La validación es el proceso que asegura que un método analítico es aceptable para los propósitos establecidos, para lo cual se deben establecer un mínimo de criterios<sup>(25)</sup>. Los parámetros establecidos para la validación del método de determinación de fluoruro en agua, son los que se detallan en los siguientes apartados.

### 1.7.1. LINEALIDAD

Muchos métodos se basan en una curva de calibración en la que una cantidad medida “y” se relaciona en proporción directa con la concentración conocida “x” de una serie de patrones <sup>(17)</sup>.

El procedimiento habitual consiste en que el analista toma una serie de estándares los cuales se miden en el instrumento de acuerdo al método, en las mismas condiciones en que serán medidas las muestras problema. Una vez establecida la gráfica de calibración, se puede obtener la concentración del analito de cualquier muestra por interpolación <sup>(17)</sup>.

Como es común, el gráfico tiende a una línea recta. Sin embargo no todos los datos caerán en la línea recta, lo cual se debe a errores aleatorios en el proceso de medición. Por lo tanto se debe trazar la mejor línea recta a través de los puntos. Esto se logra utilizando una técnica estadística conocida como análisis de regresión lineal por mínimos cuadrados <sup>(17, 18)</sup>.

Al utilizar el método de mínimos cuadrados para construir una curva de calibración se consideran dos suposiciones <sup>(17)</sup>:

- 1) Que existe una relación lineal entre la variable medida “y” y la concentración del analito “x”. Esto es una suposición matemática denominada modelo de regresión, que se representa por la ecuación:

$$y = bx + a \quad (6)$$

Donde,  $a$  = intersección en y;  $b$  = pendiente de la recta;  $y$  = medida;  $x$  = concentración

- 2) Cualquier desviación de los puntos individuales respecto de la recta, es consecuencia del error en la medición.

De acuerdo al método de los mínimos cuadrados la línea recta debe pasar por el centro de gravedad de los puntos  $(\bar{x}, \bar{y})$  <sup>(26)</sup>. Por conveniencia para la aplicación del método se determinan tres cantidades:  $S_{xx}$ ,  $S_{yy}$  y  $S_{xy}$ , las dos primeras son la suma de los cuadrados de las desviaciones de la media para los valores individuales  $x$  y  $y$ , mientras que la tercera es la suma de los productos de las desviaciones de la media para los valores individuales  $x$  y  $y$ ; las cuales se definen como <sup>(17, 26)</sup>:

$$S_{xx} = \sum (x_i - \bar{x})^2 = \sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{N} \quad (7)$$

$$S_{yy} = \sum (y_i - \bar{y})^2 = \sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{N} \quad (8)$$

$$S_{xy} = \sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = \sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{N} \quad (9)$$

Donde  $x_i$  y  $y_i$  son pares individuales de datos para  $x$  y  $y$ ,  $N$  es el número de pares de datos utilizados para construir la curva de calibración,  $\bar{x}$  y  $\bar{y}$  son los valores promedio de las variables, es decir:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} \quad \text{y} \quad \bar{y} = \frac{\sum y_i}{N} \quad (10)$$

De las expresiones  $S_{xx}$ ,  $S_{yy}$  y  $S_{xy}$  se pueden determinar las siguientes ecuaciones:

La pendiente  $b$  de la línea recta:

$$b = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} \quad (11)$$

La ordenada en el origen o intercepto:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (12)$$

La desviación estándar de la regresión:

$$S_r = \sqrt{\frac{S_{yy} - b^2 S_{xx}}{N - 2}} \quad (13)$$

El coeficiente de correlación:

$$r = \frac{S_{xy}}{\sqrt{S_{xx} \cdot S_{yy}}} \quad (14)$$

### 1.7.2. PRECISIÓN

La precisión es una medida de la similitud que tienen entre sí un grupo de resultados experimentales <sup>(25)</sup>. Si se toman suficientes medidas de la misma muestra, la precisión de las medidas se puede expresar como desviación estándar del valor medio <sup>(27)</sup>. La precisión se expresa en términos de repetibilidad y reproducibilidad.

### 1.7.3. REPETIBILIDAD

Es el grado de concordancia entre resultados independientes, obtenidos aplicando el mismo método a una misma muestra; en las mismas condiciones (mismo operador, mismo equipo, mismo laboratorio) y en intervalos cortos de tiempo ya sea en el mismo día o dentro de la misma semana <sup>(25, 27)</sup>.

#### 1.7.4. REPRODUCIBILIDAD

Es el grado de concordancia entre resultados independientes obtenidos, aplicando un mismo método, a una misma muestra en diferentes condiciones (diferente operador, diferente equipo de laboratorio e intervalos de tiempos largos) <sup>(25, 27)</sup>.

#### 1.7.5. LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

En la Figura 1.11 se puede notar que la línea recta de calibración se vuelve curva en el punto A. Este es el límite más bajo de la respuesta Nernstiana o límite de linealidad, el cual se cita muchas veces como el límite de cuantificación <sup>(19, 28, 29)</sup>.

Mientras la gráfica de calibración sea curva abajo del punto A, puede seguir siendo utilizada para determinaciones de concentración. Es solamente cuando la gráfica se vuelve horizontal en el punto B que las determinaciones de concentración se vuelven imposibles; por lo cual el punto C es denominado como límite de detección de acuerdo a la IUPAC <sup>(1, 28)</sup>.

La gráfica de una línea de calibración exactamente curvada abajo del límite de la respuesta Nernstiana (punto A), requiere un gran número de estándares del ion bajo investigación a extrema dilución y de consumo de tiempo. Además aunque se pueda determinar la concentración del ion en la zona curva entre el punto A y B el error en esta será progresivamente mayor a medida la pendiente se reduce <sup>(19)</sup>.

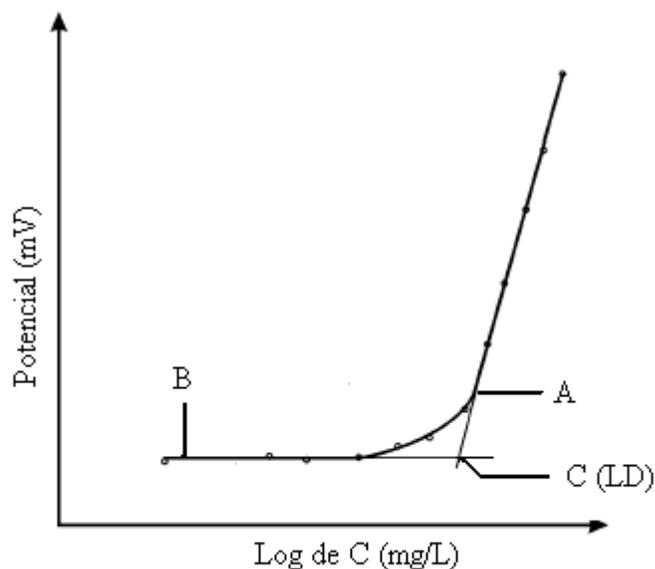


Figura 1. 11. Gráfica de calibración para un electrodo selectivo de iones típico

### Límite de detección

El método de determinación de iones por potenciometría con electrodo selectivo de iones proporciona una respuesta logarítmica, marcando así una diferencia fundamental comparada a los métodos lineales, lo cual justifica otro tipo de definición de límite de detección.

De acuerdo a la IUPAC <sup>(19, 28)</sup>, el límite de detección es la concentración del ion bajo investigación correspondiente al punto de intersección C, entre la zona lineal (B) extrapolada de la curva de calibración a extrema dilución del ion y la zona de la curva que cumple con la ecuación de Nernst, arriba de (A); como se ilustra en la Figura 1.11.

El LD se determina experimentalmente construyendo curvas de calibración a extrema dilución de acuerdo al método del punto de cruce <sup>(28)</sup> “cross point method” sugerido por la IUPAC, el cual consiste en determinar el límite de detección obteniendo el LD principal el cual es el valor del límite de detección más probable, el LD mínimo y el LD máximo son los valores de concentración mínimo y máximo, tomando en cuenta el mínimo y máximo valor de la pendiente de las líneas ajustadas a los resultados experimentales, como

se ilustra en la Figura 1.12. El  $LD_{\text{máximo}}$  se reporta como el límite de detección, indicando la desviación estándar.

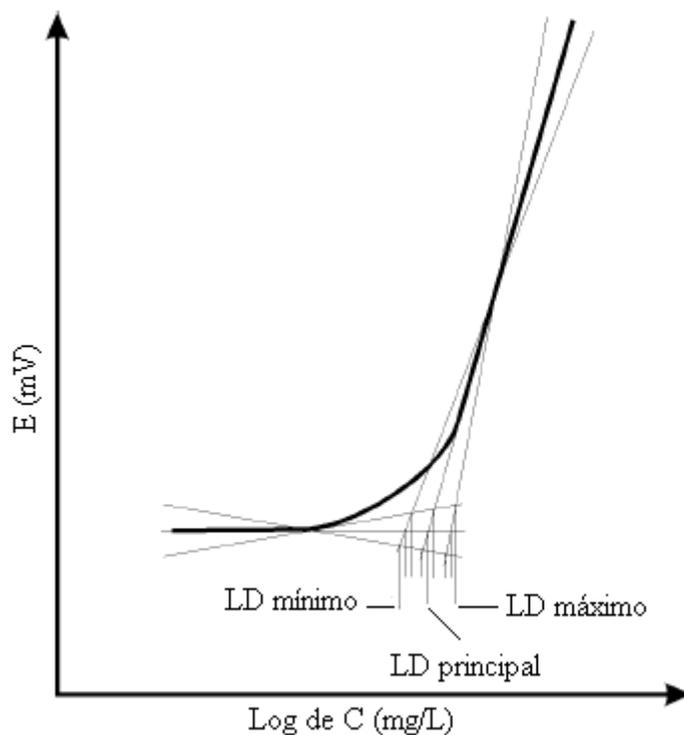


Figura 1. 12. Determinación del LD utilizando la curva de calibración típica.

Cuando la determinación de LD es difícil, es necesario determinar el  $LD_{\text{mínimo}}$

$LD_{\text{máximo}}$  y el  $LD_{\text{principal}}$ .

### Límite de cuantificación

Es la mínima cantidad de analito en una muestra, que puede ser determinada cuantitativamente con un nivel aceptable de precisión y exactitud <sup>(25)</sup>. En potenciometría, el límite más bajo de la respuesta Nernstiana o límite de linealidad, es considerado como límite de cuantificación, por lo que también es la concentración que restringe el uso de un electrodo <sup>(19)</sup>. El límite de linealidad indicado como (A) en la Figura 1.11 debe determinarse experimentalmente, realizando curvas de calibración a extrema dilución como se explicó en

la determinación del LD en el apartado anterior, pero debe ser evaluado estadísticamente aplicando el criterio de la prueba t- Student <sup>(34)</sup>.

Para calcular el límite de linealidad se debe probar la hipótesis que supone que  $\delta_1 > \bar{\delta}$ , donde  $\bar{\delta}$  es la media aritmética de una serie de  $n$  valores  $\delta$ , el cual se obtiene de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\delta = |E_{Exp} - E_{Corregido}| \quad (15)$$

Donde ( $E_{Exp}$ ) son las lecturas experimentales del potencial obtenidas en la curva de calibración, mientras que ( $E_{Corregido}$ ) es el potencial corregido haciendo uso de la ecuación de línea recta, considerando  $n$  puntos de la curva de calibración a extrema dilución. Para obtener una curva de calibración lineal se debe eliminar el punto  $\delta_1$  de la curva, lo cual se logra aplicando la prueba t Student.

La eliminación del valor  $\delta_1$  involucra el cálculo del valor  $t$  para cada valor  $\delta$ , pues se debe descartar la posibilidad de que uno de estos valores sea el valor  $\delta_1$ . El valor  $t$  se obtiene aplicando la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\delta - \bar{\delta}}{S_{\delta} \sqrt{\frac{n+1}{n}}} \quad (16)$$

Esta ecuación supone  $n - 1$  grado de libertad, ya que la desviación estándar ( $S_{\delta}$ ) es calculada de los mismos valores. Si el valor  $t$  calculado para un determinado punto de la curva de calibración a extrema dilución es mayor que su valor  $t$  crítico correspondiente a un determinado nivel significativo, se considera como el punto ( $\delta_1$ ) que debe ser descartado, ya que a partir de ese punto la curva de calibración pierde su linealidad, por lo tanto para el cálculo de la ecuación de línea recta de la curva de calibración, no se debe considerar el punto de la curva correspondiente al valor  $\delta_1$ . Siendo el límite de linealidad el punto de la curva de calibración anterior al valor  $\delta_1$ . El nivel de significación que se considera en este caso es del 5 % es decir el valor crítico de  $t$  (5%  $n - 1$ ).

### **Determinación del Límite de detección y Límite de cuantificación para métodos lineales**

Hoy en día para determinar concentraciones muy bajas de iones cerca del LD por potenciometría directa con electrodo selectivo de iones, es más conveniente el uso de la técnica de Gran <sup>(24)</sup>, como se explicó en la sección 1.6.4 esta técnica no presenta los inconvenientes de la curva de calibración típica a concentraciones cerca del LD. Siendo este un método lineal, se pueden aplicar los siguientes criterios.

#### **Límite de detección**

Es la cantidad o concentración más pequeña de un analito que puede ser detectada con suficiente precisión a partir del ruido o señal del blanco, pero no necesariamente cuantificada <sup>(25, 35)</sup>.

#### **Límite de cuantificación**

Es el límite inferior para mediciones cuantitativamente precisas <sup>(26)</sup>.

Considerando el uso de un método lineal <sup>(35)</sup>:

$$y = bx + a \quad (6)$$

Si se le asigna a  $y = 0$  para determinar la concentración del blanco, entonces:  $x = -a / b$

$$LD = x_{blanco} + 3 Sd \quad (17)$$

Donde ( $x_{blanco}$ ) es la concentración del blanco y  $Sd$  es la desviación estándar de la concentración del blanco.

El límite de cuantificación se puede calcular de las siguientes formas:

1. Para una desviación estándar relativa del 10 % se establece que el límite de cuantificación es:

$$LC = x_{blanco} + 10 Sd \quad (18)$$

2. Mientras que para una desviación estándar relativa del 5 % el límite de cuantificación se establece como:

$$LC = x_{blanco} + 20 Sd \quad (19)$$

En ambos casos, ya sea considerando una desviación relativa del 10 % o del 20 %, se debe verificar la exactitud del método para el valor de LC encontrado. En este caso para la determinación del LC utilizando la técnica de Gran se consideró una desviación estándar relativa del 10 %.

#### 1.7.6. EXACTITUD

Mide la concordancia entre el resultado de una muestra y su valor verdadero <sup>(25)</sup>. Consiste en determinar a través de pruebas estadísticas, si el valor medio obtenido de análisis experimentales y el valor de referencia no presentan diferencias significativas que obliguen al rechazo del resultado; el valor de referencia puede ser un estándar certificado o un patrón <sup>(27)</sup>.

La exactitud básicamente puede expresarse de dos formas:

- 1) Porcentaje de error relativo. Si se cuenta con un estándar certificado, en este caso se compara el valor verdadero con el valor medido.

$$\% E_r = \frac{\text{concentración real} - \text{concentración calculada}}{\text{concentración real}} \times 100 \quad (20)$$

El grado de exactitud del método se expresa como cien menos la media del porcentaje de error.

- 2) Porcentaje de recobro. Este método se utiliza cuando no se cuenta con un estándar certificado; consiste en determinar la concentración de una muestra, para luego agregar una cantidad de estándar conocida, lo suficiente como para aproximarse a la concentración de la muestra, calculando la cantidad de analito agregada por la diferencia entre la concentración inicial y la concentración final de la muestra. Los valores de concentración inicial y final del analito deben encontrarse dentro del rango de concentraciones de la curva de calibración. El porcentaje de recobro se determina utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ recobro} = \frac{\text{concentración calculada}}{\text{concentración real}} \times 100 \quad (21)$$

En este trabajo la determinación de la exactitud del método se realizó utilizando el porcentaje de recobro.

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

En esta sección se describe la metodología de análisis utilizada para la determinación de fluoruro en agua de consumo humano; la determinación de las principales interferencias y la validación del método. Así también se detalla el equipo de laboratorio, reactivos y material utilizado.

### 2.1. METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS

El método utilizado para determinar fluoruro en agua de consumo humano fue el 9214 de la ASTM<sup>(19)</sup>.

Una de las consideraciones que deben hacerse es que al agregar TISAB a los patrones y muestras se libera a este método de la mayoría de las interferencias, presentadas en la Tabla 1.2 incluyendo las principales como: hierro  $\text{Fe}^{3+}$  y aluminio  $\text{Al}^{3+}$ .

Por lo general el aluminio  $\text{Al}^{3+}$  y el hierro  $\text{Fe}^{3+}$  no se encuentran en concentraciones altas en el agua potable; sin embargo, si se encuentran cantidades de estos metales que puedan interferir en la cuantificación de fluoruro, puede ser necesario el paso de destilación previa<sup>(20, 21)</sup>.

Para asegurar que las muestras de agua analizadas no presentaban concentraciones interferentes de hierro o aluminio, se determinó su concentración utilizando los siguientes métodos espectrofotométricos:

- 1) Determinación de hierro por el método de fenantrolina
- 2) Determinación de aluminio por el método de eriocromo cianina R

### **2.1.1. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE DETERMINACIÓN DE FLUORURO**

El fluoruro es determinado potenciométricamente utilizando un electrodo selectivo de iones fluoruro y un electrodo de referencia.

La adición del ajustador de fuerza iónica (TISAB), proporciona una fuerza iónica ambiente casi uniforme, ajusta el pH y destruye los complejos, lo cual permite que el electrodo mida realmente la concentración de iones fluoruros<sup>(20, 22, 24)</sup>.

Dependiendo del tipo de membrana del electrodo, así será la rapidez de su respuesta; las membranas más lentas tienen un tiempo de respuesta de 30 segundos estando sujeto a cambios de concentración<sup>(19)</sup>.

### **2.1.2. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE ERIOCROMO CIANINA R**

El principio de este método se basa en que las soluciones diluidas tamponadas a pH de 6.0 producen un complejo de color rojo a rosado con eriocromo cianina R, que presenta un máximo de absorbancia a 535 nm. La intensidad de la coloración depende de la concentración de aluminio presente en la muestra, así como del tiempo de reacción, temperatura, pH, alcalinidad y concentración de otros iones. Para eliminar errores por color o turbidez, se utiliza un blanco compuesto por la muestra y EDTA. Las interferencias como hierro y manganeso se eliminan por la adición de ácido ascórbico.

Tanto los fluoruros, como los polifosfatos, dan lugar a errores negativos. Como las concentraciones de fluoruro se conocen muchas veces o se determinan fácilmente, se pueden obtener resultados bastante precisos agregando una cantidad conocida de fluoruro a

un grupo de patrones. Además se puede obtener una corrección más sencilla a partir de una curva de corrección para estimación de aluminio en presencia de fluoruro <sup>(22)</sup>.

### **Procedimiento**

Para elaborar la curva de calibración se preparan una serie de patrones de aluminio con un rango de concentración comprendido entre 0 y 0.5 mg/L y se realiza el siguiente procedimiento:

- 1) En un balón volumétrico de 50 mL se agrega a cada patrón 1 mL de ácido sulfúrico 0.02 N y se mezcla; se agrega 1 mL de ácido ascórbico y se mezcla; se agregan 10 mL de solución tampón y se mezcla; se agregan 5 mL de solución de tinción de eriocromo cianina R y se mezcla inmediatamente, finalmente se afora a 50 mL con agua destilada y se vuelve a mezclar.
- 2) Se dejan reposar por cinco minutos, el color comienza a desvanecerse después de 15 minutos.
- 3) Se ajusta el espectrofotómetro a una absorbancia de cero con un patrón libre de aluminio y luego se procede a leer la absorbancia a una longitud de onda de 535 nm.
- 4) Finalmente se grafica la absorbancia contra la concentración.

### **Tratamiento de las muestras en ausencia de fluoruros y fosfatos complejos**

- 1) Se colocan 25 mL de la muestra en un matraz, se agregan un par de gotas de indicador de naranja de metilo y se valora con ácido sulfúrico 0.02 N hasta un color rosa tenue, se anota la lectura y se descarta la muestra.
- 2) A dos muestras similares, se agrega a temperatura ambiente la misma cantidad de ácido sulfúrico 0.02 N empleada en la titulación y se agrega 1 mL en exceso.
- 3) A una de las muestras se agrega 1 mL de EDTA, la cual servirá como blanco por la formación de complejo de aluminio que pudiera existir y compensación del color y la turbidez.

- 4) A ambas muestras se adicionan, 1 mL de ácido ascórbico, 10 mL de tampón y 5 mL de reactivo de tinción de trabajo, siguiendo el procedimiento tal como se ha descrito para los patrones en el numeral (1).

### **2.1.3. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE 1,10-FENANTROLINA**

El hierro se reduce al estado ferroso por la adición de ácido ascórbico y se trata posteriormente con 1, 10-fenantrolina clorhidrato a un pH de 3.2 a 3.3. El complejo rojo-naranja que se forma es un quelato de tres moléculas de fenantrolina por cada átomo de hierro ferroso. La solución coloreada obedece la Ley de Beer.

Entre las sustancias interferentes están los oxidantes fuertes, cianuro, nitrito y fosfatos (más los polifosfatos que los ortofosfatos); no producen interferencias a concentración de 25 mg el Al, As, metales alcalinos y alcalinos térreo, Mn, Pb, acetato, cloruro, citrato, nitrato, sulfato, bromuro, ioduro, y fluoruro <sup>(30)</sup>.

#### **Procedimiento para la determinación de hierro**

- 1) En un balón volumétrico de 50 mL, se tratan 20 mL de solución problema neutralizada o bien de reacción débilmente ácida con 2 mL de ácido ascórbico, 5 mL de tampón de acetato y 2 mL de solución de reactivo 1, 10-fenantrolina clorhidrato y se afora el balón hasta la marca.
- 2) Se ajusta el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco agua destilada.
- 3) Se efectúa la medición a 508 nm en una celda de 5 cm.

### **2.1.4. EQUIPO UTILIZADO**

- 1) Electrodo de fluoruro, INGOLD, tipo 15 215 3000
- 2) Electrodo de referencia, METTLER TOLEDO Inlab ®, modelo 301
- 3) Potenciómetro HANNA Instruments, modelo 8514
- 4) Agitador magnético, HANNA Instruments, modelo 200 M

- 5) Micro pipeta de 100  $\mu$ L, Eppendorf, serie 130159
- 6) Micro pipeta de 200  $\mu$ L, Gilson, serie B8514040
- 7) Espectrofotómetro ultravioleta-visible, JENWAY, modelo 6105
- 8) pH-metro, HANNA Instruments, modelo 931401
- 9) Electrodo de vidrio, HANNA Instruments modelo HI 1131
- 10) Conductivímetro, AMEI, modelo 133
- 11) Balanza analítica, Sartorius, modelo BP 210 S

### **2.1.5. REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FLUORURO**

#### **Solución ajustadora de fuerza iónica total (TISAB)**

El TISAB utilizado se preparó de la siguiente forma <sup>(20)</sup>:

- 1) Se disuelven en 500 mL de agua destilada, 0.3 g de citrato de sodio anhidro ( $C_6H_5Na_3$ ), 61.53 g de acetato de sodio anhidro ( $CH_3 COONa$ ) y 58.44 g de cloruro de sodio (NaCl).
- 2) Se agregan 14.3 mL de ácido acético.
- 3) Se ajusta a un pH de 5.5 con ácido acético o hidróxido de sodio.
- 4) Finalmente se enfría la solución, se coloca en un balón de 1000 mL y se afora con agua destilada.

#### **Solución madre de fluoruro de 1000 mg/L**

- 1) Se seca el fluoruro de sodio anhidro en una estufa por tres horas a 110 ° C.
- 2) En un balón volumétrico de 100 mL, se disuelven 0.221 g de fluoruro de sodio anhidro (NaF) en agua destilada y se afora hasta la marca.

#### **Solución patrón de fluoruro de 100 mg/L**

Se toman 10 mL de solución madre de fluoruro y se diluyen en agua destilada en un balón volumétrico de 100 mL.

## 2.1.6. REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE ALUMINIO

### **Solución de aluminio de reserva de 500 mg/L**

Se disuelven 8.791 g de sulfato de potasio y aluminio dodecahidratado ( $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) en agua destilada, se coloca en un balón de 1000 mL y se afora hasta la marca.

### **Solución patrón de aluminio de 5 mg/L**

Se toman 10 mL de solución de aluminio de reserva, se colocan en un balón de 1000 mL y se afora; la solución se prepara diariamente. A partir de esta solución se preparan patrones de aluminio de: 0.05; 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5 mg/L

### **Solución de ácido ascórbico**

Se disuelve 0.1 g de ácido ascórbico en agua destilada y se afora en un balón de 100 mL; preparándose cada día de trabajo.

### **Solución tampón**

Se disuelven 136 g de acetato de sodio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) en agua destilada, se agregan 40 mL de ácido acético 1 N y se diluye hasta 1 L.

### **Solución de tinción de reserva**

Se disuelven 300 mg de Eriocromo cianina  $\text{R}_+^+$  en aproximadamente 50 mL de agua destilada, se ajusta el pH desde 9 hasta 2.9 con ácido acético 1+1 (se necesitarán aproximadamente 3 mL) y se diluye con agua destilada en un balón volumétrico de 100 mL.

### **Solución de tinción de trabajo**

Se disuelven 10 mL de solución de tinción de reserva con agua destilada y se afora hasta 100 mL en un balón volumétrico.

**EDTA (sal sódica dihidratada del ácido etilendiaminotetracético) 0.01 M**

Se disuelven 3.7 g en agua destilada y se diluye hasta 1 L en un balón volumétrico.

**Hidróxido de sodio 0.1 N y 1 N y Solución indicadora de naranja de metilo****2.1.7. REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HIERRO****Solución de 1, 10-fenantrolina clorhidrato**

Se disuelven 0.25 g en agua destilada y se afora en un balón de 100 mL.

**Solución de ácido ascórbico**

Se disuelven 10 g en agua destilada y se afora en un balón de 100 mL.

**Solución tampón de acetato**

Se disuelven 16.5 g de acetato de sodio para análisis y 11.5 mL de ácido acético por lo menos al 96 % para análisis, se diluye en agua destilada y se afora en un balón de 100 mL.

**Solución de hierro de reserva de 200 mg/L**

- 1) Se diluyen 20 mL de ácido sulfúrico concentrado con 50 mL de agua destilada.
- 2) Se disuelven con la solución de ácido sulfúrico 1.404 g de sulfato de amonio ferroso ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ).
- 3) Se agrega gota a gota permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ ) 0.1 N hasta que persista un color rosa pálido, se diluye con agua destilada en un balón volumétrico de 1000 mL y se mezcla.

**Solución patrón de hierro de 5 mg/L**

La solución se prepara a diario. Se toman 5 mL de solución de reserva de hierro, se llevan a un balón de 200 mL y se afora con agua destilada

## **2.2. CUANTIFICACIÓN DE FLUORURO EN LAS MUESTRAS DE AGUA**

El procedimiento que se sigue para la cuantificación de fluoruro en las muestras es el siguiente:

- 1) En un beaker de 50 mL se agregan 10 mL de TISAB, Utilizando una pipeta volumétrica.
- 2) Con una pipeta volumétrica se adicionan 10 mL de la muestra
- 3) Se introducen los electrodos asegurándose de que no se formen burbujas alrededor de estos y se agita la solución suavemente y de forma constante mediante una barra de teflón y un agitador magnético.
- 4) Se toma la lectura en mV cuando esta sea constante, esto sucede en aproximadamente 30 segundos.

## **2.3. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANALÍTICAS DEL MÉTODO**

En esta sección se presentan los procedimientos experimentales utilizados en la validación del método analítico, para la cuantificación de fluoruro en agua de consumo humano. Los parámetros de validación considerados son: linealidad, precisión, límite de detección, límite de cuantificación y exactitud, aplicando el método de calibración directa.

### **2.3.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO**

La linealidad se determinó de acuerdo a la sección 1.7.1, utilizando el método de calibración directa explicado en la sección 1.6.3. La curva se construye considerando un rango de concentración de fluoruro de: 0.25 a 10 mg/L, graficando el potencial contra el logaritmo de la concentración. Se realizaron varias curvas de calibración para verificar la linealidad del método, pero de estas únicamente se presentan tres realizadas en una misma semana de trabajo. El procedimiento experimental es el siguiente:

- 1) En un beaker de 50 mL se agregan 10 mL de TISAB.
- 2) Con una pipeta volumétrica se toman 10 mL de agua destilada y se colocan en el beaker.
- 3) Se introducen los electrodos asegurándose de que no se formen burbujas alrededor de estos, se agita la solución suavemente y de forma constante utilizando una barra de teflón y un agitador magnético.
- 4) Se mide el blanco de agua destilada-TISAB 1:1, posteriormente se procede a la adición de una serie de volúmenes apropiados del estándar de fluoruro de 100 mg/L, tal como se indican en la Tabla 2.1 tomando la lectura del potencial más estable después de cada adición.

Tabla 2. 1. Preparación de la curva de calibración típica

Volumen (µL)	Concentración (mg/L)	Volumen (µL)	Concentración (mg/L)
0	-----	200	4.00
50	0.25	200	5.00
50	0.50	200	6.00
50	0.75	200	7.00
50	1.00	200	8.00
200	2.00	200	9.00
200	3.00	200	10.00

### 2.3.2. REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

Para la determinación de este parámetro el analista elabora curvas de calibración dentro de la misma semana, en las condiciones descritas en linealidad. El tratamiento consiste en la comparación o análisis de varianza (ANOVA). Si no existe diferencia

significativa entre las curvas de calibración, según la prueba F con un nivel de significancia del 5 %, se establece que el método es repetible en el intervalo de concentraciones de trabajo <sup>(25, 27, 31)</sup>.

### **2.3.3. REPRODUCIBILIDAD**

La reproducibilidad del método se determina variando el analista. Se elaboran curvas de calibración en las condiciones descritas de linealidad, de tal forma que cada analista prepara tres curvas de calibración por día, durante tres días de la misma semana, en el mismo laboratorio y con el mismo equipo, aplicando el análisis ANOVA. Si no existe diferencia significativa entre las curvas de calibración elaboradas por los dos analistas, según la relación varianza o prueba F con un nivel de significancia del 5 %, se establece que el método es reproducible en el intervalo de concentraciones de trabajo establecido <sup>(25, 27, 31)</sup>.

### **2.3.4. LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN**

Se construyen curvas utilizando patrones de fluoruro de 1, 10 y 100 mg/L, los primeros dos generan las regiones C y B de la Figura.1.11 en la sección 1.7.5.

Para determinar el límite de detección y de cuantificación, se sigue el procedimiento indicado en los numerales 1), 2) y 3) de la sección 2.3.1 para la preparación de la curva de calibración; se mide el blanco de agua destilada-TISAB en una relación 1:1 y posteriormente se procede a la adición de una serie de volúmenes apropiados de los estándares de fluoruro de 1, 10 y de 100 mg/L, tomando la lectura del potencial más estable después de cada adición. La preparación de la curva se presenta en la siguiente tabla.

Tabla 2. 2. Preparación de la curva de calibración típica para la determinación del LD y LC

Volumen (μL)	C (mg/L)	Volumen (μL)	C (mg/L)	Volumen (μL)	C (mg/L)
0	-----	10	0.04	50	0.2
Estándar de 1 mg/L		10	0.045	50	0.225
10	0.0005	10	0.05	50	0.250
10	0.001	10	0.055	Estándar de 100 mg/L	
10	0.0015	10	0.06	50	0.5
10	0.002	10	0.065	50	0.75
20	0.003	10	0.07	50	1.00
20	0.004	10	0.075	200	2.00
20	0.005	10	0.08	200	3.00
Estándar de 10 mg/L		10	0.085	200	4.00
10	0.01	10	0.09	200	5.00
10	0.015	10	0.095	200	6.00
10	0.02	10	0.1	200	7.00
10	0.025	50	0.125	200	8.00
10	0.03	50	0.15	200	9.00
10	0.035	50	0.175		

### 2.3.5. EXACTITUD DEL MÉTODO

Para la determinación de este parámetro se utilizaron dos muestras de agua potable, elegidas de manera que se pudiera determinar la exactitud del método a diferentes niveles de concentración, de cada una de ellas se tomaron diez alícuotas de 10 mL, ejecutando el siguiente procedimiento para cada una de ellas:

- 1) De acuerdo al procedimiento para cuantificación de fluoruro descrito en la sección 2.2. se determina la concentración inicial de fluoruro en la alícuota.
- 2) Acto seguido se adiciona una cantidad conocida de estándar de fluoruro.
- 3) Se determina la concentración final de la muestra después de la adición, a la cual se resta la concentración inicial de fluoruro en la muestra.

En este caso por no contar con un estándar certificado de fluoruro, la exactitud se expresa como % de recobro, utilizando la ecuación (21).

## **2.4. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANALÍTICAS APLICANDO LA TÉCNICA DE GRAN**

Para la cuantificación de fluoruro en las muestras de agua se utilizó también la técnica de Gran; debido a que no se pueden hacer cuantificaciones del fluoruro cerca del LD determinado con la curva de calibración típica, ya que en esa zona se pierde la relación lineal entre el potencial y el logaritmo de la concentración, por lo que para cuantificaciones de fluoruro a bajos niveles de concentración se utiliza la técnica de Gran.

Con esta técnica se grafica la potencia  $10^{(-E/b)}$  contra la concentración, manteniéndose la relación lineal aún a niveles bajos de concentración de fluoruro.

Debido a que esta es otra forma de cuantificación de fluoruro, se consideró conveniente reportar algunos parámetros de validación como: la linealidad, el LC, LD y la exactitud del método utilizando la técnica de Gran.

### **2.4.1 LINEALIDAD**

La linealidad aplicando la técnica de Gran se determina construyendo curvas de calibración, considerando un rango de concentración de fluoruro de: 0.05 a 10 mg/L. Realizándose varias curvas de calibración para verificar la linealidad del método aplicando esta técnica.

El procedimiento experimental es el mismo que se aplicó en la determinación de linealidad del método utilizando la curva de calibración típica; indicado en la sección 2.3.1, con la diferencia de que se consideran valores de concentración más bajos como ya se mencionó.

#### **2.4.2 LÍMITE DE DETECCIÓN Y DE CUANTIFICACIÓN**

Se realizaron 10 curvas de calibración las cuales se tratan con el método de Gran, considerando un rango de concentración de 0.025 a 10 mg/L de fluoruro. A cada una de las curvas se les determina la pendiente y el intercepto, haciendo uso del método de mínimos cuadrados.

El LD y el LC se reportan de acuerdo al criterio sugerido para métodos lineales citado en la sección 1.7.5.

#### **2.4.3 EXACTITUD**

Este parámetro se realizó para verificar la exactitud del método de Gran al nivel de concentración reportado como límite de cuantificación.

Experimentalmente se determina siguiendo el procedimiento utilizado para determinar la exactitud del método considerando la curva de calibración típica, pero con la diferencia de que se utiliza una muestra de agua potable con una concentración de fluoruro baja, cerca del límite de cuantificación determinado con la técnica de Gran.

### **3. DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS**

En esta sección se presentan los resultados obtenidos en la determinación de fluoruro, pH y conductividad en las muestras de agua recolectadas, así como los resultados de la validación del método utilizado.

La validación del método 9214 de la ASTM <sup>(19)</sup>, se realizó utilizando la curva de calibración típica, graficando el potencial contra el logaritmo de la concentración de fluoruro, en un rango de 0.25 a 10 mg/L.

Además se presentan los resultados de la evaluación de algunos parámetros de validación del método 9214 de la ASTM <sup>(19)</sup>, aplicando la técnica de Gran; los parámetros considerados fueron: la linealidad, el LD, el LC y la exactitud.

#### **3.1. LINEALIDAD DEL MÉTODO**

La linealidad del método se determinó utilizando el método de calibración directa, graficando el potencial contra el logaritmo de concentración del ion bajo investigación, construyendo las curvas de calibración como se describió en la sección 2.3.1. Se utilizó como blanco agua destilada y TISAB en una relación 1:1; para las adiciones de fluoruro correspondientes a cada concentración como se indicó en la Tabla 2.1, se utilizó un

estándar de fluoruro de 100.91 mg/L. Se prepararon tres curvas de calibración durante un día de trabajo, con un rango de concentración de 0.25 a 9.17 mg/L de fluoruro; en la Tabla 3.1 se muestran los potenciales de las tres curvas y el potencial promedio de estas. Además se consideró el efecto de dilución como se indica en la sección 1.6.3 por lo cual se corrigió la concentración.

Tabla 3. 1. Resultados de la curva de calibración típica (1).

C (mg/L)	Log de C	mV <sub>1</sub>	mV <sub>2</sub>	mV <sub>3</sub>	$\overline{mV}$
0.252	-0.599	182	182	181	181.67
0.502	-0.299	163	164	164	163.67
0.751	-0.124	152	154	153	153.00
0.999	0.000	144	145	145	144.67
1.98	0.297	126	127	127	126.67
2.94	0.468	116	117	117	116.67
3.88	0.589	109	109	110	109.33
4.81	0.682	103	103	104	103.33
5.71	0.757	98	99	99	98.67
6.60	0.820	95	95	96	95.33
7.47	0.873	91	91	92	91.33
8.33	0.921	88	88	89	88.33
9.17	0.962	86	86	87	86.33
					$b = -61.25$ $a = 145.11$ $Sr = 0.3047$ $r = -0.9999$

En la Figura 3.1 se muestra los resultados del potencial promedio ( $\overline{mV}$ ) de las tres curvas de calibración contra el logaritmo de la concentración (mg/L) aplicando el método de mínimos cuadrados. El cálculo de la ecuación de la línea recta correspondiente a esta gráfica se realizó utilizando la ecuación 11 para calcular la pendiente ( $b$ ) y la ecuación 12

para calcular el intercepto ( $a$ ), los resultados son reportados en la Tabla 3.1 donde se puede notar que el electrodo produce una respuesta Nernstiana en el rango de concentración de trabajo.

El coeficiente de correlación ( $r$ ) se calculó a través de la ecuación 14, obteniendo un valor  $r$  de -0.9999 el cual indica que existe relación lineal entre el logaritmo de la concentración del analito ( $x$ ) y el potencial ( $y$ ) en el rango de 0.252 a 9.17 mg/L de fluoruro; así también, se calculó la desviación de la regresión utilizando la ecuación 13, ambos resultados se reportan en la Tabla 3.1.

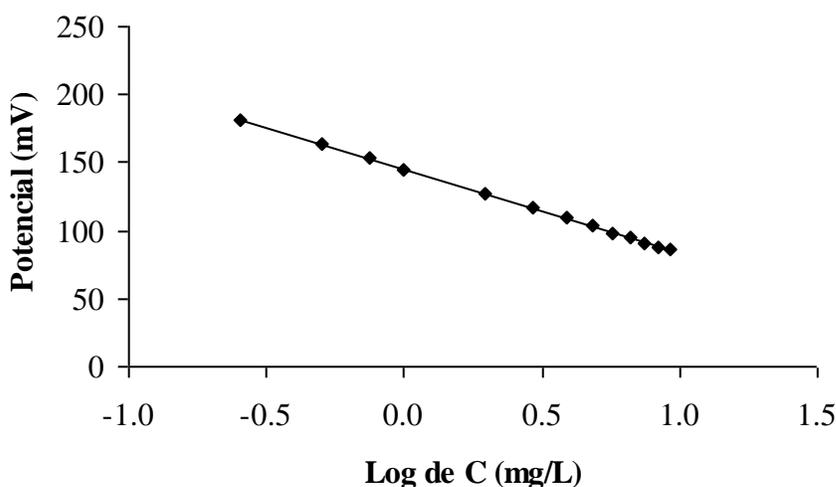


Figura 3. 1. Curva de calibración típica (1).

### 3.2. REPETIBILIDAD DEL MÉTODO

Para la determinación de este parámetro, fueron elaboradas tres curvas de calibración por el mismo analista durante tres días de la misma semana, en las condiciones descritas de linealidad en la sección 1.7.1. En la Tabla 3.2 se presentan los potenciales promedios correspondientes a las curvas de calibración (2) y (3) realizadas por día, preparadas de acuerdo a la sección 2.3.1 utilizando el estándar de fluoruro de 100.91 mg/L. Los resultados de la curva de calibración (1) se presentaron en la Tabla 3.1.

Tabla 3. 2. Resultados de las curvas de calibración típica (2) y (3).

C (mg/L)	Log de C	Curva (2) $\frac{mV}{mV}$	Curva (3) $\frac{mV}{mV}$
0.252	-0.599	181.33	182.00
0.502	-0.299	163.33	164.33
0.751	-0.124	153.00	153.33
0.999	0.000	144.33	144.67
1.98	0.297	126.67	127.33
2.94	0.468	116.67	117.00
3.88	0.589	109.33	109.33
4.81	0.682	103.67	104.00
5.71	0.757	99.00	99.00
6.61	0.820	95.00	95.33
7.47	0.873	92.00	92.00
8.33	0.921	89.00	89.00
9.17	0.962	86.00	86.33
		$a = 144.97$ $b = -60.86$ $S_r = 0.3128$ $r = -0.9999$	$a = 145.48$ $b = -61.28$ $S_r = 0.3383$ $r = -0.9999$

En las Figuras 3.2 y 3.3 se presentan los resultados del potencial promedio contra el logaritmo de la concentración de las curvas (2) y (3). Al igual que en la sección anterior, el ajuste de la línea se realizó con el método de mínimos cuadrados, obteniendo valores altos

de coeficiente de correlación lineal aplicando la ecuación 14. La ecuación de la línea recta se obtuvo utilizando la ecuación 11 para calcular la pendiente ( $b$ ) y la ecuación 12 para calcular el intercepto ( $a$ ); los resultados se presentan en la Tabla 3.2 observándose que el electrodo produce una respuesta Nernstiana; así también, se presenta la desviación estándar de la regresión calculada con la ecuación 13.

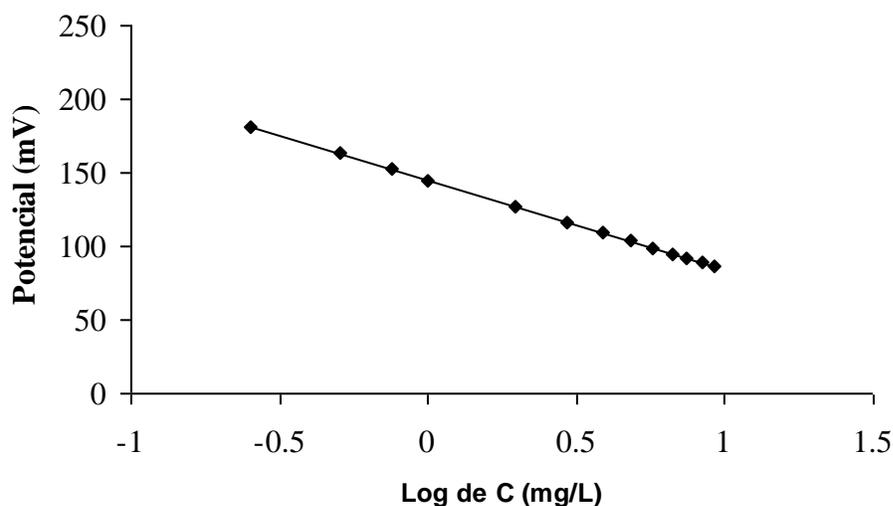


Figura 3. 2. Curva de calibración típica (2).

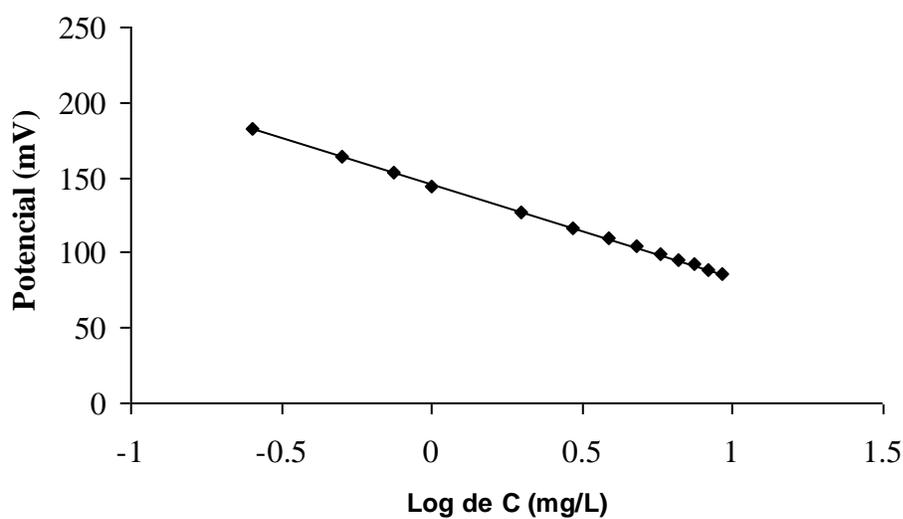


Figura 3. 3. Curva de calibración típica (3).

El tratamiento estadístico que determina si el método es repetible, consiste en el análisis de varianza (ANOVA), a través del cual se establece si existen o no diferencias significativas entre las curvas de calibración hechas por el mismo analista en diferentes días. Si no existe diferencia significativa según la prueba  $F$  con un nivel de significancia del 5%, se puede establecer que el método es repetible en el intervalo de concentración establecido.

El valor  $F$  experimental esta dado por:

$$F_{Exp} = \frac{(S_{r1})^2}{(S_{r2})^2} \quad (22)$$

Donde  $S_{r1}$  y  $S_{r2}$  corresponden a las desviaciones de la regresión de las dos curvas de calibración que se comparan, de tal forma que el numerador  $(S_{r1})^2$  sea mayor que el denominador  $(S_{r2})^2$ . El valor experimental  $F$  se compara con el valor  $F$  teórico <sup>(31)</sup>, considerando  $n_1-2$  grados de libertad en el numerador y  $n_2-2$  grados de libertad en el denominador, para un nivel de significancia del 5%. La prueba  $F$  supone el establecimiento de una hipótesis nula, la cual se confirma o rechaza de acuerdo al resultado de la comparación; pudiéndose dar dos situaciones:

- 1) Si  $F_{Exp} < F_{Tab}$  se confirma la hipótesis nula establecida, que en este caso es que no existe diferencia significativa entre las curvas de calibración que se están comparando, por lo que el método cumple con la condición de repetibilidad.
- 2) Si  $F_{Exp} > F_{Tab}$  se establece que la hipótesis nula no es valida, es decir, sí existe diferencia estadística significativa entre las curvas de calibración comparadas.

En la Tabla 3.3 se presentan los resultados obtenidos del análisis de varianza de las tres curvas de calibración presentadas anteriormente. Para las tres comparaciones se determinó que el valor  $F$  experimental es menor que el valor  $F$  de tabla, por lo que queda demostrado que no existe diferencia estadística significativa, estableciendo que el método de determinación de iones fluoruro en agua de consumo humano, cumple con la condición de repetibilidad.

Tabla 3. 3. Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración (1), (2) y (3).

Curva	Desviación ( $S_r$ )	Datos (n)	$F_{Exp}$	$F_{Tab}$	Conclusión
1	0.3047	13	$\frac{(S_{r2})^2}{(S_{r1})^2} = 1.05$	$F_{11,11,5\%} = 2.82$	$F_{Exp} < F_{Tab}$
2	0.3128	13			
2	0.3128	13	$\frac{(S_{r3})^2}{(S_{r2})^2} = 1.17$	$F_{11,11,5\%} = 2.82$	$F_{Exp} < F_{Tab}$
3	0.3383	13			
1	0.3047	13	$\frac{(S_{r3})^2}{(S_{r1})^2} = 1.23$	$F_{11,11,5\%} = 2.82$	$F_{Exp} < F_{Tab}$
3	0.3383	13			

### 3.3. REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO

La reproducibilidad del método se determinó elaborando curvas de calibración, en las condiciones descritas para la linealidad, variando el analista, de tal forma que cada analista preparó tres curvas de calibración por día, durante tres días, dentro de la misma semana, con el mismo equipo y en el mismo laboratorio. A los resultados se les aplica el análisis de varianza (ANOVA), utilizando la prueba  $F$  para determinar si existe o no diferencia estadística significativa con un nivel de significancia del 5%.

En la Tabla 3.4 se presentan los resultados del promedio del potencial de tres curvas de calibración obtenidas por cada analista durante el primer día.

Tabla 3. 4. Resultados de las curvas de calibración de los analistas 1 y 2 en el día 1.

C (mg/L)	Log de C	Analista (1) Curva (1) $\overline{mV}$	Analista (2) Curva (1) $\overline{mV}$
0.252	-0.599	181.67	182.00
0.502	-0.299	163.67	163.33
0.751	-0.124	153.00	152.00
0.999	0.000	144.67	143.67
1.98	0.297	126.67	127.00
2.94	0.468	116.67	116.33
3.88	0.589	109.33	109.00
4.81	0.682	103.33	103.00
5.71	0.757	98.67	99.00
6.60	0.820	95.33	95.00
7.47	0.873	91.33	92.00
8.33	0.921	88.33	88.67
9.17	0.962	86.33	86.00
		$a = 145.11$ $b = - 61.25$ $S_r = 0.3047$ $r = - 0.9999$	$a = 144.84$ $b = - 60.96$ $S_r = 0.4808$ $r = - 0.9998$

En la Figura 3.4 se presenta la gráfica de la curva de calibración (1) elaborada por el analista (2) mostrada en la tabla anterior. La gráfica de la curva de calibración (1) elaborada por el analista (1) se presentó en la Figura 3.1.

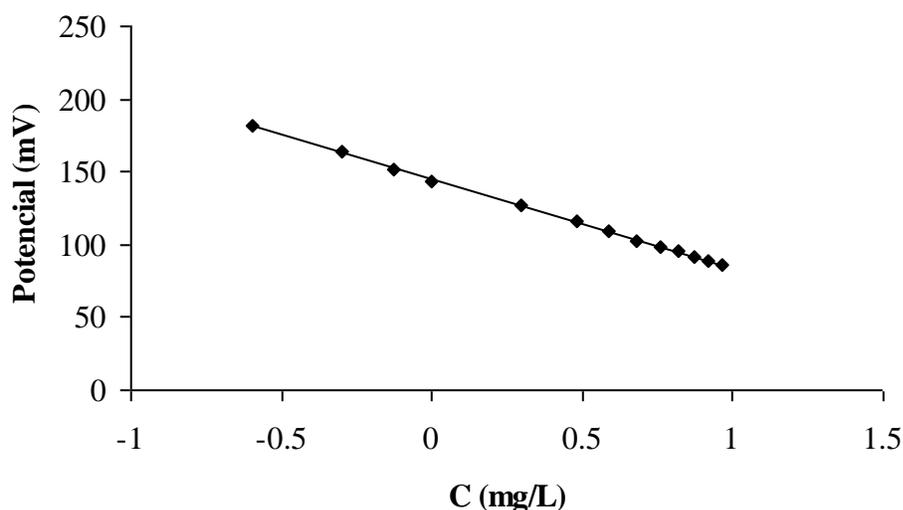


Figura 3. 4. Curva de calibración típica 1 elaborada por el analista (2) día (1).

En la Tabla 3.5 se presentan los resultados del análisis de varianza de las curvas de calibración elaboradas por el analista (1) y (2) durante tres días de la misma semana. Para las tres comparaciones el valor  $F$  experimental es menor que el valor  $F$  de tabla, por lo tanto no existe diferencia estadística significativa entre las curvas obtenidas por el analista (1) y (2). De esta forma se establece que el método cumple la condición de reproducibilidad en el intervalo de trabajo establecido con un nivel de significancia de 5%.

Tabla 3. 5. Resultados obtenidos del análisis de varianza de las curvas de calibración elaboradas por los analistas (1) y (2).

Analista/ Día	Desviación (S <sub>r</sub> )	Datos (n)	F <sub>Exp</sub>	F <sub>Tab</sub>	Conclusión
(1) / (1)	0.3047	13	$\frac{(S_{r2,1})^2}{(S_{r1,1})^2} = 2.49$	F <sub>11,11,5%</sub> = 2.82	F <sub>Exp</sub> < F <sub>Tab</sub>
(2) / (1)	0.4808	13			
(1) / (2)	0.3128	13	$\frac{(S_{r2,2})^2}{(S_{r1,2})^2} = 2.24$	F <sub>11,11,5%</sub> = 2.82	F <sub>Exp</sub> < F <sub>Tab</sub>
(2) / (2)	0.4679	13			
(1) / (3)	0.3383	13	$\frac{(S_{r2,3})^2}{(S_{r1,3})^2} = 1.24$	F <sub>11,11,5%</sub> = 2.82	F <sub>Exp</sub> < F <sub>Tab</sub>
(2) / (3)	0.3761	13			

### 3.4. LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección y de cuantificación se determinó de acuerdo a lo descrito en la sección 1.7.5.

Se utilizó como blanco agua destilada y TISAB (1:1); se introdujeron los electrodos, manteniendo una agitación suave y constante, se registró la lectura del potencial estable generado por el blanco. Posteriormente se procedió a adicionar cantidades conocidas de los estándares de fluoruro, como se indicó en la Tabla 2.2 midiendo el potencial después de cada adición; las adiciones se realizaron en el siguiente orden:

- 1) Se adicionaron cantidades conocidas del estándar de fluoruro de 1 mg/L, para obtener un rango de concentración de 0.0005 a 0.005 mg/L.

- 2) Se adicionaron cantidades conocidas del estándar de fluoruro de 10 mg/L, para obtener un rango de concentración de 0.01 a 0.25 mg/L.
- 3) Se hicieron adiciones del estándar de fluoruro de 100 mg/L para obtener la curva típica de calibración, la cual comprende valores de concentración entre 0.25 y 10 mg/L, cuya ecuación de la línea recta cumple con la ecuación de Nernst.
- 4) Finalmente se graficó el potencial contra el logaritmo de la concentración.

El LD se determinó como el punto de intercepción entre la zona lineal Nernstiana y la zona lineal que representa el potencial, cuando las adiciones del estándar de fluoruro de 1 mg/L son tan pequeñas que el electrodo no registra cambios del potencial. En la Figura 1.11 se indicó como límite de detección al punto “C”.

En la Tabla 3.6 se presentan los resultados de uno de los tres ensayos correspondientes a la determinación del límite de detección y el límite de linealidad realizados, siguiendo el procedimiento antes descrito; al graficar los resultados se consideró el efecto de dilución por lo que los valores teóricos de concentración fueron corregidos.

Tabla 3. 6. Resultados de la curva de calibración típica (1) para la determinación del LD y límite de linealidad.

C (mg/L)	Log de C	mV	C (mg/L)	Log de C	mV	C (mg/L)	Log de C	mV
0		240	0.045	-1.351	215	0.195	-0.709	181
0.0005	-3.301	240	0.050	-1.305	213	0.219	-0.659	179
0.001	-3.000	240	0.054	-1.264	211	0.243	-0.615	176
0.0015	-2.825	240	0.059	-1.226	209	0.484	-0.315	160
0.002	-2.700	240	0.064	-1.192	207	0.725	-0.140	150
0.003	-2.524	240	0.069	-1.160	205	0.964	-0.016	142
0.004	-2.400	240	0.074	-1.130	203	1.91	0.281	125
0.005	-2.303	239	0.079	-1.102	202	2.84	0.453	114
0.01	-2.002	237	0.084	-1.076	200	3.75	0.574	107
0.015	-1.827	234	0.089	-1.052	199	4.64	0.667	101
0.02	-1.702	230	0.094	-1.028	198	5.52	0.742	97
0.025	-1.605	227	0.099	-1.006	196	6.38	0.805	93
0.03	-1.526	222	0.123	-0.910	191	7.23	0.859	89
0.035	-1.459	220	0.147	-0.832	189	8.06	0.906	86
0.04	-1.402	218	0.171	-0.766	185			

La gráfica correspondiente a la Tabla 3.6 se muestra en la Figura 3.5, en la cual se observa claramente que la línea recta de calibración se vuelve curva a medida que disminuye la concentración de fluoruro hasta que finalmente se hace horizontal, debido a que no se verifica ningún cambio en la respuesta del electrodo en el rango de concentración de 0.0005 a 0.004 mg/L de fluoruro, como se puede consultar en la tabla anterior.

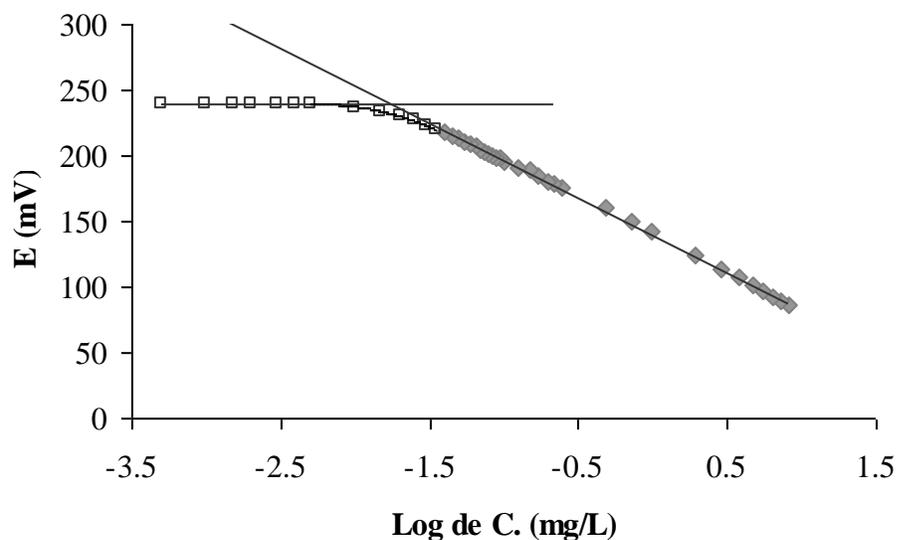


Figura 3. 5. Gráfica de la determinación del LD y límite de linealidad utilizando la curva de calibración típica.

La determinación del LD se efectuó según el método del punto de cruce. En la siguiente tabla se presentan los resultados obtenidos en los tres ensayos realizados para determinar el LD, utilizando la curva de calibración típica.

Tabla 3. 7. Resultados obtenidos en la determinación del LD.  
De acuerdo al método del punto de cruce.

Curva	LD mínimo	LD medio	Límite de detección (mg/L) (LD máximo)	Sd
1	1.77E-02	1.88E-02	2.03E-02	1.30E-03
2	1.94E-02	2.13E-02	2.14E-02	1.11E-03
3	1.67E-02	1.69E-02	1.78E-02	5.66E-04

El valor promedio del límite de detección obtenido es de  $1.98 \times 10^{-2}$  mg/L, considerando los valores de  $LD_{\text{máximo}}$  como lo sugiere la IUPAC<sup>(28)</sup>; este valor indica que esa es la mínima concentración de fluoruro que puede ser detectada, mas no cuantificada con exactitud utilizando el método 9214 de la (ASTM).

### 3.5. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación se determinó como el límite de linealidad, de acuerdo a la sección 1.7.5 y la Figura 1.11.

Para calcular el límite de linealidad se aplicó la prueba t-Student descrita en la sección 1.7.5 en el apartado del límite de cuantificación.

En la Tabla 3.8 se presenta una de las curvas de calibración obtenidas para la determinación del límite de linealidad, en la cual se incluyen la concentración, el logaritmo de la concentración, las lecturas del potencial experimental ( $E_{\text{Exp}}$ ), el potencial corregido utilizando el método de mínimos cuadrados, los valores  $\delta$  correspondientes a cada punto, calculados al aplicar la ecuación 15 y finalmente los valores  $/t/$  correspondientes a cada punto de calibración utilizando la ecuación 16.

Los resultados muestran que el valor  $/t/$  observado para el punto 30 es menor que el valor crítico de  $/t/$  (5%,  $30 - 1$ ) el cual es de 2.045, por lo que este punto sí se puede incluir en el cálculo de la ecuación de la línea recta de la curva de calibración; pero el valor  $/t/$  observado para el punto 31 de la curva es mayor que el valor crítico de  $/t/$ , por lo que el par (-1.459, 220) no debe ser incluido en el cálculo de la ecuación de línea recta de la curva de calibración.

De esta forma se considera que en esta curva en particular, el punto 30 correspondiente al par (-1.402, 218) es límite de linealidad, equivalente a una concentración de fluoruro de 0.04 mg/L. La ecuación de línea recta de la curva de calibración, calculada aplicando el método de mínimos cuadrados considerando  $n = 30$  presenta los siguientes valores:  $a = 139.66$ ;  $b = -56.862$  y  $r = -0.99956$ .

Tabla 3. 8. Resultados de la curva de calibración típica (1) para la determinación del límite de linealidad aplicando la prueba t-Student.

No	C(mg/L)	Log de C	E <sub>Exp</sub> (mV)	E <sub>Corregido</sub> (mV)	δ n = 30	t de Student
1	8.06	0.906	86	88.13	2.13	1.524
2	7.23	0.859	89	90.82	1.82	1.083
3	6.38	0.805	93	93.89	0.89	-0.221
4	5.52	0.742	97	97.47	0.47	-0.811
5	4.64	0.667	101	101.75	0.75	-0.425
6	3.75	0.574	107	107.03	0.03	-1.438
7	2.84	0.453	114	113.90	0.10	-1.334
8	1.91	0.281	125	123.68	1.32	0.385
9	0.964	-0.016	142	140.56	1.44	0.554
10	0.725	-0.140	150	147.60	2.40	1.898
11	0.484	-0.315	160	157.56	2.44	1.964
12	0.243	-0.615	176	174.61	1.39	0.476
13	0.219	-0.659	179	177.15	1.85	1.121
14	0.195	-0.709	181	180.00	1.00	-0.073
15	0.171	-0.766	185	183.24	1.76	1.000
16	0.147	-0.832	189	186.99	2.01	1.357
17	0.123	-0.910	191	191.43	0.43	-0.874
18	0.099	-1.006	196	196.88	0.88	-0.242
19	0.094	-1.028	198	198.13	0.13	-1.291
20	0.089	-1.052	199	199.46	0.46	-0.836
21	0.084	-1.076	200	200.85	0.85	-0.274
22	0.079	-1.102	202	202.34	0.34	-0.999
23	0.074	-1.130	203	203.92	0.92	-0.181
24	0.069	-1.160	205	205.61	0.61	-0.615
25	0.064	-1.192	207	207.43	0.43	-0.871
26	0.059	-1.226	209	209.39	0.39	-0.921
27	0.054	-1.264	211	211.53	0.53	-0.729
28	0.050	-1.305	213	213.87	0.87	-0.248
29	0.045	-1.351	215	216.46	1.46	0.581
<b>30</b>	<b>0.040</b>	<b>-1.402</b>	<b>218</b>	<b>219.36</b>	<b>1.36</b>	<b>0.435</b>
31	0.035	-1.459	220	222.64	2.64	2.244
					$n = 30$ $\bar{\delta} = 1.05$	/t/ 2.045

En la Figura 3.5 se presentan los resultados del potencial contra el logaritmo de la concentración de la curva de calibración típica (1), para la determinación del límite de linealidad. Los resultados de los tres ensayos efectuados para la determinación de este parámetro se presentan en la Tabla 3.9.

Tabla 3. 9. Resultados de la determinación del límite de linealidad aplicando la prueba t-Student.

Curva	Límite de linealidad (mg/L)	t de Student $t_{(95; n-1)}$
1	4.00E-02	$t_{(0.95; 29)} = 2.045$
2	3.00E-02	$t_{(0.95; 30)} = 2.042$
3	3.50E-02	$t_{(0.95; 31)} = 2.04$

El valor mayor del límite de linealidad obtenido es de 0.04 mg/L con un valor de probabilidad del 95 % según la t de Student; este valor indica que esa es la mínima concentración de fluoruro que se puede considerar para el cálculo de la ecuación de línea recta de la curva de calibración, útil para determinar cuantitativamente al ion fluoruro en una muestra de agua.

### 3.6. EXACTITUD DEL MÉTODO

Para la determinación de este parámetro se realizaron dos ensayos de porcentaje de recobro, para conocer la exactitud a diferentes niveles de concentración.

El primer ensayo se efectuó utilizando una curva de calibración con un rango de concentración de 0.05 a 8.91 mg/L de fluoruro; los valores de la ecuación de línea recta para esta curva fueron:  $b = -59.93$ ;  $a = 129.69$ , con un coeficiente de correlación lineal de -0.9998.

Para este ensayo se tomaron 10 alícuotas de una muestra de agua a las cuales se les determinó la concentración inicial y luego se procedió a adicionar una cantidad de estándar de fluoruro equivalente a 0.05 mg/L, para medir luego la concentración final de fluoruro en la muestra, con ambas concentraciones se procedió al cálculo del porcentaje de recobro, los cuales se muestran en la Tabla 3.10.

Tabla 3. 10. Resultados del ensayo (1) del % de recobro utilizando la curva de calibración típica.

No.	E Inicial (mV)	C Inicial (mg/L)	E Final (mV)	C Final (mg/L)	% de recobro
1	180	0.145	172	0.197	104.15
2	180	0.145	172	0.197	104.15
3	179	0.150	171.5	0.201	100.45
4	180	0.145	172	0.197	104.15
5	180	0.145	172	0.197	104.15
6	181	0.139	173	0.189	100.23
7	180	0.145	172	0.197	104.15
8	180	0.145	172	0.197	104.15
9	179.5	0.148	172	0.197	98.54
10	180	0.145	172	0.197	104.15

De acuerdo a los resultados presentados en la tabla anterior el promedio de porcentaje de recobro es 102.83 %, por lo que la exactitud del método de determinación de fluoruro a estos niveles de concentración es aceptable.

El segundo ensayo para la determinación del porcentaje de recobro se realizó utilizando una curva de calibración con un rango de concentración comprendido entre 0.25 y 9.17 mg/L de fluoruro, el cual fue utilizado para el cálculo de los parámetros de linealidad, repetibilidad y reproducibilidad.

Para la determinación del porcentaje de recobro en estas condiciones se tomaron diez alícuotas de una muestra de agua potable, a las que de forma individual se les determinó inicialmente la concentración de fluoruro y posteriormente se les adicionó una cantidad adecuada de estándar de fluoruro correspondiente a una concentración de 1.48 mg/L, registrando el cambio del potencial después de la adición, para determinar la concentración final.

En la Tabla 3.11 se presentan los resultados del segundo ensayo de la determinación del % de recobro; la curva de calibración utilizada para determinar las concentraciones iniciales y finales de cada alícuota se elaboró poco antes del ensayo, obteniéndose los siguientes resultados: el intercepto  $a = 140.74$ ; la pendiente  $b = -60.95$ ;  $r = -0.9999$ .

Tabla 3. 11. Resultados del ensayo (2) del % de recobro utilizando la curva de calibración típica.

No.	E <sub>Inicial</sub> (mV)	C <sub>Inicial</sub> (mg/L)	E <sub>Final</sub> (mV)	C <sub>Final</sub> (mg/L)	% de recobro
1	127	1.68	110	3.19	102.27
2	128	1.62	111	3.08	98.48
3	127	1.68	110	3.19	102.27
4	128	1.62	111	3.08	98.48
5	127	1.68	110	3.19	102.27
6	128	1.62	111	3.08	98.48
7	128	1.62	111	3.08	98.48
8	126	1.75	110	3.19	97.90
9	128	1.62	111	3.08	98.48
10	126	1.75	110	3.19	97.90

Los porcentajes de recobro se calcularon de acuerdo a la ecuación (21); los resultados obtenidos demuestran que la metodología utilizada posee una buena exactitud, ya que el recobro promedio es de 99.5 %.

### 3.7. PARÁMETROS DE VALIDACIÓN APLICANDO LA TÉCNICA DE GRAN

La técnica de Gran, fue aplicada para determinaciones de concentración de fluoruro fuera del rango de concentración comprendido por la curva de calibración típica.

A diferencia de la curva de calibración típica de un electrodo, la técnica de Gran grafica la potencia  $10^{(-E/b)}$  directamente contra la concentración del ion bajo investigación, por lo que se obtiene una recta con un coeficiente de correlación lineal aceptable, aún a concentraciones bajas cerca del LD de la curva de calibración típica.

Es por ello que se consideró necesario conocer algunos parámetros de validación del método aplicando la técnica de Gran como: la linealidad, el LD, el LC y la exactitud, los cuales se reportan a continuación

#### 3.7.1. LINEALIDAD

En Tabla 3.12 se presentan los datos para la construcción de la gráfica de Gran como: la concentración y la potencia  $10^{(-E/b)}$  correspondientes a cada potencial.

Los coeficientes de correlación ( $r$ ) de las curvas de calibración aplicando la técnica de Gran, se calcularon a través de la ecuación 14, obteniéndose valores altos de  $r$ , lo cual indica que existe relación lineal entre la potencia  $10^{(-E/b)}$  y la concentración del analito dentro del rango de concentración de fluoruro de 0.05 mg/L a 8.91 mg/L.

En la Figura 3.6 se presentan los resultados de la potencia  $10^{(-E/59.94)}$  contra la concentración de fluoruro de la curva (1).

Tabla 3. 12. Resultados de las curvas de calibración (1), (2) y (3) aplicando la técnica de Gran.

C (mg/L)	mV <sub>1</sub>	mV <sub>2</sub>	mV <sub>3</sub>	10 <sup>(-E/59.94)</sup> (1)	10 <sup>(-E/60.174)</sup> (2)	10 <sup>(-E/61.54)</sup> (3)
0.05	205	204	211.5	3.81E-04	4.07E-04	3.66E-04
0.074	197	195	203	5.17E-04	5.75E-04	5.03E-04
0.1	191	190	195.5	6.51E-04	6.96E-04	6.66E-04
0.125	185	184	189	8.20E-04	8.75E-04	8.49E-04
0.148	180	180	185	9.94E-04	1.02E-03	9.86E-04
0.196	173	173	177.5	1.30E-03	1.33E-03	1.31E-03
0.244	166	166	171	1.70E-03	1.74E-03	1.66E-03
0.487	149	149	155	3.27E-03	3.34E-03	3.03E-03
0.728	138	139	143.5	4.99E-03	4.90E-03	4.66E-03
0.969	130	132	135.5	6.78E-03	6.40E-03	6.28E-03
1.92	113	113	117	1.30E-02	1.32E-02	1.26E-02
2.85	102	103	107	1.99E-02	1.94E-02	1.83E-02
3.76	95	96	99.5	2.60E-02	2.54E-02	2.42E-02
4.66	90	90	93.5	3.15E-02	3.19E-02	3.02E-02
5.54	85	85	88.5	3.82E-02	3.87E-02	3.65E-02
6.41	81	82	85	4.45E-02	4.34E-02	4.16E-02
7.26	78	78	81.5	5.00E-02	5.06E-02	4.74E-02
8.09	75	75	78.5	5.61E-02	5.67E-02	5.30E-02
8.91	73	73	76	6.06E-02	6.12E-02	5.82E-02
				$r = 0.9999$ $b = 0.0069$ $a = 6 \text{ E } -6$	$r = 0.9998$ $b = 0.0069$ $a = 7 \text{ E } -5$	$r = 0.9999$ $b = 0.0065$ $a = 4 \text{ E } -5$

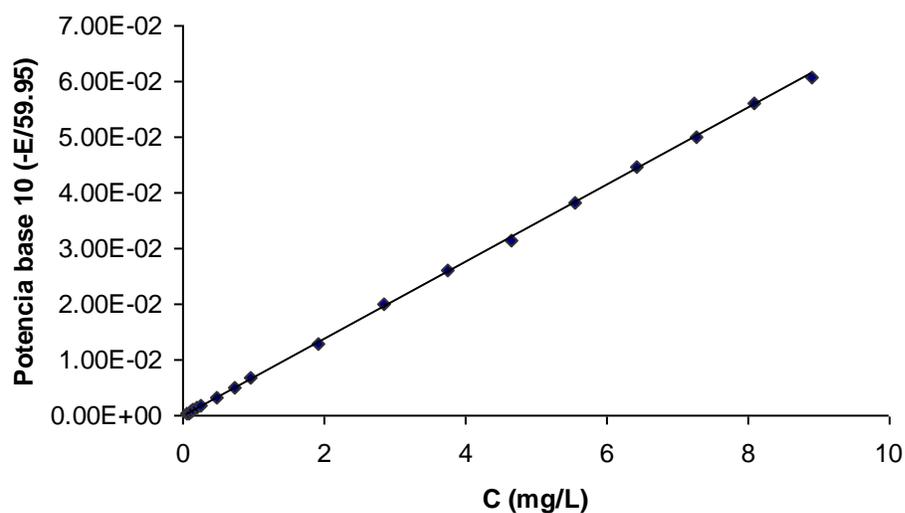


Figura 3. 6. Curva de calibración (1) aplicando la técnica de Gran.

### 3.7.2. LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Los límites de detección y de cuantificación se determinaron considerando los criterios de LD y LC enunciados en la sección 1.7.5 y de acuerdo al procedimiento descrito en la sección 2.4.2.

Las ecuaciones de línea recta de las curvas de calibración aplicando la técnica de Gran, se obtuvieron con el método de mínimos cuadrados; el rango de concentración de fluoruro utilizado fue de 0.025 a 8.91 mg/L. En la Tabla 3.13 se muestran los resultados de una de las curvas de calibración para la determinación del LC y el LD.

Tabla 3. 13. Curva de calibración (1) para la determinación del LD y el LC aplicando la técnica de Gran.

No.	C (mg/L)	mV	$10^{(-E / 59.93)}$	No.	C (mg/L)	mV	$10^{(-E / 59.93)}$
1	0.025	215	2.59E-04	12	1.92	113	6.77E-03
2	0.05	205	2.59E-04	13	2.85	102	1.30E-02
3	0.074	197	3.80E-04	14	3.76	95	1.99E-02
4	0.1	191	5.16E-04	15	4.66	90	2.60E-02
5	0.125	185	6.50E-04	16	5.54	85	3.15E-02
6	0.148	180	8.19E-04	17	6.41	81	3.82E-02
7	0.196	173	9.92E-04	18	7.26	78	4.45E-02
8	0.244	166	1.30E-03	19	8.09	75	4.99E-02
9	0.487	149	1.70E-03	20	8.91	73	6.05E-02
10	0.728	138	3.26E-03	$b = 0.0069 \quad a = 1 \text{ E } -5 \quad r = 0.9999$			
11	0.969	130	4.98E-03				

En la siguiente tabla se reportan las ecuaciones de línea recta, las concentraciones de los blancos asignando a  $y = 0$ , así como la desviación de la concentración de estos; los valores de LD se obtuvieron aplicando la ecuación 17, mientras que los valores de LC se obtuvieron considerando una desviación relativa del 10%, aplicando la ecuación 18.

Tabla 3. 14. Resultados de la determinación de LC y LD con la técnica de Gran

Curva	Ecuación de línea recta	C (mg/L) Sd = 4.98 E -3	LC (mg/L)	LD (mg/L)
1	$y = 0.0069x + 1 E -5$	1.45E-03	0.043	0.016
2	$y = 0.0069x - 6 E -5$	8.70E-03	0.051	0.023
3	$Y = 0.0071X - 1 E -4$	1.41E-02	0.056	0.028
4	$Y = 0.0066X - 3 E -5$	4.55E-03	0.047	0.019
5	$Y = 0.0065X - 3 E -5$	4.62E-03	0.047	0.019
6	$y = 0.0065x - 4 E -05$	6.15E-03	0.048	0.020
7	$Y = 0.0065X + 4 E -6$	6.15E-04	0.043	0.015
8	$Y = 0.006 - 3 E -5$	5.00E-03	0.047	0.019
9	$Y = 0.0065X - 1 E -4$	1.54E-03	0.044	0.016
10	$Y = 0.0068X - 1 E -4$	1.47E-02	0.057	0.029

De acuerdo a los resultados presentados en el cuadro anterior se puede establecer que aplicando la técnica de Gran, el método de determinación de fluoruro en aguas de consumo humano, presenta un LD promedio de 0.02 mg/L y un LC promedio de 0.048 mg/L.

### 3.7.3. EXACTITUD

La determinación de la exactitud aplicando la técnica de Gran se realizó utilizando una muestra de agua, de la cual se tomaron diez alícuotas a las que se les determinó inicialmente su concentración y luego se procedió a adicionar un volumen de estándar de fluoruro correspondiente a 0.05 mg/L, para medir luego la concentración final de fluoruro en la muestra, con ambas concentraciones se procedió al cálculo del porcentaje de recobro, los cuales se muestran en la Tabla 3.15.

Para la determinación de las concentraciones de fluoruro se preparó una curva de calibración antes del ensayo, con un rango de concentración de 0.025 a 8.91 mg/L, presentando los siguientes resultados  $b = 0.0069$ ;  $a = 1.0 \times 10^{-5}$ ;  $r = 0.9999$ .

Tabla 3. 15. Resultados del % de recobro Aplicando la técnica de Gran.

No.	mV	$10^{(-E/ 59.95)}$	Concentración Calculada (mg/L)	% de recobro
1	208	3.39E-04	0.048	95.39
2	207	3.52E-04	0.050	99.24
3	206.5	3.59E-04	0.051	101.22
4	207	3.52E-04	0.050	99.24
5	207	3.52E-04	0.050	99.24
6	207.5	3.46E-04	0.049	97.30
7	207	3.52E-04	0.050	99.24
8	206.5	3.59E-04	0.051	101.22
9	207	3.52E-04	0.050	99.24
10	207	3.52E-04	0.050	99.24

El promedio del porcentaje de recobro es de 99.06 %, lo cual indica que aún determinaciones de concentración de fluoruro de 0.05 mg/L pueden ser hechas con buen grado de exactitud.

### 3.8. CUANTIFICACIÓN DE FLUORURO EN LAS MUESTRAS DE AGUA

En su totalidad fueron 12 municipios del departamento de Usulután los muestreados; en la toma y conservación de las muestras de agua para la determinación de fluoruro se utilizaron frascos de polietileno de 400 mL; durante la recolección las muestras se mantuvieron en una hielera y posteriormente se refrigeraron a una temperatura de 4 °C para su posterior análisis, el cual se realizó dentro de los cinco días posteriores a la toma de la muestra; siendo el tiempo máximo de conservación recomendado de 28 días <sup>(22)</sup>. La cuantificación de fluoruro en las muestras de aguas se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.

Además, a cada muestra se le determinaron dos parámetros muy importantes considerados en el control de calidad del agua potable: la conductividad y el pH.

La conductividad brindó información general acerca de la cantidad de iones presente en el agua analizada.

Las medidas de pH de las muestras de agua fueron necesarias, debido a que el fluoruro forma complejos con el  $\text{Fe}^{3+}$  o el  $\text{Al}^{3+}$  y la formación de estos depende del pH de la solución. Sin embargo, el TISAB destruye los complejos metal-fluoruro y mantiene el pH de las muestras entre 5 y 5.5 lo cual reduce al mínimo la formación de complejos de fluoruro.

Los valores recomendados de pH y conductividad por la norma salvadoreña obligatoria para la calidad del agua potable son: para el pH de 6.0 a 8.5 y la conductividad no mayor de 500  $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 25 °C.

Se analizaron muestras de fuentes de agua potable, pozo artesanal y río; en cada muestra la determinación de fluoruro se realizó por triplicado, proporcionando el promedio de estas medidas y la desviación estándar relativa.

También se seleccionaron muestras de agua de cada municipio, a las cuales se les determinó la concentración de hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ), de acuerdo a los procedimientos descritos en las secciones 2.1.3 y 2.1.2 correspondientemente. Es de hacer notar, de acuerdo a los resultados obtenidos, que en ninguna de las muestras ensayadas las concentraciones de hierro ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y aluminio ( $\text{Al}^{3+}$ ) alcanzaron los niveles de interferencia, indicados en la Tabla 1.2 de la sección 1.6.5.

De acuerdo a los niveles de concentración de fluoruro en las muestras de agua, se utilizó la curva de calibración típica o la técnica de Gran para su cuantificación.

La curva de calibración típica fue aplicada para determinar concentraciones de fluoruro de 0.25 mg/L o mayores. La concentración se calculó con la ecuación de línea recta de la curva de calibración, elaborada el día del análisis de la muestra.

La técnica de Gran se aplicó para determinar niveles de concentración de fluoruro de 0.25 mg/L o menores. La concentración se calculó con la ecuación de línea recta de la curva de Gran, elaborada el día del análisis de la muestra.

Los resultados de la cuantificación de fluoruro, pH y conductividad de las muestras de agua, se presentan agrupados en tablas organizadas por municipios <sup>(32)</sup>. Para cada municipio se han elaborado dos tablas. La primera tabla presenta la concentración de fluoruro encontrada en las muestras de agua del municipio indicado; la información se presenta en el siguiente orden:

- 1) Lugar del muestreo: colonia, cantón o caserío; así como un punto de referencia de la zona exacta donde se tomo la muestra.
- 2) Fecha del muestreo.
- 3) Fuente de agua: potable (grifo), pozo artesanal o río.
- 4) Resultados de las tres medidas de concentración de fluoruro encontradas en cada muestra de agua.
- 5) Promedio de las concentraciones de fluoruro, determinado para cada una de las muestras de agua, presentados en orden descendente.
- 6) Desviación estándar relativa (DER).

En la segunda tabla se presentan los resultados de las medidas de conductividad y pH de cada muestra de agua recolectada en el municipio indicado y otros datos en el siguiente orden:

- 1) Lugar del muestreo: colonia, cantón o caserío; así como un punto de referencia de la zona exacta donde se tomo la muestra.
- 2) Fuente de agua: potable, pozo artesanal o río.

- 3) Conductividad de las muestras de agua.
- 4) pH de las muestras de agua ordenado en forma descendente.

Finalmente se presenta la clasificación de los tipos de fluorosis dental, diagnosticados por dos profesionales en odontología, en la evaluación dental de habitantes de las zonas que presentaron concentraciones de fluoruro iguales o superiores a 1.5 mg/L, valor máximo establecido por la norma salvadoreña para la calidad del agua potable.

Tabla 3. 16. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Ozatlán

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Ozatlán	3/07/03	Tanque principal	0.497	0.477	0.457	0.477	4.16
Ozatlán (parque)	5/04/03	Grifo	0.387	0.397	0.417	0.400	3.15
Ozatlán (calle al cementerio)	3/07/03	Grifo	0.421	0.403	0.403	0.409	2.44
Ozatlán (calle al Calvario)	5/04/03	Pozo artesanal	0.397	0.377	0.387	0.387	2.07
Cantón El Delirio	5/04/03	Pozo artesanal	0.136	0.126	0.131	0.131	3.09
Cantón La Breña	5/04/03	Tanque público	0.136	0.126	0.131	0.131	3.09
Cantón Las Trancas	5/04/03	Tanque público	0.107	0.116	0.112	0.112	3.36

Tabla 3. 17. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Ozatlán

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Cantón Las Trancas	Tanque público	918.67	7.30
Cantón El Delirio	Pozo artesanal	192.4	6.98
Ozatlán (calle al cementerio)	Grifo	198.20	6.97
Cantón La Breña	Tanque público	922.67	6.78
Ozatlán (parque)	Grifo	839.00	6.66
Ozatlán (calle al Calvario)	Pozo artesanal	804.00	6.60
Ozatlán (calle al cementerio)	Tanque principal	320.00	6.55

Tabla 3. 18. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Concepción Batres

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Barrio Concepción	21/05/03	Grifo	0.227	0.227	0.233	0.229	1.57
Concepción Batres (parque)	21/05/03	Grifo	0.227	0.215	0.221	0.221	2.74

Tabla 3. 19. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Concepción Batres

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Concepción Batres(parque)	Grifo	355	7.67
Barrio Concepción	Grifo	355	7.65

Tabla 3. 20. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Ereguayquín

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Ereguayquín (Centro Escolar)	21/05/03	Grifo	0.280	0.280	0.287	0.282	1.48
Ereguayquín. Barrio La Paz	21/05/03	Grifo	0.280	0.280	0.287	0.282	1.48
Cantón Los encuentros. Caserío Santa Lucía	21/05/03	Pozo artesanal	0.252	0.252	0.246	0.250	1.52

Tabla 3. 21. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Ereguayquín

Lugar	Fuente	μS/cm	pH
Cantón Los encuentros. Caserío Santa Lucía	Pozo artesanal	300.00	7.2
Ereguayquín (Centro Escolar)	Grifo	310.00	7.11
Ereguayquín. Barrio La Paz	Grifo	360.00	6.88

Tabla 3. 22. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de San Buenaventura

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
San Buenaventura (3ª calle poniente y 2ª avenida norte)	14/05/03	Grifo	0.182	0.193	0.187	0.187	2.91
San Buenaventura (Centro Escolar)	14/05/03	Grifo	0.193	0.182	0.187	0.187	2.91
Cantón El Semillero. Caserío San Cristóbal (entrada)	14/05/03	Grifo	0.171	0.161	0.161	0.164	3.54
Cantón El Semillero. Caserío San Cristóbal (casa frente al Centro escolar)	14/05/03	Grifo	0.142	0.133	0.142	0.139	3.73
Cantón el Semillero (calle principal)	14/05/03	Grifo	0.133	0.124	0.129	0.129	3.36
Cantón El Semillero (desvío)	14/05/03	Grifo	0.133	0.124	0.129	0.129	3.36
Cantón El Espino	14/05/03	Grifo	0.100	0.100	0.097	0.099	2.18
Cantón Las Charcas	14/05/03	Grifo	0.100	0.100	0.097	0.099	2.18

Tabla 3. 23. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de San Buenaventura

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Cantón El Semillero. Caserío San Cristóbal (casa frente al Centro escolar)	Grifo	302.0	7.75
Cantón Las Charcas	Grifo	277.5	7.73
Cantón El Semillero Caserío San Cristóbal (entrada)	Grifo	236.0	7.47
San Buenaventura (Centro Escolar)	Grifo	252.0	7.44
San Buenaventura (3 <sup>a</sup> calle poniente y 2 <sup>a</sup> avenida norte)	Grifo	286.0	7.44
Cantón El Espino	Grifo	260.0	7.38
Cantón el Semillero (calle principal)	Grifo	292.5	7.2
Cantón El Semillero (desvío)	Grifo	291.5	7.06

Tabla 3. 24. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Nueva Granada

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Nueva Granada	15/05/03	Grifo	0.204	0.204	0.210	0.206	1.64
Cantón La Isleta	15/05/03	Grifo	0.193	0.193	0.198	0.194	1.67
Cantón La Palomilla	15/05/03	Grifo	0.093	0.100	0.100	0.098	4.37
Cantón La Palomilla. Gualchito	15/05/03	Grifo	0.079	0.079	0.072	0.077	4.96

Tabla 3. 25. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Nueva Granada

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Cantón La Isleta	Grifo	227.5	7.76
Nueva Granada	Grifo	236.0	7.53
Cantón La Palomilla	Grifo	185.5	7.52
Cantón La Palomilla. Gualchito	Grifo	215.5	7.1

Tabla 3. 26. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de El Triunfo

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
El triunfo (calle principal)	15/05/03	Grifo	0.116	0.116	0.120	0.117	2.02

Tabla 3. 27. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de El Triunfo

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
El Triunfo (calle principal)	Grifo	238	6.85

Tabla 3. 28. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Santiago de María

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Santiago de María (centro)	24/05/03	Grifo	0.214	0.200	0.200	0.205	3.77
Cantón Cerro Verde	24/05/03	Grifo	0.188	0.188	0.181	0.186	1.95
Cantón Las Playas. Caserío Las Playitas	24/05/03	Grifo	0.175	0.175	0.194	0.181	5.97
Cantón Las Playas. Urbanización Santa Gema	24/05/03	Grifo	0.175	0.163	0.175	0.171	4.02
Santiago de María (mercado)	24/05/03	Grifo	0.152	0.152	0.157	0.154	2.13
Santiago de María. Barrio La Parroquia	24/05/03	Grifo	0.141	0.141	0.146	0.143	2.21

Tabla 3. 29. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Santiago de María

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Santiago de María. Barrio La Parroquia	Grifo	493.50	7.33
Santiago de María (mercado)	Grifo	433.50	7.31
Cantón Cerro Verde	Grifo	423.50	7.00
Cantón Las Playas. Urbanización Santa Gema	Grifo	475.00	6.95
Santiago de María (centro)	Grifo	461.50	6.94
Cantón Las Playas. Caserío Las Playitas	Grifo	437.00	6.91

Tabla 3. 30. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de California

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Cantón El Pozón	24/05/03	Grifo	0.200	0.188	0.200	0.196	3.79
Cantón El Pozón (Centro Escolar)	24/05/03	Grifo	0.188	0.188	0.194	0.190	1.94
California ( calle principal)	24/05/03	Grifo	0.188	0.188	0.181	0.186	1.95
California (casa frente a Unidad de Salud)	24/05/03	Grifo	0.175	0.175	0.181	0.177	2.00

Tabla 3. 31. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de California

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
California ( calle principal)	Grifo	436.00	8.08
California (casa frente a Unidad de Salud)	Grifo	436.00	7.49
Cantón El Pozón	Grifo	463.50	7.30
Cantón El Pozón (Centro Escolar)	Grifo	435.50	7.04

Tabla 3. 32. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de San Francisco Javier

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
San Francisco Javier (calle a San Agustín)	24/05/03	Grifo	0.083	0.083	0.087	0.084	2.97
Cantón Los Hornos	24/05/03	Grifo	0.074	0.074	0.079	0.076	3.18
San. Francisco Javier	24/05/03	Grifo	0.074	0.074	0.079	0.076	3.18

Tabla 3. 33. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de San Francisco Javier

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
San Francisco Javier (calle a San Agustín)	Grifo	201.00	7.54
San. Francisco Javier	Grifo	211.00	7.36
Cantón Los Hornos	Grifo	202.00	7.27

Tabla 3. 34. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de San Agustín

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
San Agustín	24/05/03	Grifo	0.083	0.083	0.087	0.084	2.97
Cantón Los Planes	24/05/03	Grifo	0.074	0.074	0.079	0.076	3.18

Tabla 3. 35. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de San Agustín

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Cantón Los Planes	Grifo	262.00	7.36
San Agustín	Grifo	236.50	7.35

Tabla 3. 36. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Usulután

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Usulután. Centro	22/03/03	Grifo	1.23	1.23	1.28	1.24	2.25
Cantón Buena Vista. Colonia Río Rosa	21/05/03	Grifo	1.21	1.21	1.23	1.22	1.12
Usulután. Colonia Parra	6/03/03	Grifo	1.2	1.2	1.25	1.22	2.18
Usulután. Colonia Cruz	6/03/03	Grifo	1.2	1.25	1.2	1.22	2.18
Usulután. Centro (Terminal de buses)	22/03/03	Grifo	1.23	1.23	1.18	1.21	2.22
Cantón Buena Vista. Barrio el Molino	21/05/03	Grifo	1.21	1.21	1.19	1.2	1.11
Cantón El Ojushte (Centro Escolar)	30/06/03	Pozo artesanal	1.21	1.16	1.21	1.19	2.21

Tabla 3. 37. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Usulután

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Cantón La Presa	30/06/03	Pozo artesanal	0.562	0.586	0.562	0.57	2.39
Cantón El Ojushte	30/06/03	Pozo artesanal	0.467	0.45	0.45	0.455	2.19
Cantón El Ojushte	30/06/03	Tanque público	0.433	0.45	0.45	0.444	2.16
Cantón Ojo de Agua (casa junto al Centro escolar)	22/03/03	Pozo artesanal	0.425	0.425	0.444	0.431	2.49
Cantón Ojo de Agua. San Jaime	22/03/03	Pozo artesanal (2)	0.313	0.313	0.327	0.318	2.58
Cantón Ojo de Agua. San Jaime	22/03/03	Pozo artesanal (1)	0.300	0.274	0.286	0.287	4.5
Cantón El Ojushte (calle principal)	30/06/03	Grifo	0.257	0.266	0.266	0.263	2.13
Cantón Las Colinas	30/06/03	Grifo	0.25	0.25	0.24	0.25	2.52

Tabla 3. 38. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Usulután

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Cantón Ojo de Agua. San Jaime	Pozo artesanal (1)	816.0	7.16
Cantón Ojo de Agua. San Jaime	Pozo artesanal (2)	833.0	7.45
Cantón El Ojushte	Pozo artesanal	650.0	7.28
Cantón El Ojushte (calle principal)	Grifo	322.5	7.25
Cantón El Ojushte	Tanque público	294.0	7.19
Ojo de Agua (casa junto al Centro escolar)	Pozo artesanal	218.5	7.10
Cantón El Ojushte (Centro Escolar)	Pozo artesanal	451.5	6.96

Tabla 3. 39. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Usulután

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Cantón Buena Vista. Barrio el Molino	Grifo	490.5	6.90
Cantón Las Colinas	Grifo	453.5	6.88
Usulután. Colonia Cruz	Grifo	215.0	6.88
Usulután. Centro	Grifo	212.5	6.87
Usulután. Colonia Parra	Grifo	213.0	6.85
Usulután. Centro (Terminal de buses)	Grifo	327.5	6.76
Cantón Buena Vista. Colonia Río Rosa	Grifo	488.5	6.71
Cantón La Presa	Pozo artesanal	614.0	6.69

Tabla 3. 40. Resultados del análisis de muestras de agua para la determinación de fluoruro. Municipio de Tecapán

Lugar	Fecha	Fuente	Concentraciones de Fluoruro (mg/L)			Promedio de Concentración	DER
			Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3		
Hacienda San Mauricio	30/06/03	río	3.42	3.55	3.42	3.46	2.23
Hacienda San Mauricio	30/06/03	Tanque	3.42	3.29	3.42	3.37	2.21
Hacienda San Mauricio	10/07/03	Grifo público	3.16	3.29	3.29	3.25	2.27
El Paso del Gualache (calle a Santiago de María)	30/06/03	Grifo (2)	3.16	3.05	3.05	3.09	2.23
El Paso del Gualache	24/05/03	Grifo (1)	2.93	3.05	2.93	2.97	2.23
Tecapán	30/06/03	Grifo (1)	0.326	0.313	0.326	0.322	2.46
Tecapán (casa de la cultura)	30/06/03	Grifo	0.313	0.326	0.313	0.317	2.49
Tecapán	30/06/03	Grifo (2)	0.313	0.326	0.313	0.317	2.49

Tabla 3. 41. Resultados de la determinación de conductividad y pH. Municipio de Tecapán

Lugar	Fuente	$\mu\text{S/cm}$	pH
Tecapán	Grifo (2)	447.00	8.15
Tecapán (casa de la cultura)	Grifo	445.00	7.71
Hacienda San Mauricio	Grifo público	603.70	7.71
El Paso del Gualache (calle a Santiago de María)	Grifo (2)	619.67	6.99
Hacienda San Mauricio	río	636.67	6.78
El Paso del Gualache	Grifo (1)	622.00	6.77
Tecapán	Grifo (1)	451.67	6.72
Hacienda. San Mauricio	Tanque	646.00	6.35

### 3.9. CLASIFICACIÓN DEL TIPO DE FLUOROSIS DENTAL DIAGNOSTICADA

Los análisis de las muestras de agua recolectadas, utilizando el método de determinación de fluoruros, indican que la concentración de fluoruro encontrada en la Hacienda San Mauricio, ubicada en el cantón El Paso del Gualache, del municipio de Tecapán varía de 2.97 a 3.46 mg/L.

Las evaluaciones dentales de algunos habitantes de la hacienda San Mauricio, realizadas por dos doctores en cirugía dental de la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador, indican el desarrollo de fluorosis dental en esta zona.

Los diferentes tipos de fluorosis dental diagnosticados por los profesionales en odontología, de acuerdo a la clasificación de Dean, se indican en las siguientes figuras.



Figura 3. 7. Clasificación Severa.

Niño de doce años de edad



Figura 3. 8. Clasificación Severa.  
Vista más cercana de la Figura 3.9.



Figura 3. 9. Clasificación Severa.  
Genero femenino 20 años de edad.



Figura 3. 10. Clasificación severa para dientes superiores y clasificación moderada para los dientes inferiores.

Niño de trece años de edad.



Figura 3. 11. Clasificación Leve.

Genero masculino 14 años de edad.



Figura 3. 12. Clasificación Muy Leve.  
Niño de siete años de edad.

## **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **CONCLUSIONES**

El trabajo experimental de esta investigación se divide en dos partes principales. La primera, involucra la validación del método de determinación potenciométrica de fluoruro en muestras acuosas con electro selectivo de iones <sup>(21)</sup>; la segunda, consiste en la aplicación de este método, para determinar la concentración de fluoruro en las muestras de agua recolectadas en los diferentes municipios del departamento de Usulután y la correlación de estos resultados con la evaluación dental de algunos habitantes de las zonas cuyas fuentes de agua presentaron concentraciones de fluoruro de 1.5 mg/L o mayores. Los resultados obtenidos permiten concluir lo siguiente:

- 1) Se demostró que el método utilizado para la determinación de fluoruro cumple con el parámetro de linealidad en las condiciones de trabajo empleadas, en un rango de concentración de 0.25 a 9.17 mg/L utilizando curvas de calibración típica, así como aplicando la técnica de Gran en un rango de concentración de 0.05 a 8.91 mg/L.

- 2) En la determinación de la precisión, la cual se expresó como repetibilidad y reproducibilidad, se estableció que el método es preciso, tanto al ser aplicado por el mismo analista como por diferente analista.
- 3) Los límites de detección y de linealidad, utilizando la curva de calibración típica indican que el método detecta concentraciones de fluoruro a partir de  $1.78 \times 10^{-2}$  mg/L con una desviación estándar de  $5.6 \times 10^{-4}$  y el mayor límite de linealidad determinado fue de 0.04 mg/L, lo cual indica que el método es capaz de realizar determinaciones cuantitativas a estos niveles de concentración, con un grado de significación del 5 % de acuerdo a la t de Student.
- 4) Los límites promedio de detección y de cuantificación del método de determinación de fluoruro empleado, aplicando la técnica de Gran fueron de 0.02 mg/L y de 0.048 mg/L correspondientemente.
- 5) El porcentaje de recobro, utilizando la curva de calibración típica, se efectuó con dos muestras de agua potable a diferentes niveles de concentración; presentando un promedio de 102.83 % para cuantificaciones de fluoruro a partir de 0.14 mg/L; mientras que para cuantificaciones de fluoruro a partir de 1.62 mg/L, se observó un promedio de 99.5 %; suficiente para establecer que el método es exacto a los niveles de concentración ya mencionados.
- 6) El porcentaje de recobro obtenido con la técnica de Gran, presenta un promedio de 99.06 %, para determinaciones de fluoruro a partir de 0.05 mg/L, lo cual demuestra que la exactitud del método 9214 de la ASTM, es aceptable para realizar cuantificaciones de fluoruro a niveles bajos de concentración.
- 7) La determinación del pH en las muestras de agua, indican que estas se encuentran dentro de la norma salvadoreña obligatoria para la calidad del agua potable.
- 8) El análisis de conductividad de las muestras de agua indican que el 79.4 % de un total de 63 muestras, cumplen con la norma salvadoreña obligatoria para la calidad del agua potable.
- 9) El 91.7 % de los municipios muestreados, no exceden el valor máximo de concentración de fluoruro establecido por la norma salvadoreña para la calidad del agua potable, excepto el 8.3 % correspondiente al municipio de Tecapán.

- 10) La mayor concentración de fluoruro se encontró en la Hacienda San Mauricio del cantón El Paso del Gualache del municipio de Tecapán, cuyo rango de concentración de acuerdo a los puntos muestreados del cantón fue de 2.97 a 3.46 mg/L.
- 11) Los municipios que presentaron en algunas de sus zonas fuentes de agua clasificadas como alto contenido de fluoruro, fueron Usulután y Tecapán, correspondiente al 16.7 % del total de los municipios muestreados.
- 12) El 19.0 % de un total de 63 muestras de agua analizadas, presentaron concentraciones altas de fluoruro.
- 13) Se confirmó de acuerdo a la correlación entre la concentración de fluoruro y la evaluación dental, que los habitantes de la hacienda San Mauricio y el cantón el Paso del Gualache han desarrollado fluorosis dental, debido al exceso de fluoruro presente de forma natural en la fuente de agua que abastece a esa zona y que se encuentra ubicada exactamente en la Hacienda San Mauricio.
- 14) Los tipos de fluorosis dental diagnosticados por los profesionales en odontología, van desde fluorosis dental leve hasta fluorosis dental grave de acuerdo al índice de Dean.
- 15) La máxima concentración de fluoruro encontrada en los diferentes puntos del municipio de Usulután, fue de 1.24 mg/L; sin embargo, aunque este valor no sobrepasa el valor máximo de fluoruro permisible por la norma salvadoreña para la calidad del agua potable, se observó la presencia de ligeras manchas blancas en algunos niños del Centro Escolar El Ojushte, el cual cuenta con un pozo artesanal cuyo análisis de agua indicó una concentración de fluoruro de 1.19 mg/L, por lo que no se descarta la posibilidad del desarrollo de fluorosis leve o ligera en esta zona.

## RECOMENDACIONES

- 1) Realizar una investigación que involucre la participación de la Escuela de Química y la Facultad de Odontología de la Universidad de El Salvador; considerando zonas de Usulután, en las que se encontraron concentraciones de fluoruro inferiores al valor máximo establecido por la norma salvadoreña para la calidad del agua potable, con el objetivo de determinar, si aún niveles bajos de concentración de acuerdo a la norma, pueden desarrollar algún tipo de fluorosis dental, en los residentes de esas zonas.
- 2) En zonas donde se localizaron fuentes de agua con concentraciones de fluoruro en forma natural superiores a la norma, proponer alternativas, para evitar que los habitantes sigan consumiendo agua proveniente de esas fuentes. Las alternativas podrían ser:
  - 2.1. Impartir charlas a los habitantes, acerca de los daños a los que pueden estar expuestos al consumir agua con concentraciones de fluoruro superiores a 1.5 mg/L
  - 2.2. Cuando el agua sea utilizada para beber, proponer el uso de otras fuentes de agua, cercanas a la zona que no contengan concentraciones de fluoruro mayores de 1.5 mg/L.
  - 2.3. Remover el exceso de fluoruro en el agua de beber. Proponiendo un método de defluoración adecuado a las comunidades.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1) Ministerio de Salud y Asistencia Social; Organización Panamericana de la Salud; Administración Nacional de Acueductos y Alcantarillados. 2001. *Estudio de Concentraciones de Flúor en Fuentes de Agua de Consumo Humano en El Salvador*. Ministerio de Salud y Asistencia Social. El Salvador.
- 2) Gómez S, Santiago. 2001. *Fluorterapia en Odontología para el Niño y el Adulto*. 3ª edición. Arancibia Hnos. y cia. Santiago, Chile.
- 3) History of fluoride. (Documento web). 2000.  
<http://www.ncahf.org/articles/e-i/fluoride.html>  
30 de noviembre de 2002.
- 4) Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Fluoride, Hydrogen fluoride and Fluorine*. (Documento pdf). 1993.  
<http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts11.html>  
15 de julio de 2002.
- 5) National Health and Medical Research Council (NHMRC). *Review of water fluoridation and fluoride intake from discretionary fluoride supplements*. (Documento pdf). 1999.  
<http://www.health.gov.au/nhmrc/advice/fluoride.pdf>  
13 de noviembre de 2003.
- 6) Fluoridation/Fluoride. *Toxic Chemical in your Water*. (Documento web). 1999.  
<http://holisticmed.com/fluoride>  
25 de julio de 2002.
- 7) Connett, P. *50 Reasons to Oppose Fluoridation*. (Documento Web). 2001.  
<http://www.fluoridealert.org/50-reason.html>  
25 de julio de 2002.
- 8) Fluoride Journal. *Fluoride*. (Base de datos).  
<http://www.fluoride-journal.com>  
25 de julio de 2002.

- 9) Gómez, S; Fernández, V. A.; Salas, E.V. 1999. "Prevalencia y severidad de fluorosis dental atribuible al agua potable en la V región." Revista de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso. 2(3). Chile.
- 10) Urbina, T; Caro, J.C; Vicent, M. 1997. "Caries dentaria y fluorosis en niños de 6 a 8 y 12 años de la I, III; IV, VII, XI, XII regiones de Chile" Informe teórico final. Departamento de Odontología. Ministerio de salud de Chile. Santiago, Chile.
- 11) Schuldd, A. *Fluoride- What's wrong with this Picture.* (Documento web). 2000.  
<http://www.bruha.com/fluoride/>  
15 de julio de 2002.
- 12) Choubisa, S. *Endemic Fluorosis southern Rajasthan, India.* (Documento web). 2001.  
<http://www.fluoride-journal.com/01-34-1/341-61.pdf>  
25 de julio de 2002.
- 13) Fluoride Journal. *Health/biological effects.* (Documento pdf). 2001.  
<http://www.fluoride-journal.com/01-34-2/342-139-pdf>  
25 de Julio de 2003.
- 14) Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria; Organización Panamericana de la Salud; Organización Mundial de la Salud. *Normas Internacionales para la calidad del agua para beber.* (Documento web). 2000.  
<http://www.cepis.ops-oms.org/bvsacgle/normas.html>  
4 de agosto de 2002.
- 15) Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología. 1999. *Norma Salvadoreña Obligatoria para la Calidad del Agua Potable.* 1ª edición. Editado por la Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE). El Salvador.
- 16) Definition. *Fluorosis.* (Documento web). 2000.  
<http://www.fluoridation.com/definit.htm>  
25 de julio de 2002.
- 17) Skoog, D. A, et al. 2001. *Química Analítica.* 7ª edición. M. C. Ramírez M. y R. Zugazagoitia H, traductoras. McGraw – Hill Interamericana editores S.A. de C.V. DF, México.
- 18) Day, R. A. y Underwood, A. L. 1989. *Química Analítica Cuantitativa.* 5ª edición. M. C. Arroyo, traductora. Prentice – Hall Hispanoamericana S.A. DF, México.

- 19) Evans, A. 1987. [Potenciometría y electrodos selectivos]. *Potentiometry and Ion Selective Electrodes*. Analytical chemistry by open learning. John Wiley & Sons. Londres, Inglaterra.
- 20) Frant, M. F. y Ross, J. W. 1968. [Uso de un tampón ajustador de fuerza iónica total para electrodo. Determinación de fluoruro en fuentes de agua]. "Use of a Total Ionic Strength Adjustment Buffer for Electrode. Determination of Fluoride in Water Supplies." Analytical Chemistry. 7 de junio. Volumen 40, No 7. EUA.
- 21) American Society for Testing and Materials. *Potentiometry Determination of Fluoride in Aqueous Samples with Ion – Selective Electrode*. (Documento web). 1996.  
[www.astm.org/commit/subcommit/e0102.htm](http://www.astm.org/commit/subcommit/e0102.htm)  
25 de julio de 2002.
- 22) American Public Health Association, American Water Works Association y Water Pollution Control Federation. 1989. *Métodos Normalizados*. (Para el Análisis de Aguas Potables y Residuales). 17<sup>a</sup> Ediciones Díaz de Santos, S. A. EUA.
- 23) Frant, M. S. 1974. [Uso de electrodos químicos sensibles para medidas de niveles bajos]. "Use of Chemical-Sensing Electrodes for Low Level Measurements." Orion Research Incorporated-11: Massachusettes, EUA.
- 24) Liberti, A. y Mascini, M. 1969. [Determinación de aniones con electrodos selectivos de iones usando la curva de Gran]. "Anion Determination with Ion Selective Electrodes Using Gran's Plots." Analytical Chemistry. 4 de abril. Volumen 41, No 4. EUA.
- 25) International Union of Pure Applied Chemistry (IUPAC). *Compendium of Chemical Terminology*. (Documentoweb). 1995.  
<http://www.iupac.org/publications/compendium/indxx.html>  
26 de agosto de 2003.
- 26) Miller, J.C. y Miller, J.N. 1993. *Estadística para Química Analítica*. R. Izquierdo H. y C. Maté J, traductores. 2<sup>a</sup> edición. Addison Wesley Iberoamericana. Delaware, EUA.

- 27) Nico 2000. *Glossary of Terms*. (Documento web). 2000.  
<http://www.nico2000.net/DataSheets/glossary.html>  
22 de septiembre de 2003.
- 28) International Union of Pure Applied Chemistry (IUPAC). *General Terms Relevant to Ion-Selective Electrodes*. (Documento pdf). 2000.  
<http://www.iupac.org/publication/analytical-compendium/Cha08sec34.pdf>  
7 de mayo de 2003.
- 29) Vassos, B. H. y Ewing, G. W. 1987. *Electroquímica Analítica*. 1ª edición. Limusa S.A. de C.V. DF, México.
- 30) Fries, J. 1971. *Análisis de Trazas*. Métodos fotométricos comprobados. Industrias gráfica S.A. Barcelona, España.
- 31) Arkin, H. y Colton, R. R. 1960. [Tablas para estadistas]. *Tables for Statisticians*. Collage Outline Series. Barnes & Noble, INC. New York, EUA.
- 32) Instituto Geográfico Nacional. Centro Nacional de Registro. 1996. *Usulután*. Monografías del Departamento y sus Municipios. Autor. San Salvador, El Salvador.
- 33) UNICEF. *Fluoride: an over view*. (Documento web). 2000.  
[http://www.nofluoride.com/Unicef\\_fluor.html](http://www.nofluoride.com/Unicef_fluor.html)  
20 de septiembre de 2003.
- 34) Liteanu, C; Popescu, I. C. y Hopârtean, E. 1976. "Estimation of the linearity domain limit for the ion sensitive membrane electrode function." *Analytical Chemistry*. Noviembre volumen 48, No. 13. EUA.
- 35) Massart, D. L, et al. 1997. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics. Parte A*. Data Handling in Science and Technology. Elsevier.
- 36) Schmelkes, C. 1998. *Manual para la Presentación de Anteproyectos e Informes de Investigación*. (Tesis). 2ª. Edición, Oxford University Press. México, DF.