

ADAPTACIÓN A MICROESCALA DEL MÉTODO POTENCIOMÉTRICO CON ELECTRODO IÓN SELECTIVO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLUORURO

Paulina GUEVARA RUIZ y María Deogracias ORTIZ PÉREZ

Laboratorio de Bioquímica, Facultad de de Medicina, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Av. Venustiano Carranza 2405, CP 78210, San Luis Potosí, S.L.P. Correo electrónico: mdortiz@uaslp.mx

(Recibido enero 2008, aceptado diciembre 2008)

Palabras clave: fluoruro, contaminación del agua, agua embotellada, electrodo ión selectivo

RESUMEN

En varios países, incluido México se presenta una contaminación natural con fluoruro en agua subterránea; los principales efectos en la salud observados en población expuesta a concentraciones mayores al valor permisible –que en México es de 1.5 mg/L– son la fluorosis dental y esquelética, así como daño reproductivo y neurológico. En varios estados de la República Mexicana, este problema es aún desconocido, de ahí la necesidad de evaluar las concentraciones de fluoruro en agua de consumo en varias comunidades. Así, el objetivo de este trabajo es desarrollar un método a microescala para la determinación de fluoruro en agua, que al reducir la cantidad de reactivo y muestra necesarios, disminuya costo y sustancias de desecho. Se validó el método potenciométrico establecido en la NMX-AA-077-SCFI-2001, así como el método a microescala propuesto en este trabajo; posteriormente, se compararon ambos métodos mediante gráficos y cálculos estadísticos. Además se analizaron por ambos métodos 125 muestras de agua embotellada de venta en la ciudad de San Luis Potosí. Los datos de la validación del método fueron óptimos para su desempeño. Los resultados de la determinación en las muestras de agua embotellada por ambos métodos, indican que la modificación a microescala es estadísticamente comparable al método potenciométrico con electrodo ión selectivo. El método propuesto a microescala es apropiado para su utilización, con una reducción de 95 % en costo y desechos generados.

Key words: fluoride, water pollution, bottled water, ion selective electrode

ABSTRACT

Similarly to other countries, ground water from México is naturally polluted by fluoride. The main effects of fluoride at typical ground water concentrations are dental fluorosis, neurological deficits and reproductive disorders. In order to verify that the fluoride concentration is within the allowed guideline in México (NOM 127 and 201), it is important to monitor fluoride levels in water and commercial beverages. The aim of this work is to develop a modification of the standard potentiometric method for fluoride determination in water, in order to reduce costs and amount of potentially toxic waste substances. Both methods were validated, the standard potentiometric method with the ion selective electrode and the microscale modification proposed in this paper. The methods were compared using statistic tests and graphics, followed by

the comparison of 125 samples of commercial bottled water sold in the city of San Luis Potosí. Optimal results were obtained for the validation of both methods, and the microscale modification showed statistically identical results to those obtained with the standard method in all samples of bottled water. The microscale modification is a good alternative for fluoride assessment in water and beverages, and it represents a 95 % reduction of costs and chemical waste.

INTRODUCCIÓN

Cuando el agua subterránea se desplaza por el subsuelo del área de recarga a la de descarga, interactúan procesos físicos, químicos y biológicos, modificando su calidad original. La composición del agua subterránea está determinada principalmente por su tiempo de residencia en el acuífero y por las características de los materiales por donde circula, pH, flujo, así como presencia de aniones y cationes (Moore *et al.* 2005). Los problemas más comunes de calidad del agua subterránea causados por constituyentes naturales son: alta salinidad, dureza excesiva, alta concentración de hierro o de anhídrido sulfhídrico y la presencia de elementos potencialmente dañinos como fluoruro, arsénico, plomo, cromo y manganeso, entre otros (Moore *et al.* 2005).

La contaminación natural por fluoruro en el agua subterránea se presenta tanto en países industrializados, como Estados Unidos y Canadá, como en países en desarrollo; tal es el caso de India, Argentina y México, donde la principal vía de exposición a este elemento es por la ingesta de agua (Díaz-Barriga *et al.* 1997, Carrillo *et al.* 2002, Ortiz-Pérez *et al.* 2003). Otras fuentes de exposición son los alimentos, productos dentales y el aire. El grado de exposición es variable y depende, entre otras cosas, de las condiciones de vida, la nutrición, la edad, el género y el estado de salud (Public Health Service 1991, ATSDR 2003).

El problema de consumir agua con grandes cantidades de fluoruro es que este elemento se absorbe en alrededor de 97 % en el tracto gastrointestinal, excretándose 50 % principalmente por vía urinaria; el resto no excretado se almacena en huesos y dientes, causando fluorosis dental y esquelética, así como también efectos reproductivos y neurológicos (ATSDR 2003).

En México, el fluoruro se encuentra disuelto en el agua subterránea como resultado de una contaminación natural; el límite máximo permitido de fluoruro en agua es de 1.5 mg/L, de acuerdo con la Modificación a la NOM-127-SSA1-1994 (SSA 2000) y la NOM-201-SSA1-2002 (SSA 2002). En

el año 2000, se efectuó una evaluación de la concentración de fluoruro en el agua de comunidades en diferentes estados del país tomando muestras de la red de distribución de agua potable. Los datos obtenidos del contenido de fluoruro fueron los siguientes: 0.94 a 3.52 mg/L para Aguascalientes, 10.27 a 11.89 mg/L para Durango, 0.5 a 12.18 mg/L para Guanajuato, 1.12 a 5.32 mg/L para Jalisco, 0.84 a 3.70 mg/L para Zacatecas y 0.74 a 4.16 mg/L para San Luis Potosí (Alvarado 2001). Se evaluaron además algunas marcas de agua embotellada procedentes de estos estados, encontrándose que varias de ellas sobrepasaban el límite establecido en la NOM-201 (Alvarado 2001).

La escasez de agua ha llevado a una utilización cada vez mayor de agua subterránea para consumo humano, por lo que es necesario establecer un monitoreo de la calidad que abarque no sólo el control bacteriológico y fisicoquímico, sino también evaluar la concentración en específico de elementos de incidencia significativa en la salud, como son el fluoruro y el arsénico. Bajo esta perspectiva, es de suma importancia que el agua y las bebidas derivadas se mantengan dentro del límite permisible de calidad en cuanto a la cantidad de fluoruro.

Los métodos permitidos para la cuantificación de fluoruro son el método potenciométrico con electrodo ión selectivo (MPEIS) y el colorimétrico SPADNS (SECOFI 2001, SSA 2000, SSA 2002). El método potenciométrico es adecuado para concentraciones de fluoruro desde 0.1 a 10 mg/L; es necesario adicionar una solución amortiguadora de alta fuerza iónica (TISAB por sus siglas en inglés) para el control del pH, el ajuste de la fuerza iónica total y mantener libre al ión fluoruro en la solución (Standard Methods 1998).

La preocupación por el ambiente, la seguridad y los costos de operación, promueve en los laboratorios la necesidad de reducir a microescala las determinaciones realizadas, además de adecuarse a las nuevas tendencias en investigación. Los métodos a microescala se han desarrollado con objeto de minimizar los riesgos, emisión de residuos y optimizar los recursos en el trabajo experimental. Así, estas técnicas se

proyectan como una mejora a los métodos experimentales en enseñanza, investigación y desarrollo (Mainero 1997, Villar *et al.* 2001).

Como contribución al monitoreo para verificar la calidad del agua y bebidas –que en México es necesario–, surge este proyecto de modificar el MPEIS para la cuantificación de fluoruro, utilizando un menor volumen del que se requiere originalmente para su operación, tanto de muestra como de reactivos. El resultado es una disminución en el costo de la determinación y de los residuos generados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos y equipo

Para el experimento se utilizaron los siguientes reactivos: fluoruro de sodio (Riedel-Haen, Seelze, Ale.), hidróxido de sodio, cloruro de sodio y ácido acético glacial (J.T. Baker, Xalostoc, Edo. de México, Méx.) y ácido trans-1,2-diaminociclo-hexano-N,N,N',N'-tetra-acético (CDTA) (Sigma-Aldrich, San Luis, MO, EUA). Estándar de referencia certificado High Purity Standard de 100 ppm de $F^- \pm 0.5\%$, lote No. 413413 (Charleston, SC, EUA). Se utilizó un potenciómetro modelo TM 300 Series y un electrodo ión selectivo para fluoruro modelo P/N511141, marca Beckman (Fullerton, CA, EUA).

Soluciones

Se usó una solución patrón de fluoruro de sodio a 100 ppm, e hidróxido de sodio (NaOH) 6N. La solución utilizada para calibrar el electrodo de fluoruro de sodio fue a una concentración 0.1M. Para preparar la solución amortiguadora de alta fuerza iónica (TISAB), se colocaron 500 mL de agua desionizada en un vaso de precipitados y se adicionaron 57 mL de ácido acético glacial; poco a poco se agregaron 58 g de NaCl y 4 g de CDTA. Se reguló el pH entre 5.3 y 5.5 con NaOH 6N, y se disolvió el CDTA. Se aforó en un matraz volumétrico de 1 L con agua desionizada y se almacenó en un recipiente de polipropileno. Esta solución es estable por tres meses.

Muestras de agua

Para realizar la determinación de fluoruro a microescala y comparar estadísticamente los resultados obtenidos con el MPEIS, se utilizaron para el análisis muestras del agua que se comercializa en establecimientos purificadores y expendios a granel de la ciudad de San Luis Potosí y zona conurbada como muestras de análisis. Se obtuvieron 125 muestras puntuales de agua purificada, que fueron mantenidas

en refrigeración a 4 °C hasta su análisis, el cual se efectuó en un máximo de tres semanas. Los resultados fueron utilizados también para evaluar si el agua embotellada de venta en la ciudad de San Luis Potosí cumple con la NOM-201 en su contenido de fluoruros.

Método potenciométrico con electrodo ión selectivo (MPEIS)

La curva de calibración se preparó con las siguientes concentraciones: 0.2, 0.5, 1.0, 3.0 y 6.0 mg F^-/L . Cada punto de la curva de calibración y muestras se analizó por triplicado y se prepararon con 5 mL de muestra y 5 mL de TISAB. El electrodo se calibró antes del análisis con fluoruro de sodio 0.1 M, verificando el valor de la pendiente de -57 ± 2 . La solución se mezcló con un agitador magnético, se introdujo el electrodo y se tomó la lectura a los dos minutos; previamente se comprobó que durante dicho periodo no existían variaciones significativas en la lectura en milivolts, dentro del intervalo de concentración de trabajo.

Lectura en Parafilm®

Este procedimiento se realizó a partir de la mezcla ya preparada para cada muestra, para comprobar que al utilizar una forma diferente de medición, no existen cambios significativos en la concentración. Por lo tanto, en la comparación entre el MPEIS y la lectura en Parafilm®, al partir de una misma solución solamente cambia la forma de efectuar la lectura; por lo tanto, es el único parámetro a evaluar. Se tomaron 40 μL de la mezcla de muestra o estándar con el TISAB preparada para el MPEIS, depositándose en un cuadro de Parafilm® de aproximadamente 2 cm de lado, que se adhiere en la membrana de fluoruro de lantano del electrodo. Se tomó la lectura a los dos minutos, previa comprobación de estabilización a este tiempo.

Método a microescala

En el método a microescala se combina la lectura en Parafilm® con la disminución del volumen de muestra o estándar y del TISAB. Se depositaron 500 μL de muestra y 500 μL de TISAB en un tubo de 5 mL de polipropileno, se mezclaron en un vórtex y de ahí se tomaron 40 μL , que se dispensaron en un cuadro de Parafilm®, el cual se adhiere inmediatamente a la membrana del electrodo para obtener la respuesta analítica en mV.

Hasta el momento, no se ha reportado un método potenciométrico a microescala para fluoruro. La preparación de la muestra con el TISAB se realizó

siguiendo las especificaciones de las NOM-201 y NMX-AA-077 (SECOFI 2001, SSA 2002), que indican que el volumen de muestra y TISAB debe añadirse en proporciones iguales (Alvarado 2001). Con 40 μL se obtiene un volumen adecuado para cubrir la membrana del electrodo; el volumen excedente de la mezcla es suficiente para realizar las réplicas necesarias.

Validación del método

La validación se realizó para el MPEIS, la lectura con Parafilm[®] y el método a microescala, evaluando los siguientes parámetros: linealidad, precisión (repetibilidad y precisión intermedia), exactitud, sensibilidad, límite de detección y límite de cuantificación (SSA 1998).

Linealidad, Precisión intermedia y Exactitud. Durante seis días se preparó una curva de calibración por triplicado. Se midió la respuesta analítica del equipo en mV bajo las mismas condiciones de trabajo, para los tres métodos (SSA 1998). Para la recuperación y exactitud se utilizó el estándar de referencia certificado High Purity Standard de 100 ppm de F^- con el cual se prepararon, por dilución, estándares de tres concentraciones: baja, media y alta, dentro del intervalo de trabajo.

Repetibilidad. En un día se efectuaron cuatro curvas de calibración por triplicado de cada uno de los métodos, bajo las mismas condiciones de trabajo (SSA 1998).

Sensibilidad. En tanto la sensibilidad es la capacidad de diferenciar entre pequeñas variaciones de la concentración, se determinó con la pendiente de cada método, durante seis días (Miller y Miller 2002).

Límite de detección y de cuantificación. Se preparó una curva de calibración y cinco blancos en un día, preparados con agua desionizada y TISAB. Se tomó en cuenta la respuesta analítica en los tres métodos, calculándose con el promedio menos tres desviaciones estándar (se resta debido a que la pendiente es negativa) y el promedio menos diez desviaciones estándar, para el límite de detección y de cuantificación respectivamente (Bland y Altman 1986).

Análisis de los resultados

Para el análisis de los datos se utilizaron las 68 muestras que presentaron una concentración de fluoruro mayor de 0.2 mg/L, que fue la concentración más baja en la curva de calibración. Para los resultados

de estas muestras se calculó el límite de confianza a 95 % para cada concentración determinada (Miller y Miller 2002).

Análisis estadístico

Se evaluó la normalidad de los datos con el programa estadístico SPSS 8.0. Los datos no ajustan a una distribución normal. La comparación de resultados entre los métodos se efectuó con la prueba no paramétrica de rangos de Wilcoxon.

Comparación de dos métodos para demostrar su equivalencia

Línea de igualdad. Se realizó un gráfico con los resultados del MPEIS contra el método a comparar. Cada punto del gráfico representa una muestra analizada por cada uno de los métodos (Bland y Altman 1986). A diferencia de otros gráficos, donde los puntos se encuentran distribuidos a lo largo de una línea recta y muestran una alta correlación entre los métodos graficados, pero no necesariamente concordancia (Bland y Altman 1986), en los gráficos aquí presentados para la comparación de métodos, los puntos se distribuyen sobre la línea de 45° en ejes con igual magnitud, indicando que existe concordancia.

Precisión intermedia en exactitud. A partir de los datos obtenidos con el estándar certificado para fluoruros, se calculó la varianza y el intervalo de confianza para la razón de varianzas. El criterio de aceptación indica que el intervalo de confianza para la razón de varianzas debe incluir el valor de uno (García *et al.* 2002).

Precisión intermedia en linealidad. Se calculó la varianza de la recuperación para cada método y el intervalo de confianza de la razón de varianzas. El criterio de aceptación indica que el intervalo de confianza para la razón de varianzas debe incluir el valor de uno (García *et al.* 2002).

Exactitud. Utilizando la información del porcentaje de exactitud y recuperación, se calcularon las medias aritméticas y varianzas de cada método para obtener el intervalo de confianza para la diferencia de las dos medias poblacionales. Este resultado debe incluir el valor de cero como criterio de aceptación (García *et al.* 2002).

Linealidad. Utilizando la información de recuperación, cantidad adicionada y cantidad recuperada de cada método, se calculó:

CUADRO I. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS

Parámetro		MPEIS	Lectura en Parafilm®	M. microescala	Criterios de aceptación
Linealidad	Pendiente	-55.6	-54.7	-57.3	$r^2 \geq 0.98$
	Intercepto	-17.0	-17.7	-21.3	
	r^2	0.999	0.999	0.999	
Sensibilidad	IC 95% (β_1)	-53.7 a -57.5	-51.9 a -57.4	-54.6 a -59.9	IC (β_1); no debe incluir el valor de cero
Precisión intermedia	CV	0.7 a 1.3 % $\bar{x} = 1.1 \%$	0.5 a 1.5 % $\bar{x} = 1.0 \%$	1.5 a 4.4 % $\bar{x} = 2.6 \%$	CV $\leq 16 \%$
Repetibilidad	CV	1.2 a 1.9 % $\bar{x} = 1.5 \%$	1.1 a 3.0 % $\bar{x} = 2.2 \%$	0.5 a 3.9 % $\bar{x} = 2.6 \%$	CV $\leq 8 \%$
Recuperación y exactitud	%	99.4	100.8	101.0	97 -103 %
Límite de detección	mg F ⁻ / L	0.04	0.04	0.03	
Límite de cuantificación	mg F ⁻ / L	0.14	0.13	0.08	

Se evaluaron seis parámetros para los tres métodos, cumpliendo todos ellos los criterios de aceptación que se muestran en la última columna. IC (β_1) = intervalo de confianza 95 % de la pendiente

- I. La pendiente y la ordenada al origen de la relación cantidad adicionada y cantidad recuperada, para obtener el intervalo de confianza para la diferencia de las dos pendientes y de las ordenadas al origen (García *et al.* 2002).
- II. La media aritmética y la varianza de la recuperación, para obtener el intervalo de confianza para la diferencia de dos medias poblacionales (García *et al.* 2002).

Los criterios de aceptación indican que los intervalos de confianza de las diferencias de las pendientes, ordenadas al origen y las medias poblacionales deben incluir el valor de cero (García *et al.* 2002).

RESULTADOS

La concentración de fluoruro en las muestras de agua embotellada analizadas fue de 0.2 a 3.8 mg F⁻/L; 11 de ellas (8.8 %) presentaron concentraciones por arriba de la máxima permitida por la NOM-201 de 1.5 mg F⁻/L. En 68 muestras (54.4 %) la concentración fue cuantificable; en 57 de ellas, la concentración fue menor a la del primer estándar, por lo que se reportaron como menores de 0.2 mg F⁻/L.

En la validación de los tres métodos probados, el MPEIS, la lectura en Parafilm® y el de microescala, se encontró que todos ellos cumplen con los criterios de aceptación establecidos en todos los parámetros evaluados. En cuanto a la sensibilidad, no se encontró diferencia significativa entre las pendientes de los métodos (**Cuadro I**).

Para comparar los métodos se utilizaron los resultados de 68 muestras de agua, por medio de gráficos con la línea de igualdad, para examinar la concordancia. En la **figura 1** se muestra la comparación del MPEIS con la lectura en Parafilm® y en la **figura 2** la del MPEIS con el método a microescala, mostrando concordancia entre ellos. No se observó diferencia significativa entre el método MPEIS con

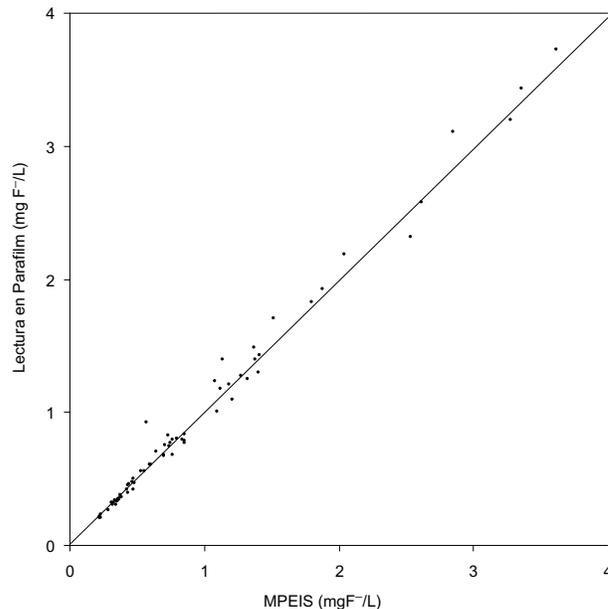


Fig. 1. Gráfico de concordancia entre MPEIS y la lectura en Parafilm®. La línea de 45° establece la comparación y concordancia entre los dos métodos. MPEIS: método potenciométrico con electrodo ión selectivo

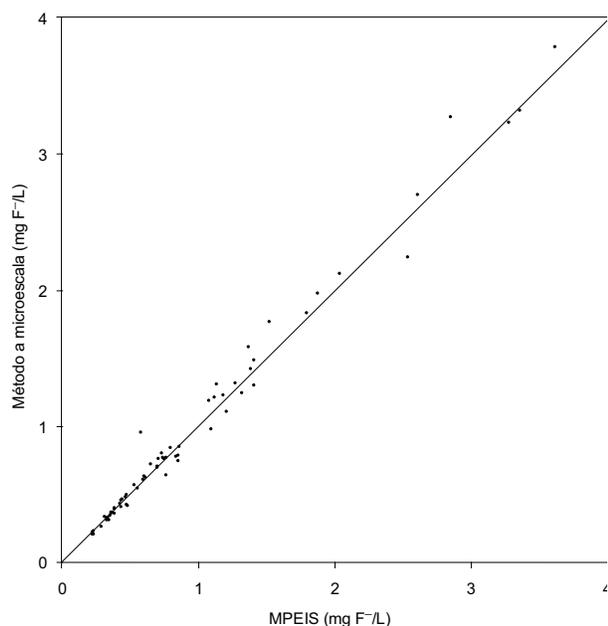


Fig. 2. Gráfico de concordancia entre el MPEIS y la modificación a microescala. La línea de 45° establece la comparación y concordancia entre los dos métodos. MPEIS: método potenciométrico con electrodo ión selectivo

el de microescala con la prueba de Wilcoxon ($P = 0.124$).

En el **cuadro II** se muestra la comparación entre el MPEIS y la lectura en Parafilm[®], donde se evaluaron los resultados obtenidos en cuanto a precisión intermedia en exactitud, precisión intermedia en linealidad, exactitud y linealidad, no habiendo diferencias entre ellos. Al comparar estos mismos parámetros

entre el MPEIS y el método a microescala, también se observa que los resultados obtenidos por ambos métodos son comparables (**Cuadro III**).

DISCUSIÓN

Durante la determinación de fluoruro en el método a microescala, las modificaciones realizadas al MPEIS fueron la agitación en un vórtex y la forma de realizar la lectura utilizando Parafilm[®]. Este material permite su adherencia a la membrana del electrodo y por consiguiente obtener la respuesta analítica del equipo. Se obtuvo una disminución de 95 % del volumen utilizado de muestra y reactivo TISAB con respecto al MPEIS, reduciendo de esta manera en la misma magnitud los desechos generados y el costo.

La comparación estadística de los métodos se efectuó para conocer la posible variabilidad de los resultados obtenidos entre el método propuesto y el método establecido (Bland y Altman 1986). Cabe destacar que el obtener una concordancia entre ellos no asegura la exactitud de los mismos, ya que es necesario evaluar siempre la exactitud con estándares certificados (Bland y Altman 1999).

Es importante resaltar que es poco probable que los dos métodos coincidan en cifras idénticas de cada valor, ya que siempre existe una dispersión en el resultado; por lo tanto, se deben comparar ambos métodos en cuanto a precisión y exactitud, ya que éstos parámetros se ven afectados por errores aleatorios y sistemáticos respectivamente (Bland y Altman 1986).

CUADRO II. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS MPEIS Y LECTURA EN PARAFILM[®]

Parámetro	Prueba estadística	Intervalo de confianza 95 %	Criterio aceptación: debe incluir valor de
Precisión intermedia en exactitud	Razón de varianzas	0.6 a 11.5	1
Precisión intermedia en linealidad	Razón de varianzas	0.1 a 10.0	1
Exactitud	Diferencia de dos medias poblacionales	-21.6 a 18.5	0
Linealidad	Diferencia de las pendientes	-2.4 a 2.4	0
	Diferencia de las ordenadas al origen	-2.3 a 2.3	0
	Diferencia de dos medias poblacionales	-4.8 a 4.9	0

Se muestra la comparación de los métodos en cuatro parámetros. Todos cumplieron con los criterios de aceptación, por lo que no existe diferencia significativa entre los métodos. MPEIS: método potenciométrico con electrodo ión selectivo

CUADRO III. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS MPEIS Y MICROESCALA

Parámetro	Prueba estadística	Intervalo de confianza 95 %	Criterio aceptación: debe incluir valor de
Precisión intermedia en exactitud	Razón de varianzas	0.5 a 10.6	1
Precisión intermedia en linealidad	Razón de varianzas	0.1 a 9.6	1
Exactitud	Diferencia de dos medias poblacionales	-20.0 a 13.7	0
Linealidad	Diferencia de las pendientes	-2.3 a 2.4	0
	Diferencia de las ordenadas al origen	-2.3 a 2.3	0
	Diferencia de dos medias poblacionales	-4.8 a 4.8	0

Se muestra la comparación de los métodos en cuatro parámetros. Todos cumplieron con los criterios de aceptación, por lo que no existe diferencia significativa entre los métodos.
MPEIS: método potenciométrico con electrodo ión selectivo

Uno de los parámetros utilizados para evaluar la comparación entre métodos fue el gráfico de concordancia, con la línea de igualdad (**Fig. 1 y 2**) y no solamente el coeficiente de correlación, puesto que este último es una medida de la relación entre dos variables, y no de la concordancia (Bland y Altman 1986). En la correlación se busca la proporcionalidad de la respuesta, y en la concordancia se busca que un valor obtenido por uno y otro método sea aproximadamente el mismo dentro de límites establecidos (Bland y Altman 1986).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos por el método a microescala realizado en este estudio tuvieron concordancia con los obtenidos por MPEIS. Ambos resultaron ser comparables en todos los parámetros evaluados, obteniéndose así un método con modificaciones experimentales que da como resultado una disminución importante de reactivo utilizado. El método propuesto puede ser aplicado por laboratorios de análisis fisicoquímico en el monitoreo de fluoruro en agua y bebidas.

El control de estos productos es indispensable, pues a la fecha, el consumo de agua embotellada es una alternativa en las localidades donde existe contaminación del agua subterránea. De esta manera, se puede garantizar a la población que está consumiendo un producto de calidad que se encuentra dentro de los límites permisibles de fluoruro en agua, establecido en las Normas Oficiales Mexicanas.

Esta medida de prevención disminuirá los efectos en la salud por la exposición a fluoruro, como son

déficit neurológico y fluorosis dental y esquelética, lo cual contribuye a una mejor calidad de vida de la población.

AGRADECIMIENTOS

Al apoyo brindado para la realización del proyecto financiado por Fondos Mixtos del Estado de San Luis Potosí, Proyecto No. FMSLP-2002-5481.

REFERENCIAS

- Alvarado L. (2001). Cuantificación de arsénico y flúor en agua de consumo en localidades de seis estados de la República Mexicana con hidrofluorosis endémica. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí, México, 84 p.
- ATSDR (1993). Toxicological profile for fluorides, hydrogen fluoride and fluorine (F). Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Diseases Registry EUA.
- Bland J. y Altman D. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1, 307-310.
- Bland J. y Altman D. (1999). Measuring agreement in method comparison studies. *Stat. Methods Med. Res.* 8,135-160.
- Carrillo J., Cardona A. y Edmunds W. (2002). Use of abstraction regime and knowledge of hydrogeological conditions to control high-fluoride concentration in abstracted groundwater: San Luis Potosí basin, México. *J. Hidrol.* 261, 24-47.

- Díaz Barriga F., Leyva R., Quistián J., Loyola J., Pozos A. y Grimaldo M. (1997). Endemic fluorosis in San Luis Potosí, México: IV. Sources of fluoride exposure. *Fluoride* 30, 219-222.
- García M., Soberón E., Cortés M., Rodríguez R., Herrera J. y Alcántara A. (2002). Guía de validación de métodos analíticos. Colegio Nacional de Químicos Biólogos México, A.C. México, 123 p.
- Horwitz W. (1982). Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs. *Anal. Chem.* 54, 67-76.
- Mainero R.M. (1997). ¿Por qué microescala? *Educ. Quím.* 8, 166-167.
- Miller J. y Miller J. (2002). *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4ª ed. Prentice Hall. Madrid, 278 pp.
- Moore J.E., Zaporozec A. y Mercer J.W. (2005). *Una introducción al agua subterránea*. Instituto de Geología. Folleto Técnico No. 128. Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 83 pp.
- Ortiz-Pérez D., Rodríguez M., Martínez F., Borja V., Castelo J., Grimaldo I., de la Cruz E., Carrizales L. y Díaz-Barriga F. (2003). Fluoride-induced disruption of reproductive hormones in men. *Environ. Res.* 93, 20-30.
- Public Health Service (1991). Review of fluoride, benefits and risks. Department of Health and Human Services. Report of the committee to coordinate environmental health and related programs. EUA.
- SECOFI (2001). Norma Mexicana NMX-AA-077-SCFI-2001. Análisis de Aguas. Determinación de fluoruros en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Diario Oficial de la Federación. 13 de Agosto 2001.
- SSA (1998). Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-1998. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los terceros autorizados que realicen las pruebas. Secretaría de Salud. Diario Oficial de la Federación. 7 de Mayo de 1999.
- SSA (2000). Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Secretaría de Salud. Diario Oficial de la Federación. 22 de Noviembre de 2000.
- SSA (2002). Norma Oficial Mexicana NOM-201-SSA1-2002. Productos y Servicios. Agua y hielo para consumo humano, envasados y a granel. Especificaciones sanitarias. Secretaría de Salud. Diario Oficial de la Federación. 18 de Octubre 2002.
- Standard Methods (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20ª ed. American Public Health Association. Washington, EUA. 1325 p.
- Villar M. C., Rodríguez M. y Mirabal L. (2001). Adaptación de métodos de análisis a microescala para bebidas alcohólicas. *Educ. Quím.* 12, 113-115.