

**CNEN/SP**

---

**ipen** Instituto de Pesquisas  
Energéticas e Nucleares

MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO ROTINEIRA DE FLUORETO  
EM URINA POR MEIO DE ELETRODO SELETIVO DE ÍONS

Maria Aparecida Faustino Pires e Sandra Aparecida Bellintani

PUBLICAÇÃO IPEN 81

SETEMBRO/1985

SÃO PAULO

ISSN 0101-3084

PUBLICAÇÃO IPEN 81

SETEMBRO/1985

**MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO ROTINEIRA DE FLUORETO  
EM URINA POR MEIO DE ELETRODO SELETIVO DE ÍONS**

Maria Aparecida Faustino Pires e Sandra Aparecida Bellintani\*

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA  
\* DEPARTAMENTO DE PROTEÇÃO RADIOLÓGICA

CNEN/SP  
INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES  
SÃO PAULO - BRASIL

Série PUBLICAÇÃO IPEN

INIS Categories and Descriptors

C45.00

ELECTRODES

FLUORIDES

URINE

## MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO ROTINEIRA DE FLUORETO EM URINA POR MEIO DE ELETRODO SELETIVO DE ÍONS

Maria Aparecida Faustino Pires e Sandra Aparecida Bellintani

Apresenta-se um método simples, rápido e sensível para a determinação de fluoreto em urina de pessoal que tem contato com compostos fluorados. A análise baseia-se na medida do íon fluoreto por meio de eletrodo seletivo. Prováveis interferentes catiónicos como  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+++}$  e  $\text{Al}^{+++}$  são complexados por EDTA e ácido cítrico. Ânions comumente presentes na urina, como  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{---}$  e  $\text{SO}_4^{---}$  não interferem no método.

## METHOD FOR ROUTINE DETERMINATION OF FLUORIDE IN URINE BY SELECTIVE ION-ELECTRODE

### ABSTRACT

A simple, fast and sensitive method is outlined for the determination of fluoride in urine of workers who handle fluorine compounds. The determination is based on the measurement of fluoride by ion selective electrode. Cationic interferences like  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Fe}^{+++}$  and  $\text{Al}^{+++}$  are complexed by EDTA and citric acid. Common anions present in urine, such as  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{---}$  and  $\text{SO}_4^{---}$  do not interfere in the method.

### TOXICOLOGIA DE FLUORETO<sup>(1)</sup>

A assimilação de pequena quantidade de compostos de flúor pelos indivíduos apresenta um efeito benéfico na prevenção de cárie: dentárias, o que leva as autoridades sanitárias a introduzir fluoretação da água potável.

Apesar deste efeito benéfico do fluoreto em baixas quantidades, níveis maiores levam ao aparecimento de uma série de sintomas que indicam a exposição do indivíduo ao fluoreto. Baixos níveis de exposição à atmosfera de fluoreto levam a uma irritação das mucosas dos olhos, nariz e garganta. Com o aumento do nível de exposição, podem aparecer os primeiros sintomas de intoxicação por fluoreto, os quais incluem distúrbios respiratórios, anormalidades neurológicas, dores gastrointestinais e fibrilação muscular.

No processo de intoxicação crônica (intoxicação a longo prazo) por fluoreto, as duas manifestações clínicas mais importantes e estudadas são: a fluorose dos dentes e a fluorose do esqueleto (chamados fluoroses ocupacionais). A primeira é um defeito permanente do esmalte dos dentes, caracterizada por áreas esbranquiçadas. Ela é causada pela calcificação imperfeita dos

dentos. Nos estágios mais avançados, as áreas afetadas tornam-se amareladas, castanhas ou mesmo negras.

Na fluorose do esqueleto, os tecidos e ligamentos em torno das juntas, especialmente na região pélvica e espinha ficam calcificadas. Os ossos do braço e pernas mostram excesso de calcificao em algumas partes, mas podem estar submineralizados em outras. As alteraes ósseas causam rigidez da caixa torxica, o que interfere com a respirao e, por causa da fragilidade dos ossos, podem ocorrer fraturas espontâneas. Também pode sobrevir calcificao dos vasos sangneos.

Para se evitar o aparecimento de um quadro de intoxicao crnica nos trabalhadores, pode-se avaliar o nível de exposio biológica ao fluoreto pela medida da concentrao deste na urina. O limite de excreo urinária estabelecido para o fluoreto  de 4 mg de F<sup>-</sup> por litro de urina.

A periodicidade das análises será determinada posteriormente e basear-se- na concentrao de F<sup>-</sup> presente atualmente nas urinas amostradas e na natureza e freqncia das operaes executadas.

A Tabela I apresenta uma estimativa da composio inica de uma amostra tpica da urina.

TABELA I

Composio Estimada de uma Urina Tpica<sup>(3)</sup>

MATERIAL	QUANTIDADE POR LITRO
H <sub>2</sub> O	950 mL
Na <sup>+</sup>	3,5 g
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	3,9 g
K <sup>+</sup>	1,5 g
Ca <sup>++</sup>	0,3 g
Mg <sup>++</sup>	0,1 g
F <sup>-</sup>	0,7 mg
Cl <sup>-</sup>	6,0 g
SO <sub>4</sub> <sup>--</sup>	1,8 g
PO <sub>4</sub> <sup>---</sup>	1,5 g
uréia	20 g

também outras substâncias não polares ou menos polares.

## OBJETIVO

Adaptar um método seletivo, simples e rápido para a determinao de fluoreto e para seu controle rotineiro em urina do pessoal que manuseia HF anidro, ácido fluorídrico, misturas KF-HF (eletrólito da célula de gerao de flúor), flúor elementar, tetrafluoreto de urânio e hexafluoreto de urânio, nos projetos de produo de tetrafluoreto de urânio, de gerao de flúor elementar e de hexafluoreto de urânio.

Colaborar com o Laboratório de Radiotoxicologia e com o SESMT, ambos do IPEN, para a implantao do método e sua manuteno rotinria.

## PRÍNCIPIO DO MÉTODO

O método se baseia na medida do íon fluoreto por eletrodo seletivo<sup>(3,4)</sup> diretamente na urina após adição de tampão, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) e citrato de sódio para a complexação de cálcio, magnésio, ferro e alumínio.

## EQUIPAMENTO E MATERIAL

- Analisador específico de íons, modelo 407 A – ORION;
- Eletrodo seletivo de fluoreto, modelo 94 09 00 – ORION;
- Eletrodo de Referência Ag/AgCl, de junção simples, modelo 90 00 01 – ORION, operando com solução Interna 90 00 01;
- Agitador magnético;
- Copos de 50 mL e frascos de coleta de polietileno;
- Bureta de 50 mL e proveta de 10 mL;
- Papel absorvente para a limpeza dos eletrodos.

## REAGENTES

Todos os reagentes usados são de grau analítico. Água destilada, fluoreto de sódio, cloreto de sódio, ácido sulfúrico, monohidrogenofosfato de amônio, EDTA, ácido acético glacial, citrato de sódio e hidróxido de sódio.

## SOLUÇÃO PADRÃO DE FLUORETO

Pesar 2,2100 g NaF anidro, dissolver e diluir a 1 litro com água destilada. Guardar em frasco de polietileno. Esta solução estoque tem uma concentração de 1000  $\mu\text{gF}^-/\text{mL}$ .

A partir dessa solução preparar padrões de 100, 10, 1 e 0,1  $\mu\text{gF}^-/\text{mL}$  por simples diluição em água. Guardá-las em frasco de polietileno.

## SOLUÇÃO DE NaOH 5 M

Dissolver 20 g NaOH em água e completar o volume a 100 mL.

## TISAB (TOTAL IONIC STRENGTH ADJUSTOR BUFFER)

Colocar cerca de 500 mL de água destilada em copo de 1 litro. Dissolver 58 g NaCl e 0,3 g de citrato de sódio ( $\text{Na}_3\text{C}_5\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Adicionar 57 mL de ácido acético glacial. Ajustar o pH entre 5,0 e 5,5 com NaOH 5 M (usar pHmetro). Completar o volume a 1 litro. Guardar a solução em frasco de polietileno.

## A – ENSAIOS PRELIMINARES

### Solução Simulada de Urina<sup>(3)</sup>:

Dissolver 11,6 g de NaCl e 2,0 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  em água destilada. Adicionar 1 mL de ácido sulfúrico concentrado e diluir a 1 litro.

**Solução Simulada de Urina com Fluoreto:**

Colocar, em um balão volumétrico de 500 mL, 5 mL de solução padrão de fluoreto de concentração 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Adicionar 250 mL de TISAB e completar o volume com solução simulada de urina. Esta nova solução contém 1  $\mu\text{gF}^-/\text{mL}$ .

**Tratamento dos Elet.odos:**

Fazer a limpeza dos eletrodos com água destilada antes e após cada determinação ou calibração. Após a lavagem com água secá-los com papel absorvente.

**Calibração:**

Calibrar o par de eletrodos com padrões de fluoreto de 0,1 e 1,0  $\mu\text{gF}^-/\text{mL}$  ou 1,0 e 10  $\mu\text{gF}^-/\text{mL}$ , dependendo da faixa de concentração de fluoreto na amostra.

As soluções (amostra e padrão) devem ser tamponadas com TISAB. Em copo de 50 mL colocar 10 mL de solução amostra e 10 mL de TISAB. Agitar com agitador magnético e colocar os eletrodos de referência e fluoreto em contato com a solução tamponada durante cinco minutos. Quanto mais diluída a solução maior o tempo de contato entre eletrodos e solução, até a estabilização da leitura (aproximadamente 10 minutos).

A leitura é dada diretamente em  $\mu\text{gF}^-/\text{mL}$  de solução.

Para outro tipo de equipamento, cuja medida é feita em milivolt, é necessário construir uma curva de calibração do eletrodo ou seja, concentração  $\text{F}^-$  versus medida em mV.

Tendo sido feitas a calibração e as medidas da solução simulada de urina sem qualquer dificuldade, passou-se a analisar as amostras reais.

**B - COLETA E TRATAMENTO DAS AMOSTRAS**

As amostras de urina devem ser colhidas em frasco de polietileno contendo cerca de 0,2 g de EDTA cristalizado para cada 100 mL de urina. A coleta deve ser feita em local isento de contaminação de fluoreto.

São colhidas as amostras da primeira e da última micção na jornada de trabalho. Uma amostra de urina, denominada "pré-exposição", deve ser colhida geralmente pela manhã, antes da entrada do trabalhador no local de trabalho. Uma amostra de urina, denominada "pós-exposição", é colhida no final do dia de trabalho no mínimo duas horas depois da penúltima micção.

Para minimizar a contaminação bacteriana, as amostras, se não forem analisadas logo após a coleta, deverão ser guardadas sob refrigeração por um período máximo de cinco dias.

O valor indicativo da quantidade de fluor assimilada pelo indivíduo por ingestão ou inalação durante as horas de trabalho será a diferença entre as concentrações encontradas entre a primeira e a última micção da jornada de trabalho. O trabalhador será orientado pela equipe de controle quanto ao procedimento da coleta.

Deve-se levar em consideração, nesses resultados, que a concentração de fluoreto varia de uma micção para outra dependendo da alimentação, água ingerida e metabolismo de cada pessoa. Pode-se ter uma variação aproximada de 0,05 a 1  $\mu\text{gF}^-/\text{mL}$  de urina, o que não deve ser considerado como uma provável contaminação do trabalhador na jornada de trabalho.

Para resultados confiáveis é importante a higiene pessoal, evitando-se possíveis contaminações na amostragem. A amostra deve ser coletada em ambiente limpo, após o banho do trabalhador e evitando o uso de roupas de trabalho.

#### **Medida da Concentração de Fluoreto em Urina:**

Após calibração dos eletrodos preparar uma amostra tamponada de urina:

10 mL de urina + 10 mL de TISAB, em copo de 50 mL.

Colocar uma barra magnética, introduzir os eletrodos e manter sob agitação constante.

A leitura é expressa em  $\mu\text{g F}^-/\text{mL}$  de urina.

Lavar os eletrodos com água e secá-los antes de fazer a próxima medida.

As medidas são feitas à temperatura ambiente. Desse modo deixar que as amostras entrem em equilíbrio térmico antes de se introduzir os eletrodos na solução.

#### **Interferentes:**

O íon hidroxila é o maior interferente na determinação de fluoreto por eletrodo seletivo. Porém, com o uso de um tampão mantendo o pH da solução entre 5,0 e 5,5 essa interferência é eliminada.

Íons que se associam com o fluoreto dando uma interferência negativa, como é o caso do cálcio, magnésio, ferro e alumínio são complexados com EDTA. A presença de citrato de sódio na solução TISAB tem um efeito que se soma ao do EDTA.

Ânions geralmente presentes em grande quantidade na urina como fosfato, cloreto e sulfato poderiam causar alguma alteração na medida. Dessa forma preparou-se uma solução simulada com a mesma composição de  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  encontrados normalmente em uma urina, tendo-se demonstrado que nas condições deste trabalho eles não interferem.

## **C – RESULTADOS**

Fez-se a determinação da concentração de fluoreto em urina coletada de diferentes pessoas. Observou-se, ao adicionar quantidade conhecida de fluoreto, que a recuperação foi excelente.

Estudou-se a determinação de fluoreto sem e com adição de EDTA (Tabelas II e III respectivamente).

Aplicando-se o teste "t" às diferenças entre os valores esperados e encontrados, chegou-se à conclusão que os resultados da Tabela II, obtidos sem adição de EDTA, são menores do que os reais. O mesmo teste aplicado aos resultados da Tabela III permitiu concluir que, num nível de confiança 0,05, os resultados são corretos.

Estudou-se o tempo de estocagem do material sob refrigeração e observou-se que se pode estocar a urina por um período de quatro dias sem alteração na determinação de fluoreto (Tabela IV).



TABELA II

Determinação de Fluoreto em Amostras de Urina sem Adição de EDTA

AMOSTRA	FLUORETO ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	NA AMOSTRA	ADICIONADO	ESPERADO	ENCONTRADO
X <sub>3</sub>	0,21	1,00	1,21	1,20
X <sub>18</sub>	0,29	1,00	1,29	1,25
X <sub>19</sub>	0,26	1,00	1,26	1,19
X <sub>20</sub>	0,29	1,00	1,29	1,22
X <sub>21</sub>	0,31	1,00	1,31	1,26
X <sub>22</sub>	0,15	1,00	1,15	1,10

TABELA III

Determinação de Fluoreto em Amostras de Urina com Adição de EDTA

AMOSTRA	FLUORETO ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	NA AMOSTRA	ADICIONADO	ESPERADO	ENCONTRADO
X <sub>3</sub>	0,18	1,00	1,18	1,22
X <sub>18</sub>	0,29	1,00	1,29	1,25
X <sub>19</sub>	0,26	1,00	1,26	1,22
X <sub>20</sub>	0,29	1,00	1,29	1,25
X <sub>21</sub>	0,31	1,00	1,31	1,30
X <sub>22</sub>	0,15	1,00	1,15	1,16

TABELA IV

Determinação de Fluoreto em Amostras de Urina Estocadas sob Refrigeração

SOLUÇÃO ESTOCADA (DIAS)	CONCENTRAÇÃO F <sup>-</sup> ( $\mu\text{g/mL}$ urina)			
	X <sub>1</sub>		X <sub>2</sub>	
	SEM EDTA	COM EDTA	SEM EDTA	COM EDTA
0	0,20	0,18	0,46	0,36
1º	0,19	0,18	n.d.	n.d.
2º	0,20	0,18	n.d.	n.d.
3º	0,17	0,19	0,39	0,39
4º	n.d.*	n.d.	0,39	0,39

\*n.d. = não foi determinado

## ESTUDO DA VARIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE $F^-$ NA URINA DE PESSOAS QUE TRABALHAM NA ÁREA DE MANUSEIO DE FLÚOR

Para verificar se há um aumento significativo de flúor em pessoas expostas a um ambiente em que o flúor pode estar em concentrações acima da concentração normal, coletaram-se amostras de urina antes do início do trabalho (8 horas da manhã) e no fim do período (17 horas da tarde).

Observou-se que, num total de 35 amostras, as concentrações variam de 0,09 a 0,72 mg/L de  $F^-$  na primeira coleta e de 0,17 a 1,10 mg/L na segunda coleta. Observou-se também que, no total das amostras, duas (2) não apresentaram variação entre a coleta da manhã e a da tarde, seis (6) apresentaram uma diminuição e vinte e cinco (25) apresentaram um aumento na concentração de flúor na coleta da tarde.

Aparentemente, há um aumento na concentração de flúor com a exposição nesse ambiente de trabalho. Esta suposição foi confirmada pela aplicação de um teste estatístico não paramétrico<sup>(2)</sup>, baseado na distribuição binominal dos sinais positivos e negativos das variações da concentração de flúor entre as coletas. De acordo com o teste, 25 variações com sinal positivo, num total de 33 resultados em que houve variação, indicam que a variação é significativa mesmo num nível de significância de 0,01. Embora o resultado do teste tenha confirmado um aumento da concentração de flúor no organismo desses trabalhadores, as concentrações estão bem abaixo da concentração máxima permitida que é de 4,0 mg/L na urina.

Mesmo no caso de exposição esporádica a níveis de fluoreto, a concentração máxima observada na urina das pessoas expostas foi de 2,10 mg/L de  $F^-$ .

### D – CONCLUSÃO

Após a coleta de urina de várias pessoas sem contato com materiais contendo fluoreto e de outras que fazem uso de medicamento contendo fluoreto concluiu-se que o método responde bem às exigências do controle requerido. Os resultados permitem concluir que se pode aplicar este método com segurança. Ele é simples, rápido e sensível, podendo ser implantado sem qualquer dificuldade.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CASARETT, L. J. & DOULL, J. *Toxicology. The basic science of poisons*. New York, McMillan, 1980.
2. NALIMOV, V. V. *The application of mathematical statistics to chemical analysis*. Reading, Mass., Addison Wesley, 1963. p. 117.
3. NEEFUS, J. D.; CHOLAK, J.; SALTZMAN, B. E. The determination of Fluoride in urine using a fluoride-specific ion electrode. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 31(1):96-9, 1970.
4. TUSL, J. Fluoride ion activity electrode as a suitable means for exact direct determination of urinary fluoride. *Anal. Chem.*, 44:1693-4, 1972.