

Anexo 4. Análisis de fluoruro en muestras de agua mediante la técnica de Electrodo Selectivo de Iones. (Guía elaborada por el Grupo de Salud Ambiental de la Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia – Dirección de Redes en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud)

El método del electrodo es el más favorable para concentraciones de fluoruro de 0.1 a 10 mg F⁻/L, usualmente sin destilación de la muestra. Tener presente antes de hacer el análisis, que en aguas naturales generalmente o residuos industriales si hay interferentes (alcalinidad, aluminio, cloro, cloruros, color, turbiedad, hierro, fosfatos, sulfatos) en altísima concentración, sería necesario hacer pretratamiento de la muestra mediante una destilación.

También puede usarse métodos colorimétrico, complexométricos y de cromatografía iónica, en rangos menores de concentración.

La guía de este procedimiento está basado en el uso de un equipo Orion research EA 940. Es necesario montar, estandarizar y validar el método en cada laboratorio y mucho más si se tiene otra marca o modelo de equipo, para lo cual es necesario hacer las adecuaciones y adaptaciones necesarias en el procedimiento particular. Llevando como buenas prácticas de laboratorio, los respectivos controles y aseguramientos de calidad.

Técnica: electrodo selectivo de iones

Fundamento

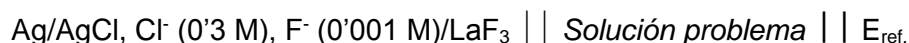
Los electrodos de membrana, también llamados electrodos selectivos de iones (ESI), permiten determinaciones rápidas y selectivas de numerosos cationes y aniones mediante medidas potenciométricas directas.

Los electrodos selectivos de iones son definidos por la IUPAC como sensores electroquímicos cuyo potencial depende logarítmicamente de la actividad en disolución de una especie cargada (ion), de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$E = E_o + \frac{0.059}{z} \log a$$

Dónde “z” representa la carga del ion y “a” su actividad*.

La determinación se basa en la medida de la diferencia de potencial que se establece entre el electrodo indicador, en este caso selectivo a ion fluoruro, y un electrodo de referencia cuyo potencial permanece constante. La célula de medida puede representarse como:



El potencial de esta célula viene dado por la expresión:

$$E = E_{\text{indicador}} - E_{\text{Referencia}} = E_o - 0.059 \log [\text{F}^-] - E_{\text{Referencia}}$$

Reordenando la ecuación resulta:

$$E = E_0 - 0.059 \log [F^-]$$

Dónde:

E = Potencial del electrodo

E₀ = Potencial de referencia (constante)

[F⁻] = Concentración de fluoruro en la solución

0.059 = S = Pendiente del electrodo

Cuando se varía la concentración de fluoruro [F⁻], la representación gráfica de E en función de log [F⁻] corresponde a una línea recta con pendiente 59 mV.

Definiciones

Electrodo Sensor (indicador): Es un electrodo que entra en contacto con una muestra que contiene iones para los cuales es selectivo y desarrolla un potencial a través de la superficie de la membrana sensora. El potencial de membrana varía con la concentración del ion que se está midiendo. La magnitud de potencial (Voltaje) guarda relación con la concentración del ion medido.

Electrodo de referencia: Efectuar una segunda medición requiere de un segundo potencial invariable, para compararlo con el potencial de la membrana sensora. El electrodo de referencia cumple con esta función. Una solución de relleno completa el circuito eléctrico entre la muestra y la celda interna del electrodo de referencia. A la unión entre la muestra y la solución de relleno se le denomina unión líquido- líquido.

Electrodos Combinados: Son electrodos sensores que tienen incorporado la referencia dentro del mismo cuerpo del electrodo. Los electrodos combinados brindan la misma selectividad y respuesta que un sistema de semiceldas, pero además ofrecen la comodidad de trabajar y mantener un solo electrodo.

Dispositivo de lectura: Es un potenciómetro (voltímetro) que sirve para medir e indicar la diferencia de tensión del sistema de electrodos ya sea en milivoltios, pH o unidades de concentración.

Muestra: La muestra y/o solución estándar es el componente final del sistema. Su naturaleza indica que técnica de medición es apropiada para el análisis.

Valores de referencia

Los niveles de Fluoruro en aguas dulces pueden variar por presencia de minerales fluorados, contaminantes atmosféricos que rara vez exceden **10 mg F⁻ /L**, aunque concentraciones más altas pueden ser encontradas.

En aguas marinas las concentraciones de fluoruros varían entre **0.8 y 1.4 mg F⁻ /L**.

En aguas para consumo Humano depende de la adición de fluoruros, pero la norma colombiana (Resolución 2115 de 2007), tiene como límite, una concentración máxima de **1 mg F⁻ /L**, para evitar problemas de toxicidad.

Interferencias

Carga iónica de la solución: Hay una relación inversa entre la actividad del Fluoruro y la carga iónica de la solución. A mayor carga iónica menor actividad del ion fluoruro, por lo tanto es necesario ajustar las soluciones estándar y las muestras a una misma carga iónica.

El pH de la solución: El único ion que interfiere directamente es el ion hidroxilo a pH mayores que 8, puesto que el electrodo no puede distinguir entre iones hidróxilo OH^- y F^- ; además, a pH menor de 3.4 el ácido Fluorhídrico (HF) se encuentra sin disociar y por lo tanto no puede ser reconocido por el electrodo. Por esto se requiere que el pH se ajuste a un valor entre 5.0 y 5.5.

Otras sustancias Interferentes: Algunas sustancias pueden interferir con la determinación de Fluoruro según su concentración en las muestras y pueden causar un error de 0.1 a 1.0 mg / l, según la siguiente tabla.

| SUSTANCIA | FORMULA | mg / L | TIPO DE ERROR |
|-----------------|----------------------|--------|---------------|
| Alcalinidad | CaCO_3 | 7000 | positivo |
| Aluminio | AL 3+ | 3 | negativo |
| Cloruro | Cl - | 20000 | Indeterminado |
| Cloro | Cl_2 | 5000 | Indeterminado |
| Hierro | Fe | 200 | negativo |
| Hexametáfosfato | $(\text{NaPO}_3)_6$ | 50000 | Indeterminado |
| Sulfatos | $(\text{SO}_4)^{2-}$ | 50000 | negativo |
| Fósforo | $(\text{PO}_4)^{3-}$ | 50000 | Indeterminado |

El uso de la solución *Total Ionic Strength Adjustment Buffer* (TISAB) de pH 5.0 a 5.2 ajusta la carga iónica, el pH de la solución y sirve como quelante de los cationes interferentes que pueden estar presentes al analizar Fluoruro directamente en agua o soluciones salinas.

Las soluciones diluidas de Fluoroborato o ácido Fluorobórico, se hidrolizan y liberan ion fluoruro, pero en soluciones concentradas la hidrólisis no ocurre completamente y el fluoroborato debe ser medido con electrodo selectivo para ion fluoroborato.

Ventajas

- Los electrodos comerciales de fluoruros son robustos, pueden utilizarse a temperaturas entre 0 y 80 °C y tienen una respuesta lineal hasta 10^{-6} M
- El equipo requerido es bastante sencillo y de fácil manejo.
- El volumen de muestra necesario para el análisis es pequeño 2,5 a 5 ml
- Las muestras no requieren tratamiento previo a su análisis.
- Los reactivos son de fácil consecución y preparación
- Se pueden obtener buenos niveles de exactitud y precisión
- Se pueden analizar alrededor de 30 muestras diarias

Materiales y equipos

Matraces volumétricos plásticos de 100 y 50 ml

Vasos de precipitados plásticos

Vasos desechables de 5 a 10 onzas

Agitador magnético
Micropipetas de 200 a 1000 μ l y de 1 a 5 ml
Plancha de agitación
Electrodo selectivo para fluoruro
Electrodo de referencia
Analizador de iones

Reactivos

Los reactivos deben ser de grado reactivo analítico.

El agua debe ser destilada y desionizada (d.d).

TISAB con CDTA (Acido 1,2 Ciclohexilen Dinitrilo Tetráacetico). ORION Cat. No. 940911

Solución de llenado para el electrodo de referencia: ORION Cat, No 900011 ó 900001 o equivalente

Solución estándar de fluoruro de sodio: 0,1M Cat. No. 940906. ORION o equivalente

Solución de trabajo 190 mg F/L (0.01 M): en un matríz plástico aforado de 100 ml adicionar 10 ml de la solución patrón de NaF 0.1 M y completar a volumen con agua destilada desionizada. Esta solución es estable por una semana.

Soluciones para curva de calibración: en matraces plásticos aforados de 100 ml adicionar consecutivamente alícuotas de 0.5, 1.0, 2.5 y 5.0 ml de la solución de trabajo de 190 mg F/L, completar a volumen con agua destilada desionizada y mezclar bien. De esta manera se obtienen soluciones en concentraciones de 0.95, 1.90, 4.75 y 9.50 mg F/L, respectivamente. Utilizar agua destilada - desionizada como blanco. Preparar estas soluciones cada vez que vaya a realizar un análisis.

Procedimiento

- **Operación del analizador y electrodos**

Preparar el analizador y establecer el programa específico siguiéndolas instrucciones dadas en el manual del equipo.

Los electrodos deben mantenerse de acuerdo a recomendaciones de cuidado y manejo dadas por el fabricante.

- **Revisión de la pendiente del electrodo**

La pendiente es definida como el cambio en el potencial observado cuando la concentración cambia por un factor de diez.

Antes de realizar el análisis se debe realizar una verificación de la pendiente del electrodo, procediendo de la siguiente manera:

1. Conectarlos electrodos al analizador de iones, sumergirlos en un vaso plástico que contenga 50 ml de agua desionizada y 50 ml de TISAB y agitar a velocidad

constante. Adicionar 1 ml de la solución stock de 100 mg F/L, agitar y leer el potencial cuando permanezca estable.

2. Agregar 10 ml de la solución stock de 100 mgF/L, agitar y leer nuevamente el potencial como en el paso anterior.
3. Determinar la diferencia entre los dos potenciales medidos. La operación correcta del electrodo está determinada por una diferencia de potencial entre 54 a 60 mV, asumiendo que la temperatura de la solución está entre 20 y 25°C.

Obtención de la función de calibración.

En vasos plásticos desechables adicionar consecutivamente, 5 ml del blanco o de la solución de calibración, según sea el caso, 5 ml de la disolución TISAB y una barra magnética para agitación.

Sumergir el electrodo (o los electrodos) en la solución a medir y ajustar la rapidez de la agitación.

Realizar la lectura de las soluciones en orden creciente de concentración, partiendo del blanco y siguiendo el procedimiento de calibración indicado en el manual del equipo.

Una vez medido el potencial de estas disoluciones, el software del equipo permite obtener la pendiente y el intercepto de la función de calibración.

Si la pendiente está dentro del intervalo -56 a -60 mV, indicará que el electrodo es apto para medir la concentración de muestras y controles analíticos. Cuando la pendiente esté fuera del intervalo señalado, se debe verificar y repetir la preparación y lectura de las soluciones de calibración. En caso de persistir la anomalía, se debe sustituir el electrodo por uno nuevo.

Mediante una hoja de cálculo (Excel, por ejemplo), realizar el análisis de regresión para los pares de datos obtenidos y representar gráficamente la señal (voltaje) frente al log de la concentración de fluoruro. Dicha representación será el gráfico de calibrado a partir del cual se calculará posteriormente la concentración de fluoruro de las muestras que se analicen.

Análisis de Muestras

- **Preparación de las muestras:** Sacar las muestras del refrigerador, dejar que alcancen la temperatura ambiente y agitarlas fuertemente para resuspender cualquier sedimento.

Verificar con un termómetro que todos los estándares, muestras y soluciones control, alcancen la misma temperatura

Medir el pH de las muestras y ajuste las soluciones altamente acidas o altamente básicas hasta pH 5 – 6.

- **Lectura de las muestras.** Una vez obtenida la curva de calibración y determinada su pendiente, se procede a leer las muestras como sigue:
 1. Retirar el tapón de llenado del electrodo (para garantizar un flujo uniforme de la solución de llenado).

2. Colocar una pieza de material aislante, tal como espuma de poliestireno (“icopor”) o cartón, entre el agitador magnético y el vaso (para evitar mediciones erróneas por transferencia de calor a la muestra.).
3. En vasos desechables transferir 5 ml de TISAB y 5 ml de muestra o control, según sea el caso.
4. Introducir una barra magnética para agitación y sumergir los electrodos en la solución. Verificar si hay presencia de burbujas de aire en la superficie sensible del electrodo y proceda a eliminarlas agitando levemente el electrodo dentro de la solución.
5. Ajustar la rapidez de la agitación y mantener esta velocidad uniforme para todos los patrones y muestras.
6. Leer la concentración al término del tiempo programado en el analizador o cuando el voltaje esté estable.
7. Levantar y lavar el electrodo con abundante agua desionizada. Secar el electrodo con un papel absorbente fino, cuidando de no frotar el elemento sensor del mismo.
8. Analizar las restantes muestras y controles siguiendo los pasos 3 a 8.

Observaciones:

- Cuando las muestras estén sucias o viscosas, o si la respuesta del electrodo se torna lenta; desocupe el electrodo completamente, mantenga la unión abierta y lávela con agua desionizada. Elimine cualquier resto de agua del electrodo y vuélvalo a llenar con solución de llenado fresca. Presione hacia abajo la tapa del electrodo para expulsar algunas gotas de solución de llenado y reponga luego cualquier solución perdida.
- Verifique la calibración del electrodo cada dos (2) horas, colocando el electrodo en una alícuota fresca del estándar menos concentrado usado para la calibración. Si el valor ha cambiado en más de un 2%, recalibre el electrodo.

Controles internos

Por cada lote de muestras se deben analizar como mínimo un blanco de reactivos, un control conforme y un control no conforme. Un control se considera conforme cuando tiene una concentración inferior al valor máximo permitido, en este caso 1.0 mg F/L, según la Resolución 2115 de 22 junio de 2007. Los resultados de estas pruebas deben ser consignados en las cartas de control correspondientes.

Interpretación de los resultados

El valor máximo aceptable para Fluoruro en agua para consumo humano es de 1,0 mg F/L, según Decreto 1575 de mayo 09 de 2007 y la Resolución 2115 de 22 junio de 2007, del Ministerio de la Protección Social y del Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial.

Otros criterios que se utilizan son:

Aguas dulces: Los niveles de fluoruro pueden variar por presencia de minerales fluorados y/o contaminantes atmosféricos que rara vez pasan 12 mg/L como F⁻.

Aguas marinas: Las concentraciones de fluoruros varían usualmente entre 0.8 y 1.4 mg/L.

Expresión y emisión de resultados

- **Emisión:** Los datos de ensayo se interpolan directamente en la curva de calibración y se expresan como mg F/L.
- **Expresión:** Para el caso de aguas para consumo humano, la emisión de resultados se realiza teniendo en cuenta la Resolución 2115 de 22 junio de 2007 y utilizando el aplicativo Subsistema de Información de la Vigilancia de la Calidad del Agua Potable SIVICAP.

Referencias

1. Orion Research Incorporated, Instruction Manual for Fluoride Electrode Model 94 - 09-00, 96 – 09 - 00, Cambridge, Massachusetts 02139; 2007.
2. Orion Research Incorporated, EA 940 Expandable Ion Analyzer Instruction Manual , Cambridge, Massachusetts 02139; 1985
3. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. Decreto 1575 de 2007.
4. República de Colombia Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial. Resolución 2115 de 2007. República de Colombia.
5. Instituto Nacional de Salud. Subdirección Red Nacional de Laboratorios. Grupo Salud Ambiental. Manual de Instrucciones para la Toma, Preservación y Transporte de Muestras de Agua de Consumo Humano para Análisis de Laboratorio. Bogotá D.C., 2011.
6. APHA,AWWA,WEF, “Standard Methods for the examination of wáter & waste water 22nd Edition. Washington D.C.,2012.