

Anexo 5. Análisis de fluoruro en muestras de sal mediante la técnica de Electrodo Selectivo de Iones (Guía elaborada por el Laboratorio de Salud Ambiental – Red Nacional de Laboratorios del Instituto Nacional de Salud y el INVIMA)

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 censores electroquímicos cuyo potencial depende logarítmicamente de la actividad en disolución de una especie cargada (ión), de acuerdo con la siguiente ecuación:

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

Dónde “z” representa la carga del ión 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 ión 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:

$$E = E_{\text{indicador}} - E_{\text{Referencia}} = k - 0'059 \log [\text{F}^-] - E_{\text{Referencia}}$$

Reordenando la ecuación resulta:

$$E = k' - 0.059 \log [\text{F}^-]$$

Cuando se varía la concentración de flúor $[\text{F}^-]$, la representación gráfica de E en función de $\log [\text{F}^-]$ corresponde a una línea recta con pendiente 59 mV.

Linearidad

El rango linear del método es **0,5 - 5 mgF/L**.

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.

Electrodo Combinado: Es un electrodos sensor que tiene 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 (mV), pH o unidades de concentración.

Material de ensayo: 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

En sal para consumo humano el rango permitido es de 180 - 220 mgF/ Kg, según Decreto 547 de 1996.

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 ión 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 ión que interfiere directamente es el ión 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 Flúor 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	
Cloro	Cl ₂	5000	
Hierro	Fe	200	negativo
Hexametafósfato	(NaPO ₃) ₆	50000	

Sulfatos	(SO4) 2 -	50000	negativo
Fósfato	(PO4) 3 -	50000	

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 Flúor directamente en agua o soluciones salinas

Las soluciones diluidas de Fluoroborato o ácido Fluorobórico, se hidrolizan y liberan ión 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

Analizador de iones
 Desionizador de agua
 Balanza analítica
 Matraces volumétricos plásticos de 100 y 50 ml
 Vasos de precipitados plásticos
 Vasos desechables de 5 a 10 onzas
 Frascos plásticos guarda muestras
 Agitador magnético
 Micropipetas de 200 a 1.000 ul y de 1 a 5 ml
 Plancha de agitación
 Electrodo ión selectivo para flúor
 Electrodo de referencia
 Electrodo combinado (cuando se disponga)
 Toallas de papel suave
 Tituladores automáticos
 Estabilizador de voltaje o conexión a corriente regulada
 Termohigrómetro
 Homogenizador de muestras

Reactivos

Los reactivos deben ser de grado reactivo analítico o superior.

- Agua destilada y desionizada (d.d)
- Fluoruro de potasio con pureza no inferior al 96-98% como estándar primario
- Solución TISAB o los siguientes reactivos:
- Ácido Acético Glacial
- Cloruro de Sodio
- Citrato de Sodio o ácido ciclohexileno-dinitrilo tetraacetico (CDTA o tritriplex IV) R.A
- Solución de Hidróxido de Sodio 6N

Preparación de soluciones

- **Solución TISAB:** Colocar aproximadamente 500 ml de agua destilada desionizada en un vaso de precipitados de 1L. Añadir luego 57 ml de ácido acético glacial y 58 g de cloruro de sodio, agregar 4 g de ácido ciclohexileno-dinitrilo tetraacetico (CDTA o tritriplex IV) e introducir el vaso en un baño de agua con hielo. Adicionar lentamente solución de hidróxido de sodio 6N (aproximadamente 125 ml), mezclar bien y ajustar El ph entre 5.0 y 5.5. enfriar a temperatura ambiente, transferir a un balón aforado plástico de 1 L y completar a volumen con agua destilada desionizada. Almacenar la solución en recipiente plástico. Alternativamente se puede utilizar la solución TISAB con CDTA que se consigue comercialmente.
- **Solución Stock 1000 mg F/L:** pesar con exactitud 1529 mg de Fluoruro de Potasio (KF) (previamente secado a 105°C por 2 horas), transferir a un balón volumétrico plástico de 500 mL, disolver con agua destilada desionizada, completar a volumen y mezclar. Esta solución es estable por 6 meses.
- **Solución patrón intermedia de 50 mgF/L:** transferir 5 mL de la solución Stock de fluoruros a un balón aforado de 100 mL, diluir con agua destilada desionizada, completar a volumen y mezclar. Preparar esta solución diariamente.

Esta solución también se puede preparar directamente a partir de una solución de 0.1 M de Fluoruro que se consigue comercialmente, diluyendo 2.632 mL a 100 mL con agua destilada desionizada.

- **Soluciones patrón para curva de calibración:** De la solución de 50 mgF/L tomar alícuotas de 1, 5 y 10 mL en balones volumétricos de 100 mL, y completar a volumen con agua destilada desionizada, obteniendo concentraciones de 0.5, 2.5 y 5 mgF/L respectivamente. Estas soluciones se deben preparar cada vez que se vaya a realizar un análisis.

Procedimiento

Condiciones previas al análisis

- Condiciones ambientales del área de análisis (temperatura entre 18 a 22°C)
- Disponibilidad de insumos, estándares y reactivos
- Número de unidades que componen una muestra para análisis bajo el mismo número de lote

- Equipo bajo control metrológico vigente
- Uso de elementos de seguridad: (gafas, bata de laboratorio, guantes)

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 mgF/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 de blanco o de 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 la muestra:**

Debe realizarse acondicionamiento de la muestra previa al análisis, debido a que los métodos aún existentes de adición de flúor han demostrado la heterogeneidad de la mezcla, por lo cual debe realizarse una adecuada homogenización de todas las unidades que componen la muestra destinada para análisis, a fin de ser representativa si se tiene en cuenta adicionalmente, la inestabilidad del analito de interés (flúor).

En un vaso de precipitados pesar con exactitud 10 g de sal, diluir con agua destilada desionizada y transferir cuantitativamente a un matraz aforado plástico de 100 mL, completar a volumen con la misma calidad de agua y mezclar bien. Transferir una alícuota de 10 mL a otro matraz de 100 ml, completar a volumen con agua destilada desionizada y mezclar. Preparar las muestras por duplicado en el momento de realizar el análisis.

- **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 a 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. Lectura de muestras por duplicado realizando lecturas de muestras control positivas o negativas y lectura de blancos para control del material de lavado de forma aleatoria entre las muestras. El número de lectura de blancos dependerá del número de muestras para análisis
8. Levantar y lavar el electrodo con abundante agua desionizada. Agitar el electrodo para remover el agua y evitar la contaminación de la muestra. Secar el electrodo con un papel absorbente fino, cuidando de no frotar el elemento sensor del mismo.
9. 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 de 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 220 mgF/kg, según Decreto 547 de 1996. Los resultados de estas pruebas deben ser consignados en las cartas de control correspondientes. También son controles los que tienen una concentración conocida, dicha concentración deberá estar entre el rango de medición

Cálculos

$$\text{ppm Fluoruro (F}^{-}\text{)} = C \times 1000/P$$

Donde:

ppm = mgF/kg

C = lectura del equipo en ppm (mgF/L)

1000 = factor de dilución

P = peso de la muestra en gramos

Interpretación de los resultados

El valor máximo admisible para Flúor en sal para consumo humano es de 220 mg F/kg y el valor mínimo es de 180 mg F/kg, según Decreto 547 de 1996 del Ministerio de Salud.

Expresión y emisión de resultados

- **Emisión:** Los datos de ensayo se interpolan en la curva de calibración, y se expresan como mg F/L luego de aplicada la fórmula de cálculo.
- **Expresión:** Para el caso de la sal para consumo humano, la emisión de resultados se realiza teniendo en cuenta el Decreto 547 de 1996 del Ministerio de Salud.

Referencias

1. Orion Research Incorporated, Instruction Manual for Fluoride Electrode Model 94 - 09-00, 96 - 09 - 00, Cambridge, Massachusetts 02139; 1983
2. Orion Research Incorporated, EA 940 Expandable Ion Analyzer Instruction Manual , Cambridge, Massachusetts 02139; 1985

3. República de Colombia. Ministerio de Salud. INVIMA. Manual de técnicas analíticas utilizadas en el control de calidad de sal para consumo humano. Bogotá 1997.
4. República de Colombia. Ministerio de Salud. Decreto 547 de 1996