

VALIDACIÓN DEL MÉTODO POTENCIOMÉTRICO POR IÓN SELECTIVO PARA LA DETERMINACIÓN DE FLÚOR EN SAL, AGUA Y ORINA

Patricia Aguilar R*.

* Ingeniera Química, MsC. Tecnología de Alimentos y Agroindustria, División de Química, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición, Instituto Nacional de Salud.

RESUMEN

Objetivo: Validar el método potenciómetro por ión selectivo en la determinación de fluoruro. **Materiales y métodos:** Se analizaron 3 tipos de muestras (sal, agua, y orina), trabajándose con 3 analistas para el agua y sal, y 2 para la orina. La validación se realizó en 2 días, realizándose 10 ensayos por día. Se calculó la precisión (en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad) y exactitud del método (en términos de recuperación del analito adicionado a la muestra). **Resultados:** Se obtuvo una desviación estándar relativa (RSD) de 2,68%, 3,29% y 2,52% en sal, agua y orina, respectivamente, y se logró recuperar 98,20%, 99,42% y 98,11% del analito en las mismas muestras de sal, agua y orina, respectivamente. **Conclusión:** El método potenciómetro por ión selectivo, realizados en condiciones óptimas y apropiadas, puede aplicarse para la determinación de flúor en muestras de sal, agua y orina.

Palabras claves: Estudios de validación; Flúor; Electrodo de ión-selectivo (fuente: BIREME).

ABSTRACT

Objective: To validate the ion-selective potentiometric method for fluorine determination. **Materials and methods:** Three different samples (salt, water and urine) were analyzed; 3 analysts took part in the water and salt determination and 2 in the urine's. The validation was done in 2 days, having performed 10 trials/day. The accuracy, in terms of reproducibility and repeatability, and the precision of the method (in terms of recovery of the analyte added to the sample) were determined. **Results:** A Relative Standard Deviation (RSD) of 2,68%, 3,29% and 2,52% in salt, water and urine was obtained, and it was also possible to recover 98,20%, 99,42% and 98,11% of the analito for the same salt, water and urine samples. **Conclusion:** The ion-selective potentiometric method, if used in optimal and appropriate conditions, can be useful to determine fluorine in salt, water and urine samples.

Key words: Validation studies; Fluorine; Ion-selective electrodes (source: BIREME).

INTRODUCCIÓN

El fluoruro es un elemento muy importante para las personas, considerado indispensable por su efecto en el esmalte dental, confiriéndole una máxima resistencia frente a las caries. Debido a la fluoración del agua potable, el uso de pastas dentales con fluoruro y a un mayor uso de fluoruro en la cadena alimenticia, la frecuencia de las caries han disminuido en un 50% en los últimos 15 años¹. Además, en la etapa de desarrollo y crecimiento de las personas, este nutriente junto al calcio y otros minerales, contribuyen a formar y estabilizar la estructura sólida de los huesos.

El flúor que no es depositado en los tejidos duros, es eliminado por el riñón a través de la orina después que ha terminado el desarrollo. Cabe resaltar que el flúor ingerido puede sobrepasar los niveles de absorción ósea, por lo que si no existe una ingesta suficiente, este se

moviliza ocasionando una desmineralización de estas estructuras. Esta es la razón por la que el adulto también necesita una ingesta mínima diaria de flúor².

Existen distintos métodos que se aplican en la medición del flúor como, por ejemplo, el método colorimétrico³, que consiste en la reacción del flúor presente en la muestra, previamente acidificada con nitrato de torio, para formar un complejo que se colorea con el indicador rojo de alizarina; luego, la determinación se realiza por comparación del color obtenido en la muestra frente a un estándar de flúor de concentración conocida. Esta técnica semicuantitativa requiere que la cantidad adicionada de nitrato de torio sea exactamente la misma tanto en la muestra como en el estándar y que la comparación del color se realice en el punto final de la reacción. Cuando se aplica este método en alimentos, estos deben ser llevados previamente a cenizas con alguna sal fundente, tratadas con ácido perclórico y luego destiladas.

Otros métodos para determinar flúor son: el método por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) con detección ultravioleta, el método indirecto por espectrometría

Correspondencia: Patricia Aguilar Rodríguez. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Tizón y Bueno 276, Lima 11, Perú. Telf.: (0511) 4639588 Fax: (0511) 4639617. E-mail: pastor_aguilar@yahoo.com

de emisión de plasma con espectrometría de masas (ICP-MS) y el método por ión selectivo. Los dos primeros, determinan el flúor como anión, es decir fluoruro, a nivel de trazas y en simultáneo con otros aniones o cationes. En tanto, el método por ión selectivo, se basa en la medida del potencial de una solución que contiene iones fluoruro, cuando se sumerge dentro de ella un electrodo específico para fluoruro y uno de referencia, creándose una corriente eléctrica entre la muestra y la solución interna del electrodo de ión selectivo, cuyo potencial será la medida de la concentración de fluoruro.

Debido a la relativa sencillez de este último método (las muestras no necesitan un tratamiento demasiado complicado antes de la lectura) y a su menor costo operativo (permite medir aisladamente el anión fluoruro), se realiza el presente trabajo, con el objetivo de validar este método para la determinación de flúor en tres muestras diferentes (sal, agua y orina).

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio de validación realizado en el Laboratorio de Química del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición del Instituto Nacional de Salud (CENAN-INS).

EQUIPO

Se utilizó un titulador-analizador de iones automático, 751 GPD Titrino, marca Metrohn, con electrodo selectivo de flúor y electrodo de referencia de Ag/AgCl.

SELECCIÓN Y RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Se emplearon tres tipos diferentes de muestras: sal, agua y orina. La muestra de sal fue obtenida de un sólo lote de producción de sal yodada para mesa de marca *MARINA*, producida por la empresa Quimpac S.A., tomándose una muestra representativa de 5 Kg. del lote N° 01RMM01.08; la muestra de agua (2 litros) se obtuvo de un punto de muestreo de agua canalizada de la localidad de Patipamapa, provincia de Cutervo, departamento de Cajamarca; y finalmente, la muestra de orina fue colectada durante 24 horas de un donante de sexo masculino de 30 años de edad, que vive en la zona urbana y consume agua potable.

PROCEDIMIENTO

Se empleó el reactivo TISAB, que ajusta la fuerza iónica del medio en que se sumergen los electrodos. Esta solución se preparó con 500 mL de agua tridestilada en un vaso de precipitado, a la que se agregó 57 mL de ácido acético glacial, 58 g de cloruro de sodio y 12 g de citrato de sodio. La solución resultante se mezcló hasta su disolución, se llevó a baño maría por una hora a 60°C, y luego se introdujo en la solución un electrodo de medidor de pH, adicionando lentamente hidróxido de sodio 5M, hasta que se obtuvo un pH entre 5,0 y 5,5.

Para establecer la curva de calibración, se preparó una solución stock de 150 ppm (mg/mL) de concentración a partir del estándar de flúor de 1000 ppm y, a partir de ello, las soluciones para cada muestra: de 1 y 10 ppm para la

sal, de 0,2 y 2 ppm para el agua, y de 0,3 y 3 ppm para la orina. Seguidamente, se tomó 20 mL de cada solución, a las que se les adicionó otros 20 mL del reactivo TISAB. Se colocaron los electrodos de flúor y de referencia en la solución, se agitó durante 3 minutos y, por último, se realizó por separado la lectura de los estándares (alto y bajo).

Para determinar la concentración de flúor en la muestra, se pipeteó 20mL de la muestra de agua u orina, se vertió en un vaso de precipitado de 50mL, y se adicionó 20 mL del reactivo TISAB. Luego, se colocaron dentro de la muestra los electrodos de flúor y el de referencia, se agitó durante 3 minutos y, finalmente, se realizó la lectura (concentración de flúor expresada en ppm)⁴.

En el caso de la sal, se pesó 5 g. de la muestra y se llevó a un matraz volumétrico (fiola) de 200mL; a partir de esta disolución, se pipeteó 20mL y se adicionó 20 mL del reactivo TISAB. Igualmente, se colocaron en la solución los electrodos de flúor y de referencia, se agitó durante 3 minutos y se realizó la lectura directa.

DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS

La validación se realizó mediante el uso de la Norma ISO 5725-2 (precisión y exactitud del método)⁵. La precisión del método se evaluó en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad; para ello, se trabajó con 3 analistas para las determinaciones de flúor en agua y sal y 2 para las mediciones en orina, ya que al ser la muestra un fluido orgánico de un único donante, no se obtuvo mayor cantidad. Además, el ensayo se realizó en 2 días diferentes y cada analista realizó 10 ensayos por día, bajo condiciones de repetibilidad. La consistencia entre los resultados de cada analista fue determinada por la prueba de Mandel (h y k) y se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la presencia de diferencias entre los resultados de los analistas.

La exactitud del método se evaluó en términos de recuperación porcentual, para lo cual se adicionó a la muestra una cantidad conocida del analito, habiéndose realizado previamente los ensayos basales para determinar la cantidad de analito que poseía la muestra.

RESULTADOS

En ninguna de las tres muestras se encontró inconsistencia en los resultados de cada analista (ninguno sobrepasó los niveles críticos de Mandel para un nivel de significancia de 1% y 5%).

En la **muestra de sal**, se encontró una desviación estándar relativa (RSD) de repetibilidad y reproducibilidad de 2,68% y 4,07%, respectivamente. Al adicionar el analito en 4 concentraciones diferentes en la muestra, se obtuvo un porcentaje de recuperación promedio de 98,20% y un RSD de recuperación de 1,54%.

En la **muestra de agua**, se obtuvo un RSD de repetibilidad y reproducibilidad de 3,29% y 5,58%, respectivamente, y un porcentaje de recuperación promedio de 99,42%, con un RSD de recuperación de 0,61%.

Finalmente, en la **muestra de orina**, se reportó un RSD de repetibilidad y reproducibilidad de 2,52% y 6,66%, respectivamente, con un porcentaje de recuperación promedio de 98,11% y un RSD de recuperación de 1,57%.

Los porcentajes de recuperación promedios de cada tipo de muestra, según niveles de concentración se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de recuperación promedio del analito en 4 niveles de concentración.

Muestra de sal		Muestra de agua		Muestra de orina	
Analito añadido	% de recup.	Analito añadido	% de recup.	Analito añadido	% de recup.
1,00	99,73	0,50	100,00	0,50	96,33
1,25	99,36	0,75	98,70	1,0	99,00
1,50	96,96	1,00	99,00	2,0	99,00
1,75	96,74	1,50	100,00	-	-

DISCUSIÓN

Uno de los primeros pasos en el monitoreo del flúor y, en general, de cualquier micronutriente o compuesto es establecer el método de medición de la concentración real del analito de interés. Para ello, existen múltiples métodos de medición. Sin embargo, se eligió la metodología por ión selectivo, por ser considerado un método directo, rápido y económico, debido a que las muestras no necesitan un tratamiento demasiado complicado antes de la lectura³, además que permite medir los compuestos individualmente, a diferencia de otros métodos que miden simultáneamente varios compuestos (aniones o cationes) de la misma muestra^{6,7}, como por ejemplo, el HPLC para F^- , Cl^- , Br^- , I^- , NO_2^- y NO_3^- , y el ICP-MS para F^- , Al^+ y Ca^{+2} .

Al aplicar el método de ión selectivo, se debe tener cuidado de trabajar con la pendiente del electrodo entre un rango de 54 a 58 mV, ya que fuera de ella no se obtienen resultados confiables; además, el pH de la solución ajustadora de la fuerza iónica (TISAB) debe estar entre 4,5 y 5, para así asegurar la anulación de las interferencias⁸.

Cuando se sospeche que las muestras contienen aluminio se debe trabajar con otra solución TISAB, indicada para anular la interferencia de éste con el flúor⁹.

Revisando los valores de precisión y exactitud encontrados para el método de ión selectivo en las diferentes matrices estudiadas, estas fueron satisfactorias. Respecto a la precisión, los valores de RSD fueron menores a 10% (valor de corte máximo referido en la literatura para estimar que un método es preciso)⁹. Del mismo modo, se consideran habituales los porcentajes de recuperación entre 60 y 80%¹⁰, lo cual indica que el método estudiado es muy exacto (en nuestra validación se obtuvieron porcentajes de recuperación promedio en los tres tipos de muestras superiores al 98%).

Por tanto, se concluye que el método de ión selectivo, realizado en condiciones óptimas y apropiadas, puede ser aplicado en muestras de sal, agua y orina, para la determinación de flúor.

REFERENCIAS

1. **Krause A, Kathleen L, Mahan M.** Nutrición y dietoterapia. Octava edición. Pennsylvania, USA: Ed. Interamericana McGraw Hill; 1995.
2. **Organización Panamericana de la Salud - Instituto Internacional de Ciencias de la Vida.** Conocimientos actuales de nutrición. Sexta edición. Washington; 1991.
3. **Association of Official Analytical Chemists.** AOAC 939.11: Fluoride in water, colorimetric method. AOAC; 1995.
4. **Itintec.** Norma Itintec 209.232. R.D.Nº 396-85, Itintec DG/DN 85-10-02; Perú; 1985.
5. **Cunniff P.** Official Methods of Analysis of AOAC International. Sixteenth Edition. USA; 1995. p. 2-12.
6. **Montes M.** Indirect determination of fluoride traces in natural waters by ion chromatography and ICP-MS detection. Application note. University of Oviedo, Spain; 2000.
7. **Riedmann M, Glatz B.** Sensitive HPLC analysis of anions using standard equipment. Application note. Hewlett Packard, Federal Republic of Germany; 1992.
8. **Orion Research.** Handbook of Electrode Technology Orion Research. USA; 1982.
9. **Metrohm L.** Manual of instructions ion selective electrodes (ISE). CH-9101 Switzerland; 1988.
10. **Quattrocchi OA, Albaria SL, Laba RF.** Introducción a la HPLC, aplicación y práctica. Buenos Aires, Argentina: Ed. Artes Gráficas Farro; 1992.