

# Determinación de fluoruros en orina - Método del electrodo de ión específico / Potenciometría

MTA/MB-025/A96

*Palabras clave:* fluoruro, orina, control biológico, electrodo de ión específico, potenciometría.

## PRESENTACIÓN

Los fluoruros inorgánicos tienen una amplia aplicación en sectores industriales como la fundición y el refinado de metales y aleaciones metálicas, la fabricación de ácido fluorhídrico, y como desinfectante y conservante de la madera. Además, puede producirse como producto secundario en ciertos tipos de soldaduras y en la industria de la cerámica, vidrio y esmaltes.

La toxicidad de los fluoruros afecta a los ojos y a las vías respiratorias, irritando las mucosas de las mismas y llegando a producir obstrucción respiratoria. Con carácter crónico, la exposición puede llegar a producir fluorosis ósea con tendencia a la calcificación de los tendones y ligamentos.

El método "*Determinación de fluoruros en orina - Método del electrodo de ión específico / Potenciometría*" es un **MÉTODO ACEPTADO** por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Como **MÉTODO ACEPTADO** se entiende un método evaluado por el INSHT y que ha sido sometido a un protocolo de validación por organizaciones oficiales competentes en el área de la normalización de métodos analíticos, o bien ha sido adoptado como método recomendado por asociaciones profesionales dedicadas al estudio y evaluación de riesgos por agentes químicos, así como aquellos métodos recomendados por la UE o basados en métodos ampliamente conocidos y evaluados por especialistas en este tipo de análisis.

## Índice

### 1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

### 2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

### 3. REACTIVOS

3.1. Agua destilada y desionizada

3.2. Ácido acético glacial

3.3. Cloruro de sodio

3.4. Citrato de sodio

3.5. Hidróxido de sodio

3.6. Hidróxido de sodio 5 M.

3.7. Fluoruro de sodio

3.8. Tampón para el ajuste de la fuerza iónica total

3.9. Disoluciones patrón de fluoruro

3.10. Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA)

### 4. APARATOS Y MATERIAL

4.1. Frascos de polietileno o de propileno

4.2. Vasos de precipitado de 100 ml y material de vidrio

4.3. Agitador magnético

4.4. Electrodo específico de ión fluoruro

4.5. Electrodo de referencia de simple unión

4.6. Medidor de pH

## 5. TOMA DE MUESTRAS

## 6. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

6.1. Limpieza del material

6.2. Preparación de la muestra

6.3. Preparación de patrones y curva de calibración

6.4. Determinación potenciométrica

## 7. CÁLCULOS

## 8. PRECISIÓN

## 9. BIBLIOGRAFÍA

## ANEXO A

## ANEXO B

---

# 1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método describe el procedimiento a seguir y el equipo necesario para la determinación de fluoruros en orina, mediante la técnica de Electrodo de Ión Específico (EIE) en un intervalo de concentración de 0,2 µg F<sup>-</sup>/ml a 200 µg F<sup>-</sup>/ml de orina (10<sup>-5</sup> M a 10<sup>-2</sup> M).

El método es aplicable al seguimiento de poblaciones laborales potencialmente expuestas a fluoruros inorgánicos.

La ingestión de sustancias conteniendo fluoruros en la dieta o en el agua consumida, así como la aportación debida a tratamientos dentales deben ser considerados como potenciales interferencias en la interpretación de los resultados. La presencia de algunos iones metálicos como el Al<sup>3+</sup>, que pueden influir en la lectura, puede ser neutralizada añadiendo ácido etilendiaminotetracético (EDTA) a la muestra de orina a razón de 2 mg de EDTA por cada 100 ml de orina.



# 2. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La muestra de orina se recoge en un frasco de polietileno, conteniendo 0,20 g de EDTA. La orina es tratada con un tampón para el ajuste de la fuerza iónica total, y los fluoruros solubles presentes en la muestra se determinan mediante la técnica de electrodo de ión específico.



# 3. REACTIVOS

Todos los reactivos utilizados deben tener como mínimo la especificación "para análisis".

## 3.1. Agua destilada y desionizada

El agua será de calidad 1 de acuerdo con la Norma ISO 3696 (9.7.).

## 3.2. Ácido acético glacial

**PRECAUCIÓN:** SUSTANCIA CORROSIVA. Frases (R): 10-35. Frases (S): 2-23-26. [Real Decreto 363/1995](#) (9.6.).

### 3.3. Cloruro de sodio

### 3.4. Citrato de sodio

### 3.5. Hidróxido de sodio

**PRECAUCIÓN:** SUSTANCIA CORROSIVA. Frases (R): 35 (S): 2-26-37/39. [Real Decreto 363/1995 \(9.6.\)](#).

### 3.6. Hidróxido de sodio 5 M.

Se disuelven 20 g de hidróxido sódico en agua bidestilada hasta completar 100 ml de disolución.

### 3.7. Fluoruro de sodio

**PRECAUCIÓN:** SUSTANCIA TÓXICA. Frases (R): 23/24/25, (S): 1/2-26-44. [Real Decreto 363/1995 \(9.6.\)](#).

### 3.8. Tampón para el ajuste de la fuerza iónica total

Se vierten 500 ml de agua destilada en un vaso de 1 litro. Se añaden 57 ml de ácido acético glacial, 58 g de cloruro sódico y 4 g de citrato de sodio (3.4.). Agitar hasta obtener la disolución. Colocar el vaso en un baño de agua para enfriar. Añadir lentamente al hidróxido sódico 5 M controlando el pH hasta que el mismo se sitúe entre 5 y 5,5 unidades. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a 1 litro con agua según apartado 3.1.

Alternativamente pueden utilizarse con el mismo propósito disoluciones comerciales ya preparadas, teniendo en cuenta el pH de trabajo.

### 3.9. Disoluciones patrón de fluoruro

**3.9.1. Disolución 0,1 M de fluoruro (1900 µg/ml I).** Se seca el fluoruro de sodio (3.7.) en estufa a 120 °C durante 4 horas y se deja enfriar en desecador. Se pesan 4,200 g de fluoruro sódico, se disuelven en agua (3.1.) y se enrasa a un litro.

**3.9.2. Disolución 10<sup>-2</sup> M de fluoruro (190 µg/ml).** Diluir 10 ml de la disolución 3.9.1. con agua y enrasar a 100 ml.

**3.9.3. Disolución 10<sup>-3</sup> M de fluoruro (19 µg/ml).** Diluir 10 ml de la disolución reseñada en el apartado 3.9.2. con agua y enrasar a 100 ml.

**3.9.4. Disolución 10<sup>-4</sup> M de fluoruro (1,9 µg F-/ml).** Diluir 10 ml de la disolución del apartado 3.9.3. con agua y enrasar a 100 ml.

Las disoluciones preparadas como se indica se guardarán en botellas de polietileno. La disolución de fluoruro 0,1 M es estable durante 2 meses. El resto de disoluciones patrón deberán ser preparadas cada vez que se vayan a efectuar análisis.

### 3.10. Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA)

## 4. APARATOS Y MATERIAL

**4.1. Frascos de polietileno o de propileno** de 100 ml de capacidad.

**4.2. Vasos de precipitado de 100 ml y material de vidrio** de borosilicato 3.3 de acuerdo con la norma ISO 3585 (9.9.).

**4.3. Agitador magnético** con barras agitadoras de pequeño tamaño.

**4.4. Electrodo específico de ión fluoruro.**

**4.5. Electrodo de referencia de simple unión.**

**4.6. Medidor de pH** con escala en milivoltios expandida (sensibilidad de 0,5 mV).

## 5. TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de orina se toman en frascos de polietileno o polipropileno de al menos 100 ml. Si se sospecha la presencia de sustancias que puedan producir interferencias, como iones metálicos (Al<sup>+3</sup>), deben añadirse 0,2 g de EDTA (3.10.) por cada 100 ml de orina recogida. Las muestras que no vayan a analizarse de forma inmediata pueden mantenerse refrigeradas durante al menos una



## 6. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

### 6.1. Limpieza del material

**6.1.1.** Todo el material de vidrio utilizado en el análisis,

después de su lavado con un detergente, debe mantenerse sumergido varios minutos en ácido nítrico al 50% (V/V) y ser después cuidadosamente enjuagado con agua ([3.1.](#)).

**6.1.2.** Las botellas y el material de polipropileno y polietileno se limpiarán sumergiéndolas en ácido nítrico diluido al 10% (V/V) durante varias horas y posteriormente enjuagándolas con agua ([3.1.](#)).

**NOTA:** Todo el material tanto de plástico como de vidrio debe estar exento de fluoruro.



### 6.2. Preparación de la muestra

**6.2.1.** Se trasvasan 10 ml de muestra de orina, una vez que ésta se ha estabilizado a temperatura ambiente, a un vaso de precipitado de 100 ml y se añaden 10 ml del tampón de ajuste de la fuerza iónica total ([3.8.](#)), procediéndose posteriormente a su agitación para homogeneizar la disolución. La muestra así preparada está lista para la determinación potenciométrica.



### 6.3. Preparación de patrones y curva de calibración

**6.3.1.** Las disoluciones patrón para efectuar la calibración se preparan por dilución de 10 ml de cada una de las disoluciones de trabajo indicadas en el apartado [3.9.](#) con 10 ml de la disolución tampón del apartado [3.8.](#) en sendos vasos de precipitado de polietileno o polipropileno, agitando para su homogeneización. Las disoluciones patrón así preparadas están listas para efectuar la determinación potenciométrica.

**6.3.2.** Se prepararán al menos tres patrones que cubran todo el intervalo de concentraciones de las muestras a analizar. Es aconsejable trabajar dentro del intervalo lineal de respuesta del instrumento de medida. Si hay interferencias presentes, los patrones se pensarán de la misma forma que las muestras a fin de eliminarlas o de minimizar su efecto.

**6.3.3.** Curva de calibración. Las lecturas, en milivoltios, obtenidas en la determinación potenciométrica ([6.3.](#)) de los patrones de calibración ([6.2.1.](#)) se representan frente a las concentraciones de los mismos, expresadas en microgramos de fluoruro por mililitro de orina ( $\mu\text{g/ml}$ ), en papel semilogarítmico. Las concentraciones de fluoruro se representarán en el eje logarítmico y las lecturas en milivoltios en el eje de escala lineal.



### 6.4. Determinación potenciométrica

**6.4.1.** Se introducen los electrodos en la disolución y se ajustan la posición del vaso y la velocidad de agitación.

**6.4.2.** Situado el equipo medidor en la escala de milivoltios y una vez estabilizada la lectura (deriva inferior a 0,5 mv/min), se procede a su anotación.

**NOTA:** Para la mayoría de las muestras, la lectura se estabiliza en uno o dos minutos. La estabilización tarda más a concentraciones bajas.

**6.4.3.** Finalizada la operación, se lavarán los electrodos con agua y se secarán suavemente antes de proceder a efectuar la siguiente determinación.

**NOTA:** Las muestras y los patrones deben estar a la misma temperatura para efectuar la determinación.



## 7. CÁLCULOS

### 7.1. Determinación de la concentración de fluoruros en la curva de calibración

La concentración de fluoruros en la muestra, expresada en microgramos por mililitro de orina ( $\mu\text{g/ml}$ ), se determina directamente por

interpolación de la lectura obtenida, en la curva de calibración.

**NOTA:** Es habitual expresar la concentración en miligramos de fluoruro por litro de orina (mg/l), para lo cual no es necesaria ninguna transformación numérica.

7.2. Los resultados pueden referirse a la cantidad de creatinina presente en la muestra (9.8) mediante la siguiente expresión:

$$\text{mg fluoruros/g creatinina} = \frac{\text{mg fluoruros/l orina}}{\text{g creatinina/l orina}}$$

La determinación de creatinina se describe en el [anexo B](#).

## 8. PRECISIÓN

8.1. La precisión y la exactitud del método y la estabilidad y la conservación de las muestras han sido determinadas de acuerdo con un protocolo de validación establecido (9.11.).

8.2. La precisión estimada para el método, expresada en términos de coeficiente de variación, en todo el intervalo ensayado, es inferior al 2% (tablas 1 y 2).

8.3. El sesgo del método ha sido evaluado utilizando materiales de referencia (9.12.). Los resultados de dicha evaluación se encuentran en la [tabla 1](#).

8.4. El intervalo de aplicación para este método va desde 0,2 µg F-/ml a 200 µg F-/ml de orina (10<sup>-5</sup> M a 10<sup>-2</sup> M).

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. National Institute for Occupational Safety & Health (NIOSH). Manual of Analytical Methods. 4th ed., Met hod 8308 (1985).
2. Tietz, H.W. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd ed., Wb. Saunders Co.
3. Basett, R.C. Biological Monitoring Methods for Industrial Chemicals, Biomedical Publications, Davis, c.a., 140-143 (1980).
4. Harwood, J.E. The Use of en Ion Selective Elec trode for Routine Flouride Analysis on Water Sam ples in Water Research, Vol. 3, pp. 273-280. Pergamon Press Journal, 1969.
5. Harvey, B. Elkins, Ph. D. Concentration adjuste ments in urinalysis. Am. Ind. Assoc. J. 35, 559-565,(1974).
6. [Real Decreto 363/1995](#) <sup>(1)</sup> de 10 de marzo (B.O.E. 5.6.95) "Reglamento sobre notificación de sustan cias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas". Modificado el anexo 1 por la Orden de 13.9.95 (B.O.E. 19.9.95).
7. ISO 3696. Agua para uso en laboratorio. Especifica ciones.
8. ISO 8655. "Partes 1 a 4. Aparatos volumétricos de pistón y/o émbolo.
9. ISO 3585. Instalaciones de vidrio, tuberías y ajustes. Propiedades del vidrio borosilicatado.
10. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Compendium of analytical nomenclatura. Pergamon Press. 1978.
11. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Protocolo de validación para determinacio nes en muestras biológicas (sangre y orina) de inte rés en Higiene Industrial. MTA/PV-III/90.
12. Guide ISO 30. Termes et définitions utilisés en rapport avec les matériaux de référence. 1981.

## ANEXO A

**TABLA 1**  
**Prueba intralaboratorio. Cálculo del sesgo y de la precisión intralaboratorio**

Material de referencia	Concentración certificada (*) mg/l	Resultados obtenidos		
		Concentrac. (*) mg/l	C.V. (%)	Sesgo (%)
BIORAD I	2,0 ± 0,4	1,94	1,2	-3,0
BIORAD II	7,8 ± 1,6	7,90	2,0	1,7

(\*) Cada resultado es la media de seis muestras analizadas.

**NOTA** - Para el cálculo del sesgo de un método analítico deben ser utilizados Materiales de Referencia Certificados (MRC). Cuando no se disponga de ellos y se utilicen otros Materiales de Referencia (MR) como los patrones comerciales de concentración garantizada, el valor del sesgo calculado a partir de ellos se considerará únicamente como indicativo (9.12.).

**TABLA 2**  
**Estudio de estabilidad de las muestras**

**Muestra 1**

FECHA ANÁLISIS	TEMPERATURA	Concentrac. (*) mg/l	CV (%)	DIF. (%)
Inmediato	Ambiente	6,63	0,82	
3 días	Ambiente	6,40	0	-3,5
	Refrigerado	6,43	0,81	-3,0
8 días	Ambiente	6,37	1,29	-3,9
	Refrigerado	6,37	1,50	-3,9
15 días	Ambiente	7,10	1,54	+7,1
	Refrigerado	7,10	1,54	+7,1

(\*) Cada concentración es el valor medio de seis muestras analizadas.

**Muestra 2**

FECHA ANÁLISIS	TEMPERATURA	Concentrac. (*) mg/l	CV (%)	DIF. (%)
Inmediato	Ambiente	7,17	0,58	
3 días	Ambiente	7,33	4,10	+2,2
	Refrigerado	7,12	0,58	-0,7
8 días	Ambiente	6,93	1,44	-3,3
	Refrigerado	6,97	1,77	-2,8
15 días	Ambiente	7,87	1,15	+9,8
	Refrigerado	7,80	0	+9,8

(\*) Cada concentración es el valor medio de seis muestras analizadas.

## ANEXO B: DETERMINACIÓN DE CREATININA EN ORINA

### B.1. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El método se basa en la medida de la velocidad con la cual la creatinina reacciona en medio alcalino con el ácido pícrico (Reacción de Jaffé), formando un compuesto coloreado, que se determina espectrofotométricamente a 520 nm.

### B.2. REACTIVOS

Todos los reactivos deben tener como mínimo la especificación "para análisis". El agua utilizada será grado 2 de pureza como mínimo de acuerdo a ISO 3696 (9.7.).

#### B.2.1. Hidróxido de Sodio

**NOTA:** SUSTANCIA CORROSIVA. Frases (R): 35, Frases (S): 2-26-37/39. Real Decreto 363/1995. (9.6.).

#### B.2.2. Ácido pícrico

**NOTA:** SUSTANCIA TOXICA Y EXPLOSIVA. Frases (R): 2-4-23/24/25. Frases (S): 28-35-37-44. Real Decreto 2216/1985 (9.6.).

### B.2.3. Ácido clorhídrico min. 30%

**NOTA:** SUSTANCIA CORROSIVA. Frases (R): 34-37. Frases (S): 2-26. Real Decreto 2216/1985 (9.6.).

### B.2.4. Creatinina

### B.2.5. Disolución de NaOH 0,4 N

Pesar 16,0 g de NaOH disolviendo y aforando a 1 litro con agua.

### B.2.6. Disolución de ácido pícrico

Disolver 2,0000 g de ácido pícrico en agua, aforando a 1 litro.

### B.2.7. Patrón de creatinina (1 mg/ml).

Pesar 1,0000 g. de creatinina. Transferido a un matraz aforado de 1 litro con ayuda de un pequeño volumen de agua. Añadir 8,5 ml de ácido clorhídrico concentrado. Agitar hasta la disolución completando finalmente con agua. Estable al menos 1 mes.



## B.3. APARATOS Y MATERIAL

**B.3.1. Espectrofotómetro** o colorímetro capaz de leer a 520 nm.

**B.3.2. Cronómetro**



## B.4. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

**B.4.1.** Diluir la orina con agua 1/100.

**B.4.2.** Añadir 0,5 ml de la orina diluida a 1,0 ml de la disolución de hidróxido sódico. Mezclar bien y dejar estabilizar 5 minutos a temperatura ambiente.

**B.4.3.** Añadir 1,0 ml de la disolución de ácido pícrico. Mezclar bien y trasvasar inmediatamente a la cubeta del espectrofotómetro y después de exactamente 1 minuto medir la absorbancia ( $A_1$ ) a 520 nm. Exactamente 5 minutos después de la primera medida, volver a medir la absorbancia ( $A_2$ ) a 520 nm.

**B.4.4.** Proceder análogamente con 0,5 ml de la disolución patrón de creatinina (B.2.7).

La reacción del ALA con el ácido pícrico es muy sensible a la temperatura, por lo que todas las muestras y los patrones deben estar a la misma temperatura. Cuando dicha temperatura sea superior a 30 °C, la primera absorbancia debe ser leída a los 30 segundos.



## B.5. CÁLCULOS

La creatinuria se calcula según las siguientes ecuaciones:

$$c \text{ (mg creatinina/100 ml orina)} = \frac{A_2 - A_1}{A_{p2} - A_{p1}} \times 100$$

donde:

$A_2$  y  $A_1$ : Son las absorbancias de la muestra después de 5 minutos y 1 minuto respectivamente de comenzar la reacción (B.4.3.).

$A_{p2}$  y  $A_{p1}$ : Son las absorbancias correspondientes del patrón de creatinina.

La concentración de creatinina en gramos por litro de orina se obtiene según la siguiente expresión:

$$C \text{ (g creatinina/l)} = \frac{c \text{ (mg creatinina/100 ml)}}{100}$$



Para cualquier observación o sugerencia en relación con este Método puede dirigirse al  
**Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo**  
**Centro Nacional de Verificación de Maquinaria**  
Camino de la Dinamita, s/n Monte Basatxu-Cruces - 48903 BARACALDO (VIZCAYA)  
Tfn. 944 990 211 - 944 990 543 Fax 944 990 678  
Correo electrónico.- [cnvminsht@mtas.es](mailto:cnvminsht@mtas.es)



---

## ADENDA

### Revisión normativa

<sup>(1)</sup> [Real Decreto 363/1995](#) sufre periódicamente modificaciones por lo que es conveniente consultar los listados que en esta Web se trata de mantener actualizados

