

**IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE VOLTAMPEROMETRÍA
DIFERENCIAL DE PULSOS CON REDISOLUCIÓN ANÓDICA (DPASV) PARA
LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL EN ATÚN ENLATADO**

JAIR ESTEBAN BURGOS CONTENTO

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISION DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C.
2015**

**IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE VOLTAMPEROMETRÍA
DIFERENCIAL DE PULSOS CON REDISOLUCIÓN ANÓDICA (DPASV) PARA
LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL EN ATÚN ENLATADO**

JAIR ESTEBAN BURGOS CONTENTO

**Trabajo de tesis para optar por el título de Ingeniero Ambiental
Modalidad: Solución de un problema de Ingeniería**

Director: Ph.D Cesar Augusto Quiñones Segura

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISION DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTA D.C.
2015**

TABLA DE CONTENIDO

1. RESUMEN	6
2. INTRODUCCIÓN	7
3. OBJETIVOS.....	8
3.1. OBJETIVO GENERAL.....	8
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
4. MARCO DE REFERENCIA	9
4.1. MERCURIO	9
4.2. ATÚN ENLATADO	10
4.2.1. Captura.....	12
4.2.2. Producción	13
4.2.3. Consumo.....	13
4.2.4. El mercurio en relación con el atún.....	13
4.3. TÉCNICAS ELECTROANALÍTICAS	15
5. DESARROLLO CENTRAL	21
5.1. METODOLOGÍA:	21
5.1.1 Adquisición y características de las muestras:.....	21
5.1.2. Digestión de las muestras:	21
5.1.3. Equipos	22
5.1.4. Método curva de calibración	23
5.1.5. Método adición estándar	34
5.1.6. Parámetros de la celda voltamétrica.....	34
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS	38
6.1. RESULTADOS Y ANÁLISIS PARA LAS MUESTRAS DEL ATÚN AL	38
6.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS PARA LAS MUESTRAS DEL ATÚN AT	41
6.3. RESULTADOS Y ANÁLISIS PARA LAS MUESTRAS DEL ATÚN BG	44
6.4. RESULTADOS Y ANÁLISIS PARA LAS MUESTRAS DEL ATÚN VIK	48
6.5. RESULTADOS Y ANÁLISIS PARA LAS MUESTRAS DEL ATÚN VC	53
6.6. RESULTADOS GENERALES PARA TODAS LAS MARCAS DE ATÚN	55
7. CONCLUSIONES	57
8. RECOMENDACIONES.....	58
9. BIBLIOGRAFÍA.....	59

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

<i>ILUSTRACIÓN 1: SEÑALES POTENCIAL-EXCITACIÓN Y VOLTAGRAMA PARA LA VOLTAMETRÍA DE ONDA CUADRADA.....</i>	<i>16</i>
<i>ILUSTRACIÓN 2: TÉCNICA DE POLAROGRAFÍA NORMAL (NP).....</i>	<i>16</i>
<i>ILUSTRACIÓN 3: TÉCNICA DE VOLTAMETRÍA NORMAL DE PULSOS NPV.....</i>	<i>17</i>
<i>ILUSTRACIÓN 4: TÉCNICA DE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE PULSOS.....</i>	<i>18</i>
<i>ILUSTRACIÓN 5: CELDA ELECTROQUÍMICA PARA VOLTAMPEROMETRÍA.....</i>	<i>19</i>
<i>ILUSTRACIÓN 6: BASI CV-50W VOLTAMMETRIC ANALYZER.....</i>	<i>22</i>
<i>ILUSTRACIÓN 7: CONFIGURACIÓN DE LA CELDA VOLTAMÉTRICA.....</i>	<i>34</i>

ÍNDICE DE TABLAS

<i>TABLA 1: ESPECIES DE ATUNES.....</i>	<i>11</i>
<i>TABLA 2: MEDIDAS REGULATORIAS DE CONTENIDO DE MERCURIO TOTAL EN PRODUCTOS DE PESCA.....</i>	<i>14</i>
<i>TABLA 3: MARCAS DE ATÚN Y CARACTERÍSTICAS.....</i>	<i>21</i>
<i>TABLA 4: NOMBRES DE LAS MUESTRAS.....</i>	<i>22</i>
<i>TABLA 5 RESULTADO DE LA CORRIENTE PARA CONCENTRACIONES CONOCIDAS DE MERCURIO.....</i>	<i>24</i>
<i>TABLA 6: RESULTADOS DE LA MUESTRA A1.....</i>	<i>38</i>
<i>TABLA 7: RESULTADOS DE LA MUESTRA A2.....</i>	<i>40</i>
<i>TABLA 8: RESULTADOS DE LA MUESTRA AT1.....</i>	<i>42</i>
<i>TABLA 9: RESULTADOS DE LA MUESTRA AT2.....</i>	<i>44</i>
<i>TABLA 10: RESULTADOS DE LA MUESTRA BG1.....</i>	<i>45</i>
<i>TABLA 11: RESULTADOS DE LA MUESTRA BG2.....</i>	<i>47</i>
<i>TABLA 12: RESULTADOS DE LA MUESTRA V1.....</i>	<i>49</i>
<i>TABLA 13: RESULTADOS DE LA MUESTRA V2.....</i>	<i>51</i>
<i>TABLA 14: RESULTADOS DE LA MUESTRA VK1.....</i>	<i>52</i>
<i>TABLA 15: RESULTADOS DE LA MUESTRA VK2.....</i>	<i>54</i>
<i>TABLA 16: RESULTADOS DE CONCENTRACIÓN GENERALES.....</i>	<i>56</i>

ÍNDICE DE GRÁFICOS

<i>GRÁFICO 1: CURVA DE CALIBRACIÓN.....</i>	<i>24</i>
<i>GRÁFICO 2: SEÑALES DE RESPUESTA PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....</i>	<i>25</i>
<i>GRÁFICO 3: SEÑALES DE RESPUESTA PARA EL AJUSTE DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....</i>	<i>25</i>
<i>GRÁFICO 4: SEÑAL DE RESPUESTA MUESTRA BG1.....</i>	<i>26</i>
<i>GRÁFICO 5: ELECTRODO CON PELÍCULA DE ORO Y SOLUCIÓN PATRÓN.....</i>	<i>27</i>
<i>GRÁFICO 6: SEÑAL DE RESPUESTA DE LA MUESTRA BG1 CON PELÍCULA DE ORO Y 2 ADICIONES PATRÓN.....</i>	<i>27</i>

GRÁFICO 7: SEÑAL RESPUESTA DE LA MUESTRA AT2 CON PELÍCULA DE ORO Y 2 ADICIONES PATRÓN.....	28
GRÁFICO 8: REPETICIÓN DE LA MUESTRA AT2 CON PELÍCULA DE ORO Y 2 ADICIONES DE PATRÓN.....	29
GRÁFICO 9: SEÑAL DE RESPUESTA DE LA MUESTRA VK1 CON PELÍCULA DE ORO Y DOS ADICIONES PATRÓN	29
GRÁFICO 10: BLANCO DE LA CODEPOSICIÓN DE ORO Y MERCURIO	30
GRÁFICO 11: CODEPOSICIÓN MUESTRA A1 CON ORO Y ADICIÓN DE DOS PATRONES.....	31
GRÁFICO 12: CODEPOSICIÓN DE MUESTRA V1 CON ORO Y ADICIÓN DE DOS PATRONES.....	31
GRÁFICO 13: SEÑAL DE RESPUESTA DE LA MUESTRA A2	32
GRÁFICO 14: ADICIONES PATRÓN PARA LA MUESTRA A2.....	33
GRÁFICO 15: TIEMPOS DE DEPOSICIÓN DEL MERCURIO (II)	35
GRÁFICO 16: POTENCIALES DE DEPOSICIÓN DEL MERCURIO (II).....	36
GRÁFICO 17: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA A1	38
GRÁFICO 18: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA A1	38
GRÁFICO 19: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA A2	40
GRÁFICO 20: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA A2	40
GRÁFICO 21: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA AT1	42
GRÁFICO 22: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA AT1.....	42
GRÁFICO 23: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA AT2	43
GRÁFICO 24: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA AT2.....	44
GRÁFICO 25: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA BG1	45
GRÁFICO 26: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA BG1	45
GRÁFICO 27: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA BG2.	46
GRÁFICO 28: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA BG2	47
GRÁFICO 29: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA V1	49
GRÁFICO 30: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA V1	49
GRÁFICO 31: SEÑAL DE RESPUESTA DE LA MUESTRA V2.....	50
GRÁFICO 32: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA V2	51
GRÁFICO 33: SEÑAL DE RESPUESTA PARA LA MUESTRA VK1	51
GRÁFICO 34: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA VK1	52
GRÁFICO 35: SEÑAL DE RESPUESTA DE LA MUESTRA VK2.....	53
GRÁFICO 36: REGRESIÓN LINEAL PARA LA MUESTRA VK2	54

1. Resumen

El presente proyecto tiene como finalidad la determinación de mercurio en 5 marcas diferentes de atún enlatado en la ciudad de Bogotá mediante la implementación de la técnica de voltamperometría diferencial de pulsos con redisolución anódica. Para la implementación de esta técnica primero se realizó la digestión de las muestras como lo indica la NTC 1322, la configuración de la celda electroquímica se realizó con un electrolito soporte de ácido perclórico 0,46 M, y se utilizó un electrodo de trabajo de carbón vítreo de 3 mm de diámetro, un electrodo de referencia de plata- cloruro de plata (Ag/AgCl) y un contraelectrodo con una aleación de titanio y platino, con un tiempo de deposición de 240 segundos, un potencial de deposición de -500 mV y un intervalo de barrido -400 mV- 500mV. La determinación de la concentración de mercurio se realizó mediante la metodología de adición estándar. Posteriormente el análisis de las muestras permitió determinar que tres de las marcas de atún sobrepasan los límites permitidos por la legislación colombiana, y las dos restantes no contienen mercurio o tienen niveles por debajo del límite de detección de la técnica. La máxima concentración encontrada fue de 4,14 ppm en una de las muestras de la marca de atún denominada VC.

2. Introducción

La utilización de todo tipo de materiales en la industria ha incrementado el uso del mercurio, que principalmente se utiliza en la fabricación de lámparas e instrumentos de medida, también en la industria manufacturera de productos químicos; algunas aplicaciones de compuestos de mercurio incluyen su uso como catalizadores, fungicidas, herbicidas, pigmentos e incluso drogas [1]. Es por esto que surge la necesidad de crear una técnica que permita determinar la concentración de mercurio en diferentes tipos de muestras ya sea en agua, suelos, o alimentos. La determinación de este metal es importante debido a su alta toxicidad y facilidad de combinarse con otros metales para formar amalgamas altamente tóxicas para el ambiente y para la salud humana.

La diversidad de técnicas que desarrolladas es muy amplia, entre las cuales se encuentran la espectroscopia de absorción atómica con vapor frío (CVAAS, por sus siglas en inglés) [2], la espectroscopia de fluorescencia atómica con vapor frío (CVAPS, por sus siglas en inglés) [3], la espectrometría de masas con plasma inductivamente acoplado (ICP-MS, por sus siglas en inglés) entre otras[4]. Estas técnicas se han desarrollado durante largo tiempo y por eso tienen límites de detección muy bajos y alto grado de confianza, pero estas técnicas tienen varias desventajas como lo son un largo tiempo de detección, los elevados costos de los equipos utilizados y la complejidad en el manejo de estos que necesitan de personal altamente capacitado. Debido a estos inconvenientes, la investigación y el desarrollo han llevado a encontrar nuevas técnicas que proporcionen resultados de manera más ágil y con menores costos; es donde los análisis electroquímicos surgen como una respuesta a esta necesidad. Son técnicas que no invierten mucho tiempo, ni tampoco mucho dinero, pero que necesita una mayor investigación para que pueda ser más comercial y poder ser implementada en la mayoría de los estudios y no solo para detectar mercurio, sino cualquier otro tipo de sustancia de interés.

En este trabajo se implementan técnicas electroquímicas, específicamente la voltamperometría diferencial de pulsos con redisolución anódica, para la determinación de la concentración de mercurio en diferentes muestras de atún comercial, asegurando que esta pueda ser replicable, y haciendo recomendaciones para la implementación de estas técnicas en futuros trabajos para el análisis de diferentes tipos de muestras, con mejoras significativas en tiempo y costos, además de unos bajos límites de detección.

3. Objetivos

3.1. Objetivo General

Implementar la metodología de voltamperometría diferencial de pulso con redisolución anódica (DPASV) para la determinación de mercurio total contenido en 5 muestras de diferentes marcas de atún enlatado.

3.2. Objetivos Específicos

1. Especificar el tratamiento necesario para la muestra.
2. Determinar la configuración de la celda electroquímica, sustancias y materiales presentes en ésta.
3. Definir los parámetros de la técnica que permitan medir niveles de mercurio en las muestras de atún.
4. Realizar la medición del contenido de mercurio total en 5 marcas diferentes de atún enlatado comercializado en almacenes de cadena de la ciudad de Bogotá.

4. Marco de Referencia

4.1. Mercurio

El mercurio (Hg) es una metal que se encuentra en el ambiente en diferentes formas y concentraciones, sus dos especies químicas principales corresponden a mercurio orgánico y mercurio inorgánico [5]. En las formas de mercurio orgánico resalta el metil mercurio (Me-Hg), el cual es extremadamente tóxico para los seres humanos y representa la forma mas común de exposición para la población en general a través del consumo de pescado [6].

Es conocido que en ecosistemas acuáticos altamente contaminados con mercurio, pueden haber colonias de peces con alto numero de individuos, las especies predadoras pueden llegar a tener altas concentraciones de Me-Hg [5]

El mercurio se encuentra presente en la naturaleza, aunque en cantidades muy pequeñas. Su principal mineral en la corteza terrestre, es el cinabrio (HgS), el cual se encuentra limitado a pocos lugares en el mundo [5].

Este metal y sus componentes han sido utilizados en la industria como catalizadores en la síntesis de importantes compuestos industriales (acetaldehído, cloruro de vinilo, entre otros), como fungicidas en la agricultura y horticultura, agentes antilodos en las industrias de papel y pulpa, y agentes antincrustantes en pinturas [7]. El ciclo del mercurio en el ambiente se da tanto en forma natural como también por la actividad humana [5].

Las formas naturales de transporte de mercurio incluyen los vapores de las actividades volcánicas y procesos de desgasificación [8], estas no contribuyen en demasía a la carga total de mercurio presente en el ambiente; contrariamente las fuentes antropogénicas son mas significativas, e incluyen las descargas a la atmósfera por medio de la combustión incompleta de los combustibles fósiles y carbón, y la incineración de basuras, así como las descargas industriales a cuerpos de agua y suelo, como resultado de actividades mineras y de fundición [5]. A su vez, la aplicación de aguas residuales cargadas de lodos de mercurio provenientes de cultivos y de desechos sólidos a terrenos contribuyen a la sedimentación y carga de suelos con este metal [9], [10].

El mercurio, tanto atmosférico como terrestre es movilizado a las fuentes de agua superficial a través de la lluvia, escorrentía o lixiviación [5]. Cuando el mercurio inorgánico se encuentra en el medio acuático una serie de procesos complejos se empiezan a dar para que este se convierta en su forma orgánica, el metil mercurio [11], el cual pasa rápidamente a través de la cadena trófica a peces y otros seres vivos [12].

El metal entra al cuerpo de los animales generalmente, por absorción, a través de las branquias o del alimento cuando estos consumen plancton; sin embargo es la segunda forma la más importante y la que permite bioacumularse en su forma orgánica en los tejidos de peces y otras especies marinas [13]–[15].

De esta forma, algunos estudios muestran que el mercurio se bioamplifica en la cadena trófica, sobre todo en las especies predatoras que se encuentran en la cima de esta, alcanzando mayores concentraciones que en las especies herbívoras [16]–[19]; así mismo en otros estudios se ha comprobado que el atún puede bioacumular entre 89 y 125% de Me-Hg [20].

En relación con los seres humanos y las consecuencias que puede tener la bioacumulación de mercurio, este se puede acumular en el hígado, cerebro y en el tejido óseo de los organismos; el mercurio puede causar fallas en el riñón, desordenes en el sistema nervioso, deficiencia intelectual e incluso muerte [21]. El envenenamiento por mercurio puede ocurrir de diversas formas, incluyendo a través de la ingestión de pescado que ha sido expuesto al mercurio en el ambiente. Aunque un organismo no este expuesto a altas concentraciones de mercurio, bajas concentraciones pueden acumularse dentro de este en el tiempo, los cuales pueden resultar en altas concentraciones del metal y serios problemas [1].

4.2. Atún enlatado

El atún enlatado, se refiere al género *Thunnus* dentro del cual existen varias especies diferentes. Las especies considerados como verdaderos atunes son: ***thunnus thynnus***, ***thunnus alalunga***, ***thunnus obesus***, ***thunnus albacares***, ***thunnus maccoyii*** y otras especies con características similares que se engloban entre los túnidos como, ***katsuwonus pelamis***, ***euthynnus lineatus*** [22].

Según la legislación Colombiana, en la resolución 0148 del 24 de Enero del 2007 en el artículo 3 define cuales son las especies de atún en conserva para el país, las especies son [23]:

- *euthynnu affinis*
- *euthynnus alletteratus*
- *euthynnus lineatus*
- *katsuwonus pelamis* (*Euthynnus pelamis*)
- *sarda chiliensis*
- *sarda orientalis*
- *sarda sarda*
- *thunnus alalunga*
- *thunnus albacares*
- *thunnus atlanticus*
- *thunnus obsesus*

- thunnus maccoyii
- thunnus thynnus

Los atunes se caracterizan por ser buenos nadadores y alcanzar velocidades hasta de 70 km/h, tienen cabeza pronunciada y en forma triangular, boca pequeña, y coloración típica en peces pelágicos con dorso oscuro y vientre blanco plateado; los tamaños varían dependiendo de las especies, uno de los mas grandes es el atún rojo (thunnus thynnus), que puede llegar a medir 3 metros de longitud y pesar alrededor de 680kg, en mares cálidos los peces son más pequeños, entre 0,4 y 1 metro, y pesos entre 15 y 100 Kg [22]. En la siguiente tabla se muestran algunas de las especies de atún:

Tabla 1: Especies de atunes

Especie	Imagen
thunnus Thynnus	
thunnus Alalunga	
thunnus Obesus	

thunnus Albacares	
tatsuwonus pelamis	
tarda Sarda	

Fuente: Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente [22].

4.2.1. Captura

En la década del 50 y 60 la captura del atún era efectuada principalmente por Japón y Estados Unidos [24], en los años setenta la captura de atún crece significativamente, sobre todo en el continente asiático, debido en gran parte al respaldo que tuvieron estos países por parte del gobierno para estimular esta actividad económica, y también a la migración de las industrias pesqueras norteamericanas que se posicionaron en esta parte del planeta, además de las inversiones japonesas que permitieron que las empresas se multiplicaran, logrando una mayor presencia en los mercados internacionales, no dejando de un lado la mejora en las técnicas de pesca que mejora los rendimientos a la hora de la captura [25].

En la actualidad los principales países en la industria pesquera son: Indonesia, Japón, Filipinas, Taiwán, España, Ecuador, Corea y Estados Unidos, los cuales capturan el 60% del total mundial; el restante 40% se distribuye entre 120 países que cuentan con flota pesquera [24]. Según los datos registrados por la FAO las capturas mundiales para el 2012 fueron de 4.927.208 toneladas, siendo Indonesia el país con mayor cantidad de capturas con cerca de 700.000 capturas, que representa el 14% del total de capturas [22]. Colombia participa con el 1% de la captura global, que son alrededor de 40.000 toneladas [24].

4.2.2. Producción

En las décadas de los años 60 y 70 Estados Unidos era el principal país productor de atún enlatado. En la actualidad se cuenta con más de 40 países que producen atún enlatado en cerca de 140 procesadoras, en 1980 se enlató cerca de 600.000 toneladas, en la actualidad se producen alrededor de 1.600.000 toneladas, para alcanzar este nivel de producción se requieren aproximadamente 3.000.000 de toneladas de atún capturado debido a que no se utilizan las vísceras, sangre, huevos etc. [24]. Según datos de la FAO hasta el año 2011 Colombia se encontraba en lugar número 23 entre todos los países que producen atún enlatado, con una producción para el año 2011 de 4.100 toneladas. La lista la encabeza Tailandia, que para ese mismo año registra una producción de atún enlatado de 576.500 toneladas [22].

4.2.3. Consumo

En 1998 el consumo per cápita de atún fue: España 3,7 Kg/año, Francia 2,7 Kg/Año, Estados Unidos 2,7 Kg/año; en el continente asiático, Indonesia presenta una tasa de consumo per cápita muy alta, al registrarse, en 1970, una ingesta de 10,5 Kg/año hasta alcanzar los 20 Kg/año a finales de los noventa; Japón consume 600.000 toneladas de atún al año aproximadamente [25].

En Colombia el atún enlatado es distribuidos a través de distribuidores mayoristas, grandes superficies, supermercados y tiendas. Las grandes superficies también importan atún enlatado utilizando marcas propias y productos procesados por empresas Colombianas [24].

Según un documento elaborado por Fedesarrollo, el volumen de ventas de atún enlatado en toneladas se ha incrementado entre 2004 y 2012, acercándose en este ultimo año a aproximadamente 30.000 toneladas, dadas estas cifras el consumo per cápita en el país oscila entre 0,5 y 0,6 Kg/año [24].

4.2.4. El mercurio en relación con el atún

Como ya se expuso anteriormente el mercurio se bioacumula en los peces, como el atún en forma de metil-mercurio, y se sigue bioacumulando a través de la cadena trófica hasta llegar a los seres humanos, el mercurio en los seres humanos puede ser causa de diferentes problemas de salud.

Todas las formas de mercurio son tóxicas, pero particularmente problemáticas son las formas orgánicas como el MeHg, la cual es una neurotoxina [26]. Agudas exposiciones al mercurio pueden causar daños permanentes al sistema nervioso, resultando en una variedad de síntomas tales como parestesia, ataxia, alteraciones sensoriales, temblores, visión borrosa, trastornos del habla, dificultades auditivas, ceguera, sordera y muerte [27]. En adición a la neurotoxicidad, el mercurio, en formas inorgánicas y/u orgánicas, pueden afectar otros sistemas y secuencialmente causar efectos adversos incluyendo toxicidad renal, infarto al miocardio, mal funcionamiento inmunológico, e irregular presión sanguínea [28].

Debido a esto la legislación ha tenido que tomar cartas en el asunto y se han establecido límites permisibles en las concentraciones de mercurio para el atún enlatado, las cuales se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 2: Medidas regulatorias de contenido de mercurio total en productos de pesca.

AGENCIA	DESCRIPCIÓN	VALOR LÍMITE (PPM, mg/kg)
Canadian Guidelines for Chemical Contaminants and Toxins in Fish and Fish Products [29]	Concentración total en productos de la pesca	0,5
China [30]	Pescado enlatado Productos derivados del tiburón, pez vela, atún, lucio y otras especies con altas concentraciones de mercurio	0,5 1,0 (como me-Hg)
Estados de Florida [31], Maine [32] y Wisconsin [33].	Pescado enlatado	0,5
Gobiernos de Australia [34] y Suecia [35].	Pescado fresco y todo tipo de derivados de productos marinos	0,5
MINSAL [36]	Conservas de pescados y mariscos	1,0
Unión europea y Reino Unido [37]	Pescado fresco y productos derivados	0,5
Colombia [23]	Atún en conserva y	1,0

4.3. Técnicas electroanalíticas

Los métodos analíticos para la determinación de mercurio más comúnmente usados son espectroscopia de absorción atómica con vapor frío (CVAAS, por sus siglas en inglés) [2], espectroscopia de fluorescencia atómica con vapor frío (CVAPS, por sus siglas en inglés) [3], espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS, por sus siglas en inglés) [4]. A pesar de que estos métodos están muy bien establecidos, estos tienen desventajas importantes, como por ejemplo el largo tiempo de duración de sus análisis y el uso de costoso equipo, además deben ser realizados diferentes pasos, con gran complejidad, y esto requiere de personal especialmente entrenado [1].

Los métodos electroquímicos son adecuados para los análisis de rutina de mercurio. Estos métodos reducen el gasto necesario y simplifican el proceso debido a la facilidad con la que cada técnica electroquímica puede ser operada. La mayoría de los métodos electroquímicos se basan en la pre-concentración de mercurio en el electrodo de trabajo y su posterior extracción, principalmente usando voltamperometría de redisolución anódica (ASV) [1]. La agencia de protección ambiental de los estados unidos USEPA, ha recomendado el uso de la voltamperometría de redisolución para el análisis de mercurio en muestras acuosas [38].

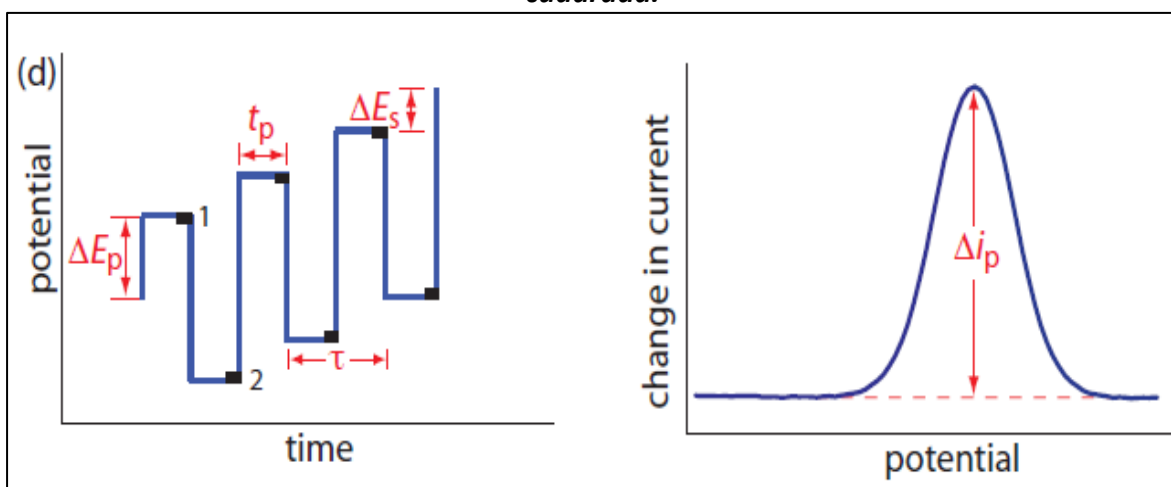
Existen diversos tipos de técnicas electroquímicas para la especiación, que es la determinación de cómo se encuentra formada la sustancia y su fase; y determinación de diferentes metales, estas se distinguen entre sí por la diferente forma de variación del potencial aplicado [39]; las técnicas más conocidas son; la polarografía normal (NP) [40], la voltamperometría normal de pulso (NPV) [41], la voltamperometría diferencial de pulso (DPSAV) [41], la voltamperometría de onda cuadrada (swv) [42], entre otras.

El principio de la voltamperometría es el de monitorear la corriente generada por encima de la aplicación de un potencial de barrido, cada uno de los diferentes tipos de voltamperometría genera una gráfica diferente que están en función de potencial aplicado y tienen diferentes formas de onda [43]. La DPV y la SWV pueden tener mayor sensibilidad que la LSV y CV [44]. Es por esta razón que la DPSAV es la técnica que se va a utilizar, pues las muestras pueden tener concentraciones de mercurio de trazas o ultra trazas.

La sensibilidad durante la determinación voltamperométrica de mercurio puede ser incrementada a través de la introducción de un paso de pre-concentración, en el cual el mercurio es acumulado en la superficie del electrodo de trabajo mediante

un procesos faradáico o un proceso de adsorción, en los cuales hay una transferencia de electrones entre los electrodos, uno que se oxida y otro que se reduce, dejando a estos con una acumulación de mercurio en su superficie; entonces, la señal analítica es generada por el subsecuente barrido anódico voltamperométrico (ASV), la cual es la técnica voltamperométrica más aplicada para la determinación voltamperométrica de trazas de mercurio, debido a las ventajas anteriormente expuestas al agregar un paso de pre-concentración [43]. El límite de detección se define habitualmente como la cantidad mínima o concentración de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por la técnica analítica que se está trabajando [45]. A diferencia la sensibilidad se refiere a la habilidad de la técnica para poder detectar un analito en una concentración específica [46].

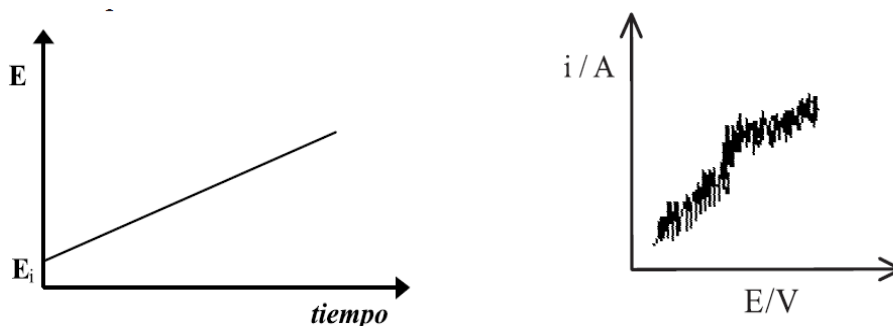
Ilustración 1: Señales potencial-excitación y voltagrama para la voltametría de onda cuadrada.



Fuente: UC Davis Chemiwiki [46].

La voltamperometría de onda cuadrada SWV es una compleja pero poderosa técnica que requiere el poder y flexibilidad de una mini-computadora para su desarrollo y modernos microprocesadores para su implementación comercial. La forma de la onda de la SWV se muestra en la *Ilustración 1* combina una gran amplitud de modulación de onda cuadrada con una forma de onda de escalera [42]. La corriente neta resultante (*Ilustración 1*), una verdadera señal diferencial, puede ser obtenida con unas mayores velocidades de exploración [42]. En los análisis voltamperométricos independientemente de la técnica se mide la intensidad de corriente que atraviesa un electrodo por la aplicación de una diferencia de potencial [39].

Ilustración 2: Técnica de polarografía normal (NP).



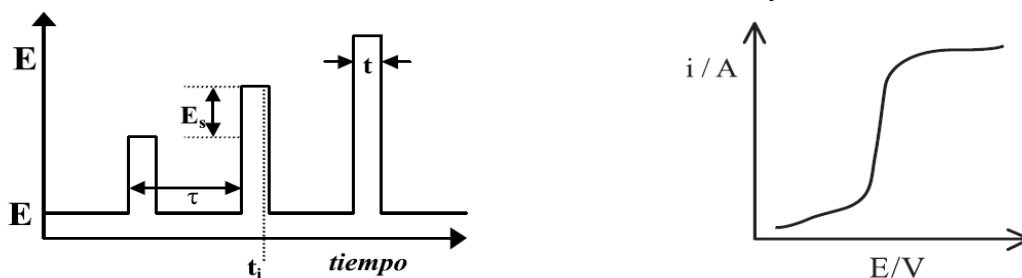
Fuente: Ferreira, Adelaide [39]

En el caso de la polarografía normal (NP), la dependencia proporcional de la intensidad de corriente con la concentración de la especie en solución esta descrita por la ecuación de Ilkovic: $i_d = kC_s$; en la cual [39]:

- i_d : Intensidad de corriente límite de difusión (μA).
- C_s : Concentración de la especie electroactiva en solución (mmol L^{-1}).
- k : Constante $= 708nD^{1/2}m^{2/3}t^{1/6}$ en la cual:
 - D : Coeficiente de difusión (cm^2s^{-1})
 - m : Flujo de masa (mg s^{-1})
 - t : Tiempo de potencia (s)

Ésta ecuación supone que el mecanismo de transporte de masa de la especie electroactiva para la superficie ocurre por difusión, siendo el mecanismo de migración minimizado por la adición de un electrolito soporte y el de la convección a través de estabilización de la solución (manteniendo la solución sin agitación) durante la fase de aplicación del potencial de redisolución [39], este mecanismo de transporte de masa no solo es usado en esta técnica si no en general en todas las técnicas voltamperométricas. En la *Ilustración 2* se muestra a la izquierda la forma de modulación del potencial con el tiempo y a la derecha el correspondiente tipo de voltagrama i vs. V .

Ilustración 3: Técnica de voltametría normal de pulsos NPV



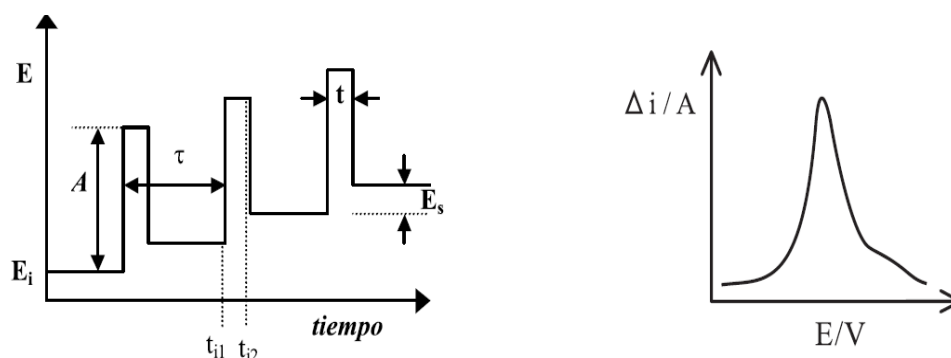
Fuente: Ferreira, Adelaide [39].

En la voltamperometría normal de pulsos NPV (

Ilustración 3), se mantiene el potencial al valor de E_i durante la mayor parte del tiempo (para que no haya agotamiento de la especie en la región próxima al electrodo), y en determinados intervalos de tiempo se aumenta bruscamente el potencial hasta un valor E durante corto tiempo (~ 50 ms). Se mide la intensidad de la corriente en el tiempo t_i , y se termina el pulso llevando el potencial al valor E_i , estos pulsos permiten alcanzar límites de detección, para la generalidad de los elementos o especies, del orden de los 10^{-6} hasta $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ [39]. En la

Ilustración 3 se muestra a la izquierda la forma de modulación del potencial con el tiempo y a la derecha el correspondiente tipo de voltograma i vs. V .

Ilustración 4: Técnica de voltamperometría diferencial de pulsos



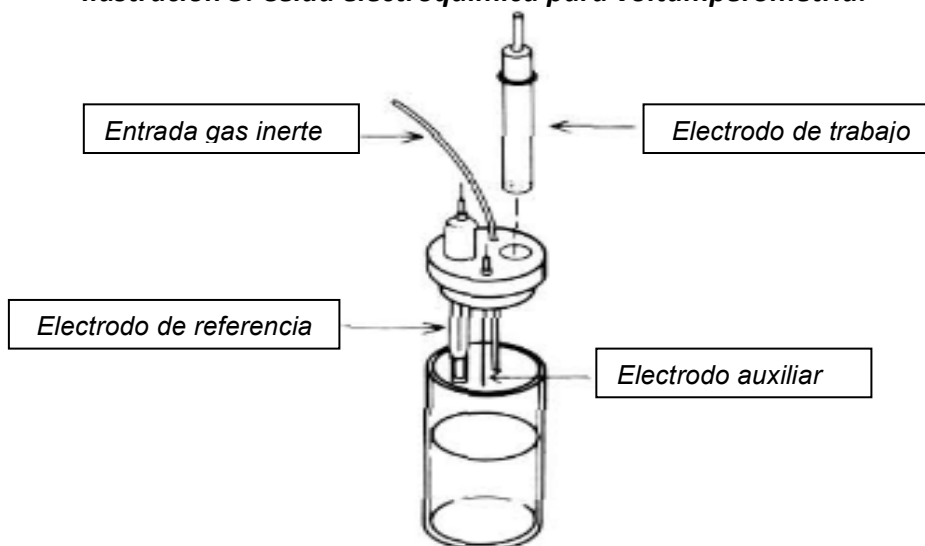
Fuente: Ferreira, Adelaide [39].

En la voltamperometría diferencial de pulso DPV (**Ilustración 4**), se puede apreciar que la técnica es muy similar a la NPV, lo único que las diferencia es que cuando se baja la potencia nuevamente, esta no vuelve a E_i , sino que tiene pequeños incrementos de amplitud constante E_s , se miden dos intensidades de corriente en el mismo pulso, una cuando este se inicia y otra cuando este se termina, el registro se efectúa como la diferencia entre estas dos intensidades de corriente, $i_2 - i_1$, en función del potencial, dando origen a voltagramas en forma de pico; el aumento de la sensibilidad en esta técnica se debe a la disminución de la contribución de la componente de intensidad capacitiva, una vez que se procede a la sustracción de dos valores relativamente próximos, permitiendo alcanzar límites de detección, para la generalidad de los elementos o especies, del orden de los 10^{-7} hasta $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ [39]. En la **Ilustración 4** se muestra a la izquierda la forma de modulación del potencial con el tiempo y a la derecha el correspondiente tipo de voltograma Δi vs. V .

En la voltamperometría de onda cuadrada SWV (**Ilustración 1**), la corriente es medida durante intervalos de tiempo muy cortos en la parte final de la onda positiva, al tiempo 1, y en la parte final de la onda negativa, al tiempo 2, de cada onda cuadrada. La diferencia entre las intensidades de corriente Δt , se registra en función del potencial en escalón, y el voltograma obtenido es un pico simétrico e idéntico al obtenido en la DPV; la SWV en relación con ésta, es más rápida y

presenta una sensibilidad mayor, ya que la intensidad de corriente global resulta en la suma de dos corrientes. Anódica (fase positiva del pulso, oxidación) y catódica (fase negativa del pulso, reducción) [39]. La sensibilidad de la SWV es alrededor de dos a tres veces superior a la de la DPV [39].

Ilustración 5: Celda electroquímica para voltamperometría.



Fuente: Kissinger, Heineman [47].

En la *Ilustración 5* podemos observar la configuración de una celda electroquímica para realizar cualquier tipo de voltamperometría, es importante hablar del electrodo de trabajo, pues dependiendo del material que este utilice puede tener una mayor sensibilidad para uno u otro analito, el desarrollo de nuevos materiales para la detección de mercurio ha sido muy extenso y de este modo llegar a límites de detección más bajos y mayor sensibilidad. A pesar de que la mayoría de metodologías usadas para análisis electroquímicos de mercurio involucran modificación de los electrodos con diferentes sustancias, es posible analizar exitosamente el mercurio usando electrodos simples compuestos de específicos materiales [1].

En los últimos años, el carbón ha sido el material más comúnmente usado para fabricar electrodos para el electroanálisis, principalmente por su bajo costo y la baja reactividad de este material [1]. Por ejemplo, Muntyanu empleo un micro electrodo de fibra de carbón para medir mercurio (II). La adición de Au (III) a la solución, la cual es necesaria para incrementar la sensibilidad y disminuir los límites de detección, alcanzando una detección de 1 $\mu\text{g/L}$ [48]. Con el mismo electrodo, Afonso determinó metil-mercurio en un medio clorado empleando voltamperometría de barrido rápido [49].

Otro tipo de electrodos son los electrodos de oro, éstos electrodos son usados debido a la afinidad que presenta este material con el mercurio [1]. Bonif empleó estos electrodos para medir mercurio (II) en la orina después de activar la

superficie del electrodo entre mediciones, probablemente para remover el mercurio depositado; esta activación mejora la señal analítica, alcanzando niveles de detección tan bajos como 0,04 µg/L [50]. Este electrodo también fue usado para analizar mercurio (II) en agua de mar usando extracción potenciométrica; el estudio comparaba un electrodo de oro rotatorio con uno estático y obtuvo mayor sensibilidad con el electrodo rotatorio en este caso también se requiere un pre tratamiento electroquímico para obtener señales reproducibles [51]. Giacomino estudió diferentes parámetros y técnicas electroquímicas usando electrodos de oro de discos rotatorios para análisis de mercurio (II) en agua y obtuvo los mejores resultados usando SWV y un medio electrolítico de HCl diluido [52].

También los electrodos de carbón vítreo (GCE) modificados con películas de oro fueron usados para el análisis de mercurio total en muestras de sal de mesa [1], en algunos estudio se muestra como el grosor de la película de oro afecta la señal analítica, las películas más delgadas demostraron una mayor efectividad para detectar bajas concentraciones [53]. Electrodos de este tipo fabricados de discos compactos fueron usados por Radulescu para la determinación de mercurio en peces después de un paso de digestión [54]. Los mismos electrodos fueron empleados para determinar mercurio total en muestras certificadas de aguas subterráneas, alcanzando un límite de detección de 0.008 µg/L [55], y muestras obtenidas de camarones [56].

Otros materiales usados para los electrodos son el diamante dopado con boro [57], y electrodos modificados químicamente; como lo son los electrodos modificados con polímeros, electrodos modificados con agentes complejos, como por ejemplo ftalocianinas [58], complejo de base de Schiff [58], complejos de Zn (II) con dietilamina (Et_2NH) y piperidina (pip) [59]; electrodos modificados con ADN (ácido desoxirribonucleico), electrodos de polímeros impresos con iones [1]. La investigación reciente de nuevos materiales para los electrodos apunta a los electrodos nanoestructurados, como por ejemplo nanopartículas de metal, nanomateriales de carbón, y materiales nanohíbridos [1].

5. DESARROLLO CENTRAL

5.1. Metodología:

5.1.1 Adquisición y características de las muestras:

Se adquirieron 5 marcas diferentes de atún enlatado en agua en un supermercado local con las siguientes características:

Tabla 3: Marcas de atún y características.

MARCA	FABRICA	PAÍS	PESO (g)	PESO ESCURRIDO (g)	PRECIO (pesos Colombianos)
VIK	Salica del Ecuador S.A.	Ecuador	170	110,5	3800
AI	Grupo Alimentario del Atlántico S.A.	Colombia	170	110,5	3600
BG	Salica del Ecuador S.A.	Ecuador	170	110,5	3800
AT	Atunes y enlatados del caribe S.A.	Colombia	170	110,5	3300
VC	Seatech International Inc.	Colombia	184	120	4550

Fuente: Autor

5.1.2. Digestión de las muestras:

La Norma Técnica Colombiana NTC 1276, que establece los requisitos y los métodos de ensayo que debe cumplir el atún en conserva y las preparaciones de atún, destinado para el consumo humano; especifica que para la determinación del contenido de mercurio en muestras de atún se debe efectuar de acuerdo a la Norma Técnica Colombiana NTC 1322 [60]. esta estipula los métodos de análisis físicos y químicos para productos de la pesca [61].

En esta se estipula entonces que para la preparación de las muestras de conservas de pescado, mariscos y otros productos marinos envasados en aceite, salsa, caldo o agua; como lo es el atún, se debe sacar el contenido total de la lata (carne y líquido) y verter en una licuadora, debe ser licuado hasta obtener una muestra homogénea o debe ser picado tres veces en una picadora [61].

Antes de la determinación de mercurio se debe realizar una digestión, de las muestras, que se puede llevar a cabo por medio de diferentes técnicas. En la NTC 1322 se utiliza la espectrofotometría de absorción atómica con generador de hidruros en frío, sin embargo para este proyecto se realizó una digestión con ácido

sulfúrico 18N, ácido nítrico 18N, y molibdato de sodio al 2%, luego se pesaron 5 gramos de la muestra y se dejó en reposo durante toda la noche, al día siguiente se realizó un baño maría a 98°C durante 2 horas, y se dejó enfriar a temperatura ambiente [62], posteriormente se aforaron las muestras a 50 ml, para su posterior análisis.

Por cada marca de atún se hicieron dos muestras diferentes y se nombraron de la siguiente forma:

Tabla 4: Nombres de las muestras

Marca de Atún	Nombre de la muestra
Al	A1
	A2
At	AT1
	AT2
BG	BG1
	BG2
VC	VK1
	VK2
Vik	V1
	V2

Fuente: Autor

5.1.3. Equipos

Las mediciones voltamperométricas y en general los análisis electroquímicos requieren del uso de un potenciostato, el cual envía una señal de voltaje a través de los electrodos, y recibe una señal de corriente expresada en amperios. En este trabajo de investigación se utilizó el BASi CV-50W Voltammetric Analyzer que se puede observar en la *Ilustración 6*.

Ilustración 6: BASi CV-50W Voltammetric Analyzer.



Fuente: Autor

Este equipo cuenta con rango de aplicación de voltaje de -3276 Volts hasta 3276 Volts; un tamaño mínimo de potencial para cada paso de 100 microvolts, exactitud absoluta de $\pm 2,5$ milivolts, una impedancia referencia de entrada mayor a $10E11$ Ohms, una corriente de salida máxima de 190 miliamperios como características técnicas principales [63].

5.1.4. Método curva de calibración

Debido a que la digestión de las muestras se realizo con ácido sulfúrico y ácido nítrico, se decidió usar como electrolito soporte ácido nítrico en una concentración de 0,1 molar.

Para poder establecer la concentración de cada una de las muestras se realizo una curva de calibración con una solución de cloruro de mercurio (II), de la cual se hizo una solución patrón de 5,85 ppm. De esta solución se hicieron diluciones para tener una curva con 5 puntos:

1. 0,011 ppm
2. 0,021 ppm
3. 0,04 ppm
4. 0,048 ppm
5. 0,057 ppm

Se hicieron tres mediciones para cada una de estas concentraciones, obteniendo en promedio las siguiente señales de corriente:

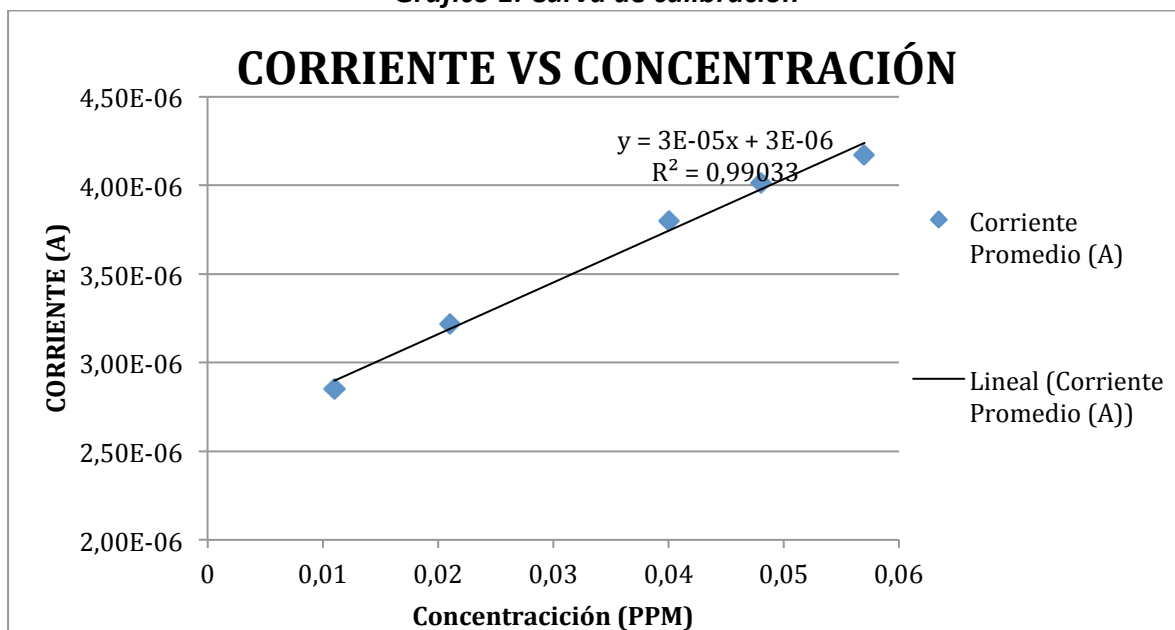
Tabla 5 Resultado de la corriente para concentraciones conocidas de Mercurio

Concentración de HgCl ₂ (PPM)	Corriente Promedio (A)
0,011	2,85E-06
0,021	3,22E-06
0,04	3,80E-06
0,048	4,01E-06
0,057	4,17E-06

Fuente: Autor

Con estos datos se procedió a construir una gráfica con su línea de tendencia:

Gráfico 1: Curva de calibración



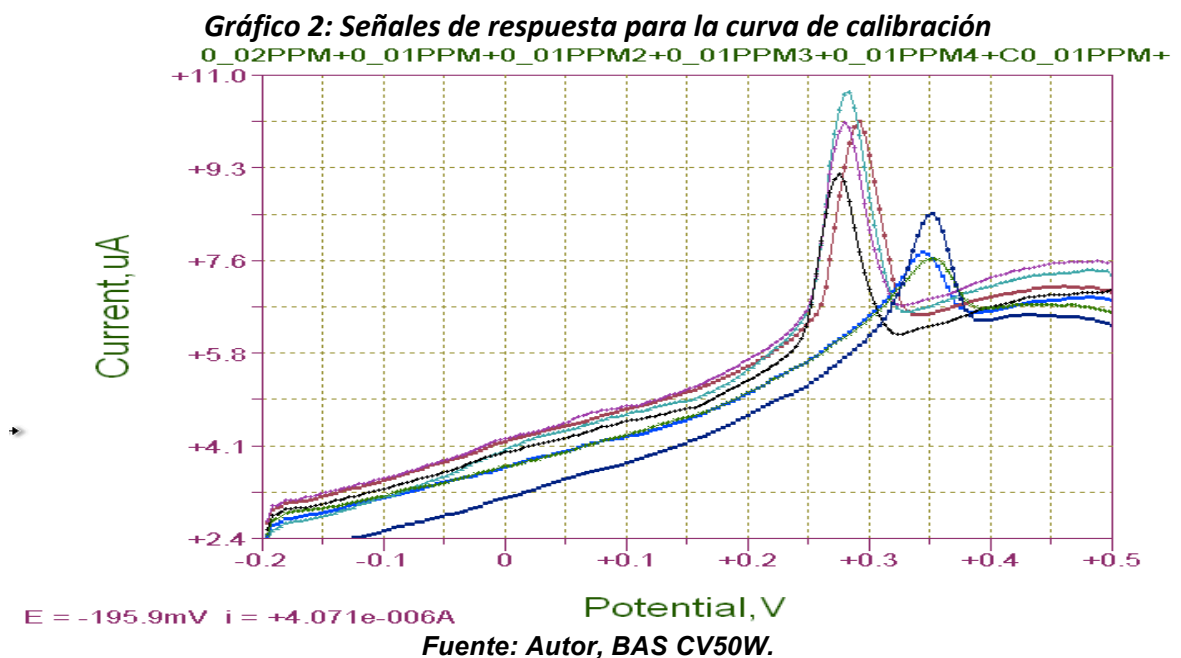
Fuente: Autor

En éste grafico se puede observar que la correlacion de los datos con esta linea de tendencia es del 99%, y con la ecuacion de la recta se puede determinar la

concentración de mercurio transformando la corriente de respuesta en concentración y relacionándolo con la cantidad de muestra.

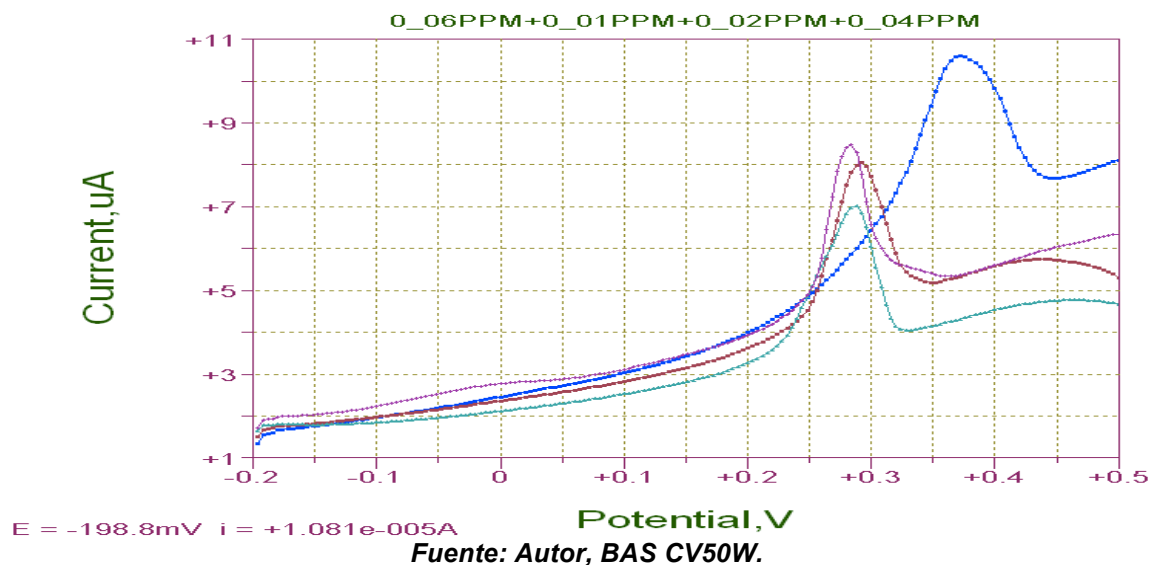
Se hizo una voltametría cíclica con el electrolito soporte, con el fin de limpiar y activar la superficie del electrodo de trabajo, este barrido cíclico se hace con 30 repeticiones desde -1000 mV hasta 1000mV; para asegurar que todas las especies electroactivas que puedan existir sean eliminadas.

Se procedió a trabajar con las soluciones patrón en las cuales se hicieron pruebas de 0,01 ppm y cada vez aumentando la concentración como se puede observar en el **Gráfico 2**



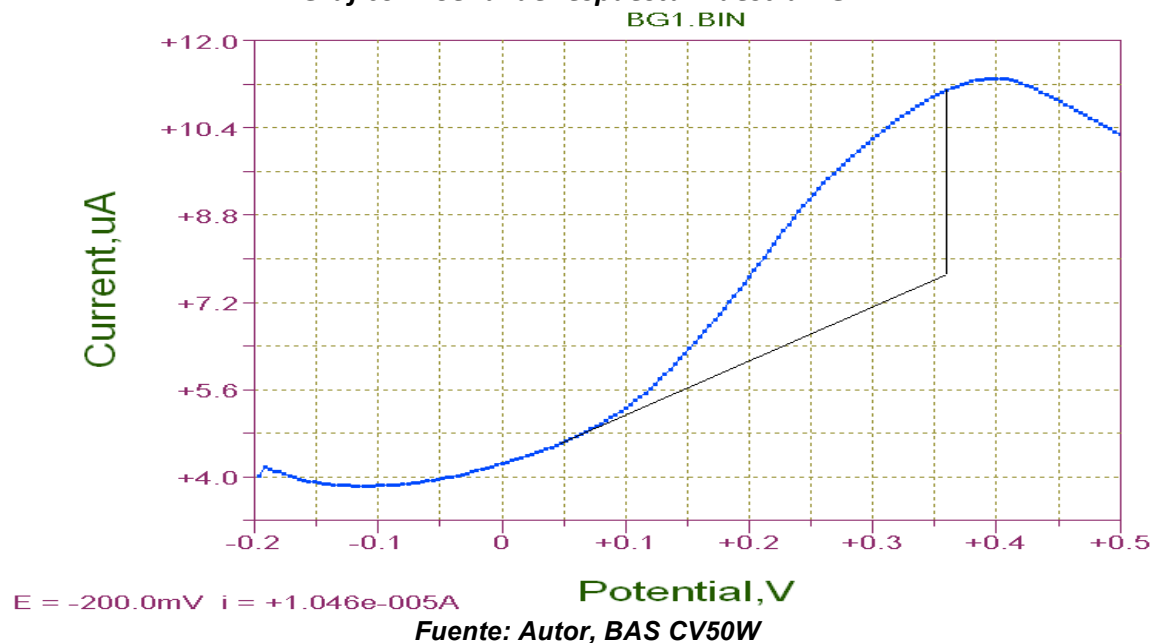
Antes de realizar el análisis de cada muestra se limpio el electrodo con papel abrasivo y alúmina de 1 micrómetro y 0,05 micrómetros, esto se realiza siempre que se tenga que realizar un análisis nuevo. Como se puede observar en el gráfico anterior se hacen los barridos de -220mV hasta 500 mV con un potencial de deposición de -500mV y un tiempo de deposición de 240 segundos. Después de esto se procedió a construir una curva de calibración con las soluciones patrón, de las cuales se hicieron diferentes pruebas a diferentes concentraciones como se puede observar en el **Gráfico 3**, se hicieron pruebas con 0,01ppm; 0,02 ppm; 0,04 PPM.

Gráfico 3: Señales de respuesta para el ajuste de la curva de calibración



En esta gráfica se observa que el mercurio no se oxida siempre a los mismos potenciales si no que estos pueden variar dentro de un rango no muy amplio. Después de obtener los puntos de la curva de calibración con una línea de tendencia que presenta un R cuadrado de 0,99, se procedió entonces a analizar la primera muestra, la muestra BG1 que arrojó la siguiente gráfica:

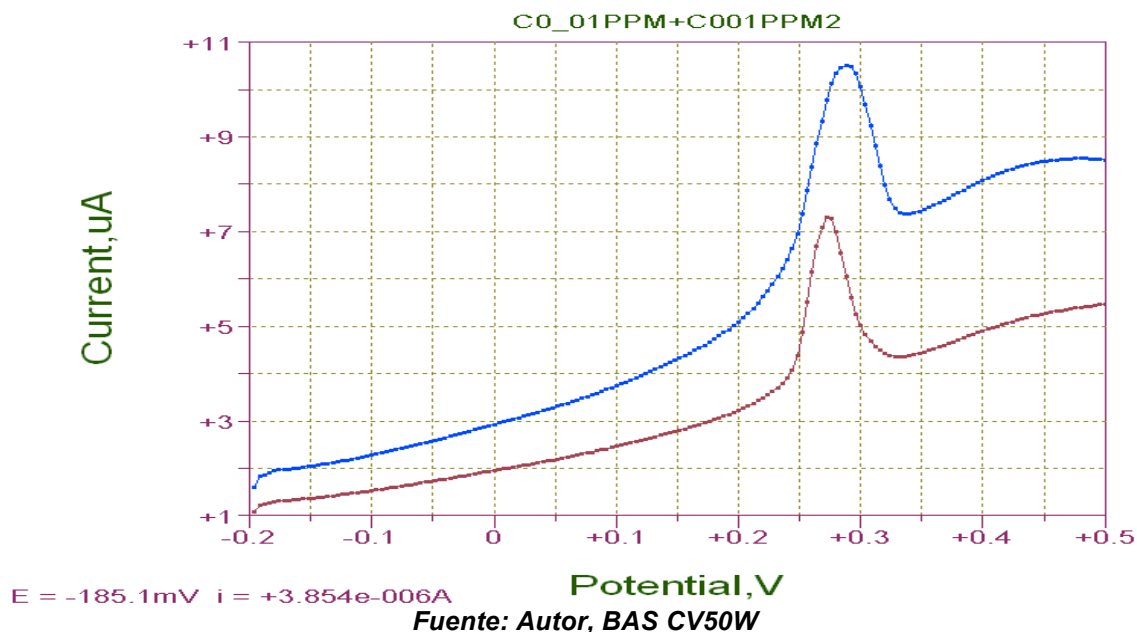
Gráfico 4: Señal de respuesta muestra BG1.



Debido a que el pico en esta muestra no era muy definido, se intentaron hacer algunas deposiciones de oro sobre el electrodo de trabajo, para que formara una

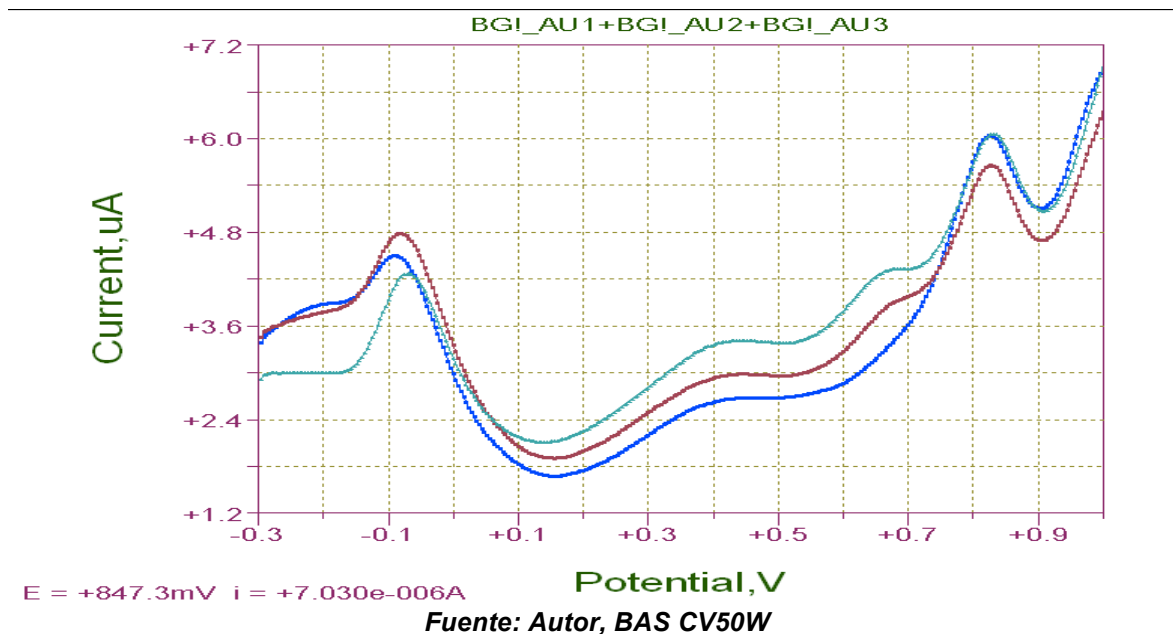
película que facilitara al mercurio la deposición sobre esta. Se hicieron dos pruebas de esta película con soluciones patrón:

Gráfico 5: Electrodo con película de oro y solución patrón



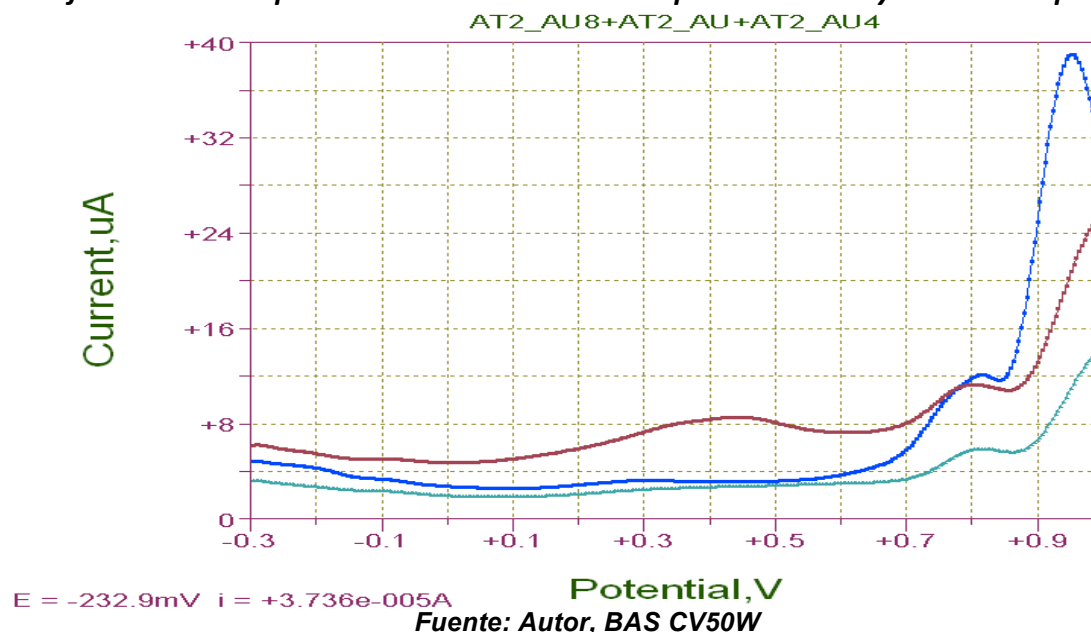
Posterior a esto se hicieron las pruebas con la película de oro y la muestra de atún BG1, en este caso no se realizó una curva de calibración sino que se utilizó el método de la adición estándar con 2 puntos, uno con concentración de 0,04 ppm, y el siguiente con una concentración de 0,068 ppm, obteniendo los siguientes resultados,

Gráfico 6: Señal de respuesta de la muestra BG1 con película de oro y 2 adiciones patrón



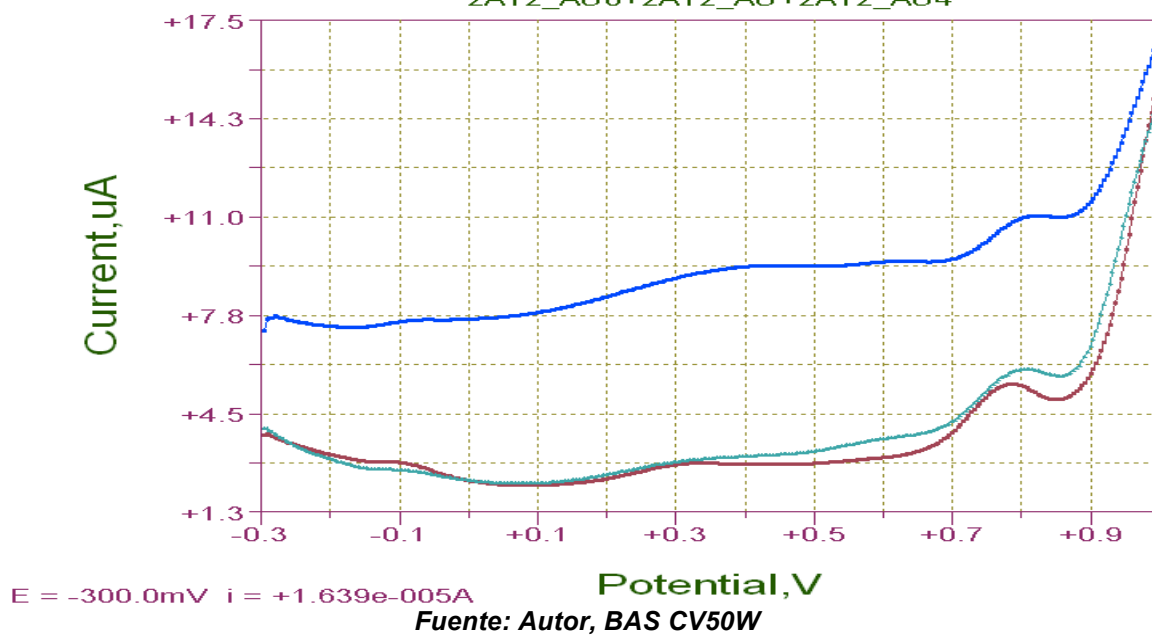
Se realizó el siguiente ensayo nuevamente con la película de oro sobre la superficie del electrodo de trabajo y luego se analizaron las muestras, primero AT2 con 2 adiciones patrón y se obtuvieron las siguientes gráficas.

Gráfico 7: Señal respuesta de la muestra AT2 con película de oro y 2 adiciones patrón.



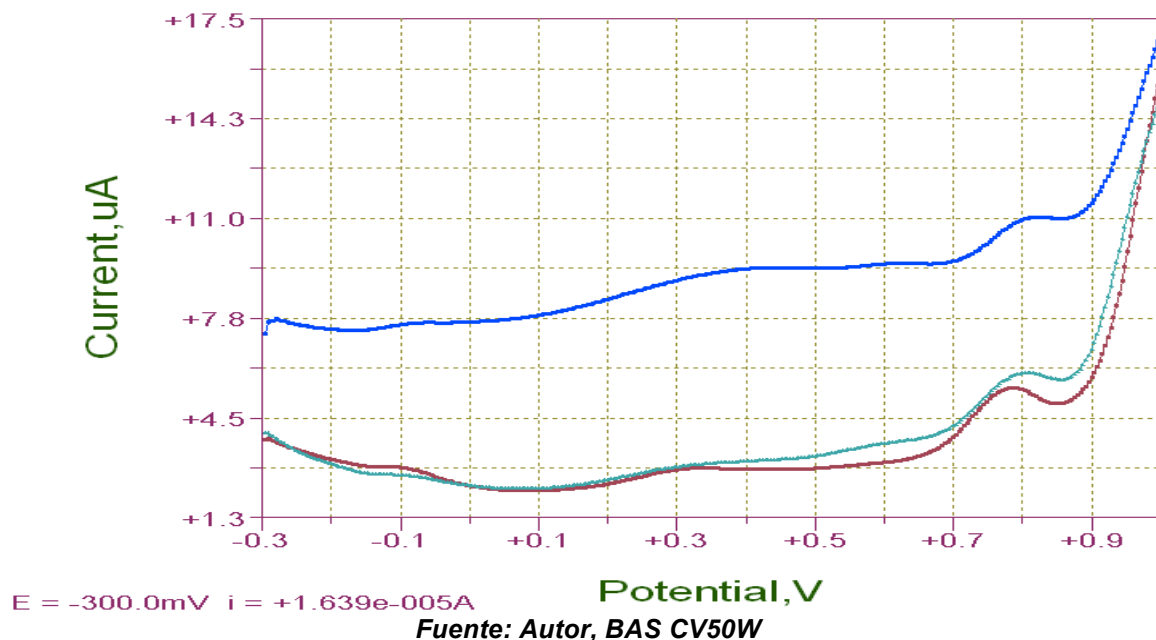
En esta gráfica se puede observar unos pequeños picos alrededor de los 800 mV, pero al ver que estos datos no eran representativos se procedió a repetir este experimento con la misma muestra, obteniendo los siguientes resultados.

Gráfico 8: Repetición de la muestra AT2 con película de oro y 2 adiciones de patrón
2AT2_AU8+2AT2_AU+2AT2_AU4



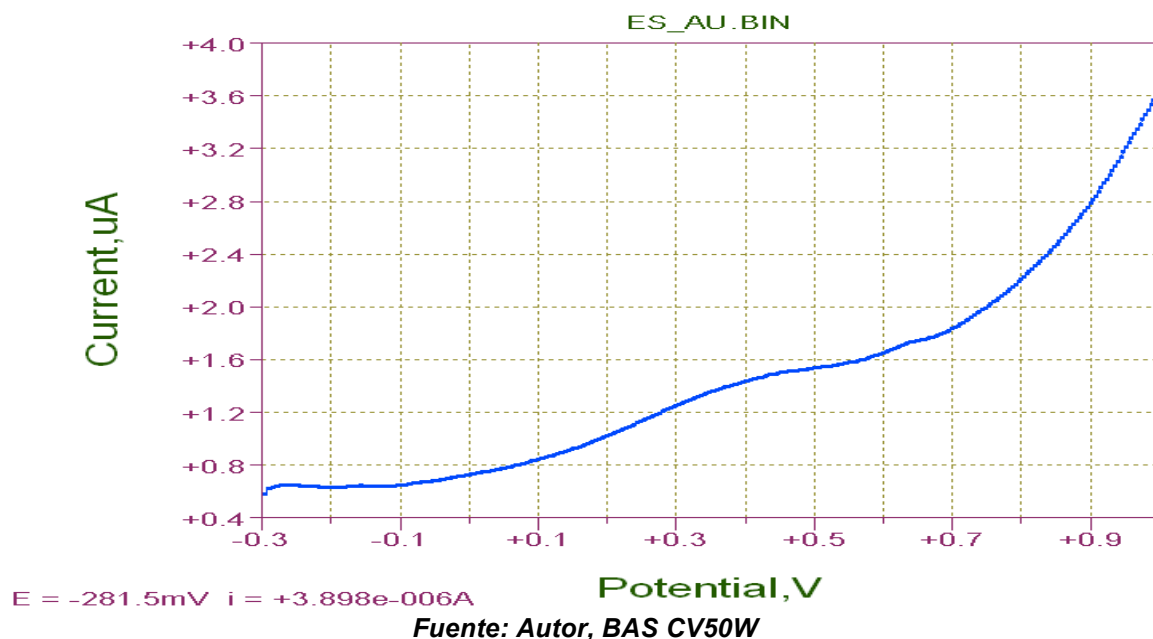
Se observan pequeños picos hacia los mismos potenciales pero un gran cambio en la corriente, esto puede deberse a la complejidad de la muestra y su cantidad de materia orgánica, entonces se decide repetir el experimento con una muestra diferente, la muestra VK1.

Gráfico 9: Señal de respuesta de la muestra VK1 con película de oro y dos adiciones patrón



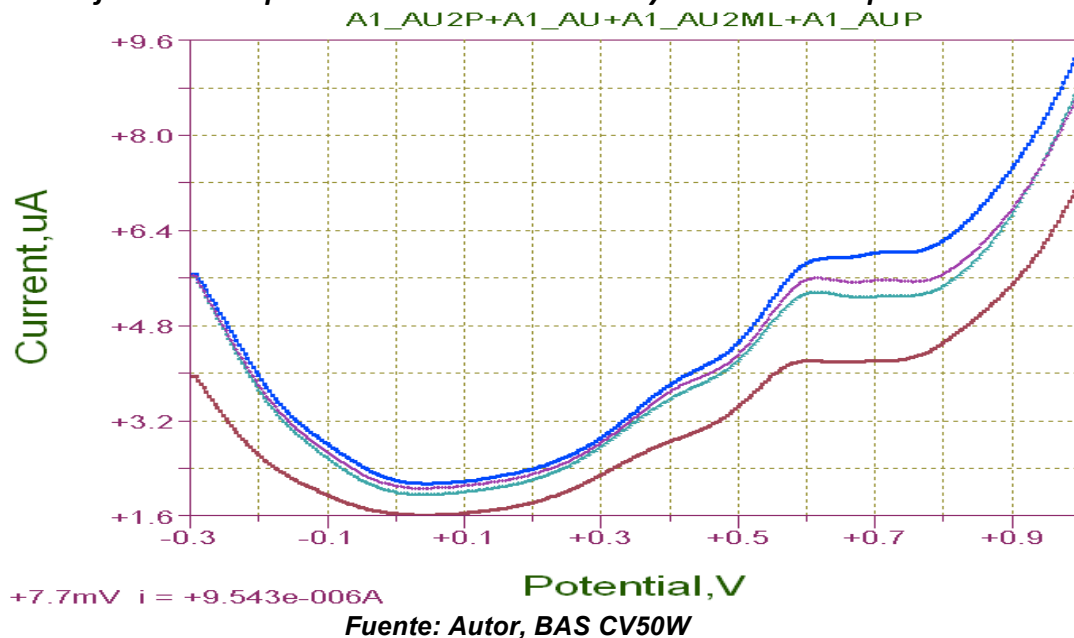
Al ver que con esta capa de oro sobre el electrodo de trabajo no se obtenía ninguna señal de respuesta significativa, y debido a la complejidad de las muestras, se probó otra alternativa, la cual omitía la película de oro sobre el electrodo de trabajo y se codepositaba el oro y el mercurio que pudieran contener las muestras al mismo tiempo. Lo primero que se hizo fue un blanco.

Gráfico 10: Blanco de la codeposición de oro y mercurio



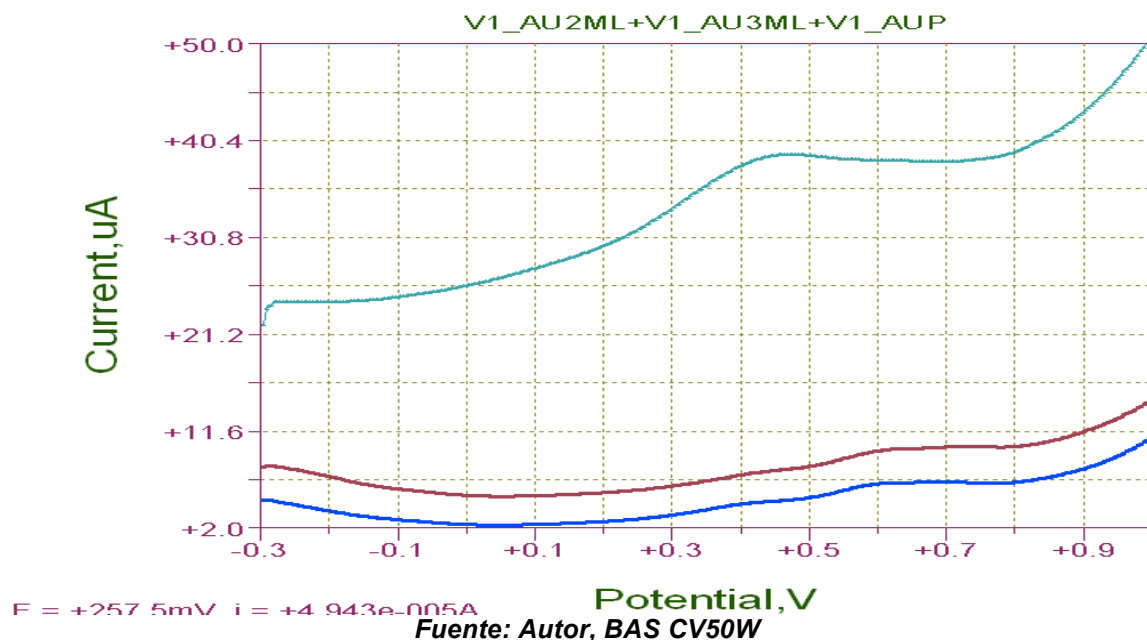
Después de esto se hizo el análisis de dos muestras con adición patrón de dos puntos, las muestras fueron A1 y V1, con estas muestras se obtuvieron los siguientes resultados:

Gráfico 11: Codeposición muestra A1 con oro y adición de dos patrones



En esta gráfica de la muestra A1 se puede observar que cada vez que se adiciona el patrón el pico crece pero este pico no es tan definido debido a que en los potenciales más positivos también se produce la oxidación de otros compuestos.

Gráfico 12: Codeposición de muestra V1 con oro y adición de dos patrones

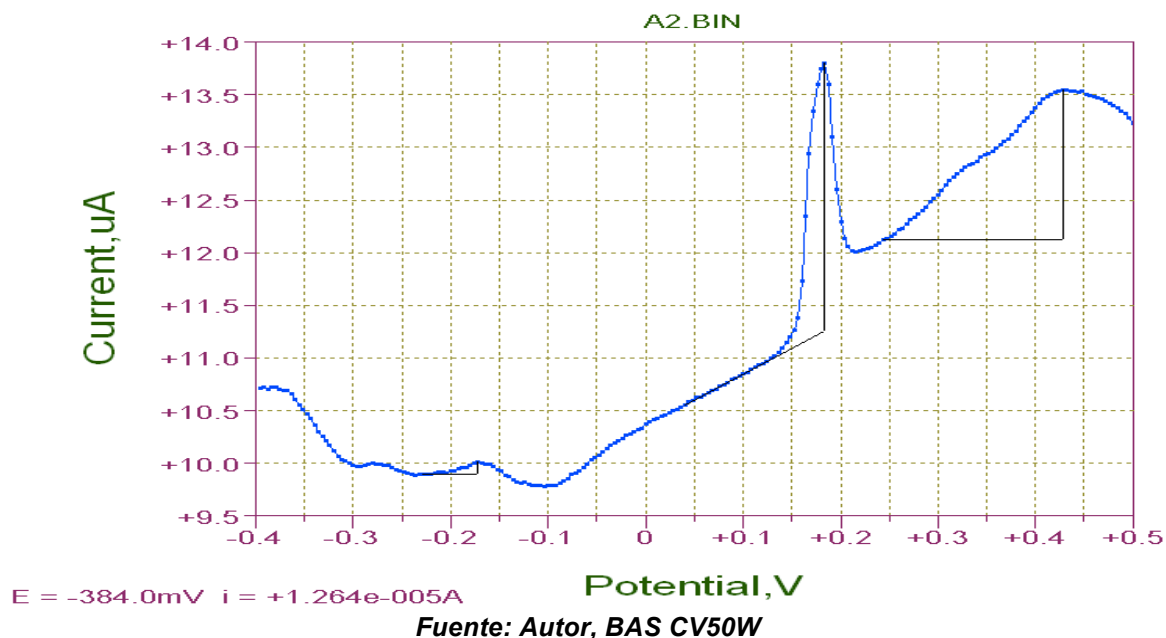


El resultado de este gráfico correspondiente a la muestra V1 evidencia claramente como se desplaza la señal de respuesta hacia valores de corriente mayores, y evidencia que las señales de respuesta son prácticamente solo ruido, entonces se decide cambiar el electrolito soporte que era ácido nítrico y no continuar con las codeposiciones con oro.

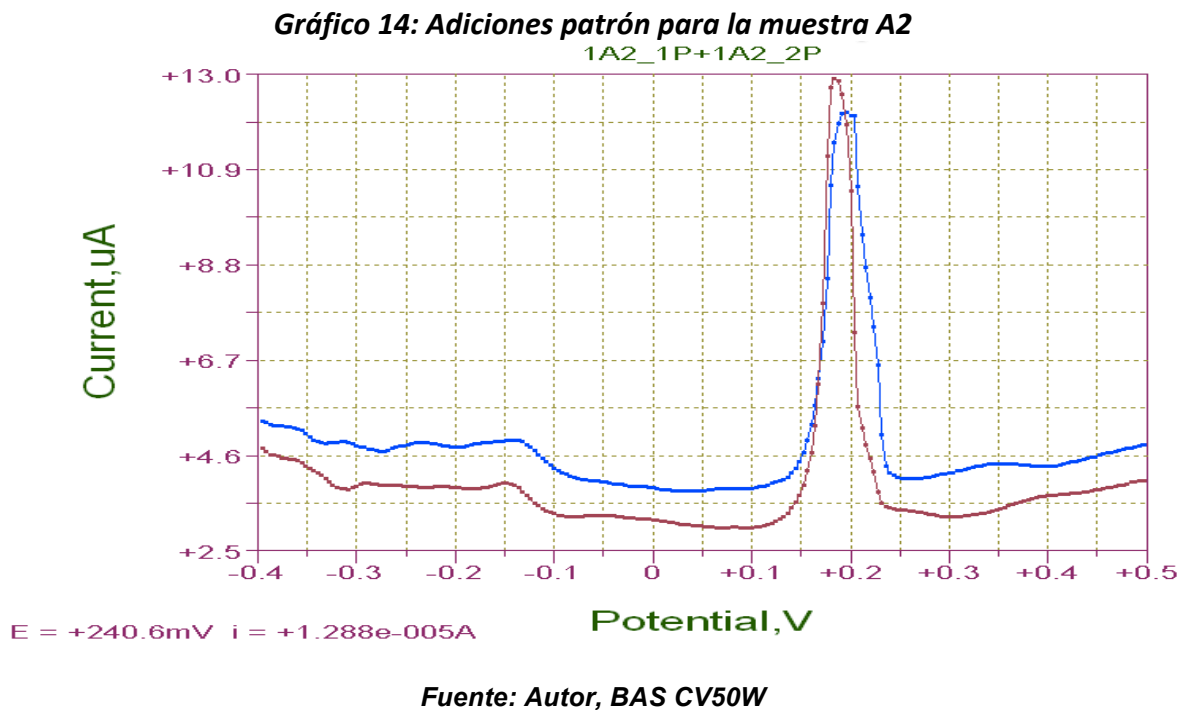
La complejidad de la matriz de las muestras, principalmente por la materia orgánica presente en estas ocasiona que se pasive el electrodo de trabajo, por lo tanto se optó por poner las muestras en una solución de ácido perclórico con una concentración de 0,46M. Se tomó 5ml de cada una de las muestras y fueron aforadas hasta 50 ml con ácido perclórico; posterior a esto se dejaron reposando las muestras un par de días, y se realizó nuevamente el análisis, cambiando también el electrolito soporte por ácido perclórico.

Con la solución de ácido perclórico como electrolito soporte y las muestras en esta solución se pudieron obtener mejores resultados como se aprecia en el siguiente gráfico correspondiente a la muestra A2.

Gráfico 13: Señal de respuesta de la muestra A2



En este se puede observar un pico muy claro en 184mV, el cual representa el pico de mercurio, se sabe que este es el de mercurio debido a que cuando se le hace la adición estándar es el pico que se incrementa como se puede observar en el **Gráfico 14**.



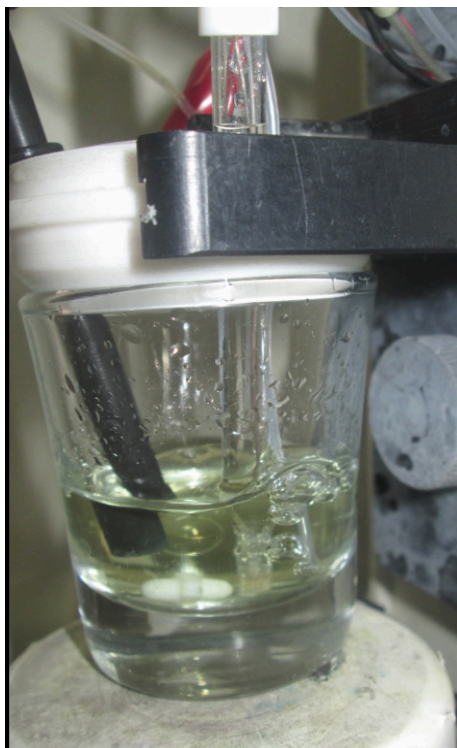
5.1.5. Método adición estándar

El método de la adición de estándar es un procedimiento empleado cuando la respuesta del instrumento acerca del analito de interés es diferente en una matriz particular que cuando esta en solución acuosa. El procedimiento es generalmente utilizado para el análisis de matrices demasiado complejas. La técnica de la adición estándar involucra la adición de cantidades conocidas de el analito para cada una de las muestras replicadas en simples alícuotas. Las concentraciones finales de las réplicas de la muestra debe abarcar el rango de calibración del método. Cuando se tiene el valor de respuesta de las diferentes adiciones se realiza una gráfica, en la cual en el eje x se ubican las diferentes concentraciones y en el eje y los valores de la señal de respuesta, debido a que no sabemos la concentración del analito este se ubica en su respectiva señal de respuesta y se deja el valor de 0 para la concentración, es decir que el punto de la muestra se ubica sobre el eje y. Posterior a esto se realiza una regresión lineal, la cual debe tener un coeficiente de correlación superior a 0,9, esta línea se debe extrapolar hasta que corte con el eje x. La concentración del analito es entonces igual a el inverso del valor en el cual la línea de la regresión corta en el eje x [64], [65].

5.1.6. Parámetros de la celda voltamétrica

Para los electrodos se escogió como contraelectrodo un electrodo con una aleación de platino y titanio, el electrodo de referencia fue un electrodo de plata-Cloruro de plata (Ag/AgCl), y para el electrodo de trabajo se utilizó un electrodo de carbón vítreo o glassy carbón con un área de $7,68 \text{ mm}^2$, el montaje de la celda se puede observar en *Ilustración 7*, en la cual está el electrodo de trabajo en la parte izquierda, el electrodo de referencia a la derecha, y en la parte anterior el contraelectrodo.

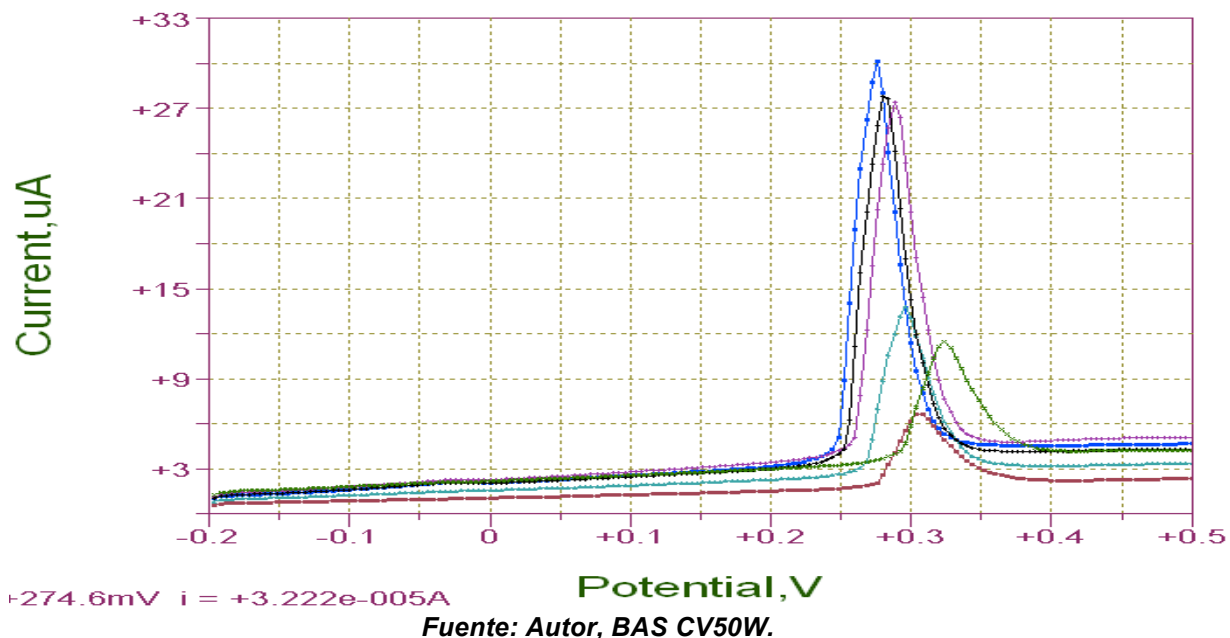
Ilustración 7: Configuración de la celda voltamétrica



Fuente: Autor

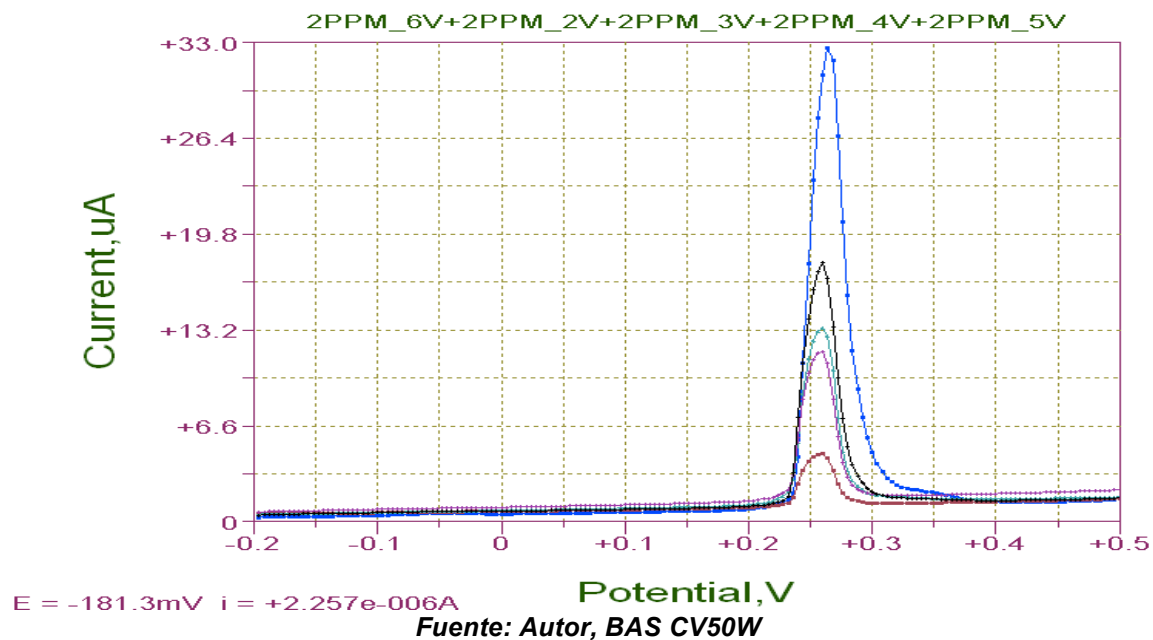
Se hicieron diferentes pruebas con una solución patrón de 2 PPM para poder determinar el tiempo de deposición y también el potencial para el cual se hicieron diferentes pruebas en el potencióstato, para los tiempos se hicieron pruebas desde 30 hasta 240 segundos; con un potencial de deposición de 600 mV que había sido encontrado en la literatura como un potencial en el que el mercurio se deposita bien. El resultado de estas pruebas fue el siguiente:

Gráfico 15: Tiempos de deposición del mercurio (II)



En la **Gráfico 15** lo primero que se puede observar es que el pico de mercurio siempre se encuentra en un rango de potencial entre 260 y 324 mV, en esta gráfica hay tiempos de deposición de 90 segundos el cual corresponde a la línea roja, 120 segundos línea verde, 150 segundos línea azul claro, 180 segundos línea morada, 210 segundos línea azul y 240 segundos línea negra; en las pruebas en las que se depositó a 30 y 60 segundos no se obtuvo ninguna señal de respuesta. Como se puede observar en la gráfica a medida que el tiempo de deposición aumenta también aumenta el pico pues el mercurio tiene mas tiempo para depositarse en el electrodo de trabajo, hasta el pico azul que es el de 210 segundos, mayor tiempo de deposición que éste ya no genera un aumento en el pico, como se puede observar con el pico de 240 segundos que es menor que el de 210 segundos; por esta razón tampoco se hicieron pruebas con mayor tiempo.

Gráfico 16: Potenciales de deposición del mercurio (II)



En las pruebas que se hicieron para el potencial de deposición se establecieron los rangos a los que se realizaría el barrido los cuales fueron desde -200 mili volts (mV) hasta 500 Mili volts (mV), además del tiempo de deposición que fue de 240 segundos y el potencial al cual el mercurio podía depositarse en la superficie del electrodo, este potencial fue de -500 mili volts (mV), como se muestra en el *Gráfico 16*.

6. Resultados y análisis

6.1. Resultados y análisis para las muestras del atún AL

El **Gráfico 17** de análisis para la muestra A1 tiene una señal de respuesta con un pico de corriente de $4,48 \times 10^{-7} \text{ A}$ en un potencial de 252 mV, y que con las adiciones patrón se obtuvieron los resultados de la **Tabla 6**.

Gráfico 17: Señal de respuesta para la muestra A1

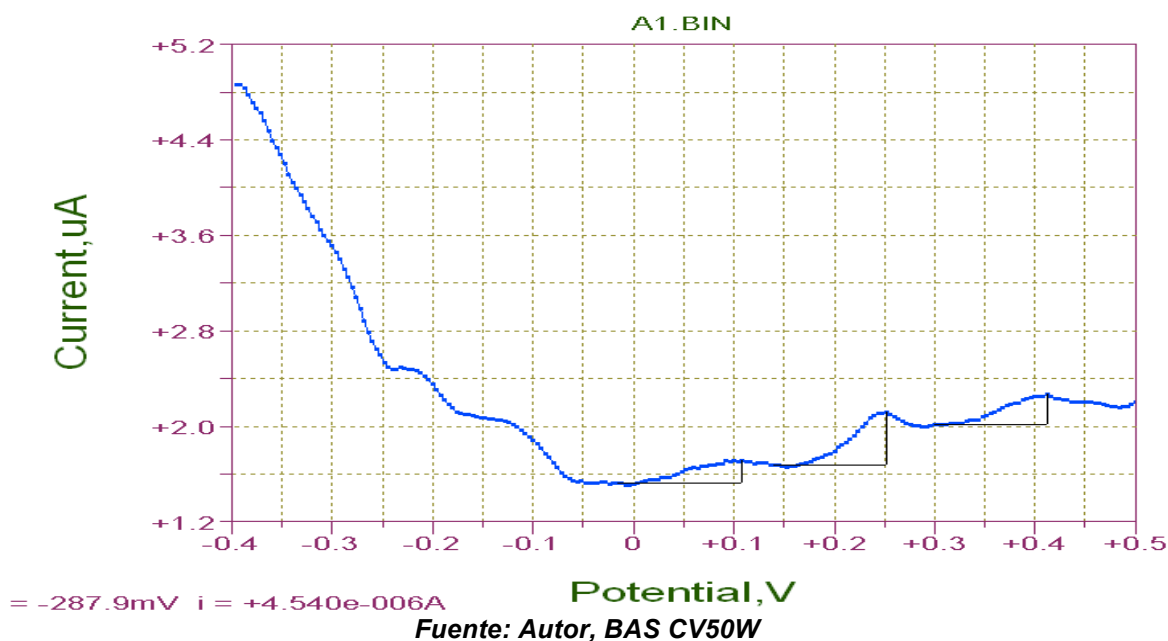


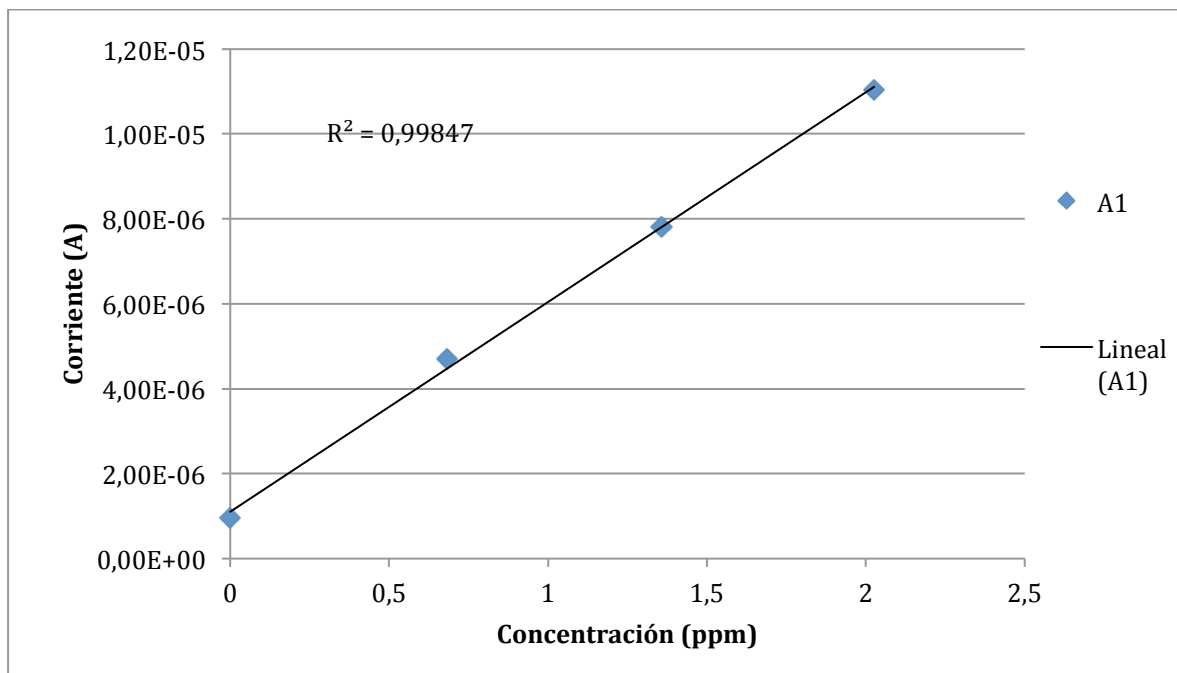
Tabla 6: Resultados de la muestra A1

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra A1	9,48E-07	0
Primer Patrón	4,71E-06	0,682
Segundo Patrón	7,80E-06	1,357
Tercer patrón	1,10E-05	2,026

Fuente: Autor

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 18**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,99 y el valor de intersección en el eje X es de -0,233, esto quiere decir que en la muestra analizada había una concentración de mercurio de 0,233 ppm.

Gráfico 18: Regresión lineal para la muestra A1



Fuente: Autor

Pero para conocer la concentración real en la muestra de atún se debe tener en cuenta que se analizaron 10 ml de una muestra en la que existían 5 ml de muestra en un volumen total de 50 ml de ácido perclórico, y que esos 5 ml de muestra provenían de una muestra en la cual se habían digerido 5g del atún en una solución de una mezcla de ácido sulfúrico y ácido nítrico que tenía un volumen total de 50 ml. Entonces el valor real de la concentración sería, 0,233 ppm que es lo mismo que decir que se tienen 0,233 mg de mercurio en un litro de solución y como en realidad se tenían 50 ml de solución entonces la cantidad de mercurio sería de 0,01165 mg de mercurio en esos 50 ml de muestra, y estos miligramos de muestra provienen de 5 g de atún, y como ppm también es una unidad que se puede expresar como mg/Kg, entonces en total tendríamos para la muestra A1 una concentración de 2,33 ppm de Hg.

$$\frac{0,233 \text{ mg Hg}}{1 \text{ L sol}} * 0,05 \text{ L} = 0,01 \text{ mg Hg}$$

$$\frac{0,01 \text{ mg Hg}}{5 * 10^{-3} \text{ Kg muestra}} = 2,33 \text{ ppm Hg}$$

Una concentración de 2,33 ppm de Hg se encuentra por encima de los límites establecidos en cualquier legislación internacional, y en particular con la legislación colombiana que fija un máximo de un 1 ppm, excede este límite por más del doble; como se puede apreciar en la **Tabla 2**.

El **Gráfico 19** de análisis para la muestra A2 tiene una señal de respuesta con un pico de corriente de $2,011 \times 10^{-6} \mu A$ en un potencial de 184 mV, y que con las adiciones patrón se obtuvieron los resultados de la **Tabla 7**.

Gráfico 19: Señal de respuesta para la muestra A2

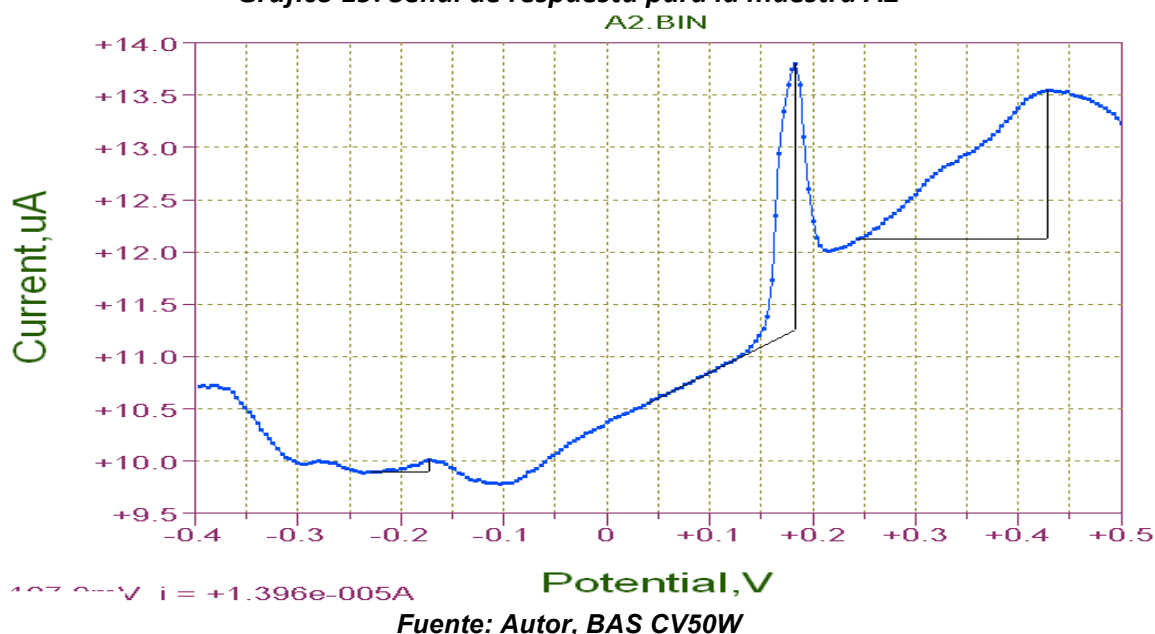


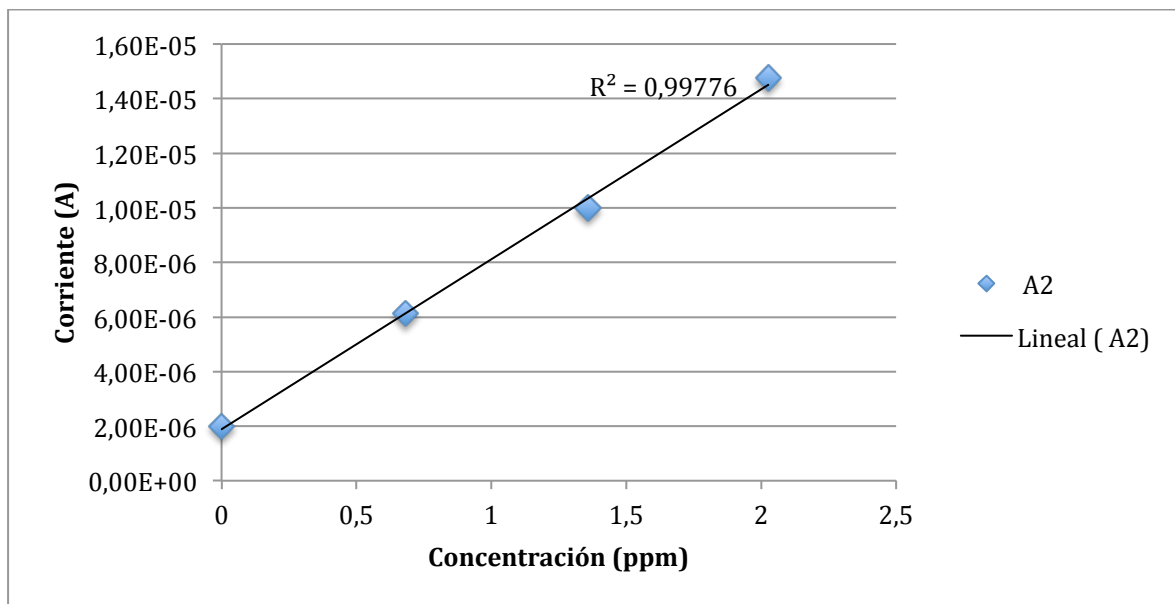
Tabla 7: Resultados de la muestra A2

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra A2	2,01E-06	0
Primer Patrón	6,12E-06	0,682
Segundo Patrón	9,99E-06	1,357
Tercer patrón	1,48E-05	2,026

Fuente: Autor.

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 20**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,99 y el valor de intersección en el eje X es de -0,303, esto quiere decir que en la muestra de 5 gramos de peso húmedo analizada había una concentración de mercurio de 0,303 ppm.

Gráfico 20: Regresión lineal para la muestra A2



Fuente: Autor.

Realizando los cálculos para hallar la concentración de mercurio en la lata de atún tenemos que:

$$\frac{0,303 \text{ mg Hg}}{1 \text{ L sol}} * 0,05 \text{ L} = 0,01 \text{ mg Hg}$$

$$\frac{0,01 \text{ mg Hg}}{5 * 10^{-3} \text{ Kg muestra}} = 3,03 \text{ ppm Hg}$$

Una concentración de 3,03 ppm de Hg en la muestra A2, de la cual se tomaron 5 gramos de peso húmedo se encuentra por encima de los límites establecidos en cualquier legislación internacional, y en particular con la legislación colombiana que fija un máximo de un 1 ppm, excede este límite por mas del triple, como se puede observar en la **Tabla 2**. En relación con la concentración para la misma muestra de atún se tiene un incremento de en la concentración de mercurio de 0,7 ppm.

6.2. Resultados y análisis para las muestras del atún AT

En el **Gráfico 21** de análisis para la muestra AT1 tiene una señal de respuesta sin ningún pico de corriente dentro de los potenciales a los que se podría oxidar el mercurio, los otros picos son producto de otras especies electroactivas esto se puede observar cuando se realiza la adición patrón en la cual aparecen picos en 264 mV, 256mV y en 245 mV; respectivamente después de cada adición de los tres patrones. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 8**.

Gráfico 21: Señal de respuesta para la muestra AT1

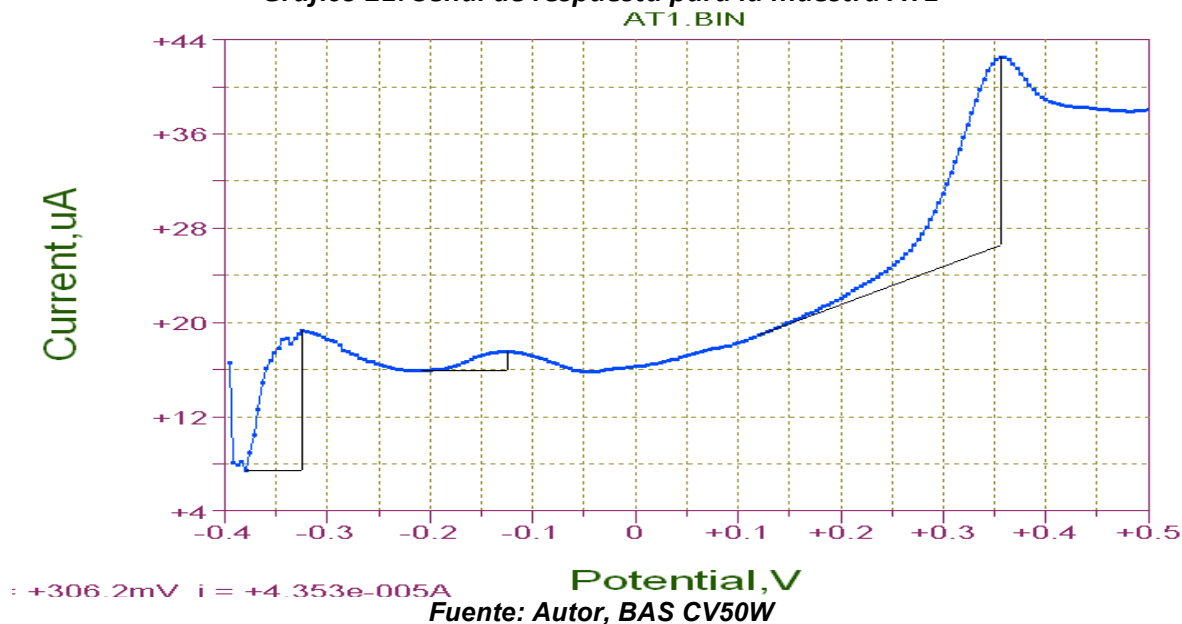


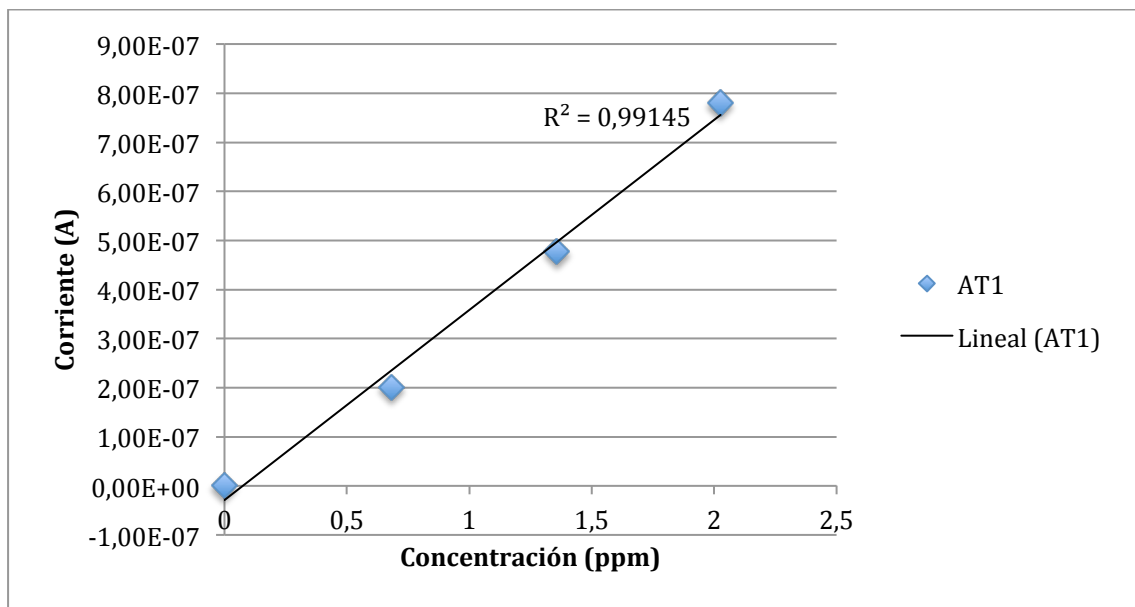
Tabla 8: Resultados de la muestra AT1

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra AT1	ND	0
Primer Patrón	9,80E-08	0,682
Segundo Patrón	4,78E-07	1,357
Tercer patrón	7,80E-07	2,026

Fuente: Autor.

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 22**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,99 y demuestra que en el voltaje al cual se debería oxidar el mercurio en el análisis de la muestra no se obtuvo ningún pico, esto no quiere decir necesariamente que el atún no contenga mercurio, sino que los niveles de mercurio pueden estar por debajo del límite de detección de la técnica y por consiguiente también por debajo de los límites permisibles.

Gráfico 22: Regresión lineal para la muestra AT1



Fuente: Autor.

En el **Gráfico 23** de análisis para la muestra AT2 tiene una señal de respuesta sin ningún pico de corriente dentro de los potenciales a los que se podría oxidar el mercurio, los otros picos son producto de otras especies electroactivas esto se puede observar cuando se realiza la adición patrón en la cual aparecen picos en 250 mV, 220 mV y en 192 mV; respectivamente después de cada adición de los tres patrones. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 9**.

Gráfico 23: Señal de respuesta para la muestra AT2

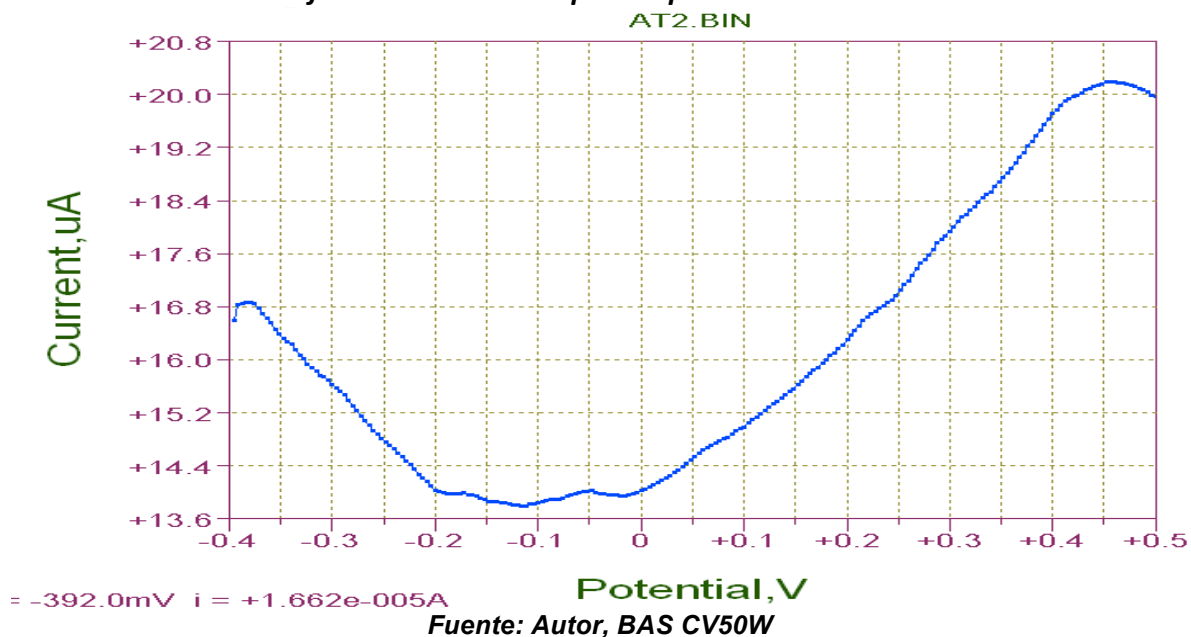


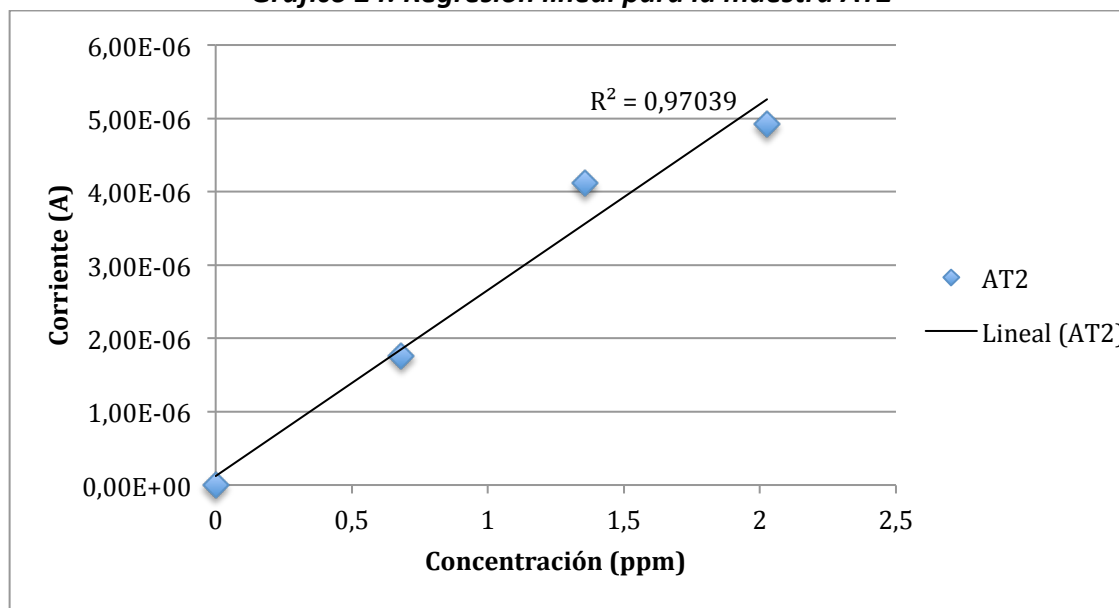
Tabla 9: Resultados de la muestra AT2

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra AT2	ND	0
Primer Patrón	1,76E-06	0,682
Segundo Patrón	4,12E-06	1,357
Tercer patrón	4,92E-07	2,026

Fuente: Autor

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 24**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,97 y demuestra que en el voltaje al cual se debería oxidar el mercurio en el análisis de la muestra no se obtuvo ningún pico, esto no quiere decir necesariamente que el atún no contenga mercurio, si no que los niveles de mercurio están por debajo del límite de detección de la técnica y por consiguiente también por debajo de los límites permisibles que se muestran en la **Tabla 2**.

Gráfico 24: Regresión lineal para la muestra AT2



Fuente: Autor

6.3. Resultados y análisis para las muestras del atún BG

El análisis para el atún BG, se puede observar la señal de respuesta en el **Gráfico 25** para la muestra BG1 tiene un pico de corriente de $2,08 \times 10^{-7}$ en un potencial de 224 mV, y que con las adiciones patrón se obtuvieron los resultados de la **Tabla 10**.

Gráfico 25: Señal de respuesta para la muestra BG1

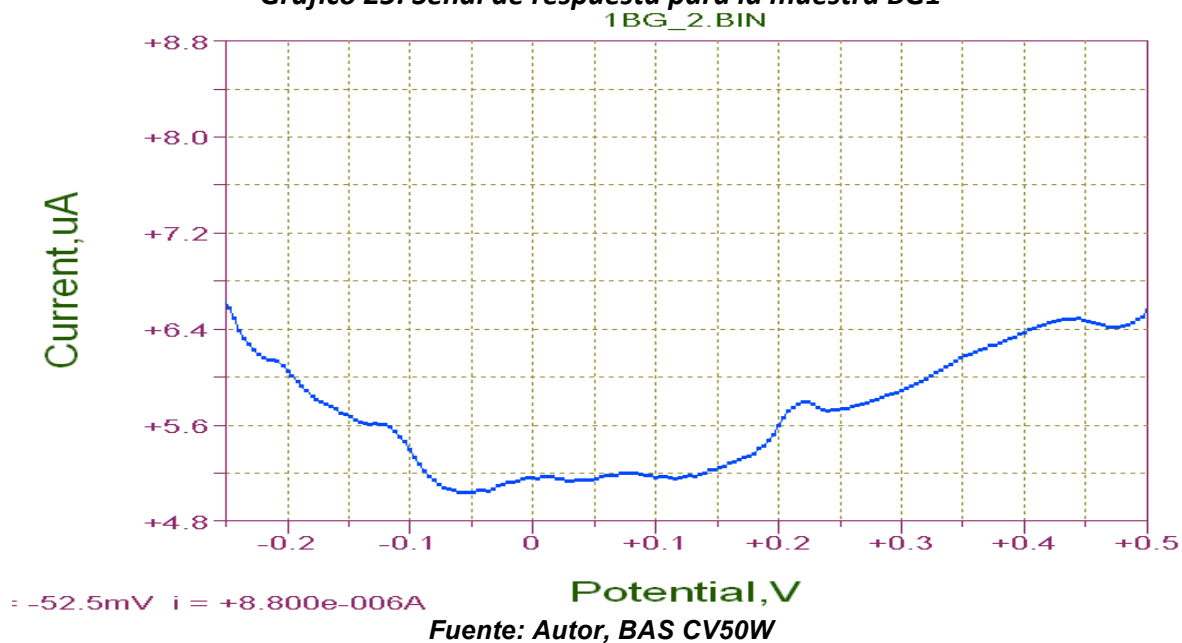


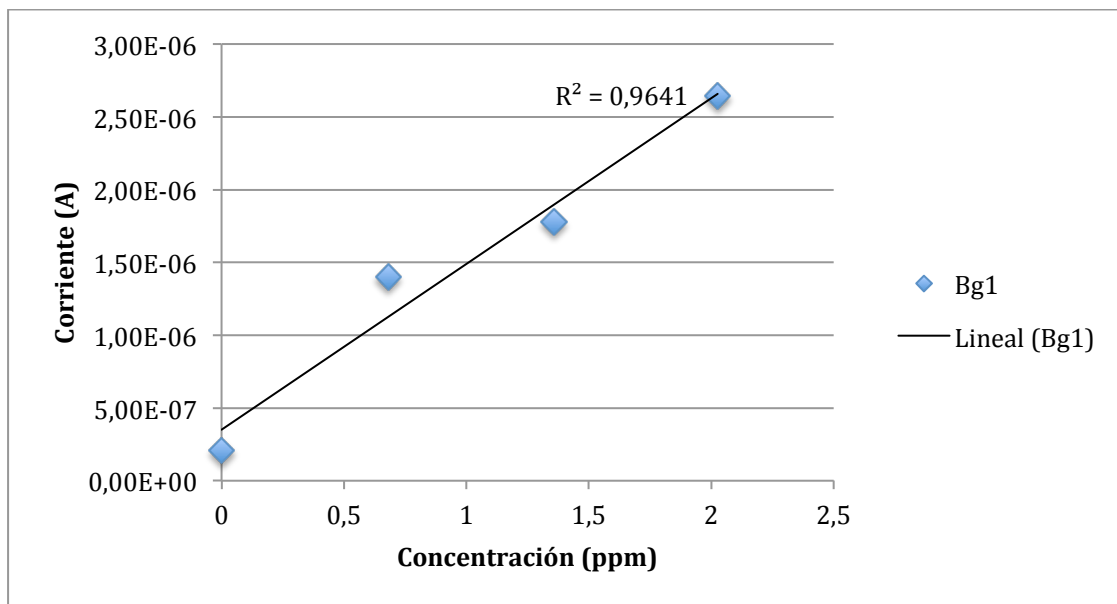
Tabla 10: Resultados de la muestra BG1

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra BG1	2,08E-07	0
Primer Patrón	1,40E-06	0,682
Segundo Patrón	1,78E-06	1,357
Tercer patrón	2,65E-06	2,026

Fuente: Autor

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,96 y el valor de intersección en el eje X es de -0,308, esto quiere decir que en la muestra analizada había una concentración de mercurio de 0,308 ppm.

Gráfico 26: Regresión lineal para la muestra BG1



Fuente: Autor

Realizando los cálculos para hallar la concentración de mercurio en el contenido de la lata de atún tenemos que:

$$\frac{0,308 \text{ mg Hg}}{1 \text{ L sol}} * 0,05 \text{ L} = 0,01 \text{ mg Hg}$$

$$\frac{0,01 \text{ mg Hg}}{5 * 10^{-3} \text{ Kg muestra}} = 3,08 \text{ ppm Hg}$$

Una concentración de 3,08 ppm de Hg se encuentra por encima de los límites establecidos en cualquier legislación internacional para el consumo de atún enlatado, y en particular con la legislación colombiana que fija un máximo de un 1 ppm, excede este límite por más del triple.

El de análisis para la muestra BG2 tiene una señal de respuesta con un pico de corriente de $8,92 * 10^{-7}$ en un potencial de 176 mV, y que con las adiciones patrón se obtuvieron los resultados de la **Tabla 11**

Gráfico 27: Señal de respuesta para la muestra BG2.

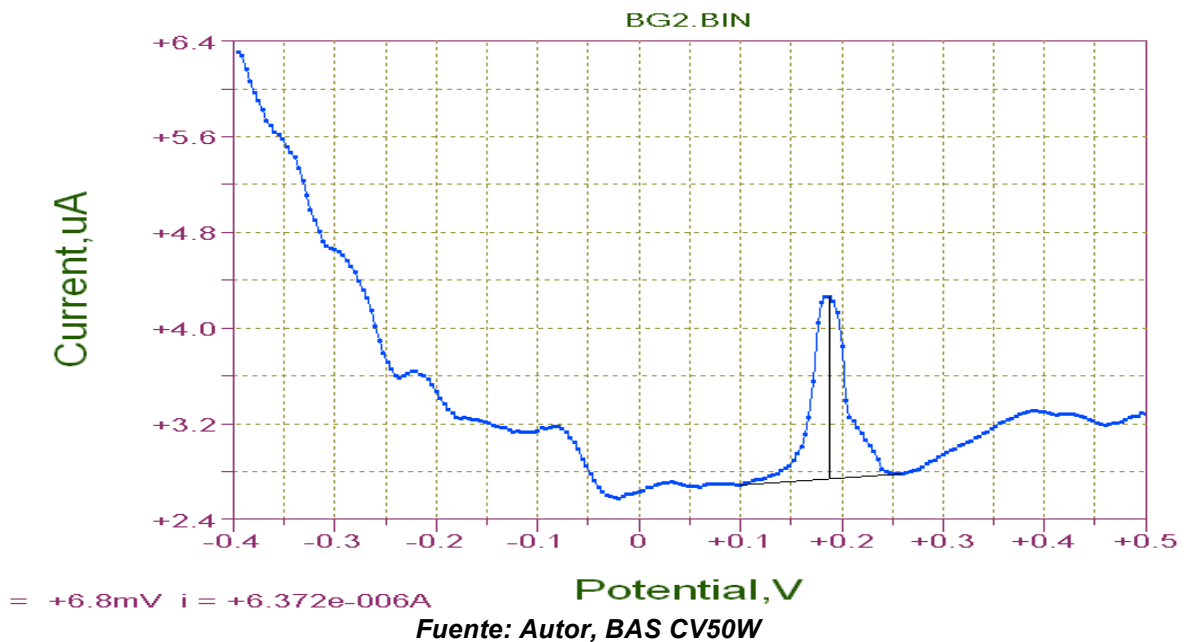


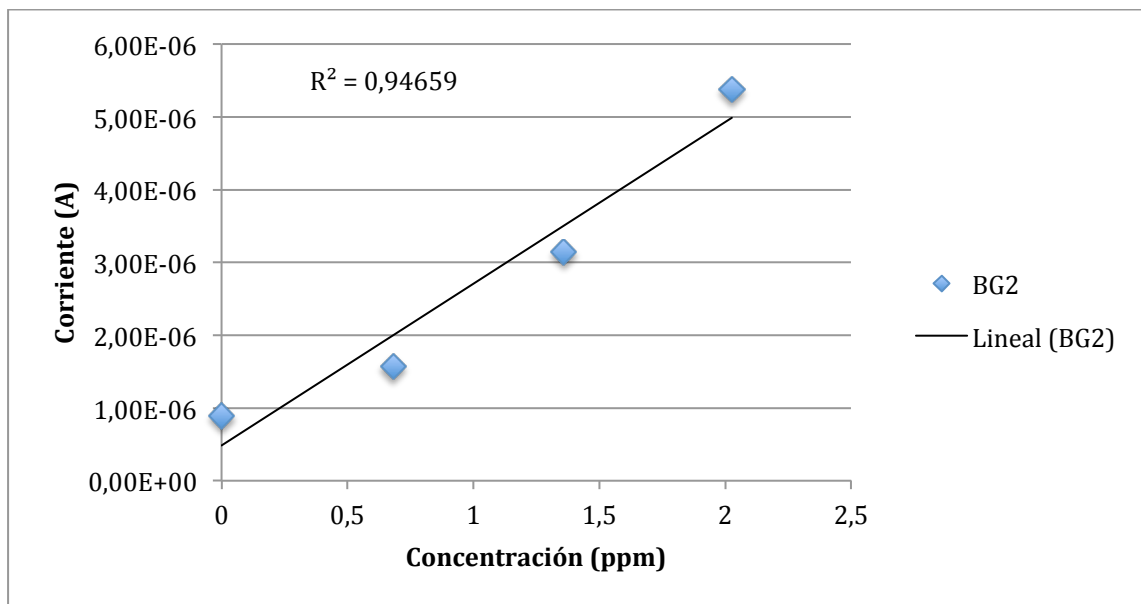
Tabla 11: Resultados de la muestra BG2

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra BG2	8,92E-07	0
Primer Patrón	1,57E-06	0,682
Segundo Patrón	3,14E-06	1,357
Tercer patrón	5,38E-06	2,026

Fuente: Autor

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 28**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,94 y el valor de intersección en el eje X es de -0,218, esto quiere decir que en la muestra analizada había una concentración de mercurio de 0,218 ppm.

Gráfico 28: Regresión lineal para la muestra BG2



Fuente: Autor

Realizando los cálculos para hallar la concentración de mercurio en la lata de atún tenemos que:

$$\frac{0,218 \text{ mg Hg}}{1 \text{ L sol}} * 0,05 \text{ L} = 0,0109 \text{ mg Hg}$$

$$\frac{0,0109 \text{ mg Hg}}{5 * 10^{-3} \text{ Kg muestra}} = 2,18 \text{ ppm Hg}$$

Una concentración de 2,18 ppm de Hg se encuentra por encima de los límites establecidos en cualquier legislación internacional, y en particular con la legislación colombiana que fija un máximo de un 1 ppm, excede este límite por mas del doble. En relación con la concentración para la misma muestra de atún se tiene una disminución en la concentración de mercurio de 0,9 ppm.

Es importante saber que la marca de atún denominado BG fueron las que presentaron mayores problemas para su análisis debido a que fueron las que mas pasivaron el electrodo de trabajo y debido a esto se tuvieron que hacer varias repeticiones para poder obtener resultados, esto puede deberse a la cantidad de materia orgánica que contenían estas muestras era muy elevado y a que no todas las industrias de atún tienen el mismo procedimiento en el momento de sacar su producto final.

6.4. Resultados y análisis para las muestras del atún VIK

El análisis para la marca de atún denominada Vik, se puede observar la señal de respuesta en el **Gráfico 29** para la muestra V1 tiene una señal de respuesta sin ningún pico de corriente dentro de los potenciales a los que se podría oxidar el mercurio, los otros picos son producto de otras especies electroactivas esto se puede observar cuando se realiza la adición patrón en la cual aparecen picos en 228 mV, 224 mV y en 220 mV; respectivamente después de cada adición de los tres patrones. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 12**.

Gráfico 29: Señal de respuesta para la muestra V1

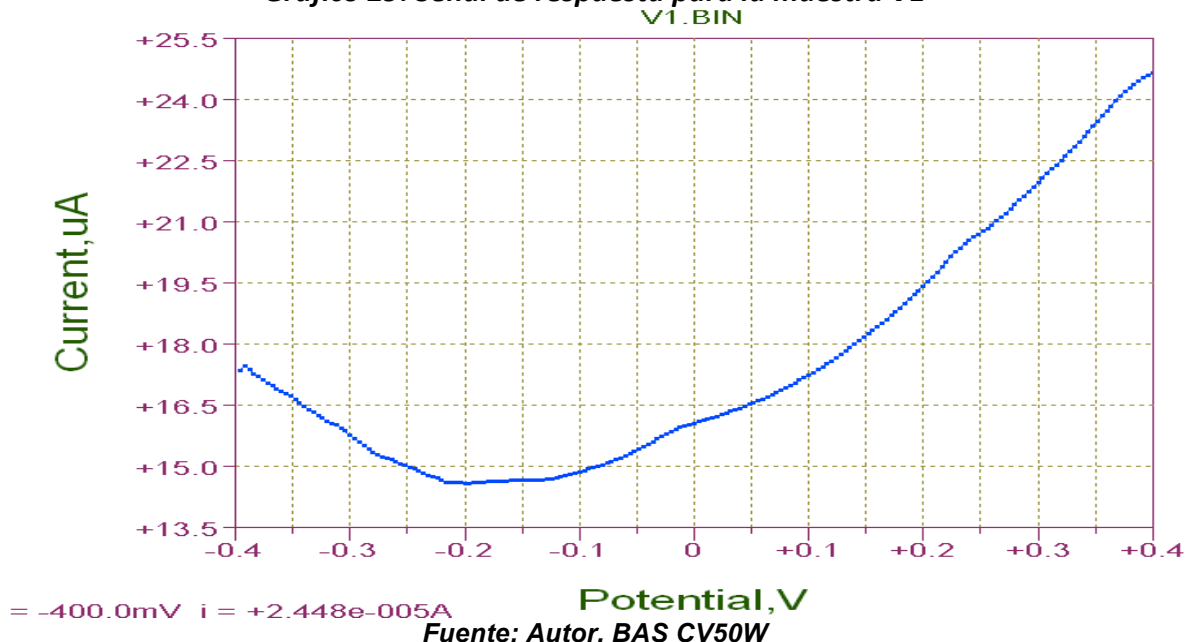


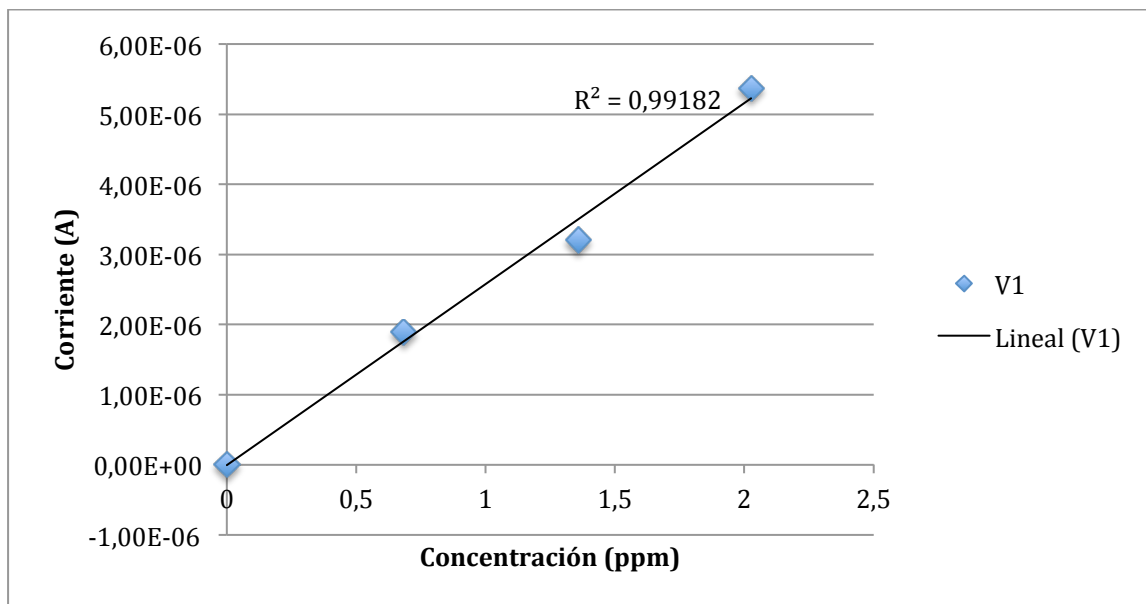
Tabla 12: Resultados de la muestra V1

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra V1	ND	0
Primer Patrón	1,89E-06	0,682
Segundo Patrón	3,21E-06	1,357
Tercer patrón	5,38E-06	2,026

Fuente: Autor

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 30**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,99 y demuestra que en el voltaje al cual se debería oxidar el mercurio en el análisis de la muestra no se obtuvo ningún pico, esto no quiere decir necesariamente que el atún no contenga mercurio, si no que los niveles de mercurio están por debajo del límite de detección de la técnica y por consiguiente también por debajo de los límites permisibles.

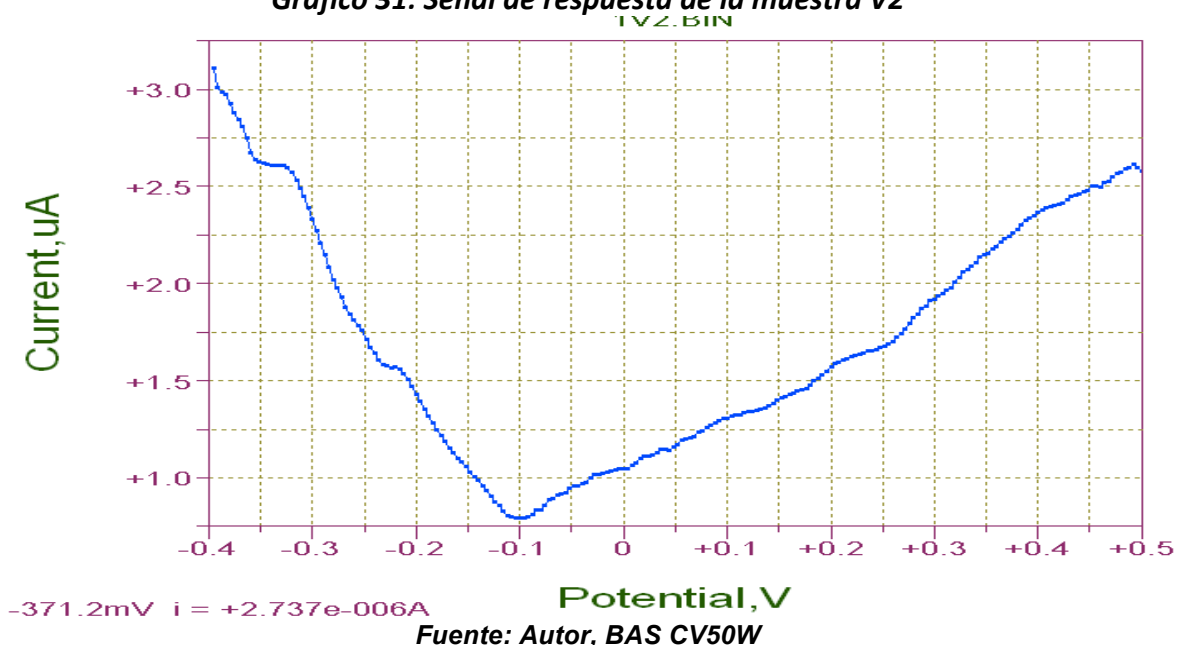
Gráfico 30: Regresión lineal para la muestra V1



Fuente: Autor

En el **Gráfico 31** de análisis para la muestra V2 tiene una señal de respuesta sin ningún pico de corriente dentro de los potenciales a los que se podría oxidar el mercurio, los otros picos son producto de otras especies electroactivas esto se puede observar cuando se realiza la adición patrón en la cual aparecen picos en 236 mV, 220 mV y en 216 mV; respectivamente después de cada adición de los tres patrones. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 13**

Gráfico 31: Señal de respuesta de la muestra V2



Fuente: Autor, BAS CV50W

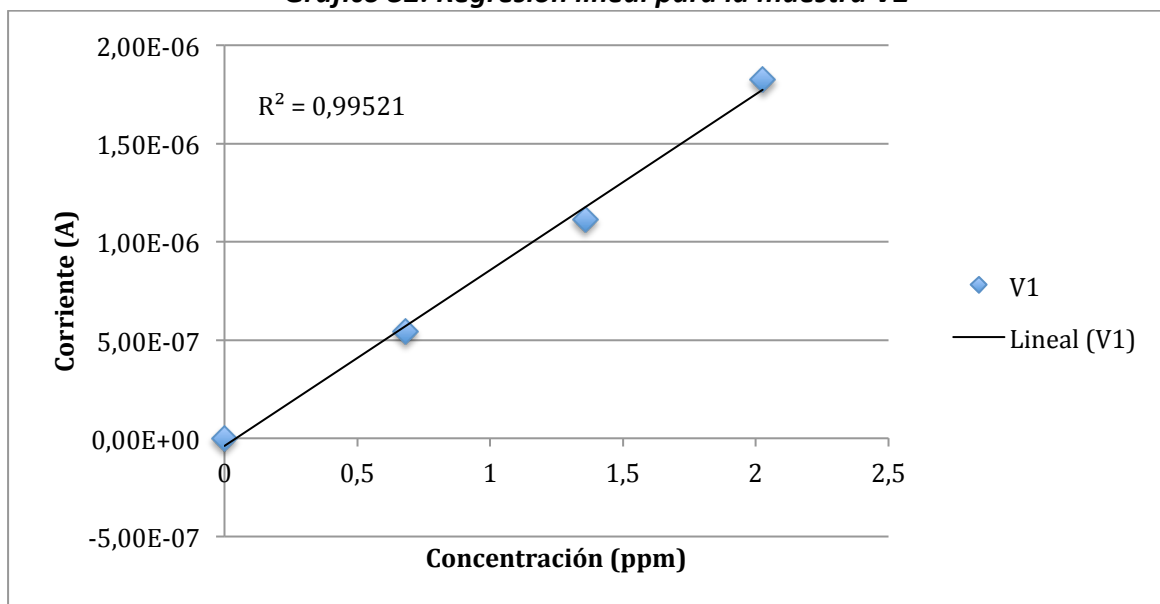
Tabla 13: Resultados de la muestra V2

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra V2	ND	0
Primer Patrón	5,44E-07	0,682
Segundo Patrón	1,11E-06	1,357
Tercer patrón	1,83E-06	2,026

Fuente: Autor

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** Gráfico 32, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,99 y demuestra que en el voltaje al cual se debería oxidar el mercurio en el análisis de la muestra no se obtuvo ningún pico, esto no quiere decir necesariamente que el atún no contenga mercurio, si no que los niveles de mercurio están por debajo del límite de detección de la técnica y por consiguiente también por debajo de los límites permisibles correspondiente con los datos de la otra muestra de esta misma marca de atún.

Gráfico 32: Regresión lineal para la muestra V2



Fuente: Autor

El análisis para el atún VC, se puede observar la señal de respuesta en el para la muestra VK1 tiene un pico de corriente de $4,48 \times 10^{-7}$ en un potencial de 232 mV, y que con las adiciones patrón se obtuvieron los resultados de la **Tabla 14**.

Gráfico 33: Señal de respuesta para la muestra VK1

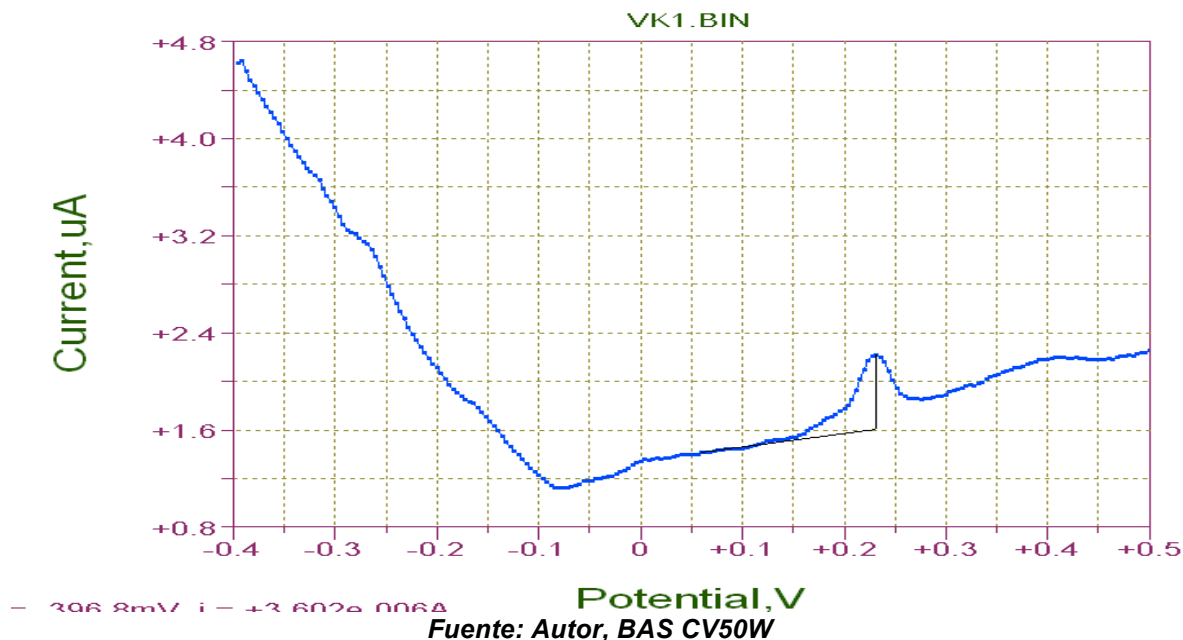


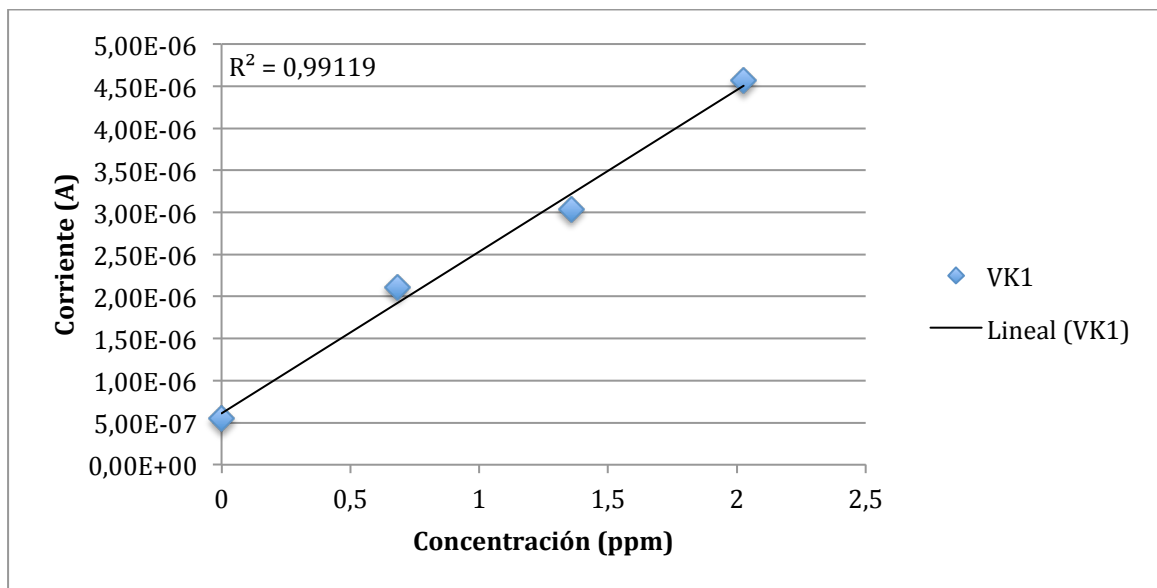
Tabla 14: Resultados de la muestra VK1

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra VK1	5,48E-07	0
Primer Patrón	2,11E-06	0,682
Segundo Patrón	3,04E-06	1,357
Tercer patrón	4,57E-06	2,026

Fuente: Autor

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 34**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,99 y el valor de intersección en el eje X es de -0,317, esto quiere decir que en la muestra analizada había una concentración de mercurio de 0,317 ppm.

Gráfico 34: Regresión lineal para la muestra VK1



Fuente: Autor

Realizando los cálculos para hallar la concentración de mercurio en la lata de atún tenemos que:

$$\frac{0,317 \text{ mg Hg}}{1 \text{ L sol}} * 0,05 \text{ L} = 0,01585 \text{ mg Hg}$$

$$\frac{0,01585 \text{ mg Hg}}{5 * 10^{-3} \text{ Kg muestra}} = 3,17 \text{ ppm Hg}$$

Una concentración de 3,17 ppm de Hg se encuentra por encima de los límites establecidos en cualquier legislación internacional, y en particular con la legislación colombiana que fija un máximo de un 1 ppm, excede este límite por mas del triple como se puede observa en la **Tabla 2**.

6.5. Resultados y análisis para las muestras del atún VC

El **Gráfico 35** de análisis para la muestra VK2 tiene una señal de respuesta con un pico de corriente de $4,7 * 10^{-7}$ en un potencial de 224 mV, y que con las adiciones patrón se obtuvieron los resultados de la **Tabla 15**

Gráfico 35: Señal de respuesta de la muestra VK2

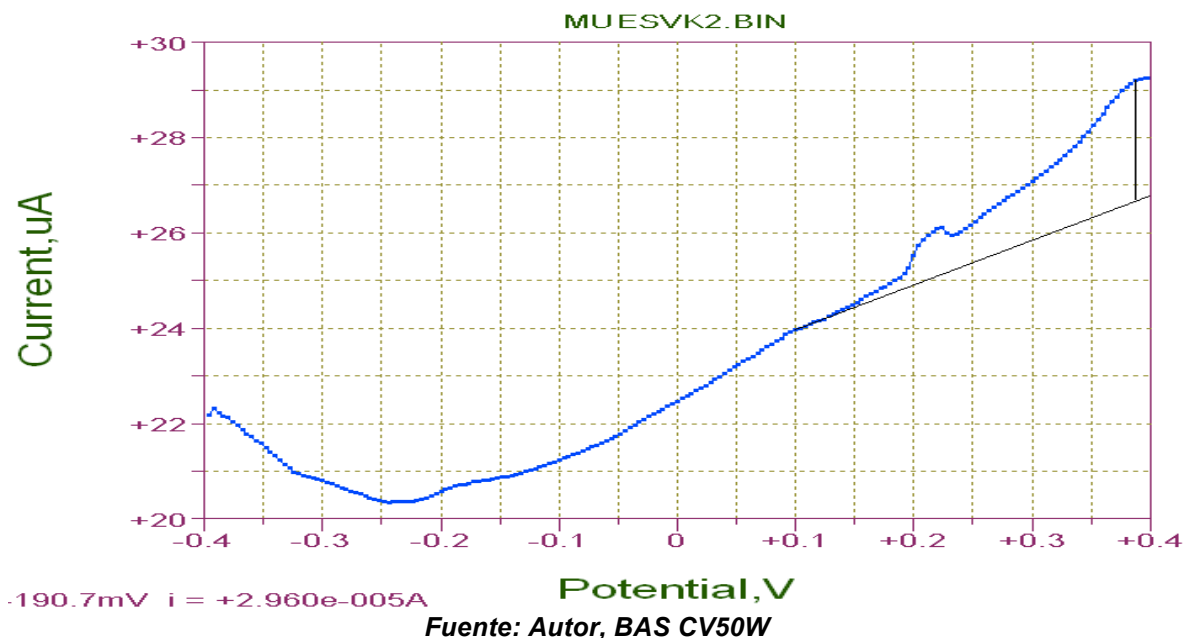


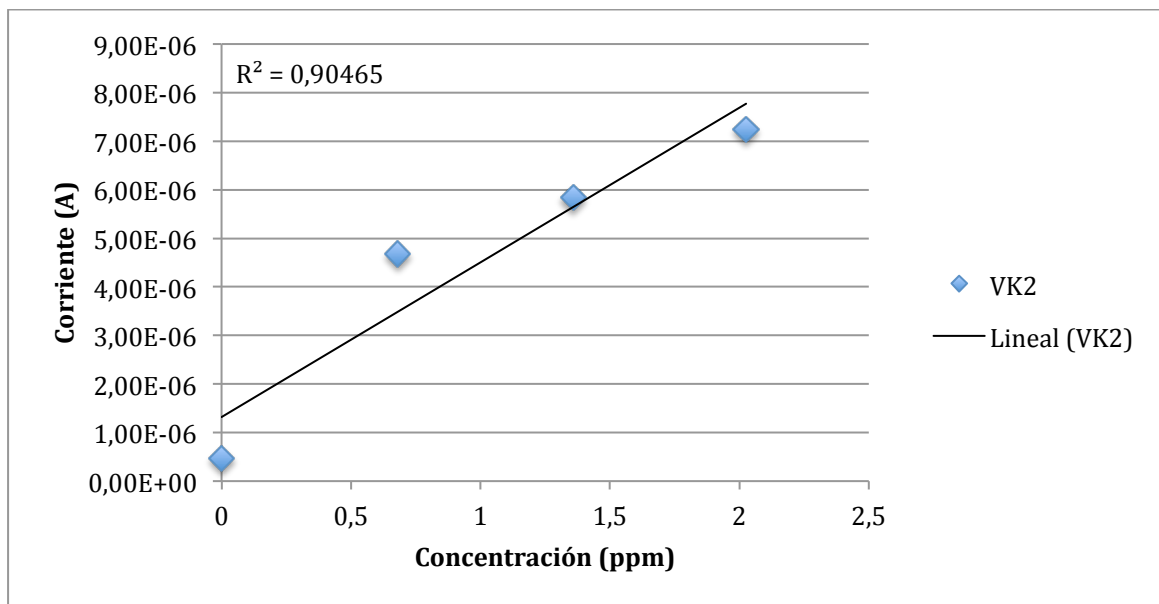
Tabla 15: Resultados de la muestra VK2

NOMBRE	Pico corriente(A)	Concentración (PPM)
Muestra VK2	4,70E-07	0
Primer Patrón	4,68E-06	0,682089552
Segundo Patrón	5,84E-06	1,357425743
Tercer patrón	7,24E-06	2,026108374

Fuente: Autor.

A partir de estos datos se realizó una regresión lineal que se muestra en el **Gráfico 36**, esta tiene un coeficiente de correlación de 0,9 y el valor de intersección en el eje X es de -0,414, esto quiere decir que en la muestra analizada había una concentración de mercurio de 0,414 ppm.

Gráfico 36: Regresión lineal para la muestra VK2



Fuente: Autor.

Realizando los cálculos para hallar la concentración de mercurio en la lata de atún tenemos que:

$$\frac{0,414 \text{ mg Hg}}{1 \text{ L sol}} * 0,05 \text{ L} = 0,02 \text{ mg Hg}$$

$$\frac{0,02 \text{ mg Hg}}{5 * 10^{-3} \text{ Kg muestra}} = 4,14 \text{ ppm Hg}$$

Una concentración de 3,08 ppm de Hg se encuentra por encima de los límites establecidos en cualquier legislación internacional, y en particular con la legislación colombiana que fija un máximo de un 1 ppm, excede este límite por mas de 4 veces y tiene una diferencia con respecto a la otra muestra de la misma marca de atún de 0,97 ppm.

6.6. Resultados generales para todas las marcas de atún

Como se puede apreciar en la **Tabla 16** dos de las marcas de atún (AT y VIK), en las que no se obtuvo una concentración, se puede concluir que estas marcas de atún tienen una concentración muy baja o nula de mercurio debido a que se encuentra por debajo del límite de detección de la técnica utilizada, mientras que las otras tres marcas analizadas presentan una concentración de mercurio que en los tres casos supera cualquier norma nacional e internacional que trate de la concentración en este producto. Existe una variación máxima entre

concentraciones de muestras de las mismas marcas de 0,97 ppm, esto es debido a la complejidad que tenían cada una de las matrices de las muestras, es por esto que también se puede apreciar como las señales de respuesta para cada una de ellas son muy diferentes y presentan señales de respuesta de corriente muy diversos. Además de esto también es notorio como en varias muestras se presentan otros picos de oxidación que no pertenecen al mercurio, pero que al ser producto de otra especie electroactiva podría tratarse de cualquier otro metal pesado presente en el atún.

Tabla 16: Resultados de concentración generales

Marca de Atún	Nombre de la muestra	Concentración (ppm)(mg/kg)
AL	A1	2,33
	A2	3,03
AT	AT1	ND
	AT2	ND
BG	BG1	3,08
	BG2	2,18
VIK	VK1	ND
	VK2	ND
VC	V1	3,17
	V2	4,14

Fuente: Autor.

7. Conclusiones

- Se establecieron las concentraciones numéricas para tres marcas de atún (AL, BG, VC), las cuales están por encima de los límites permisibles tanto en Colombia como en el ámbito internacional.
- La muestra V2 tuvo la máxima concentración registrada con un valor de 4,14 ppm.
- Para las muestras AT y VIk no se pudo establecer un valor de concentración debido a que contiene niveles de mercurio por debajo del límite de detección de la técnica analítica aplicada.
- Se observó que en las señales de respuesta no solo existía evidencia de mercurio, si no que también de otras especies electroactivas que producían picos de corriente en diferentes voltajes.
- El tratamiento de la muestra se realizó mediante lo establecido en la NTC 1322, en la cual se utilizó ácido sulfúrico, ácido nítrico y molibdato de sodio.
- Se determinó que para la celda electroquímica se utilizara un electrodo de trabajo de glassy carbón o carbón vítreo con un área de $7,68 \text{ mm}^2$, un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata (Ag/AgCl), un contraelectrodo con una aleación de hierro y titanio; y para el electrolito soporte se utilizó ácido perclórico que aparte de funcionar como electrolito soporte ayudó a oxidar el resto de materia orgánica presente en la matriz de la muestra.
- Se establecieron los parámetros más relevantes para utilizar la técnica los cuales fueron; un tiempo de disposición de 240 segundos, potencial de deposición de -500 mV , y un rango de barrido entre -400 mV y 500 mV .
- Se determinó que el mercurio (II) produce su pico de oxidación entre potenciales de 180 mV hasta 260 mV .

8. Recomendaciones

- Es importante la implementación y el mayor desarrollo de las técnicas electroanalíticas en la academia y a nivel nacional, debido a las ventajas inherentes que esta presenta. De este modo podrá emplearse con mayor frecuencia no solo en estudios para matrices de comida, si no en cualquier otro tipo de muestras, como aguas suelo aire etc.
- En cuanto a los problemas que se presentaron debido al contenido de materia orgánica presente en cada una de las muestras, es importante agregar a la metodología un paso después de la digestión de las muestras y antes de su análisis que pueda eliminar o disminuir en gran cantidad la materia orgánica, pues como se observó esta interfiere en gran medida con el análisis al pasivar el electrodo de trabajo.
- Al observar las señales de respuesta obtenidas y como estas presentan diferentes picos de oxidación a través del barrido que se hace por los diferentes potenciales, es recomendable realizar otros estudios complementarios con diferentes metales pesados en el atún, que puedan afectar también la salud de los consumidores; así como también más estudios y control por parte del INVIMA acerca de las concentraciones de mercurio, pues como se puede observar en este estudio y en otros realizados en el país, algunas marcas sobrepasan los límites permisibles.
- Para poder realizar unos estudios mas rigurosos y más profundos se recomienda a la academia apoyar mas a los estudiantes que quieren realizar proyectos no solo económicamente, si no también con los equipos e infraestructura necesaria para realizar este tipo de proyectos.

9. Bibliografía

- [1] D. Martín-Yerga, M. B. González-García, and A. Costa-García, 'Electrochemical determination of mercury: A review', *Talanta*, vol. 116, pp. 1091–1104, 2013.
- [2] J. Murphy, P. Jones, and S. J. Hill, 'Determination of total mercury in environmental and biological samples by flow injection cold vapour atomic absorption spectrometry', *Spectrochim. Acta, Part B*, vol. 51, no. 14, pp. 1867–1873, 1996.
- [3] N. Bloom and W. F. Fitzgerald, 'Determination of volatile mercury species at the picogram level by low-temperature gas chromatography with cold-vapour atomic fluorescence detection', *Anal. Chim. Acta*, vol. 208, no. C, pp. 151–161, 1988.
- [4] J. S. dos Santos, M. de la Guardia, A. Pastor, and M. L. P. dos Santos, 'Determination of organic and inorganic mercury species in water and sediment samples by HPLC on-line coupled with ICP-MS', *Talanta*, vol. 80, no. 1, pp. 207–211, 2009.
- [5] J. Manuel and S. Londoño, 'Evaluación de la concentración de mercurio en diversas marcas de atún enlatado comercializadas en la ciudad de Cartagena de Indias', 2011.
- [6] Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 'Toxicological Profile for Mercury Department of Health and Human Services', no. March, p. 676, 1999.
- [7] G. R. J. Khaniki, I. Alli, E. Nowroozi, and R. Nabizadeh, 'Mercury Contamination in Fish and Public Health Aspects: A review', *Pakistan J. Nutr.*, vol. 4, no. 5, pp. 276–281, 2005.
- [8] J. Nriagu and C. Becker, 'Volcanic emissions of mercury to the atmosphere: global and regional inventories.', *Sci. Total Environ.*, vol. 304, no. 1–3, pp. 3–12, 2003.
- [9] F. Emami Khansari, M. Ghazi-Khansari, and M. Abdollahi, 'Heavy metals content of canned tuna fish', *Food Chem.*, vol. 93, no. 2, pp. 293–296, 2005.
- [10] US EPA, 'Mercury Update: Impact on Fish Advisories', 2001.
- [11] F. M. M. Morel, A. M. L. Kraepiel, and M. Amyot, 'THE CHEMICAL CYCLE AND BIOACCUMULATION OF MERCURY', *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, vol. 29, no. 1, pp. 543–566, Nov. 1998.
- [12] R. C. Harris, J. W. M. Rudd, M. Amyot, C. L. Babiarz, K. G. Beaty, P. J. Blanchfield, R. A. Bodaly, B. A. Branfireun, C. C. Gilmour, J. A. Graydon, A. Heyes, H. Hintelmann, J. P. Hurley, C. A. Kelly, D. P. Krabbenhoft, S. E. Lindberg, R. P. Mason, M. J. Paterson, C. L. Podemski, A. Robinson, K. A. Sandilands, G. R. Southworth, V. L. St. Louis, and M. T. Tate, 'Whole-ecosystem study shows rapid fish-mercury response to changes in mercury deposition', *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 104, no.

42 , pp. 16586–16591, Oct. 2007.

- [13] G. Biddinger and S. Gloss, 'The importance of trophic transfer in the bioaccumulation of chemical contaminants in aquatic ecosystems', in *Residue Reviews SE - 4*, vol. 91, F. Gunther and J. Gunther, Eds. Springer New York, 1984, pp. 103–145.
- [14] W. Clarkson, 'Environmental in the food chain', *Blood*, vol. 61, 1995.
- [15] B. D. Hall, R. A. Bodaly, R. J. P. Fudge, J. W. M. Rudd, and D. M. Rosenberg, 'Food as the Dominant Pathway of Methylmercury Uptake by Fish', *Water. Air. Soil Pollut.*, vol. 100, no. 1–2, pp. 13–24, 1997.
- [16] B. Braune, 'Mercury accumulation in relation to size and age of Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) from the southwestern Bay of Fundy, Canada', *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 16, no. 3, pp. 311–320, 1987.
- [17] L. D. Lacerda, E. D. Bidone, A. F. Guimaraes, and W. C. Pfeiffer, 'Mercury concentrations in fish from the Itacaiunas-Parauapebas River system, Carajas region, Amazon.', *An. Acad. Bras. Cienc.*, vol. 66, no. 3, pp. 373–379, 1994.
- [18] J. Park and L. R. Curtis, 'Mercury distribution in sediments and bioaccumulation by fish in two oregon reservoirs: point-source and nonpoint-source impacted systems.', *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 33, no. 4, pp. 423–429, Nov. 1997.
- [19] J. Burger, K. F. Gaines, and M. Gochfeld, 'Ethnic differences in risk from mercury among Savannah River fishermen.', *Risk Anal.*, vol. 21, no. 3, pp. 533–544, Jun. 2001.
- [20] L. R. Kamps, R. Carr, and H. Miller, 'Total mercury-monomethylmercury content of several species of fish.', *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 8, no. 5, pp. 273–279, Nov. 1972.
- [21] Q. Wang, D. Kim, D. D. Dionysiou, G. A. Sorial, and D. Timberlake, 'Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems--a literature review.', *Environ. Pollut.*, vol. 131, no. 2, pp. 323–336, Sep. 2004.
- [22] Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente., 'Mercado de los Túnidos', 2014.
- [23] Ministerio de Protección Social, 'Resolución 0148', 2007.
- [24] L. A. Zuleta J. and A. Becerra, 'El Mercado del Atún en Colombia', Bogotá, 2013.
- [25] R. Mendoza San Miguel, 'Análisis sectorial del atún y sus derivados', 2003.
- [26] T. W. Clarkson and L. Magos, 'The Toxicology of Mercury and Its Chemical Compounds', *Crit. Rev. Toxicol.*, vol. 36, no. 8, pp. 609–662, Jan. 2006.
- [27] Committee on the Toxicological Effects of Methylmercury, *Toxicological Effects of Methylmercury*. 2000.
- [28] G. Liu, Y. Cai, and N. O'Driscoll, *Environmental Chemistry and Toxicology of*

Mercury. Wiley, 2011.

- [29] CH, 'Appendices - Standards and Methods Manual - Food - Canadian Food Inspection Agency', Can. Guidel. Chem. Contam. Toxins Fish Fish Prod., no. August, pp. 3–6, 2012.
- [30] J. Burger and M. Gochfeld, 'Mercury in canned tuna: white versus light and temporal variation.', Environ. Res., vol. 96, no. 3, pp. 239–249, Nov. 2004.
- [31] T. R. Lange, H. E. Royals, and L. L. Connor, 'Mercury accumulation in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in a Florida Lake', Arch. Environ. Contam. Toxicol., vol. 27, no. 4, pp. 466–471, 1994.
- [32] J. DiFranco, L. Bacon, B. Mower, and D. Courtemanch, 'Fish tissue contamination in maine lakes data report', 1995.
- [33] S. L. Gerstenberger, J. Pratt-Shelley, M. S. Beattie, and J. A. Dellinger, 'Mercury concentrations of Walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*) in 34 Northern Wisconsin Lakes', Bull. Environ. Contam. Toxicol., vol. 50, no. 4, pp. 612–617, 1993.
- [34] G. R. W. Denton and C. Burdon-Jones, 'Trace metals in fish from the Great Barrier Reef', Mar. Pollut. Bull., vol. 17, no. 5, pp. 201–209, May 1986.
- [35] L. D. Hylander, E. C. Silva, L. J. Oliveira, S. A. Silva, E. K. Kuntze, and D. X. Silva, 'Mercury Levels in Alto Pantanal: A Screening Study', Ambio, vol. 23, no. 8, pp. 478–484, 1994.
- [36] Ministerio de Salud. División Jurídica, Reglamento Sanitario de los Alimentos, vol. 13. Chile, 1996.
- [37] S. E. Collings, M. S. Johnson, and R. T. Leah, 'Metal contamination of angler-caught fish from the Mersey Estuary', Mar. Environ. Res., vol. 41, no. 3, pp. 281–297, 1996.
- [38] EPA, 'Mercury in Aqueous Samples and Extracts', 1996.
- [39] M. Litter, M. Armienta, and S. Farías, Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos. 2009.
- [40] D. C. Harris, Quantitative Chemical Analysis, vol. 42, no. 5. 2007.
- [41] A. J. Bard, L. R. Faulkner, N. York, C. @Bullet, W. Brisbane, and S. E. Toronto, ELECTROCHEMICAL METHODS Fundamentals and Applications. 1944.
- [42] J. G. Osteryoung and R. a Osteryoung, 'Square Wave Voltammetry', Anal. Chem., vol. 57, no. 1, p. 101A–110A, 1985.
- [43] C. Gao and X.-J. Huang, 'Voltammetric determination of mercury(II)', TrAC Trends Anal. Chem., vol. 51, pp. 1–12, 2013.
- [44] M. C. Blanco-López, M. J. Lobo-Castañón, A. J. Miranda-Ordieres, and P. Tuñón-Blanco, 'Electrochemical sensors based on molecularly imprinted polymers', TrAC Trends Anal. Chem., vol. 23, no. 1, pp. 36–48, Jan. 2004.

- [45] R. Boqué, 'El límite de detección de un método analítico.', vol. 2009, p. 3, 2009.
- [46] L. T. Hallett, 'Editorial. Sensitivity of Analytical Methods', *Anal. Chem.*, vol. 32, no. 9, p. 1057, Aug. 1960.
- [47] P. T. Kissinger and W. R. Heineman, 'Cyclic voltammetry', *J. Chem. Educ.*, vol. 60, no. 9, p. 702, 1983.
- [48] G. G. Muntyanu, 'Differential Pulse Stripping Voltammetry of Mercury(II) Ions at a Cylindrical Carbon-Fiber Microelectrode in the Presence of Au(III) Ions', *J. Anal. Chem.*, vol. 56, no. 6, pp. 546–551, 2001.
- [49] F. Afonso, F. Ribeiro, L. Proença, M. I. S. Lopes, M. M. Rocha, M. M. M. Neto, and I. T. E. Fonseca, 'Voltammetric Studies on the Electrochemical Reduction of Methylmercury in HCl Aqueous Medium at a Carbon Microelectrode', *Electroanalysis*, vol. 17, no. 2, pp. 127–133, Feb. 2005.
- [50] Y. Bonfil, M. Brand, and E. Kirowa-Eisner, 'Trace determination of mercury by anodic stripping voltammetry at the rotating gold electrode', *Anal. Chim. Acta*, vol. 424, no. 1, pp. 65–76, 2000.
- [51] R. D. Riso, M. Waeles, P. Monbet, and C. J. Chaumery, 'Measurements of trace concentrations of mercury in sea water by stripping chronopotentiometry with gold disk electrode: influence of copper', *Anal. Chim. Acta*, vol. 410, no. 1–2, pp. 97–105, Apr. 2000.
- [52] a Giacomino, O. Abollino, M. Malandrino, and E. Mentasti, 'Parameters affecting the determination of mercury by anodic stripping voltammetry using a gold electrode', *Talanta*, vol. 75, pp. 266–273, 2007.
- [53] E. Bernalte, C. M. Sánchez, and E. P. Gil, 'Determination of mercury in ambient water samples by anodic stripping voltammetry on screen-printed gold electrodes', *Anal. Chim. Acta*, vol. 689, no. 1, pp. 60–64, 2011.
- [54] M.-C. Radulescu and A. F. Danet, 'Mercury Determination in Fish Samples by Chronopotentiometric Stripping Analysis Using Gold Electrodes Prepared from Recordable CDs', *Sensors (Basel)*, vol. 8, no. 11, pp. 7157–7171, Nov. 2008.
- [55] M. A. Augelli, R. A. Abarza Munoz, E. M. Richter, A. Gouveia Junior, and L. Angnes, 'Chronopotentiometric Stripping Analysis Using Gold Electrodes, an Efficient Technique for Mercury Quantification in Natural Waters', *Electroanalysis*, vol. 17, no. 9, pp. 755–761, May 2005.
- [56] M. a. Augelli, R. a a Munoz, E. M. Richter, M. I. Cantagallo, and L. Angnes, 'Analytical procedure for total mercury determination in fishes and shrimps by chronopotentiometric stripping analysis at gold film electrodes after microwave digestion', *Food Chem.*, vol. 101, pp. 579–584, 2007.
- [57] A. Manivannan, D. A. Tryk, and A. Fujishima, 'Detection of Trace Lead at Boron-Doped Diamond Electrodes by Anodic Stripping Analysis', *Electrochem. Solid-State Lett.*, vol. 2, no. 9, pp. 455–456, Sep. 1999.

- [58] P. E. Martínez and B. N. Martínez, 'Modificación de superficie activa de electrodos con complejo de base de Schiff', vol. IX, no. 32, pp. 44–51, 2006.
- [59] G. Popa and V. Magearu, "'Metal-complex" electrodes', J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem., vol. 22, no. 1, pp. 85–88, Jul. 1969.
- [60] ICONTEC, 'NTC 1276', 2000.
- [61] ICONTEC, 'NTC 1322', 1999.
- [62] M. T. Morrissey, R. Rasmussen, and T. Okada, 'Mercury Content in Pacific Troll-Caught Albacore Tuna (Thunnus alalunga)', J. Aquat. Food Prod. Technol., vol. 13, no. 4, pp. 41–52, 2004.
- [63] Bioanalytical Systems Inc, 'BASi CV-50W Version 2.3 Instruction Manual', no. January, 2001.
- [64] US EPA, 'Test Methods for Evaluating Solid Waste, Physical/Chemical Methods SW-846', no. July, pp. 0–27, 2014.
- [65] US EPA, 'Method 7000B: Flame Atomic Absorption Spectrophotometry', no. February, p. 23, 2007.