

**DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PLOMO (II) PRESENTE EN FRESAS
FRESCAS PROVENIENTES DE LA VEREDA LA UNIÓN EN EL MUNICIPIO DE
SIBATÉ EN CUNDINAMARCA – COLOMBIA, POR MEDIO DE VOLTAMETRÍA
DE ONDA CUADRADA (SWV).**

STEFANY JULIETTE HUERTAS ORTIGOZA

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C
2018**

**DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE PLOMO (II) PRESENTE EN FRESAS
FRESCAS PROVENIENTES DE LA VEREDA LA UNIÓN EN EL MUNICIPIO DE
SIBATÉ EN CUNDINAMARCA – COLOMBIA, POR MEDIO DE VOLTAMETRÍA
DE ONDA CUADRADA (SWV).**

STEFANY JULIETTE HUERTAS ORTIGOZA

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE INGENIERO
AMBIENTAL
MODALIDAD: SOLUCIÓN DE UN PROBLEMA DE INGENIERÍA**

**DIRECTOR:
DR. SC CESAR QUIÑONES SEGURA**

**UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS
DIVISIÓN DE INGENIERÍAS
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL
BOGOTÁ D.C
2018**

LISTA DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Voltametría de Onda Cuadrada SWV	16
Ilustración 2. Resultados gráficos de la técnica electroanalítica SWV	16
Ilustración 3. Montaje de la técnica electroanalítica SWV	17
Ilustración 4. Celda electroquímica para voltametría	18
Ilustración 5. Celda electroquímica simple.....	18
Ilustración 6. Partes de la fresa.....	21
Ilustración 7. Mapa de la vereda La Unión, Sibaté – Cundinamarca	23
Ilustración 8. Mapa de ubicación Finca A, adquisición de muestras	24
Ilustración 9. Diagrama de flujo Fase I.....	27
Ilustración 10. Celda de HPDE	28
Ilustración 11. Tapa de nylon	28
Ilustración 12. Diagrama de flujo Fase II.....	30
Ilustración 13. Diagrama de flujo Fase III.....	32
Ilustración 14. Resultados AD en la muestra de fresas.	35
Ilustración 15. Voltagrama SWV, BBR con 10mg/l de Pb (NO ₃) ₂ , Pt WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv	37
Ilustración 16. Voltagrama SWV, BA con 10mg/l de Pb (NO ₃) ₂ , Pt WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv	38
Ilustración 17. Voltagrama SWV, BBR con 10mg/l de Pb (NO ₃) ₂ , GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv	38
Ilustración 18. Voltagrama SWV, BA con 10mg/l de Pb (NO ₃) ₂ , GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv	39
Ilustración 19. Voltagrama SWV, BBR con 10mg/l de Pb (NO ₃) ₂ , Cu WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1,5 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv	40
Ilustración 20. Voltagrama SWV, BA con 10mg/l de Pb (NO ₃) ₂ , Cu WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv	40
Ilustración 21. Electrodo de cobre de bajo costo.....	41
Ilustración 22. Configuración final de los parámetros del método electroquímico..	42
Ilustración 23. Voltagrama SWV obtenido con 5ml de ácido acético glacial, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 15mv, 40Hz, 40mv, 5 barridos.....	43
Ilustración 24. Voltagrama SWV obtenido con 10ml de BA y 10 mg/L de solución patrón de Pb (NO ₃) ₂ , GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 15mv, 40mv, 20Hz, 40Hz, 60Hz, 80Hz.....	43
Ilustración 25. Voltagrama SWV obtenido con 10ml de BA, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 4mv, 15mv, 25mv, 60Hz, 40mv.....	44
Ilustración 26. Voltagrama SWV obtenido con 10ml de BA y 10 mg/L de solución patrón de Pb (NO ₃) ₂ , GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 25mv, 60Hz, 40mv, 60mv, 80mv.	45
Ilustración 27. Voltagrama SWV obtenido en buffer BA con muestra de fresa y adición estándar de 0,2ppm y 0,4ppm de Pb (NO ₃) ₂ , GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V. Bajo la configuración 25mV, 60Hz y 80mV.....	46

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Semi-reacción del Pb(II).....	15
Ecuación 2. Determinación de la concentración de Pb (II) por adición estándar	33
Ecuación 3. Concentración de Pb (II) en la muestra de fresa	48

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Normatividad de plomo en fresas	22
Tabla 2 Métodos de digestión para fresa	24
Tabla 3. Toma de muestras	26
Tabla 4. Equipos	26
Tabla 5 Reactivos.	26
Tabla 6 Diseño experimental factorial del método electroquímico.	29
Tabla 7. Diseño experimental factorial parámetros de la técnica.....	31
Tabla 8. Equipos	33
Tabla 9. Reactivos	34
Tabla 10. Resultados de la muestra de fresa	46
Tabla 11. Cantidad de Pb (II) en la muestra agregada a la celda.....	47

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Regresión lineal muestra de fresa	47
--	----

LISTA DE SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

Abreviaturas	Términos
AAS	Atomic Absorption Spectroscopy
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectroscopy
FIA	Flow Injection Analysis
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy
SWV	Square Wave Voltammetry
CE	Counter Electrode
WE	Working Electrode
RE	Reference Electrode
CV	Cyclic Voltammetry
DPV	Differential Pulse Voltammetry
UAD	Ultrasonic Acid Digestion
DM	Digestion In Microwave
AD	Acid Digestion
HPDE	High Density Polyethylene
BBR	Buffer Britton Robinson
BA	Buffer de Acetato
FAO	Food and Agriculture Organization
DP	Differential Pulse Voltammetry
WE	Working Electrode
CE	Counter Electrode
RE	Reference electrode
UAD	Ultrasonic Acid Digestion
GC	Glassy Carbon
XRFS	X-ray fluorescence spectrometry
ATPasa Na/K	Bomba de Sodio
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
ppm	Partes Por Millón
m s.n.m.	Metros sobre nivel del mar
Vi	Voltaje inicial
Vf	Voltaje final
Símbolos	Términos
Pb	Plomo
Cd	Cadmio
Hg	Mercurio

Ca	Calcio
PbS	Sulfuro De Plomo
Pt	Platino
Fe	Hierro
Ag/AgCl	Plata/Cloruro de plata
Zn	Zinc
Cu	Cobre
K	Potasio
P	Fosforo
HNO ₃	Ácido Nítrico
KCl	Cloruro de Potasio
HCl	Ácido Clorhídrico
Na	Sodio
Pb (NO ₃) ₂	Nitrato de Plomo
Ton	Toneladas
Ha	Hectárea
pH	Potencial de hidrógeno
%	Porcentaje
cm ³	Centímetro cúbico
kg	Kilogramo
m ³	Metro cúbico
pptr	Partes por trillón
mg	Miligramo
ml	Mililitro
mm	Milímetro
cm	Centímetro
ha	Hectárea
V	Volts
mV	Milivolts
A	Amperes
h	Hora(s)
i	Corriente
E	Potencial
mol	Mol
mM	Mili Molar
N	Normal
M	Molaridad
L	Litro
Mg	Microgramo
µm	Micrómetro
µl	Microlitro

mA	Miliamperios
Hz	Hertz
rpm	Revoluciones por minuto
$\mu\text{S/cm}$	MicroSiemens/centímetro
$^{\circ}\text{C}$	Grado Celsius
R^2	Coeficiente de correlación

RESUMEN

El presente proyecto llevó a cabo, la determinación de Pb (II) presente en una muestra de fresas frescas provenientes de una finca denominada Finca A, ubicada en la vereda La Unión en el municipio de Sibaté en Cundinamarca – Colombia, por medio de la técnica voltametría de onda cuadrada (SWV). Esta técnica fue seleccionada por ofrecer bajo costo de operación, alta sensibilidad, selectividad y fácil adaptación al entorno de trabajo. La determinación de Pb (II) se decidió realizar en el fruto de la fresa por ser una de las frutas con mayor aporte económico del país y por haber encontrado más de una especie electroactiva en esta fruta según estudios enfocados a la determinación de metales a nivel nacional e internacional. De este modo, se tomó y analizó una muestra de fresa proveniente de la vereda más cercana al embalse del Muña, caracterizado por ser un cuerpo de agua estancado y con un alto grado de contaminación, convirtiendo su entorno en un foco de interés para investigaciones ambientales.

De esta forma la cuantificación de Pb (II) se realizó tras emplear el método de digestión ácida, el cual llevo la muestra a solución acuosa, con una configuración en la celda electroquímica de 3 electrodos, carbón vítreo o GC como electrodo de trabajo, Ag/AgCl como electrodo de referencia y Pt como contra electrodo, en electrolito soporte buffer de acetato a pH 4,5. Seguidamente se establecieron los parámetros de la técnica de la siguiente manera: tamaño del paso 25 mV, frecuencia 60 Hz y tamaño del pulso 80 mV con tiempo de quietud de 15s.

Finalmente se usó el método de adición estándar como uno de los mejores métodos para reducción de interferencias, como el efecto matriz, facilitando la determinación de 0,3012 ppm de Pb (II) en la muestra de fresa, valor que sobrepasa el límite permisible establecido por la normatividad Colombiana que se ubica en 0,20 ppm de Pb para bayas y frutas pequeñas. Seguidamente se observaron otras especies electroactivas las cuales generaron picos de corriente en diferentes voltajes, mostrando que la técnica voltametría de onda cuadrada es adecuada para la detección de más de una sustancia electroactiva y cuantificarla por separado en alimentos como la fresa.

PALABRAS CLAVE: FRESAS, VOLTAMETRÍA DE ONDA CUADRADA, PLOMO, CELDA ELECTROQUÍMICA, METALES PESADOS, ALIMENTOS, ADICIÓN ESTÁNDAR.

ABSTRACT

This project carried out the determination of Pb (II) present in a sample of fresh strawberries from a farm called Finca A, located in the village of La Unión in the municipality of Sibaté in Cundinamarca - Colombia, through the technique square wave voltammetry (SWV). This technique was selected for offering low operating cost, high sensitivity, selectivity and easy adaptation to the work environment. The determination of Pb (II) was decided on the fruit of the strawberry because it is one of the fruits with the highest economic contribution in the country and for having found more than one electroactive species in this fruit according to studies focused on the determination of metals at the National and international. Thus, a strawberry sample was taken and analyzed from the path closest to the reservoir of Muña, characterized by being a body of stagnant water and with a high degree of contamination, making its environment a focus of interest for environmental research.

In this way the quantification of Pb (II) was performed after using the acid digestion method, which took the sample to aqueous solution, with a configuration in the electrochemical cell of 3 electrodes, glassy carbon or GC as working electrode, Ag / AgCl as a reference electrode and Pt as a counter electrode, in acetate electrolyte acetate buffer at pH 4.5. Then the parameters of the technique were established as follows: step size 25 mV, frequency 60 Hz and pulse size 80 mV with quiet time of 15s.

Finally, the standard addition method was used as one of the best methods for reducing interference, such as the matrix effect, facilitating the determination of 0.3012 ppm of Pb (II) in the strawberry sample, a value that exceeds the permissible limit established by the Colombian regulations that is located in 0.20 ppm of Pb for berries and small fruits. Furthermore, other electroactive species were observed which generated current peaks in different voltages, showing that the square wave voltammetry technique is suitable for the determination of more than one electroactive substance and quantify it separately in foods such as strawberries.

KEY WORDS: STRAWBERRIES, SQUARE WAVE VOLTAMETRY, LEAD, ELECTROCHEMICAL CELL, HEAVY METALS, FOOD, STANDARD ADDITION.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1 INTRODUCCIÓN	12
2 OBJETIVOS	14
2.1 Objetivo General	14
2.2 Objetivos Específicos.....	14
3 MARCO DE REFERENCIA	15
3.2 Método electroquímico.....	15
3.5.1 Técnica voltametría de onda cuadrada (SWV).....	16
3.5.2. Configuración de la celda electroquímica.....	17
3.5.3 Alteraciones en la medida electroquímica	18
3.3 Plomo.....	20
3.4 Fresa	20
3.5 Relación del plomo con las fresas	21
3.6 Vereda la Unión, Sibaté-Cundinamarca	22
4 DESARROLLO CENTRAL	23
4.1 METODOLOGÍA.....	23
4.1.1 FASE I: Tratamiento de la muestra.....	23
4.1.2 FASE II: Determinación de los parámetros del método electroquímico.....	28
4.1.3 Fase III: Determinación de los parámetros de la técnica.....	30
4.1.4 Fase IV: Cuantificación del contenido de Pb (II) presente en una muestra del fruto de la fresa fresca cultivada en la vereda La Unión, en el municipio de Sibaté – Cundinamarca.....	32
4.2.1 FASE I: Tratamiento de la muestra.....	34
4.2.2 Fase II: Determinación de los parámetros del método electroquímico.....	37
4.2.3 Fase III: Definición de los parámetros de la técnica.....	42
4.2.4 Fase IV: Cuantificación del contenido de Pb (II) presente en una muestra del fruto de la fresa fresca cultivada en la vereda La Unión, en el municipio de Sibaté – Cundinamarca.....	45
5 IMPACTO SOCIAL	49
6 CONCLUSIONES	50

7	RECOMENDACIONES	51
8	BIBLIOGRAFÍA	52

1 INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas ambientales de mayor relevancia en este momento, es la contaminación de los ecosistemas con metales pesados como el plomo, siendo éste uno de los más tóxicos y a su vez cercanos a todas las formas de vida [1]. Ya que este metal se encuentra de naturalmente en la corteza terrestre en formas pequeñas, y por medio de actividades antropogénicas como el consumo de combustible, la metalurgia, la fabricación de baterías o la minería [2], estas concentraciones han aumentado [3, 4, 5, 6], desencadenando en algunas formas de vida alteraciones irreversibles [7]; tales como daño en los sistemas inmunológico, nervioso, circulatorio y endocrino [1, 8], daño en el cerebro, abortos, problemas de comportamiento y aprendizaje e la muerte [2, 9]. Uno de los principales factores de exposición a este metal es la ingesta de alimentos contaminados, ya que éstos, son capaces de absorber pequeñas cantidades de metales vía raíces o foliar como es el caso de las frutas y verduras [10, 11].

De esta forma surge la necesidad de trabajar en la determinación de plomo (II) en frutas como la fresa. Esta fruta es importante por haber registrado un incremento en la producción agrícola del país, pasando de un 40% en el año 2000 a un 135% en el año 2011, de acuerdo a datos suministrados por las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) [12, 13]. Encontrando a Sibaté - Cundinamarca como el departamento con mayor producción de fresa [14], seguido por Choconta, Guasca, y Facatativá. Sin embargo esta fruta ya ha tenido reportes de concentraciones de plomo a nivel nacional e internacional [15, 16] a través de técnicas analíticas como FIA [17, 18], FAAS [15] e ICP-OES [19]. La cuantificación de metales por medio de estas técnicas es un poco reducida, ya que su sensibilidad es baja y para poder medir por medio de estas técnicas es necesaria una fase de preconcentración de la muestra la cual implica mayores costes al investigador [20, 21]. Por este motivo se decide explorar las técnicas electroquímicas, encontrando que son apropiadas para la determinación de metales pesados con reportes menores a 10^{-12} M (0,2 ppb) [22], lo cual es debido a su alta sensibilidad y selectividad, ofreciendo también una fácil operación, bajo costo de manejo, poco almacenamiento de reactivos tóxicos, mínima generación de residuos, menor tiempo de respuesta [23, 24] y la oportunidad de transportar los equipos a cualquier lugar del mundo [25, 26, 17, 18], opuesto a las anteriores técnicas analíticas mencionadas.

Por lo anterior, se seleccionó la voltametría de onda cuadrada (por sus siglas en inglés SWV) dentro de las técnicas electroquímicas al resultar eficaz en la medición de compuestos como el ácido elálgico en fresas [27] metales como Pb y Cd en papa [28], y Hg en pescado enlatado [29, 30]. De este modo en este proyecto se determinó la cantidad de plomo (II) presente en una muestra de fresas frescas provenientes de una finca en la vereda La Unión en el municipio de Sibaté en Cundinamarca – Colombia. Esto con el fin de brindar a los ingenieros ambientales

una técnica eficaz, altamente sensible y amigable con el ambiente, para sus mediciones *in situ* y *ex situ* [31, 32].

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Determinar la cantidad de plomo (II) presente en fresas frescas provenientes de la vereda La Unión en el municipio de Sibaté en Cundinamarca - Colombia por medio de voltimetría de onda cuadrada (SWV).

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar el tratamiento de la muestra.
- Determinar los parámetros del método electroquímico.
- Definir los parámetros de la técnica.
- Realizar la cuantificación de Pb (II) presente en una muestra del fruto de la fresa fresca cultivada en la vereda La Unión, en el municipio de Sibaté – Cundinamarca.

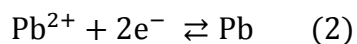
3 MARCO DE REFERENCIA

3.2 Método electroquímico

Dentro de los métodos analíticos más relevantes para la determinación de plomo destacan AAS, FAAS, FIA, ICP-MS [33], ICP-OES [17, 18, 15], los cuales requieren de altos costos de operación y un personal altamente capacitado para cada una de las mediciones que se deban realizar. Sin embargo, el método electroquímico ofrece bajo costo de operación, alta sensibilidad, fácil operación y la posibilidad de analizar la especiación de los elementos de interés [34, 35].

Una correcta configuración del método electroquímico facilita la disminución de las corrientes capacitivas, las cuales solo generan acumulación o remoción de cargas eléctricas en el electrodo interfiriendo en la lectura del analíto de interés [36]. A su vez permite la medición de la intensidad de corriente entre el contraelectrodo (CE) y el electrodo de trabajo (WE) causada por la aplicación de una diferencia de potencial a través del (WE). La respuesta de intensidad de corriente obtenida es resultado de la electroreducción o electrooxidación de las especies en la solución, esta reacción para el caso del Pb (II) se observa en la **Ecuación 1**.

Ecuación 1. Semi-reacción del Pb(II).



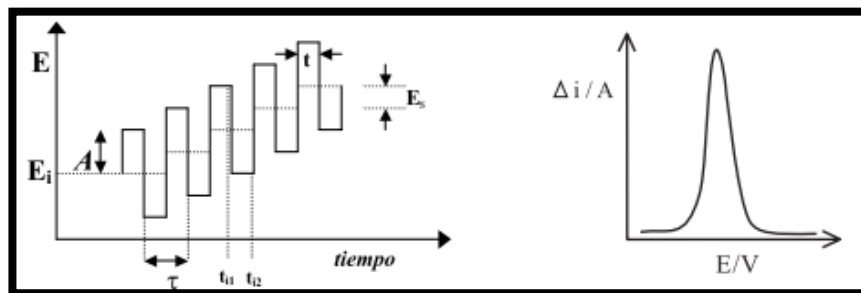
La interpretación de las curvas de intensidad de corriente – potencial, i vs E , obtenidas como resultado de las mediciones es lo que conforma finalmente el método electroquímico [37].

Cabe mencionar que el método electroquímico se diferencia de la técnica electroquímica, en qué; en el método electroquímico se aplica una diferencia de voltaje para obtener una respuesta de corriente que se relaciona con la concentración del analíto, mientras que la técnica electroquímica es una serie de pasos prácticos en los que se va a aplicar esa diferencia de voltaje y se va a leer la respuesta de corriente; existiendo diferentes técnicas para el mismo método [38]. Las diferentes técnicas electroquímicas se distinguen, esencialmente, por la forma en que se varía el potencial aplicado, encontrando las siguientes técnicas: polarografía normal (NP), voltimetría normal de impulsos (NPV), voltimetría de onda cuadrada (SWV), entre otras [31, 34, 30, 39].

3.5.1 Técnica voltametría de onda cuadrada (SWV)

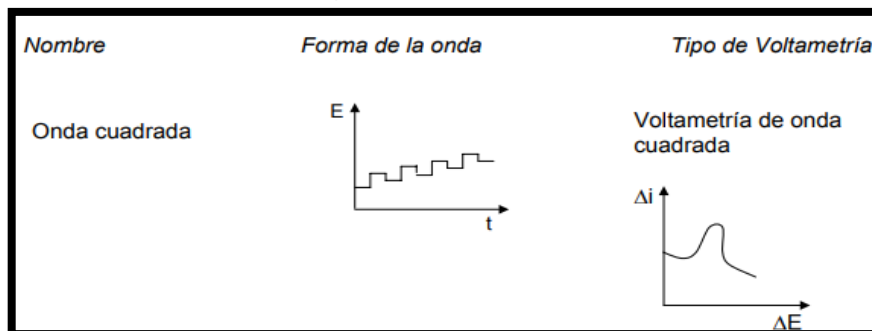
La técnica voltametría de onda cuadrada consiste en medir la corriente durante intervalos de tiempo muy cortos, asumiendo una onda como positiva dirigida hacia adelante al tiempo t_{i1} y otra como negativa dirigida hacia atrás al tiempo t_{i2} . Encontrando una diferencia entre la intensidad de corriente que será $i_1 - i_2$ la cual se registra en función del potencial, obteniendo un voltagrama de pico simétrico como el observado en la **Ilustración 1 y 2** en el lado derecho [31].

Ilustración 1. Voltametría de Onda Cuadrada SWV



Fuente: [31]

Ilustración 2. Resultados gráficos de la técnica electroanalítica SWV



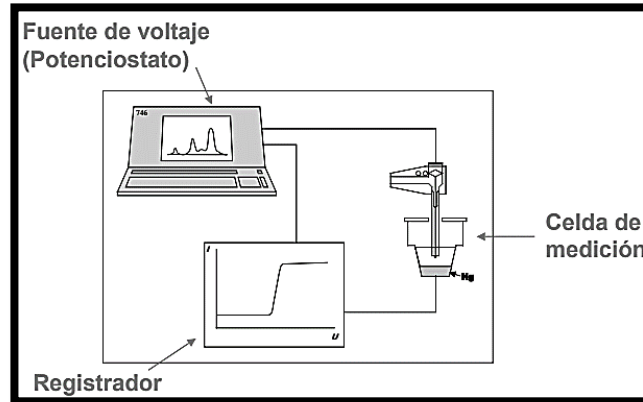
Fuente: [40]

Esta metodología presenta mayor sensibilidad frente a otras técnicas electroquímicas como voltametría de pulso diferencial (DPV), ya que la intensidad de corriente global resulta en la suma de dos corrientes: anódica (fase positiva, oxidación) y catódica (fase negativa, reducción), alcanzando sensibilidades alrededor de 2 o 3 veces superior a la de la DPV que está en el rango de 10^{-7} hasta 10^{-8} mol L⁻¹ [31], [41].

La técnica voltametría de onda cuadrada, al igual que las demás técnicas electroquímicas ha mostrado una capacidad de reversibilidad [28], lo cual permite comparar resultados y verificar la linealidad de la respuesta, permitiendo la configuración de los parámetros principales a cada muestra en particular que se va

a analizar y a su respectiva celda electroquímica como se observa en la **Ilustración 3**.

Ilustración 3. Montaje de la técnica electroanalítica SWV



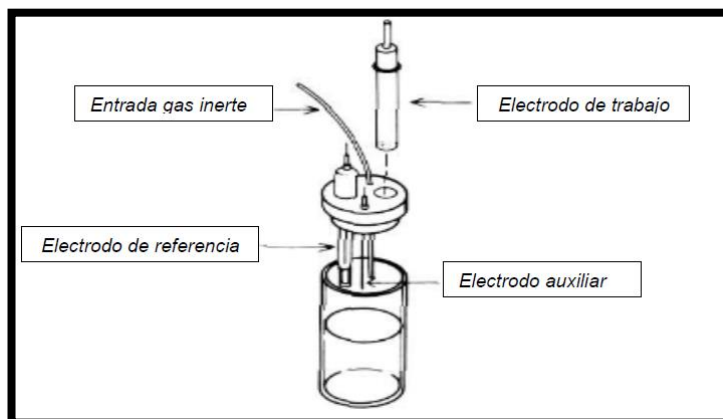
Fuente: [40]

3.5.2. Configuración de la celda electroquímica

En la **Ilustración 4 y 5** se puede observar la configuración de una celda electroquímica, requiriendo una limpieza cuidadosa de cada elemento y la conexión adecuada de los electrodos, obteniendo un montaje robusto, fácil de comprender y manipular.

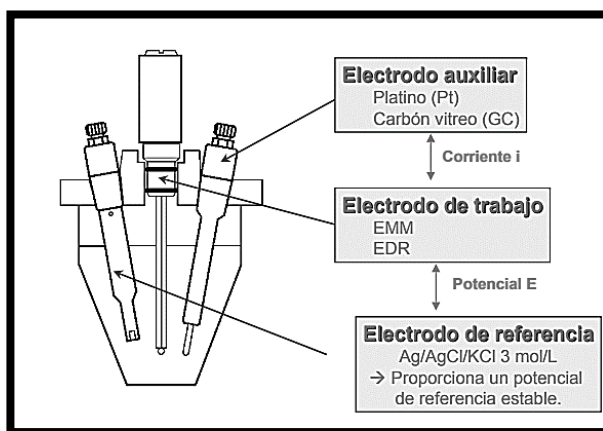
Un punto muy importante en los ensayos electroquímicos ha sido la digestión de la muestra, la cual puede ser realizada con la misma configuración de otras técnicas analíticas o incluso proponer una específica para la muestra a analizar validando la técnica y comparando resultados [42, 43, 44, 45]. A su vez la fijación de parámetros instrumentales de la técnica como frecuencia y amplitud de la onda permite la disminución de señales de ruido [34], [44].

Ilustración 4. Celda electroquímica para voltametría



Fuente: Kissinger, Heineman [46]

Ilustración 5. Celda electroquímica simple



Fuente: [40].

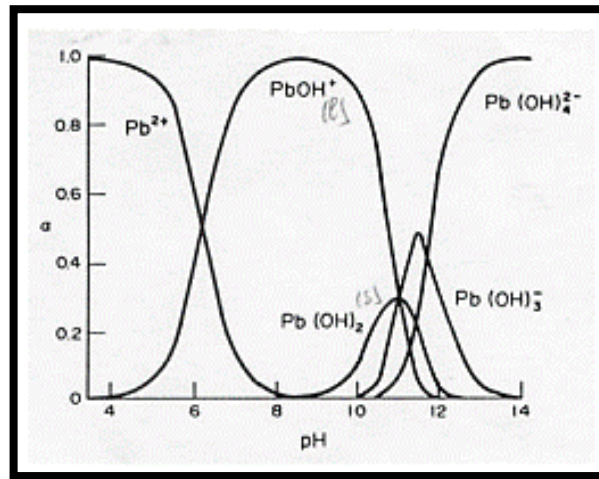
3.5.3 Alteraciones en la medida electroquímica

Las alteraciones más importantes para este tipo de montajes electroquímicos suelen ser:

Porosidad de los electrodos: estudios indican que los electrodos de GC poseen una superficie porosa [47], la cual puede acumular pequeñas cantidades de compuestos del análisis que son difíciles de remover del electrodo y pueden aumentar la respuesta en un proceso de determinación posterior [48] resultando en una alteración de la medida realizada.

pH: el pH es un factor de gran importancia en la determinación de metales, ya que el metal forma diferentes compuestos dependiendo del pH del medio en el que se encuentre. Para la voltametría se debe contar con la especie del metal a estudiar de forma libre, en este caso los iones de Pb (II), se encuentran con mayor facilidad en pH ácido, ya que en pH básico tiende a formar hidróxidos, los cuales complican la determinación voltamétrica, por ser más estables [49] y dificultan el transporte del Pb hacia la superficie del electrodo. El rango óptimo de trabajo para el Pb (II) se puede observar en la **Ilustración 9**.

Ilustración 9. Diagrama de especiación del Pb respecto al pH



Fuente: [50]

Tratamiento de la muestra: el tratamiento de la muestra será el encargado de reducir la cantidad de compuestos capaces de ensuciar la superficie del electrodo y con ello, permitir una correcta señal de respuesta al efectuar la medición voltamétrica [51]. Algunos de los métodos utilizados en técnicas electroquímicas como tratamiento de la muestra han sido Digestión Ácida (AD) [52, 53, 54], Digestión Ácida asistida por Ultrasonido (UAD) [43] y Digestión en horno Microondas (DM) [55], de los cuales se obtendrá un resultado específico según la muestra que se requiera analizar y de esta forma se seleccionará el tratamiento más adecuado.

Superficie de los electrodos: es importante que la superficie de los electrodos este limpia en cada medida que se vaya a realizar, en especial el electrodo de trabajo, de lo contrario el área del electrodo variara junto con las respuestas entre mediciones [51].

3.3 Plomo

El plomo es un metal pesado, gris y blando, disponible en la corteza terrestre. Éste se puede encontrar en su forma más abundante el sulfuro de plomo (II) (PbS), formando las menas de galena (mineral del grupo de los sulfuros). Con frecuencia está asociado a otros metales como plata, cobre o antimonio. Forma compuestos en estado de valencia 2+ y 3+, orgánicos como acetato, tetraetilo y tetrametilo, e inorgánicos como nitrato, arseniato, carbonato [56], con número atómico 82 y un peso atómico de 207,19g/mol [57].

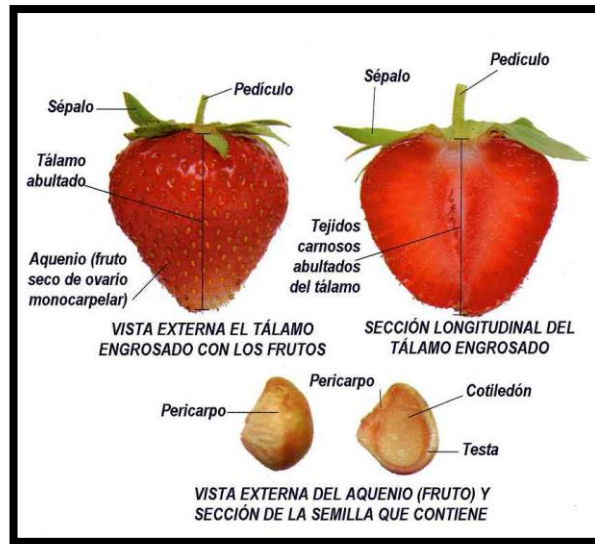
Este metal ha sido encontrado en el ambiente en elementos como la gasolina por ser antidetonante, en minería, fundiciones, fabricación de pinturas, baterías, tuberías, pilas eléctricas, algunos licores [58] y plaguicidas; siendo declarado como uno de los metales con mayor facilidad de contacto [56]. Se ha encontrado un mayor contacto a nivel doméstico con el Pb (II) a través de los plaguicidas, llegando a causar problemas a la salud en los riñones, el hígado y en los sistemas reproductor, cardiovascular, inmunitario, nervioso, gastrointestinal encefalopatías e incluso llegando a la muerte [59, 9, 56, 60, 61].

El Pb interacciona con metales pesados esenciales como Ca, Fe, Zn y Cu compitiendo con ellos o modificando sus concentraciones celulares. Es importante destacar que los signos y síntomas de la intoxicación por plomo solo se evidenciaran luego de un tiempo de exposición, lo que lo convierte en un riesgo difícil de persuadir por no detectar su incidencia inmediatamente y con el paso del tiempo solo asegura una intoxicación crónica hasta llegar a la muerte de no ser detectada a tiempo [58, 62, 1, 63, 2].

3.4 Fresa

La fresa pertenece a la familia Rosácea y genero *Fragaria*, es una planta de tipo herbáceo y perenne, de pequeña altura, considerada como una fruta exótica, de gran aroma y con grandes ofertas de mercado [64]. Se destaca por su contenido de vitamina C, taninos, flavonoides, antocianinas, catequina, quercetina y kaempferol, ácidos orgánicos (cítrico, málico, oxálico, salicílico y elágico) y minerales (K, P, Ca, Na y Fe), además de pigmentos y aceite esencial [65]. Las partes de la fresa se pueden observar a continuación en la **Ilustración 7**.

Ilustración 6. Partes de la fresa



Fuente: [66].

El rendimiento de este cultivo está sujeto a manejarse de forma anual, manteniéndose en producción a lo largo de todo el año con cosechas luego de los 4 primeros meses y con recomendaciones de cambio a los 2 años de edad. Las variedades cultivadas pueden llegar a tener una capacidad de producción entre 50 y 100Ton/ha/año [64].

En Colombia, dentro del sector Hortofrutícola se ha evaluado la importancia de la fresa, encontrando que desde 1997 hasta 2017 la fresa ha sido una de las frutas con mayor recaudo nacional aportando un (3,3%), siendo priorizada como una de las 7 líneas a incrementar su exportación, ubicándose en el tercer lugar dentro de las proyecciones para el año 2030 [67].

Las fresas al igual que otras frutas están expuestas a ser contaminadas con metales pesados ya sea por los fertilizantes aplicados, el agua de riego o las condiciones del suelo [12, 64]. En la fresa ya se han detectado metales como el plomo en valores de 0,1 ppm, y el cadmio en valores de 0,05 ppm [16], incluso la no cuantificación pero si determinación de metales en esta fruta, crea la necesidad de seguir investigando.

3.5 Relación del plomo con las fresas

La intoxicación por plomo se debe a la ingesta accidental y/o constante de alimentos contaminados con compuestos de plomo, o procedentes de áreas ambientalmente contaminadas [68, 35].

De este modo la contaminación por metales pesados en frutas y vegetales puede ocurrir por la absorción de las raíces en los suelos contaminados, por el agua de

riego, así como exposición al aire contaminado [16], como lo es el caso de la fresa al requerir riego constante.

Para regular la presencia del plomo en frutas como la fresa, se han establecido límites permisibles para su concentración como se puede observar en la **Tabla1** [13].

Tabla 1. Normatividad de plomo en fresas

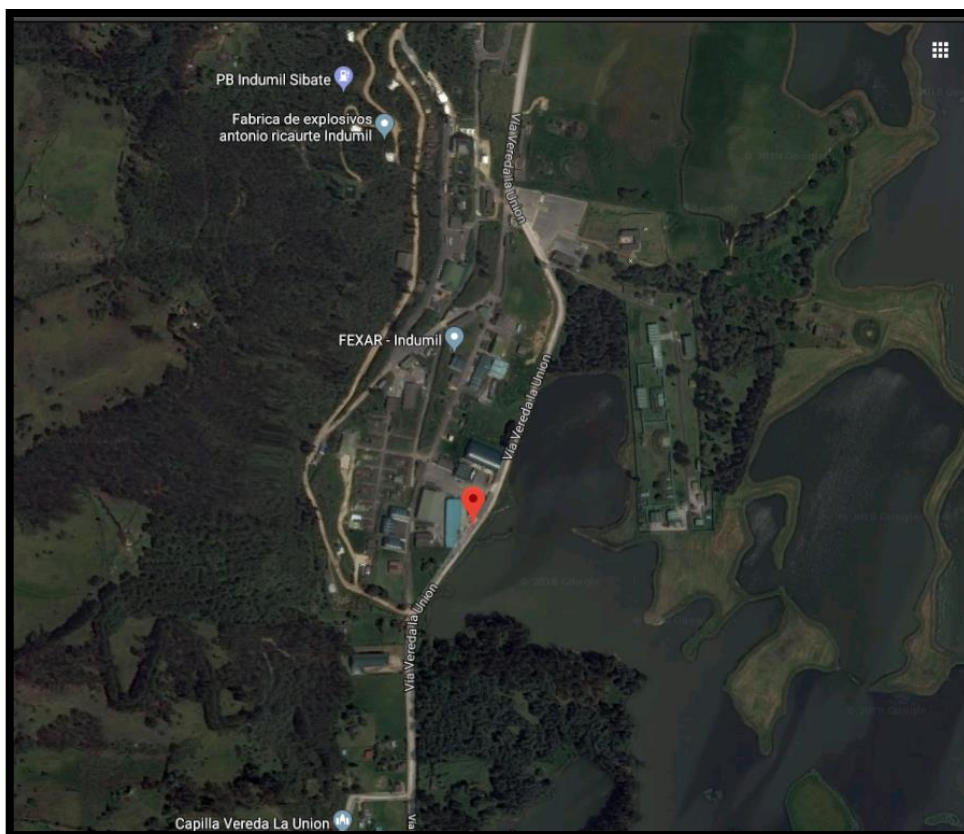
Metal	Pais	Valor máximo (mg/Kg)
Plomo	Unión europea	0,05
	Australia y nueva Zelanda	0,1
	Brasil	0,5
	Canadá	0,2
	Japón	1
	Rusia	0,5
	Sudáfrica	0,2
	Suiza	0,5
	Estados Unidos	0,5
	Colombia	0,2

Fuente: [69, 70, 13]

3.6 Vereda la Unión, Sibaté-Cundinamarca

La vereda La Unión es una de las 14 veredas que conforman el municipio de Sibaté, el cual se encuentra ubicado a 27 km al sur de la ciudad de Bogotá, a una altura de 2660 msnm. Esta vereda cuenta con una vía principal que conecta por el norte con la vía Granada - Soacha y por el sur con la Carrera 2 del municipio de Sibaté. Esta vereda es importante por su producción agrícola, representada por cultivos de arveja, papa y fresa, sin embargo su ubicación a 200 m del embalse del Muña ha generado ciertos deterioros no solo en los cultivos sino también en la salud de los habitantes, ya que este embalse es conocido por ser una fuente hídrica estancada y altamente contaminada, convirtiéndose en un punto de alto riesgo a la salud [62, 71, 72], su cercanía a la vereda de La Unión se puede observar en **la Ilustración 7**, mostrando que los cultivos presentes en esta vereda tienen una probabilidad de presentar un nivel de contaminación por estar cerca al embalse más contaminado de toda Cundinamarca [62].

Ilustración 7. Mapa de la vereda La Unión, Sibaté – Cundinamarca



Fuente: Datos del mapa © 2018 Google Imágenes © 2018 CNES / Airbus, DigitalGlobe.

4 DESARROLLO CENTRAL

4.1 METODOLOGÍA

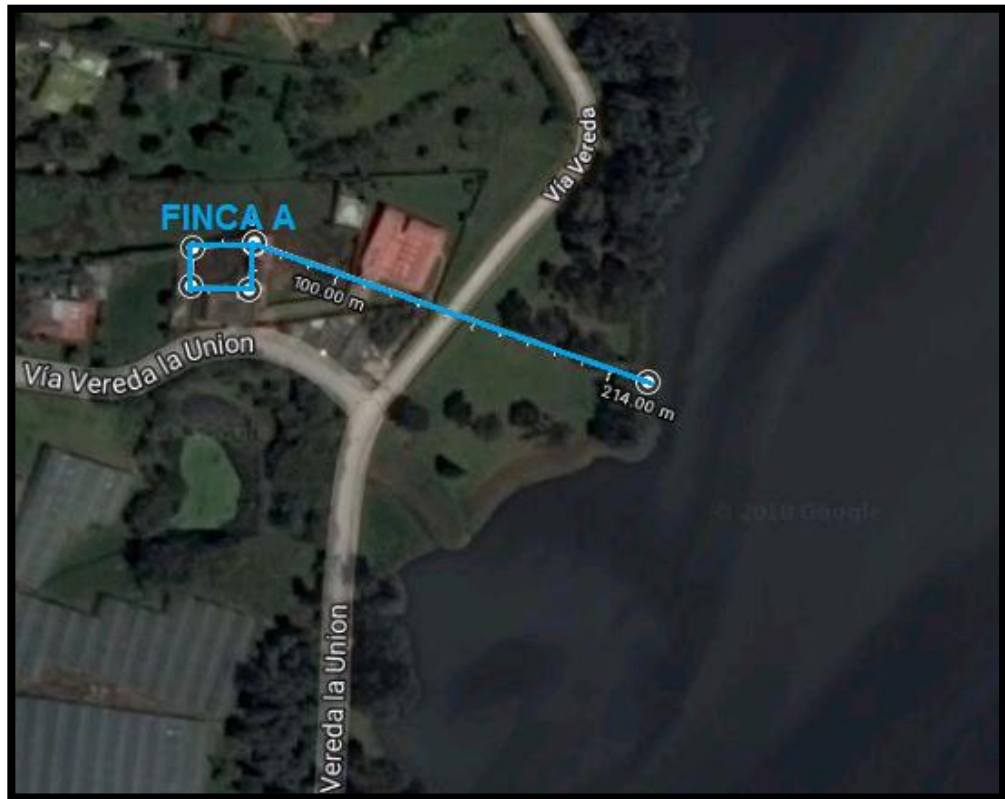
La metodología de este proyecto se llevó a cabo en 4 fases:

4.1.1 FASE I: Tratamiento de la muestra.

La muestra fue tomada tras un muestreo no probabilístico por conveniencia [73] en una finca denominada FINCA A como lo muestra la **Ilustración 8**, bajo las coordenadas 4°30'24.9"N 74°16'06.5"W, dentro de la vereda La Unión en el municipio de Sibaté-Cundinamarca. Se tomaron 4 muestras simples directamente del cultivo de fresa, cada una de 250g, para conformar una muestra compuesta de 1Kg. Esta muestra fue transportada en bolsas resellables desde el lugar de

muestreo hasta el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA) donde se realizó el tratamiento de la muestra con Digestión Ácida.

Ilustración 8. Mapa de ubicación Finca A, adquisición de muestras



Fuente: Datos del mapa © 2018 Google Imágenes © 2018 CNES / Airbus, DigitalGlobe.

En este proyecto la digestión apropiada para la muestra de fresa se seleccionó por medio de una revisión bibliográfica, encontrando 3 métodos, los cuales buscaban la eliminación de materia orgánica y la determinación de metales en alimentos. Dichos métodos son: UAD [43, 74], DM [55, 75, 76] y AD [53, 54, 52], su aplicación se puede observar en la **Tabla 2**. Conjuntamente cada método de digestión requirió una recolección de muestras propia la cual se hizo en un día diferente como lo muestra la **Tabla 3**.

Tabla 2 Métodos de digestión para fresa.

Digestión asistida por ultrasonido (UAD)	Digestión asistida por Microondas (DM)	Digestión Ácida (AD)
Lavar materiales a usar con ácido nítrico al 2%	Lavar materiales a usar con ácido nítrico al 2%	Lavar materiales a usar con ácido nítrico al 2%

Lavar materiales con agua destilada.	Lavar materiales con agua destilada.	Lavar materiales con agua destilada.
Lavar materiales con agua desionizada. 3 veces.	Lavar materiales con agua desionizada. 3 veces.	Lavar materiales con agua desionizada. 3 veces.
Lavar la muestra con abundante agua.	Lavar la muestra con abundante agua.	Lavar la muestra con abundante agua.
Separar hojas del fruto	Separar hojas del fruto	Separar hojas del fruto
Cortar frutos en rodajas	Cortar el fruto en trozos pequeños	Homogenizar frutos en una licuadora.
Pesar muestra resultante	Pesar muestra resultante	Pesar muestra resultante
Tomar 15 g de la muestra y secar a 72°C por 72 h en una mufla.	Llevar a liofilizar	Secar en una estufa de vacío a 105°C por 12h.
Pesar la muestra seca	Pesar muestra resultante	Pesar la muestra seca
Macerar la muestra seca hasta llevar a partículas finas menores a 45 µm	Tomar 5 g de la muestra y adicionarlos al tubo del microondas digestor	Calcinar la muestra en estufa programable a 450°C por 8 h hasta obtener cenizas blancas.
Tomar 500 mg de la muestra tamizada e ingresarla en un balón de 25 ml.	Adicionar 3 ml de HNO ₃ al 65%	Digerir las cenizas blancas con 5ml de HCl 6M, calentando en una plancha a 150°C por 1h o hasta sequedad.
Al anterior balón de 25 ml agregar 1 ml de HNO ₃ y H ₂ O ₂ en proporción 2:1, y sellar muy bien el balón.	Llevar a microondas y aplicar una rampa de temperatura por 25 min de la siguiente forma 85°C, 125°C, 160°C, 160°C y 0°C, con potencia del digestor ubicada en 800, 800, 1600, 1600 y 0 W.	Luego adicionar 15ml de HNO ₃ 0,1M y se dejar reposar por 2h.
Sonicar a temperatura ambiente por 8 min.	Aforar a 20 ml y centrifugar por 10 min.	Filtrar las cenizas con ayuda de papel filtro, un Erlenmeyer con desprendimiento y una bomba de vacío.
Sonicar por 10 min a 69°C y 40 kHz.	La fase liquida pasarla a un tubo falcon.	Humedecer y lavar con 10ml de HNO ₃ el material que se está filtrando
Adicionar 2 ml de agua desionizada y Sonicar por 2 min.	Analizar la muestra.	Aforar el residuo en un balón de 25 ml con agua desionizada.

Transferir la fase líquida a un tubo falcon y llevar a la centrifuga a 3000 rpm por 10 min.		Llevar a tubo falcon
Llevar a un matraz de 5 ml y aforar con agua desionizada		Analizar la muestra
Analizar la muestra.		

Fuente: autora

Tabla 3. Toma de muestras

Muestra	Prueba a realizar	Fecha de muestreo
1	Digestion 1:UAD	29/01/2018
2	Digestión 2: DM	19/03/2018
3	Digestión 3:AD	12/06/2018
4	Digestión final: AD	26/09/2018

Fuente: autora

Los equipos y reactivos utilizados en el desarrollo de la digestión de la muestra son los mostrados en la Tabla 4 y 5.

Tabla 4. Equipos

Digestión
Licadora Industrial
Estufa de vacío VO Memmert
Mufla NEY VULCAN D-130
Balanza precisa XB 120A
Papel Filtro Boeco grado 139 con poro de 125mm
Plancha de calentamiento Stuart UC 152
Bomba de vacío Boeco R300

Fuente: autora

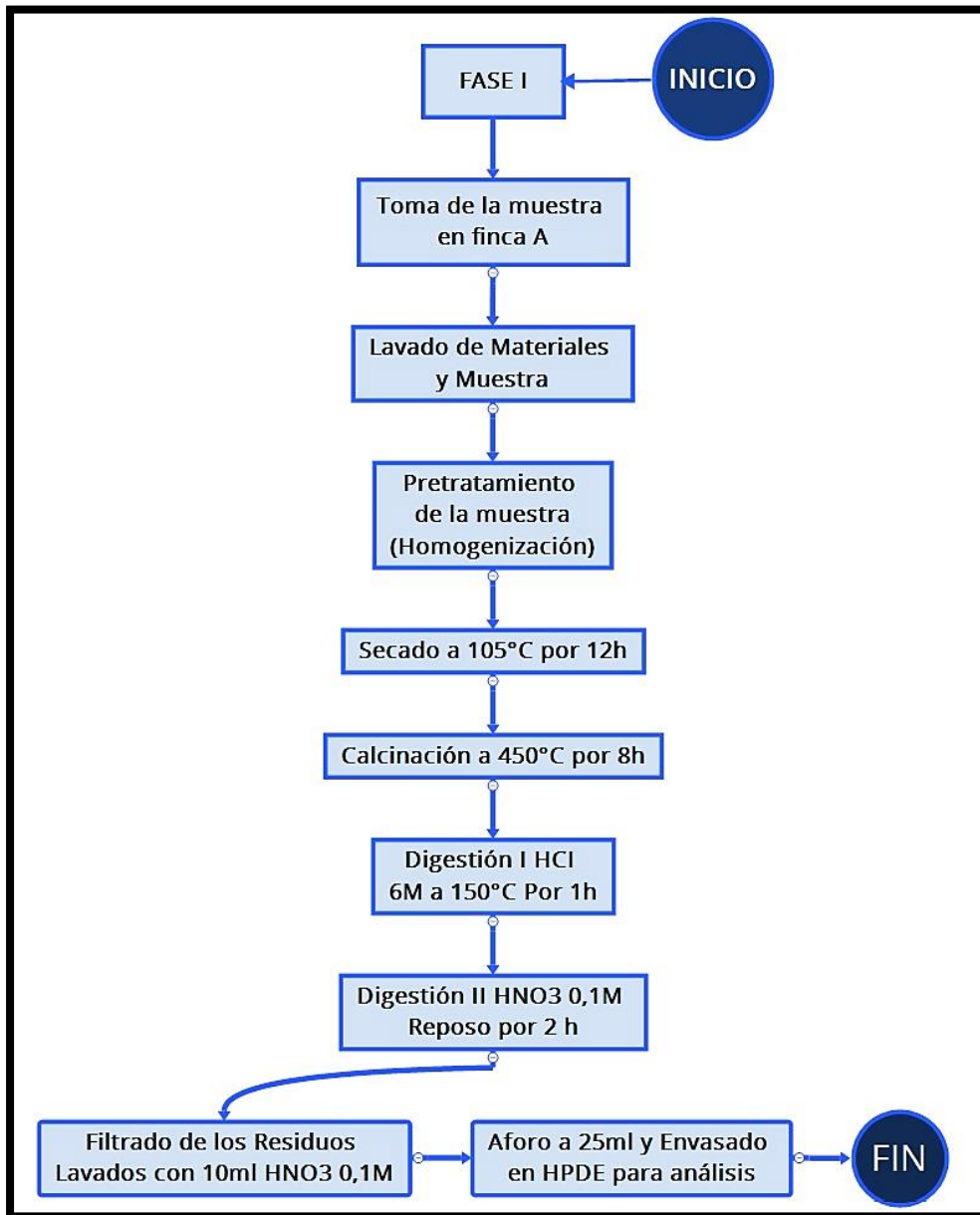
Tabla 5 Reactivos.

Digestión
HNO ₃ 65%, 2% Chemí
HCl 35% Chemí
Agua destilada
Agua desionizada

Fuente: autora

Cada método de digestión fue probado para determinar cuál era el más adecuado para la muestra de fresas, encontrando como método a seguir en este proyecto la DA, por los resultados del proceso y disponibilidad de equipos. Definiendo el procedimiento a seguir como el mostrado en la **Ilustración 9**.

Ilustración 9. Diagrama de flujo Fase I



Fuente: autora

4.1.2 FASE II: Determinación de los parámetros del método electroquímico.

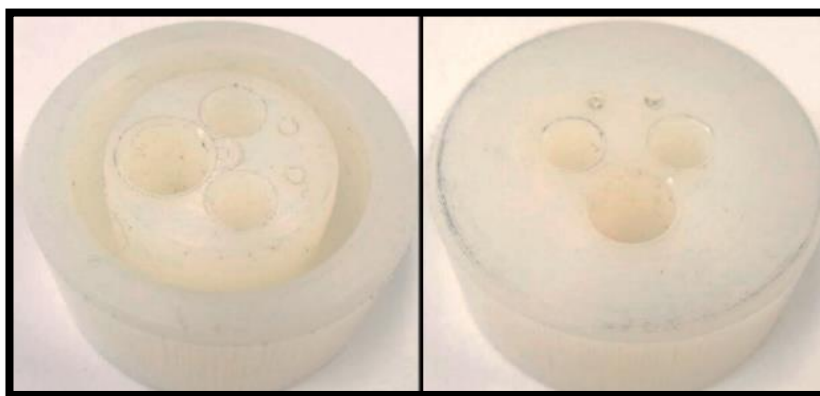
Para el montaje del método electroquímico se usó una celda hecha de HPDE la cual se puede observar en la **Ilustración 10**, esta celda requirió un proceso de corte y pulido especial, con el fin de usar la menor cantidad de reactivos posible, la cual permitiera una correcta medición electroquímica y a su vez una mínima generación de residuos. También se requirió de una tapa, elaborada a partir de un tubo de nylon de 4,5cm de diámetro, cortado en cilindros de 2cm y llevado a un torno para realizar la apertura de tres orificios correspondientes a los electrodos y una ranura interna correspondiente a la entrada de la celda para que se mantuviera fija como se puede observar en la **Ilustración 11**.

Ilustración 10. Celda de HPDE



Fuente: autora

Ilustración 11. Tapa de nylon



Fuente: autora

Se probaron 2 electrolito soporte los cuales fueron Buffer Britton-Robinson y Buffer de Acetato [77, 78], siendo elaborados de la siguiente manera:

BBR: se adicionó a un balón de 100ml, 0,618g de ácido bórico, 0,56ml de ácido acético y 0,48ml de ácido fosfórico, luego, se ajustó el pH a 4,5 con hidróxido de sodio 0,1N y se aforó con agua desionizada.

BA: se adiciono a un balón de 100ml, 3,691g de acetato de sodio y 3,302g de ácido acético y se aforó con agua desionizada quedando con una concentración de 0,1M.

Según bibliografía, el electrolito soporte más adecuado para determinación de Pb (II) es el BA [77, 78], sin embargo algunos estudios han usado BBR [28], en este proyecto se pusieron a prueba los dos.

En esta fase se realizó un diseño experimental factorial de la siguiente forma: 3 electrodos de trabajo (Pt, GC y Cu) y 2 electrolito soporte (BBR y BA) como variables independientes, 1 electrodo de referencia Ag/AgCl y 1 contraelectrodo Pt como variables constantes, y finalmente como variable dependiente se tomó el voltagrama correspondiente a cada experimento. Este diseño funcionó para evaluar el pico característico del Pb (II) al adicionar una alícuota de solución patrón de 10ppm a cada configuración, el esquema de esta fase se puede ver a continuación en la **Tabla 6**.

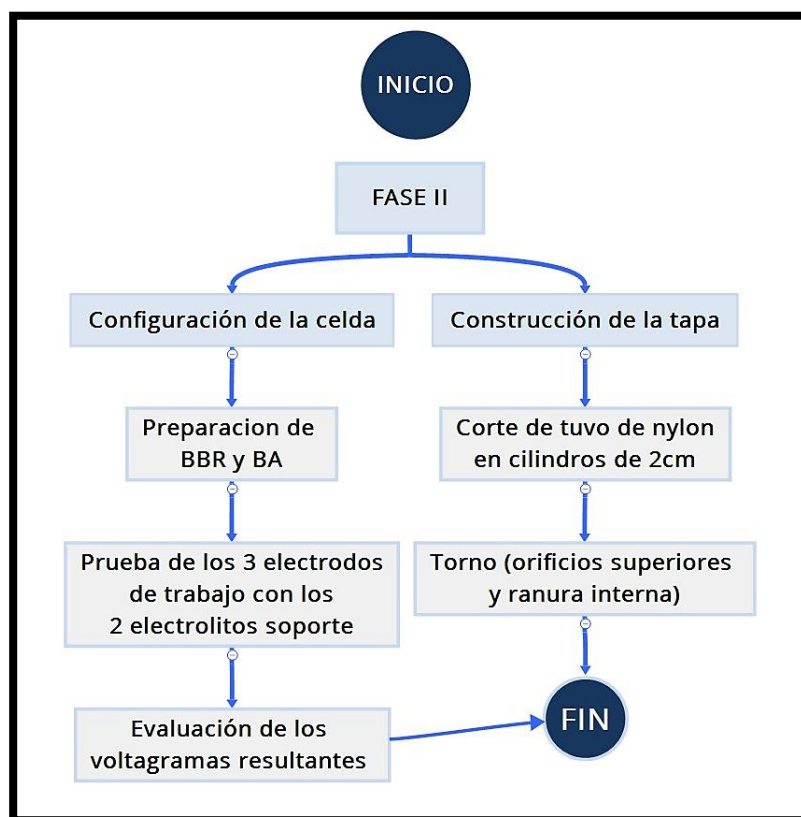
Tabla 6 Diseño experimental factorial del método electroquímico.

Configuración #	Electrodo de trabajo	Electrodo de referencia (Ag/AgCl)	Contraelectrodo (Pt)	Electrolito soporte
1	Pt	Constante	Constante	BBR
2	Pt	Constante	Constante	BA
3	GC	Constante	Constante	BBR
4	GC	Constante	Constante	BA
5	Cu	Constante	Constante	BBR
6	Cu	Constante	Constante	BA

Fuente: Autora

En la en la **Ilustración 12** se pueden observar los componentes de la fase II de este proyecto.

Ilustración 12. Diagrama de flujo Fase II



Fuente: autora

4.1.3 Fase III: Determinación de los parámetros de la técnica.

Para determinar los parámetros de la técnica fue necesario realizar una búsqueda bibliográfica y posteriormente comprobar lo encontrado experimentalmente. De esta manera lo primero que se hizo fue una voltametría cíclica, con la cual se obtuvo la amplitud del barrido para el metal de estudio. Posteriormente se realizaron pruebas en cada uno de los parámetros necesarios para la elaboración del voltagrama con la técnica voltametría de onda cuadrada (SWV), verificando qué valor era el adecuado para cada uno de ellos. De esta forma se definieron 2 de los 3 parámetros como constantes, el tercero se definió como la variable independiente y el voltagrama de cada experimento quedó como la variable dependiente, esta configuración de parámetros se puede apreciar en la **Tabla 7**.

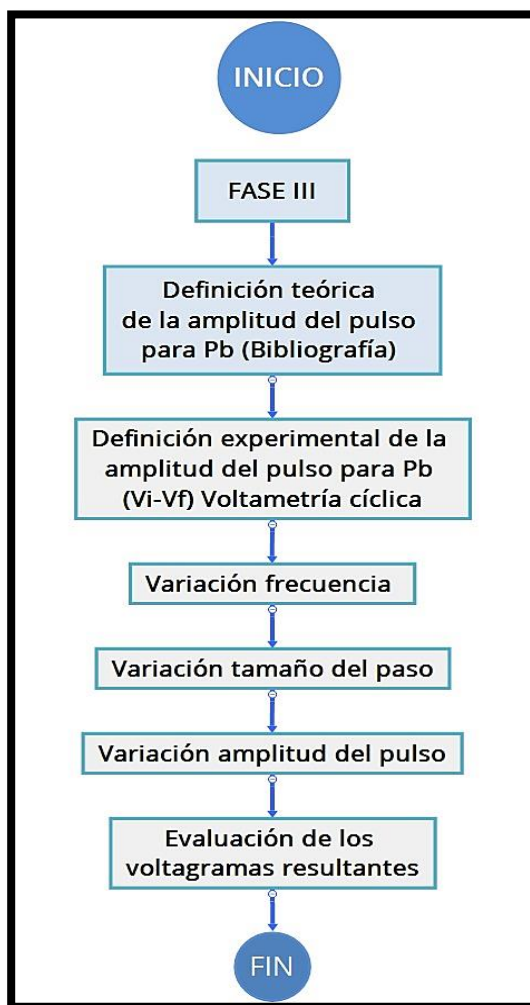
Tabla 7. Diseño experimental factorial parámetros de la técnica.

# del ensayo	Frecuencia	Tamaño del paso	Amplitud del impulso	# de repeticiones
1	Variable independiente	Constante	Constante	50
2	Constante	Variable independiente	Constante	50
3	Constante	Constante	Variable independiente	50

Fuente: Autora

De esta forma se variaron los tres parámetros representativos de la técnica hasta obtener la configuración conveniente para mostrar el pico correspondiente al Pb (II) con la adición de la alícuota con solución patrón de 10ppm. El esquema de esta fase se puede ver en la **Ilustración 13**.

Ilustración 13. Diagrama de flujo Fase III



Fuente: autora

4.1.4 Fase IV: Cuantificación del contenido de Pb (II) presente en una muestra del fruto de la fresa fresca cultivada en la vereda La Unión, en el municipio de Sibaté – Cundinamarca.

Para la determinación de Pb (II) en la muestra tomada y tratada como se mostró en la Fase I, se utilizó la configuración de la Fase II y se aplicaron los parámetros definidos en la Fase III, utilizando el método de adición estándar como principio de la Fase IV.

Este método de adición estándar es considerado como uno de los más apropiados para realizar mediciones analíticas cuando la matriz de análisis es compleja y la señal del analito se ve afectada por elementos que crean interferencias [79], de tal forma que para poder identificar la señal del analito se deben agregar concentraciones conocidas del mismo analito a la muestra problema, en este caso

es una solución patrón preparada con $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ con adiciones de 0,2ppm para obtener el respectivo pico de corriente para el Pb (II). Cuando se obtienen las respuestas de todas las adiciones se realiza una gráfica, en la cual en el eje X se ubican las concentraciones y en el eje Y los valores de corriente tomados como respuesta. Debido a que se desconoce la concentración del analito en la muestra su respuesta será 0 por lo tanto esta respuesta deberá cruzar el eje Y. Seguidamente se realiza una regresión lineal, la cual debe tener un coeficiente de correlación superior a 0,9, esta línea se extrapola hasta que corte con el eje X. La concentración del analito en la muestra es por lo tanto, igual al inverso del valor en el cual la línea de la regresión corta con el eje X, lo cual requiere la aplicación de la **Ecuación 2** que se muestra a continuación.

Ecuación 2. Determinación de la concentración de Pb (II) por adición estándar

$$\text{Cantidad de Pb} = \frac{-Y. \text{Intercepto}}{\text{Pendiente}}$$

Fuente: [79]

Inicialmente se agregaron 10ml de BA y 5ml de la muestra a la celda, se midió el pico de corriente, y se agregaron 3 alícuotas de 10 μl del patrón preparado de 100ppm de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. A partir de estas adiciones, la concentración en la muestra se aumentó en 0,2ppm, 0,4ppm, y 0,6ppm.

Los equipos y reactivos empleados en las mediciones voltamétricas de las últimas 3 fases se presentan en la Tabla 8 y 9.

Tabla 8. Equipos

Determinación
Potenciostato interface 1000T GAMRY
Electrodo GC BASinc
Electrodo Ag/AgCl GAMRY
Electrodo Pt GAMRY
Alambre de Pt
Barra de agitación magnética pequeña
Plancha de agitación magnética STUART UC 152
Micropipeta Kartell
Tapa de celda en Nylon.
Celda en vidrio

Fuente: autora

Tabla 9. Reactivos

Adición estándar
Solución patrón de Pb(NO ₃) ₂ de 100ppm
Agua desionizada 1,8 μS/cm Proquimecol
KCl – electrodo de referencia
Cloruro de potasio FPC
Agua desionizada 1,8 μS/cm Proquimecol
Buffer Britton-Robinson
Ácido bórico 98% Disanfer
Ácido acético glacial 99% Campota
Ácido fosfórico 85% Chemí
Sodio hidróxido Chemí
Agua desionizada 1,8 μS/cm Proquimecol
Buffer de Acetato
Acetato de sodio Chemí
Ácido acético glacial 99% Campota
Agua desionizada 1,8 μS/cm Proquimecol
Agua desionizada 1,8 μS/cm Proquimecol

Fuente: autora

4.2 RESULTADOS Y ANÁLISIS

Los resultados y análisis de este proyecto se presentan con respecto a las fases planteadas en la metodología:

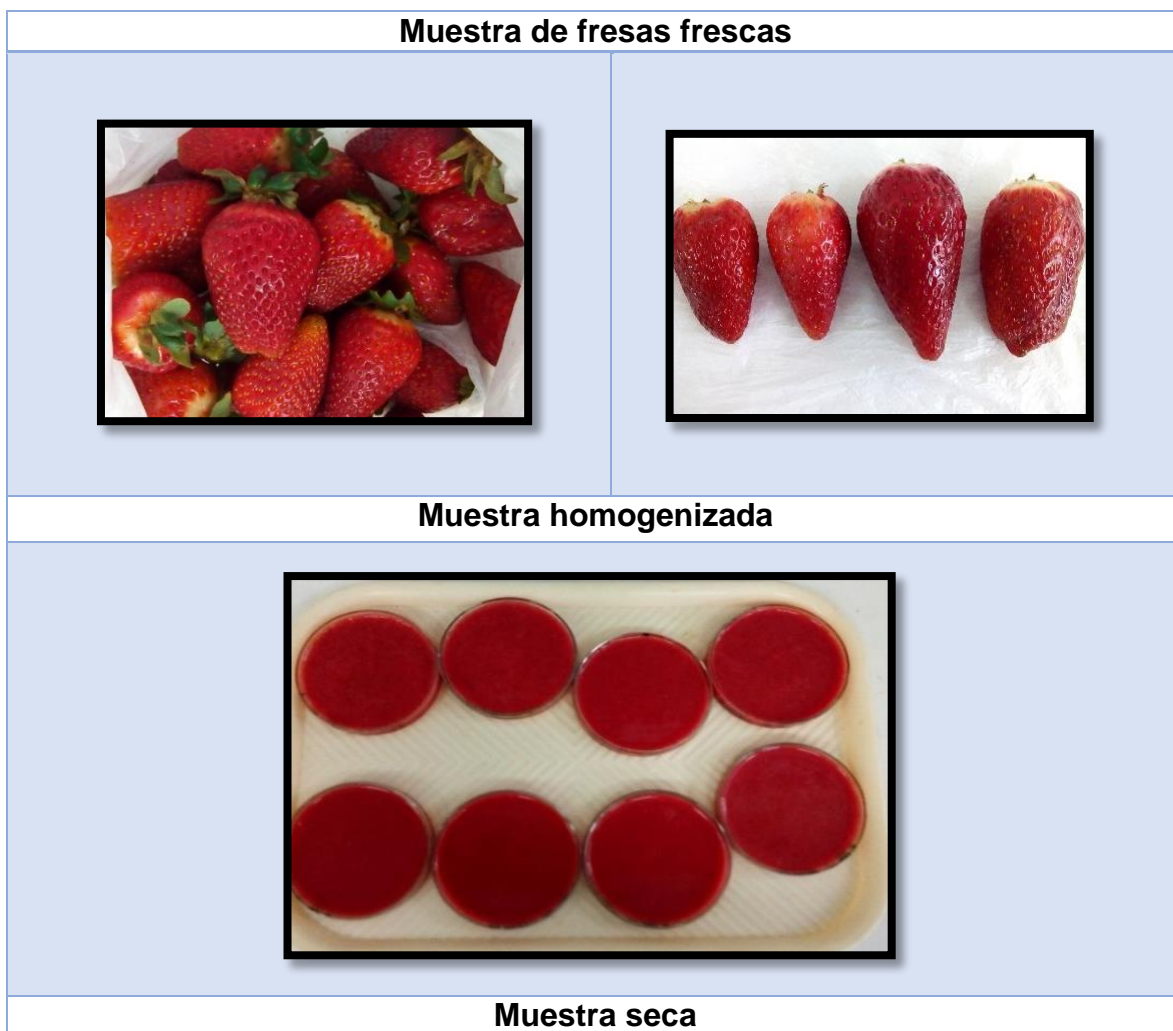
4.2.1 FASE I: Tratamiento de la muestra.

Para el tratamiento de la muestra de fresa, se probaron las 3 digestiones nombradas como UAD, DM y AD, de las cuales sólo una generó el resultado adecuado que fue la AD. Inicialmente se probó la UAD, la cual al manejar temperaturas de secado no superiores a los 100°C dejó la muestra con una consistencia de almíbar, de tal forma que no se pudo macerar correctamente y se perdió parte de la muestra al pegarse en las paredes del mortero y el macerador. Posteriormente, se probó la DM la cual promueve una baja exposición de los investigadores a los vapores ácidos de la digestión [76] [80], sin embargo sólo se puede realizar en hornos especiales, altamente potentes y con procedimientos precursores muy específicos como la liofilización, que es uno de los mejores procesos para secar compuestos orgánicos e inorgánicos, sin alterar su composición cualitativa o cuantitativa [81]. En este caso no se pudo llevar a cabo el proceso de liofilización, optando por introducir la muestra cortada en pequeños trozos al horno microondas, teniendo como resultado una

muestra no apta para continuar con la determinación. Finalmente al probar la AD se usaron temperaturas de secado superiores a los 100°C, con ácidos concentrados, obteniendo satisfactoriamente una muestra bien digerida y en las condiciones necesarias para la determinación de Pb (II).

El resultado de cada etapa de la AD se puede observar en la **Ilustración 12**.

Ilustración 14. Resultados AD en la muestra de fresas.





Muestra calcinada



Muestra digerida en acidos



Fuente: autora

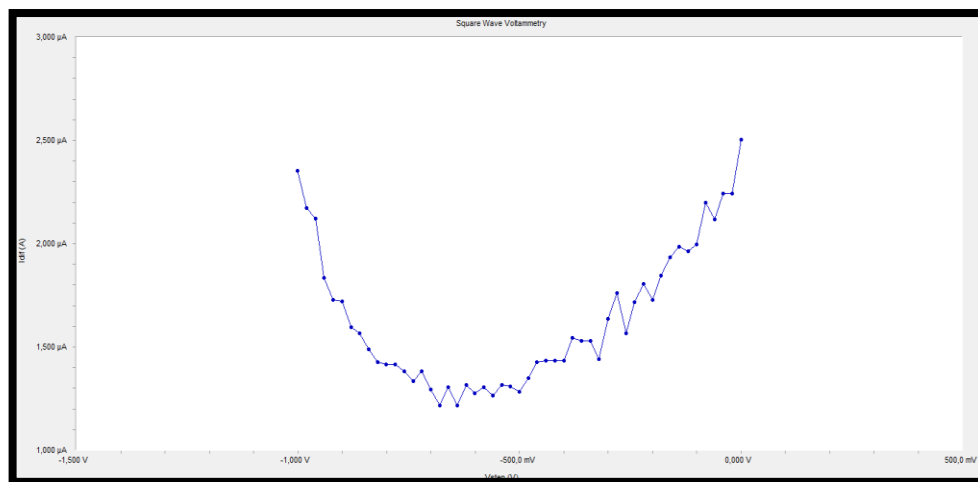
Al terminar con el secado de la fresa se encontró que su porcentaje de humedad era del 98,6%, con un peso en esta etapa de 1,4 g, este peso seco representa aproximadamente el 1,4% de la muestra de fresa fresca.

4.2.2 Fase II: Determinación de los parámetros del método electroquímico.

En esta fase se determinaron los parámetros del método electroquímico tras aplicar el diseño factorial presentado en la metodología, encontrando que la señal del plomo se puede observar de manera más definida con electrodos de trabajo de carbón vítreo o de cobre, en buffer de acetato ajustado en pH 4,5. Los principales resultados se muestran en las ilustraciones siguientes. Cabe anotar que se mostraran las diferencias más significativas encontradas en cada configuración (altura del pico, simetría del pico) ya que en la etapa experimental se realizaron más de 50 repeticiones por parámetro.

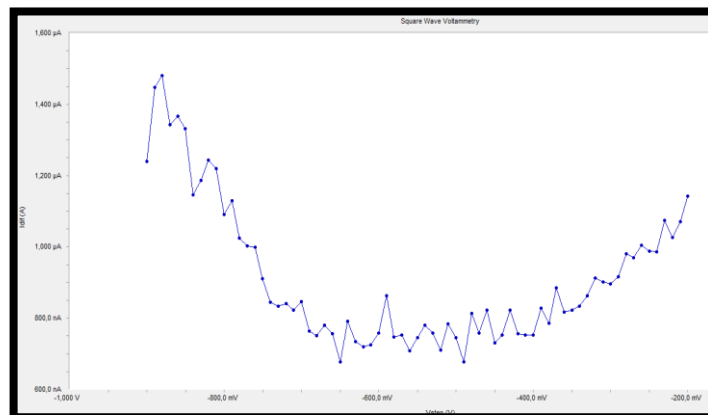
En la **Ilustración 15**, se puede observar que el electrodo de trabajo de Pt en presencia del BBR no genera una señal representativa para la alícuota de plomo adicionada, mientras que para el BA se puede observar un crecimiento de pico más pronunciado a lo largo del voltagrama como se observa en la **Ilustración 16**. A esta conclusión se llegó luego de realizar 5 medidas diarias durante 3 semanas obteniendo resultados similares.

Ilustración 15. Voltagrama SWV, BBR con 10mg/l de $Pb(NO_3)_2$, Pt WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

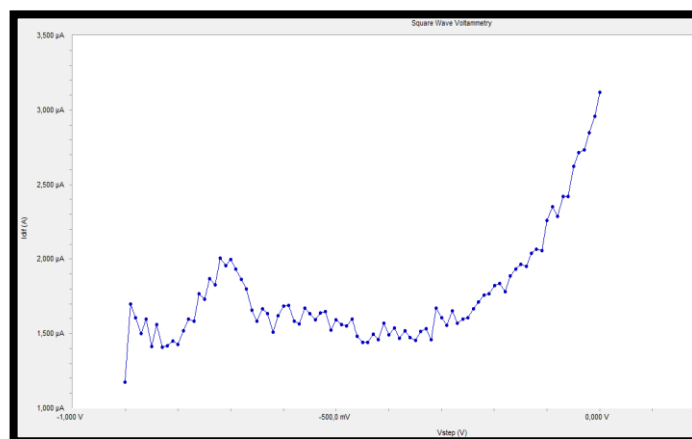
Ilustración 16. Voltagrama SWV, BA con 10mg/l de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, Pt WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

Con ayuda de la **Ilustración 17**, se puede mostrar que el electrodo de carbón vítreo en BBR dibuja un pico como respuesta a la alícuota adicionada en el rango concerniente al plomo, sin embargo este resultado no fue reproducible a lo largo de las 3 semanas de análisis para esta configuración, arrojando en algunas mediciones un pico visualmente favorable y en otras mediciones no. Siguiendo el análisis de este electrodo de trabajo se probó en BA, obteniendo una simetría mucho más correspondiente a la mostrada en la bibliografía al adicionar la alícuota del patrón de plomo, manteniéndose constante durante las 3 semanas de análisis, lo cual permitió establecer esta configuración como la más adecuada para este proyecto frente a las demás pruebas realizadas. El resultado de esta configuración se puede observar en la **Ilustración 18**

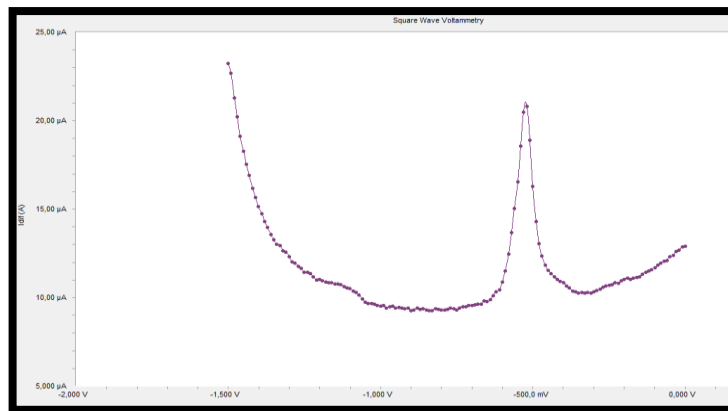
Ilustración 17. Voltagrama SWV, BBR con 10mg/l de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv



V vs Ag/AgCl

Fuente: autora

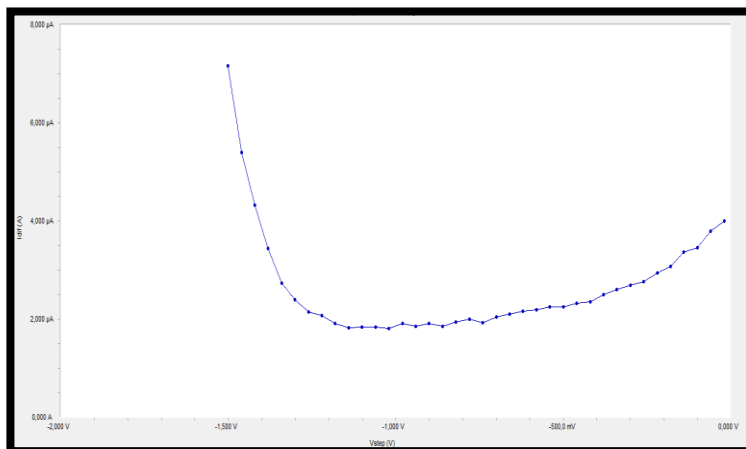
Ilustración 18. Voltagrama SWV, BA con 10mg/l de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

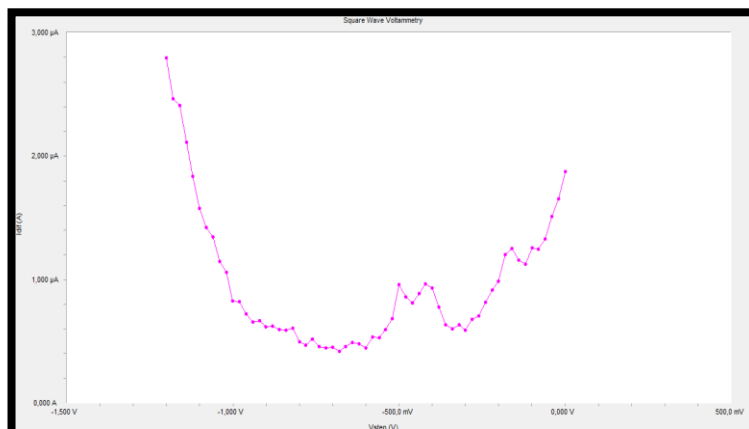
En este proyecto se vio la necesidad de probar otra configuración electroquímica capaz de detectar plomo en muestras orgánicas, debido a la dificultad de detectar plomo con los electrodos disponibles, ya que la bibliografía recomendaba en gran parte realizar modificaciones a la superficie de los electrodos y éstas no eran posibles de ejecutar. Es por ello que se decide probar un electrodo de trabajo de Cu, obteniendo las **Ilustraciones 19 y 20** como resultado a 3 semanas de análisis de este electrodo, encontrando que en presencia de BBR el Pb (II) no es detectado, mientras que en presencia de BA el voltagrama obtenido muestra el pico de voltaje correspondiente al Pb (II), demostrando eficazmente la valides de este tipo de electrodos para la detección del metal en muestras orgánicas. Pese a este favorable resultado se deben hacer ajustes a la configuración de parámetros con este electrodo para reducir interferencias y obtener mejores resultados.

Ilustración 19. Voltagrama SWV, BBR con 10mg/l de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, Cu WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1,5 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

Ilustración 20. Voltagrama SWV, BA con 10mg/l de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, Cu WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1 V a 0 V, 15mv, 40Hz, 40mv



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

En la **Ilustración 21** se puede observar el modelo de electrodos construidos por la autora, para la determinación de $\text{Pb}(\text{II})$ en la muestra de fresas a través de la técnica SWV.

Ilustración 21. Electrodo de cobre de bajo costo



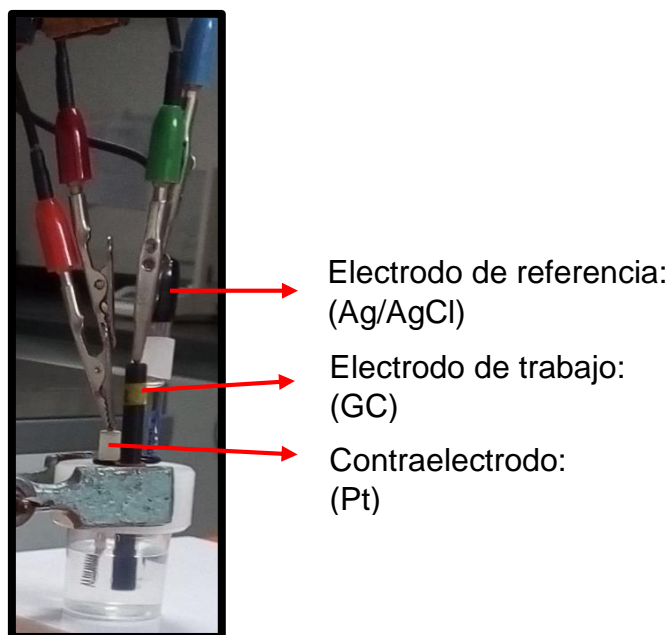
Fuente: autora

Como se puede observar en las **Ilustraciones 15, 17 y 19**, correspondientes a las configuraciones 1, 3 y 5 de la **Tabla 6**, no son favorables para la determinación de Pb (II) en electrolito soporte BBR; ya que el pico no es diferenciado notablemente del ruido del resto del voltagrama. Mientras que estas mismas configuraciones en electrolito soporte BA muestran los mejores resultados de toda la investigación, quedando en primer lugar GC, seguido por Cu y finalizando con Pt, orden correspondiente a la señal generada y la visibilidad notable del pico representativo del plomo, luego de adicionar la alícuota de la solución patrón de Pb (NO₃)₂.

Es importante resaltar que el uso del electrodo de cobre fue posible tras el diseño y elaboración del mismo, a lo largo del proyecto de investigación. Este hecho fue viable tras una exhaustiva búsqueda bibliográfica, la cual arrojó los datos necesarios para determinar su aplicación; encontrando que este tipo de electrodos han sido usados actualmente para la determinación de metales como Pb y Hg [82], creando la oportunidad de ampliar el campo de acción de estas técnicas electroquímicas al poder fabricar cada investigador sus propios electrodos de bajo costo.

De este modo la configuración final de los parámetros del método electroquímico quedó como se puede observar en la **Ilustración 22**, contando con: 1 electrodo de trabajo en carbón vítreo, un electrodo de referencia Ag/AgCl y 1 contra electrodo de platino, en buffer de acetato a pH 4,5.

Ilustración 22. Configuración final de los parámetros del método electroquímico



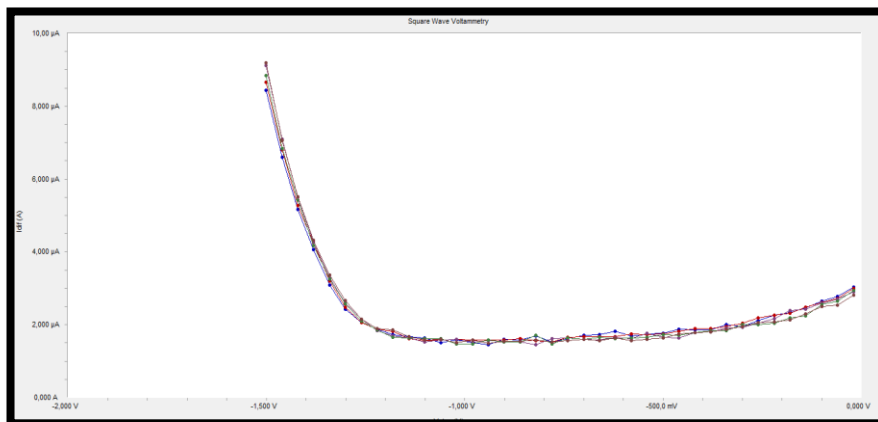
Fuente: autora

4.2.3 Fase III: Definición de los parámetros de la técnica.

Como fue mencionado anteriormente en la metodología, la amplitud del barrido fue encontrado tanto bibliográfica como experimentalmente, a través de un barrido con voltametría cíclica, en el cual se encontró el potencial de óxido reducción entre -1 V y 0 V para el caso del Pb.

Posteriormente se hizo un barrido con SWV para verificar el pico del Pb el cual se halló a -0,5 V. Se configuró la amplitud del barrido en -1 V y 0 V para dar inicio a un proceso de limpieza de los electrodos y la celda, con ácido acético glacial, esto con el fin de eliminar impurezas y dejar el montaje listo para las siguientes mediciones, teniendo como resultado el voltagrama que se puede apreciar en la **Ilustración 23**.

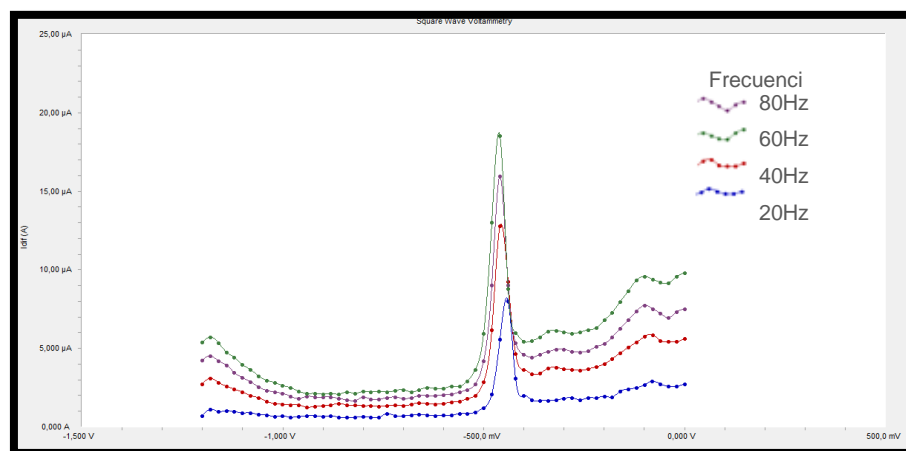
Ilustración 23. Voltagrama SWV obtenido con 5ml de ácido acético glacial, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 15mv, 40Hz, 40mv, 5 barridos.



Fuente: autora

Luego de tener todos los elementos del montaje electroquímico limpios, se procedió a realizar la variación de los parámetros de la técnica para la detección de Pb (II). De esta forma se inició variando la frecuencia, siendo aumentada de 20 en 20 Hz, iniciando en 20 y finalizando en 80, evaluando el valor que mostrará el pico más alto y simétrico bajo una misma cantidad de analito. Esta variación se puede observar en la **Ilustración 24**, de la cual se obtuvo la frecuencia de 60Hz como la más adecuada en esta configuración; ya que 40Hz mostraba un voltagrama menor al igual que el de 80Hz, de este último se interpretó que a pesar de tener una magnitud mayor su respuesta era decreciente por estar alcanzando un grado de saturación en la superficie del electrodo.

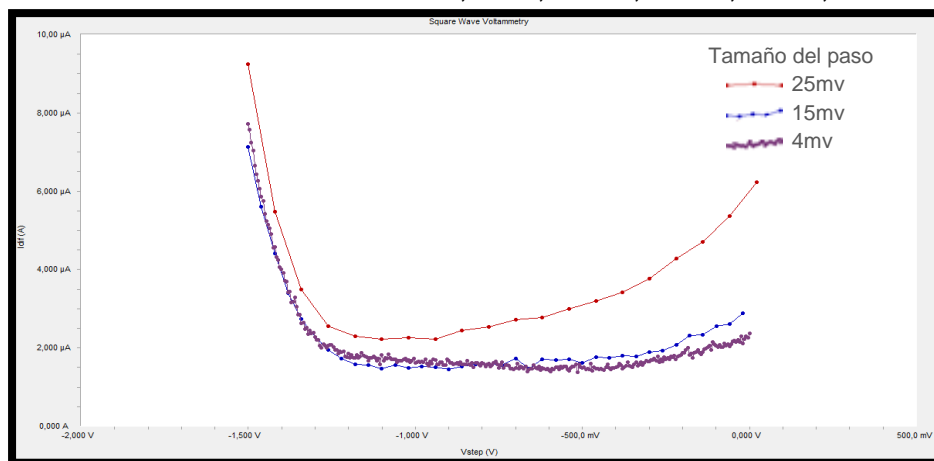
Ilustración 24. Voltagrama SWV obtenido con 10ml de BA y 10 mg/L de solución patrón de Pb (NO₃)₂, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 15mv, 40mv, 20Hz, 40Hz, 60Hz, 80Hz.



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

Seguidamente se varió el tamaño del paso, el cual al aumentar su magnitud crea más espacio entre los puntos graficados a lo largo del voltagrama, mostrando una línea más fina con menos puntos o más corrugada con más puntos [83]. De tal forma que se tomaron 3 valores diferentes y se graficaron arrojando una clara respuesta de cuál era la opción correcta para este caso, lo cual se puede observar en la **Ilustración 25**. En este parámetro se seleccionó el valor de 25mv como la variación adecuada, ya que con este valor se pudo trazar una línea más fina y con menos puntos para el mismo analito analizado.

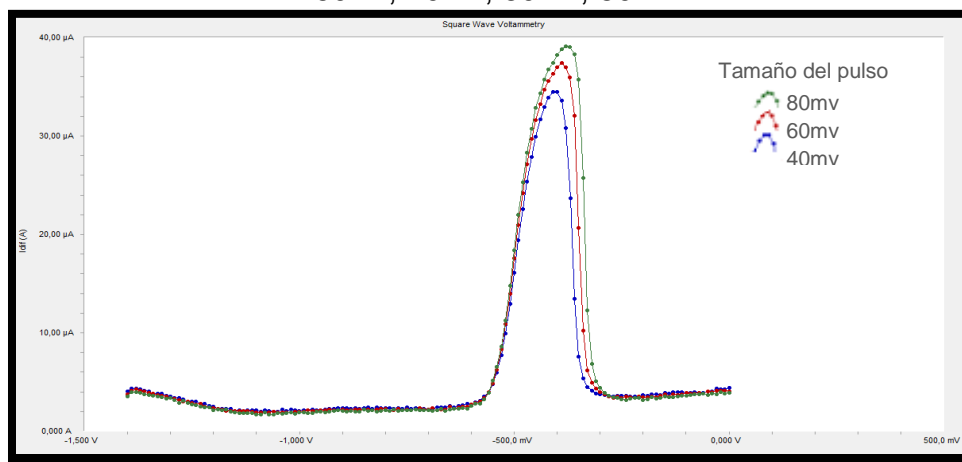
Ilustración 25. Voltagrama SWV obtenido con 10ml de BA, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 4mv, 15mv, 25mv, 60Hz, 40mv.



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

Posteriormente, el tercer parámetro a variar fue el tamaño del pulso, el cual al ser variado ascendentemente genera una respuesta directamente proporcional, siendo variado desde 40mv hasta 80mv con un aumento de 20mv como se puede observar en la **Ilustración 26**. Seleccionando como mejor valor 80mv el cual llega a ser el valor más alto soportado por el montaje sin saturar la superficie del electrodo.

Ilustración 26. Voltagrama SWV obtenido con 10ml de BA y 10 mg/L de solución patrón de Pb (NO₃)₂, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V, 25mv, 60Hz, 40mv, 60mv, 80mv.



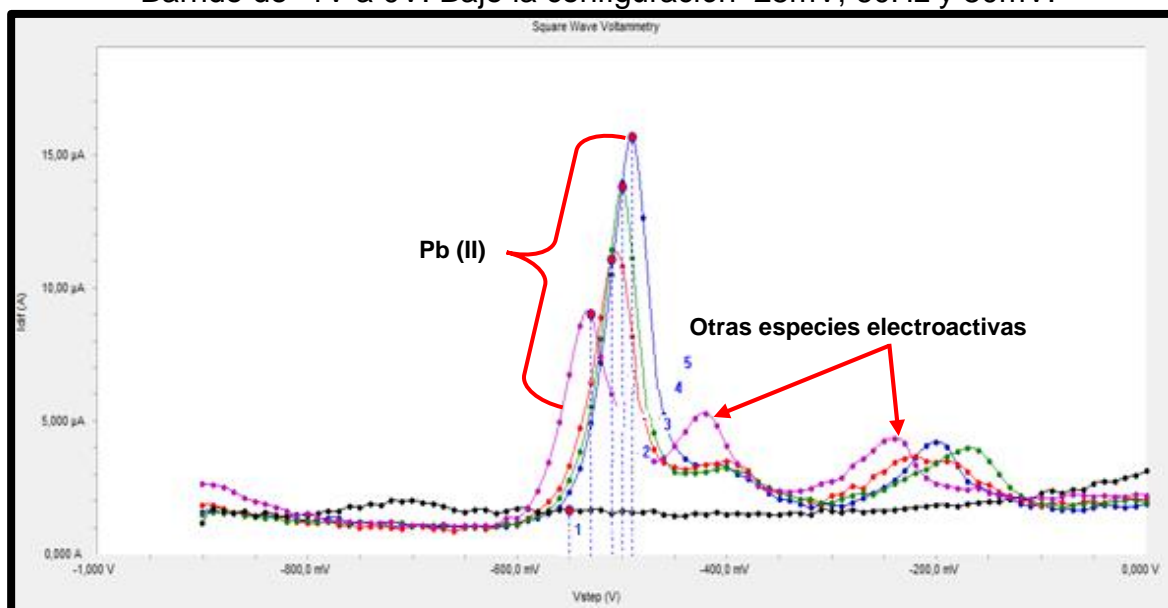
V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

De esta forma se establecieron como parámetros de la técnica para la determinación de plomo los siguientes: tamaño del paso 25 mV, frecuencia 60 Hz y tamaño del pulso 80 mV.

4.2.4 Fase IV: Cuantificación del contenido de Pb (II) presente en una muestra del fruto de la fresa fresca cultivada en la vereda La Unión, en el municipio de Sibaté – Cundinamarca.

Para determinar la cantidad de Pb (II) en la muestra, primero se evaluó la matriz de análisis y luego se seleccionó el método de adición estándar como el más apropiado para reducir interferencias y así poder determinar la cantidad del analito de interés con un uso mínimo de reactivos como se observa en la **Tabla 10**. Esto permitió encontrar una linealidad entre la señal generada y su concentración para posteriormente cuantificar la cantidad de analito en la solución problema a través de una regresión lineal, la cual esta especialmente diseñada para estas matrices complejas. El voltagrama de la muestra de fresa se puede observar en la **Ilustración 27**.

Ilustración 27. Voltograma SWV obtenido en buffer BA con muestra de fresa y adición estándar de 0,2ppm y 0,4ppm de Pb (NO₃)₂, GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE. Barrido de -1V a 0V. Bajo la configuración 25mV, 60Hz y 80mV.



V vs Ag/AgCl
Fuente: autora

En la anterior ilustración se puede observar la respuesta generada para: el buffer de acetato, la muestra de fresa, la adición estándar de 0,2 ppm, 0,4 ppm y 0,6 ppm, respectivamente. A lo cual es muy relevante señalar que la respuesta de la muestra arroja más de un pico de corriente, mostrando que hay más de una especie electroactiva presente en la muestra. Por otro lado el método de adición estándar permitió visualizar de una mejor manera el pico correspondiente del Pb (II) al notarse su crecimiento ascendente con cada adición de la solución patrón.

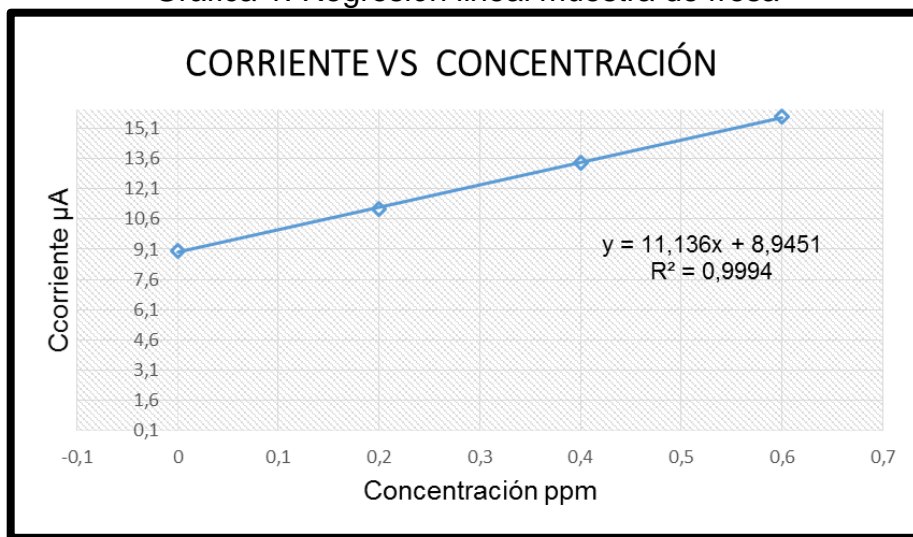
Tabla 10. Resultados de la muestra de fresa

Nombre	i μ A	Concentración ppm
Muestra	9,013	0
Adición 1	11,08	0,2
Adición 2	13,38	0,4
Adición 3	15,67	0,6

Fuente: autora

A partir de los anteriores datos se realizó una regresión lineal de los resultados obtenidos tras la adición estándar como se muestra en la **Gráfica 1**, obteniendo un R² de 0,9994, permitiendo la determinación de Pb (II) en la muestra de fresa por medio de una extrapolación, encontrando en la celda una concentración de 0,80326 mg/L como se muestra en la **Tabla 11**.

Gráfica 1. Regresión lineal muestra de fresa



Fuente: autora

Tabla 11. Cantidad de Pb (II) en la muestra agregada a la celda.

Pendiente	11,136
Intercepto con Y	8,9451
Cantidad de Pb(II) mg/L	0,803

Fuente: autora

Con la regresión lineal se puede hallar la concentración real de Pb (II) en la muestra de fresa fresca, teniendo en cuenta que se analizaron 15ml de solución, compuesta por 10 ml de buffer y 5 ml de muestra, encontrando en ésta una concentración de 0,803 mg/L de Pb (II). Estos 5ml de muestra provenían de una digestión de fresa con peso seco final de 1,4 g o 1400 mg, lo cual en ppm se puede expresar como mg/Kg y se podría relacionar con el peso en Kg de la fresa, teniendo en cuenta que la fresa seca representa el 1,4% de la fresa fresca, es así como se encontró que el contenido de plomo en la muestra de fresa es de 0,3012 ppm como se muestra a continuación en la **Ecuación 3**. También se hizo uso de la ecuación para desviación estándar la cual se puede ver en la **Ecuación 4**, con esta ecuación se evaluó la dispersión de los datos obtenidos de adición estándar frente a la muestra, encontrando una desviación de 2,21, lo cual refleja una dispersión de los datos baja asociado al método de adición patrón, encargado de eliminar la mayor cantidad de interferencias en la medida para hacerla más precisa.

Ecuación 3. Concentración de Pb (II) en la muestra de fresa

$$\begin{aligned} \text{Concentración de la solución} &= \frac{0,803\text{mg/l} * 15\text{ml}}{10\text{ml}} = 1,205\text{mg/l} \\ \frac{1,205 \text{ mg Pb(II)}}{1\text{l solución}} * 0,025\text{l} &= 0,030122 \text{ mg Pb(II)} \\ \left(\frac{0,030122 \text{ mg Pb(II)}}{1400 \text{ mg fresa seca}}\right) * \left(\frac{1,4 \text{ mg fresa seca}}{100\text{mg fresa fresca}}\right) * \left(\frac{1000000\text{mg}}{1\text{kg}}\right) \\ &= 0,3012 \text{ ppm de Pb (II)} \end{aligned}$$

Finalmente se encontró tras la aplicación de la técnica electroquímica SWV y el método de adición estándar que la muestra analizada contenía 0,3012ppm de Pb (II). Este resultado se ubica por encima del límite máximo permisible de plomo en frutas pequeñas como las fresas, según la resolución 4506 de 2013 [69] para Colombia. La presencia de este metal altamente tóxico ya había sido identificada en este mismo municipio a través de otras técnicas analíticas como espectroscopia de absorción atómica [15, 62, 84]. De igual manera, se han encontrado a nivel internacional reportes de fresas contaminadas con plomo con concentraciones de 20 mg/Kg en Argelia [16]. Esta situación lleva a considerar el riesgo de contaminación no solo para la población que consume este alimento, sino también para aquellos que cultivan además de fresas, otros alimentos cercanos a este; aplicando las mismas prácticas agrícolas, y creando la posibilidad de contaminar con plomo más alimentos.

Debido a lo anteriormente mencionado, se analiza la técnica electroquímica SWV como adecuada para seguir midiendo plomo no solo en fresas sino en otros alimentos tanto frescos como procesados, y así llegar a hacer un estudio tan específico en el grupo de los alimentos y su contaminación por metales, que el campo de la ingeniería ambiental logre establecer una rama de acción eficiente, cooperativa e incluyente, no solo con las personas del campo agrícola sino también con otras ramas del saber enfocadas a la investigación, alcanzando un ambiente conocido y con las herramientas necesarias listas para seguir tratando problemas ambientales.

Esto se puede lograr aplicando técnicas electroquímicas que además de permitir determinar y cuantificar la presencia de un metal en una matriz específica, sirven para probar, comparar y unificar metodologías exitosas, todo esto sin generar demasiados costos al grupo investigador, ni demasiado tiempo para la preparación de muestras o equipos, generando una comunidad enriquecida en conocimiento y dispuesta a compartir y servir a la comunidad.

5 IMPACTO SOCIAL

Con el desarrollo de este proyecto se espera generar nuevo conocimiento para los ingenieros, en especial los ingenieros ambientales de la Universidad Santo Tomas, ya que de esta forma podrán iniciar investigaciones con bases comprobadas, logrando incorporar medidas de bajo costo, fácil manejo y gran sensibilidad en sus respuestas. Siendo esto una alternativa para aquellos procedimientos como ICP-MS, XRFS y AAS; los cuales implican instrumentos sofisticados, mantenimiento e insumos de alto costo [16] [85].

De ello resulta necesario la incorporación de estas técnicas electroquímicas como alternativa para la medición de metales pesados en alimentos, brindando apoyo no sólo a la comunidad científica sino también a la sociedad en general, como una oportunidad de evaluar y tratar situaciones de riesgo a la salud antes de ser un riesgo mayor.

Siendo esta una de las razones por las cuales se decidió identificar la presencia de plomo en fresas, ya que es un metal pesado no degradable, por ser considerado estable y muy persistente en el ambiente. Afectando a diferentes grupos de personas como refinadores de metales, soldadores de metales con plomo, recuperadores y recicladores de plomo [28], inclusive agricultores que sin saber vierten en sus cultivos fertilizantes o plaguicidas [32], [59], [71], [72], [84] con alto contenido de plomo, o que hacen uso de agua contaminada con este y otros metales, enfrentándose a un incremento en las enfermedades crónicas, deformidades y ciertos tipos de cáncer [2, 28]. Esto se puede prevenir, con una evaluación exhaustiva de la composición de los alimentos que se están consumiendo, procurando una exposición mínima a este compuesto y una dieta sana, rica en frutas y verduras [86].

Por todo esto se espera ampliar el rango de acción de las técnicas electroquímicas, de tal manera que sean reconocidas tanto a nivel nacional como internacional. Un caso exitoso de este hecho fue la participación en el XVIII Congreso de la Sociedad Iberoamericana de Electroquímica realizado en Cusco – Perú en junio de 2018 con una ponencia en el tema de adición estándar, y en el III Congreso Colombiano de Electroquímica que se llevó a cabo en octubre de 2018 en Cali – Colombia con una ponencia en métodos de digestión en fresas. De igual forma se espera realizar la publicación de un artículo científico en el año 2019 con temas desarrollados en este proyecto de investigación.

6 CONCLUSIONES

En este proyecto se obtuvo la digestión ácida como la digestión adecuada para la determinación de Pb (II) en fresas, ya que a pesar de los equipos y procedimientos usados en los métodos de digestión ácida asistida por ultrasonido y digestión en horno microondas, no se logró separar correctamente la materia orgánica de la muestra, mientras que la AD permitió un correcto tratamiento de la muestra dejándola en solución acuosa tal como lo requería la técnica electroquímica.

La determinación de los parámetros del método electroquímico permitió concluir que la configuración para detectar Pb (II) en una muestra de fresa es GC WE, Ag/AgCl RE, Pt CE en electrolito soporte BA a pH 4,5.

Se encontró que los electrodos de cobre de bajo costo elaborados por la autora también son útiles para la determinación de Pb (II) en fresas con electrolito soporte BA.

Los parámetros de la técnica con los que se obtuvieron resultados adecuados para la detección de Pb (II) en la muestra de fresa fueron: amplitud del barrido -1 V a 0 V, tamaño del paso 25 mV, frecuencia 60 Hz y tamaño del pulso 80 mV, en la configuración SWV.

Se observó en los voltogramas obtenidos de la muestra de fresa, no solo la existencia de plomo, sino también otras especies electroactivas capaces de producir picos de corriente en diferentes voltajes.

Finalmente se realizó la cuantificación del contenido de Pb (II) presente en la muestra del fruto de fresas cultivadas en la vereda La Unión, en el municipio de Sibaté – Cundinamarca, encontrado una cantidad de 0,3012 ppm de Pb (II), valor que sobre pasa el límite máximo permisible planteado por la normativa nacional fijado en un valor de 0,2 ppm.

7 RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar determinaciones de metales pesados en otros alimentos esenciales como otras frutas y verduras por medio de la técnica voltametría de onda cuadrada.
- Se recomienda seguir desarrollando electrodos de bajo costo para la determinación de metales pesados en alimentos, como lo fue en este caso el desarrollo del electrodo de Cu.
- Se recomienda implementar en futuros proyectos de investigación un muestreo probabilístico, en la determinación de plomo en este u otros alimentos y comparar los resultados encontrados.
- Ya que se verifico que la técnica es adecuada para detección de Pb (II) en fresas, se sugiere analizar los componentes cercanos a este cultivo, como agua, aire y suelo, permitiendo ampliar el conocimiento sobre estos y su influencia en la presencia del plomo en la fresa.
- Se recomienda hacer digestión asistida por horno de microondas acompañado del procedimiento liofilización en este o en otros alimentos y comparar los resultados encontrados.
- Se recomienda hacer un vínculo interuniversitario para lograr el acceso a más equipos de medición y tratamiento de muestras.
- Se sugiere realizar prácticas de laboratorio para hacer un acercamiento de los estudiantes a las técnicas electroquímicas para ampliar el desarrollo de estas dentro del campo de la ingeniería ambiental.
- Aplicar cálculos estadísticos para la verificación de los datos obtenidos.

8 BIBLIOGRAFÍA

- [1] G. Flora, D. Gupta y A. Tiwari, *Toxicity of lead: A review with recent updates*, Interdisciplinary Toxicology, 2012, pp. 47-58.
- [2] World Health Organization, *Lead poisoning and health*, World Health Organization, 2017.
- [3] E. Menahem y B.-H. Meni, «Heavy metals and metalloids: Sources, risks and strategies to reduce their accumulation in horticultural crops,» *Scientia Horticulturae*, vol. 234, pp. 431-444, 2018.
- [4] D. D. Runnells, T. A. Shepherd y E. E. Angino, «Metals in water. Determining natural background concentrations in mineralized areas,» *Environmental Science & Technology*, vol. 26, nº 12, p. 2316–2323, 1992.
- [5] Unión de Industrias del Plomo, «Fuentes, niveles y desplazamientos del plomo en el medio ambiente,» 2004. [En línea]. Available: <http://www.uniplom.es/fuentes.htm>.
- [6] C. J. Rosen, *Lead in the home garden and urban soil environment*, Minneapolis: University of Minnesota, 2008.
- [7] G. Nordberg, B. Fowler, M. Nordberg y L. Friberg, «Handbook on the Toxicology of Metals,» *Elsevier*, nº 3, 2007.
- [8] L. Jarup, «Hazards of heavy metal contamination,» *British Medical Bulletin*, vol. 68, p. 167–182, 2003.
- [9] E. Vogtmann, H. L. E. L. G. Y. J. W. Y.B. Xiang, H. C. J. Gao, L. Xie, Q. Wu, B. Zhang, Y. Gao, W. Zheng y X. Shu, «Fruit and vegetable intake and the risk of colorectal cancer: results from the Shanghai Men's Health Study,» *Cancer Causes and Control*, vol. 24, nº 11, pp. 1935-1945, 2013.
- [10] M. Muchuweti, J. Birkett, E. Chinyanga, R. Zvauya, M. Scrimshaw y J. Lester, «Heavy metal content of vegetables irrigated with mixture of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe: implications for human health,» *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 112, pp. 41-48, 2006.
- [11] E. L. Calderon y R. Concha, *EVALUACION DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES PESADOS PARA DETERMINAR LA CALIDAD DE FRUTAS DE CONSUMO MASIVO EN LA CIUDAD DE PIURA*, Piura: Universidad Nacional de Piura.

- [12] C. Gómez y L. Enrique, *CARACTERIZACIÓN DEL SISTEMA DE COMERCIALIZACIÓN DE LA FRESA EN FRESCO EN LA PROVINCIA DE SOACHA- BOGOTÁ D.C., CAJICÁ* : UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA, 2015.
- [13] Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Health Organization, *GENERAL STANDARD FOR CONTAMINANTS AND TOXINS IN FOOD AND FEED CXS 193-1995*, 2018.
- [14] Asohofrucol, Programa de Transformación Productiva, Fondo Nacional de Fomento Hortifrutícola, *Plan de Negocios de Fresa*, Bogotá DC.: Asohofrucol, 2013.
- [15] K. J. AVELLANEDA ROMERO y J. P. CARO CASTIBLANCO, «DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN Y CINÉTICA DEL PLOMO EN UN CULTIVO DE FRESA CERCANO AL EMBALSE DEL MUÑA EN EL MUNICIPIO DE SIBATE, CUNDINAMARCA.,» Bogotá, 2015.
- [16] A. Cherfi, S. Abdoun y O. Gaci, «Food survey: Levels and potential health risks of chromium, lead, zinc and copper content in fruits and vegetables consumed in Algeria,» *Food and Chemical Toxicology*, vol. 70, pp. 48-53, 2014.
- [17] J. Wang, *Stripping Analysis: Principles, Instrumentation, and Applications*, Florida: VCH Publishers, 1985.
- [18] J. M. E. V. C. Manuel Miró, «Application of flowing stream techniques to water analysis Part III. Metal ions: alkaline and alkaline-earth metals, elemental and harmful transition metals, and multielemental analysis,» *Talanta*, vol. 63, pp. 201-223, 2004.
- [19] PerkinElmer, *WORLD LEADER IN AA, ICP-OES AND ICP-MS*, Waltham, MA 02451 USA: PerkinElmer, Inc, 2008-2013.
- [20] S. N. HANNA, *TUNGSTEN COIL ELECTROTHERMAL VAPORIZATION FOR ATOMIC SPECTROSCOPY*, Winston-Salem: WAKE FOREST UNIVERSITY, GRADUATE SCHOOL OF ARTS AND SCIENCES, 2011.
- [21] UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO , *LISTA DE PRECIOS DE ANÁLISIS DISPONIBLES 2011-2012*, Coyoacán, D.F.: Instituto de Química, 2011.

- [22] W. L. Clevenger, B. W. Smith y J. D. Winefordner, «Trace Determination of Mercury: A Review,» *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 27, nº 1, pp. 1-26, 1997.
- [23] E. Bakker, P. Buhlmann y E. Pretsch, «Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 1. General characteristics,» *Chemical Reviews*, vol. 97, nº 8, pp. 3083-3132, 1997.
- [24] E. Lindner y Y. Umezawa, «Performance evaluation criteria for preparation and measurement of macro- and microfabricated ion-selective electrodes (IUPAC technical report),» *Pure and Applied Chemistry*, vol. 80, nº 1, pp. 85-104, 2008.
- [25] J. C. GIL SOLANO, *TRATAMIENTO ELECTROQUIMICO PARA LA REMOCION DE METALES PESADOS EN RESIDUOS LIQUIDOS PELIGROSOS GENERADOS EN LOS LABORATORIOS DE DOCENCIA DE LA UNIVERSIDAD DEL CAUCA*, Santiago de Cali: Universidad del Valle, 2012.
- [26] J. Nakajima, *Studies on sensitive and precise analysis of trace heavy metals in environmental samples*, Universidad de Chiba, 2005.
- [27] Š. Komorsky-Lovrić y I. Novak, *Determination of Ellagic Acid in Strawberries, Raspberries and Blackberries by Square-Wave Voltammetry*, Croacia: International Journal of ELECTROCHEMICAL SCIENCE, 2011.
- [28] J. M. García Colmenares , Y. L. Moreno Mariño y S. P. Chaparro Acuña, «CUANTIFICACIÓN VOLTAMÉTRICA DE PLOMO Y CADMIO EN PAPA FRESCA,» *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, vol. 19, nº 1, pp. 97-104, 2016.
- [29] M. El Amine Ghanjaoui y M. Srij, *Assessment of Lead and Cadmium in Canned Foods by Square-Wave Anodic Stripping Voltammetry*, vol. 42, Morocco: Analytical Letters, 2009, p. 12491309.
- [30] J. E. BURGOS CONTENTO, *IMPLEMENTACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE VOLTAMPEROMETRÍA DIFERENCIAL DE PULSOS CON REDISOLUCIÓN ANÓDICA (DPASV) PARA LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO TOTAL EN ATÚN ENLATADO*, Bogotá: Universidad Santo Tomás, 2015.

- [31] M. Litter, M. Armienta y S. Farías, *IBEROARSEN: Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*, Argentina: CYTED, 2009.
- [32] O. A. Diaz Morales, *DETECCIÓN DE METALES PESADOS MEDIANTE VOLTAMETRÍA DE REDISOLUCIÓN ANÓDICA EN SISTEMAS DE FLUJO CON LAZO CERRADO*, Sartenejas: UNIVERSIDAD SIMÓN BOLIVAR, 2007.
- [33] G. J. Norton, C. M. Deacon, A. Mestrot, J. Feldmann, P. Jenkins y A. A. M. Christina Baskaran, «Cadmium and lead in vegetable and fruit produce selected from specific regional areas of the UK,» *Science of the Total Environment*, vol. 533, pp. 520-527, 2015.
- [34] M. E. Mhammedi, M. Achak y M. Bakasse, «Evaluation of a platinum electrode modified with hydroxyapatite in the lead(II) determination in a square wave voltammetric procedure,» *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 6, pp. 299-305, 2013.
- [35] J. Artur, G. Marcin, L. Grzegorz, J. Bobacka y B. Maria, «Solid-contact lead(II) ion-selective electrodes for potentiometric determination of lead(II) in presence of high concentrations of Na(I), Cu(II), Cd(II), Zn(II), Ca(II) and Mg(II),» *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 218, pp. 25-30, 2015.
- [36] F. Ciepiela y M. Jakubowska, «Faradaic and capacitive current estimation by means of Independent Components Analysis and 1 kHz sampling.,» *Talanta*, nº 170, pp. 158-164, 2017.
- [37] M. Adelaide y Alves Ferreira, «Técnicas electroquímicas para la determinación y especiación de arsénico en aguas,» de *IBEROARSEN Metodologías analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos*, CYTED, 2009, pp. 185-209.
- [38] M. M. Garza Zepeda, «Diferencias entre metodología, método y técnica,» de *Metodología de la investigación*, Oaxaca de Juárez, UNIVASvirtual, 2011.
- [39] B. Bansod, T. Kumar, R. Thakur, S. Rana y I. Singh, «A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms,» *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 94, pp. 443-455, 2017.
- [40] E. Escudero, *Electroquímica*, México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2014.

- [41] F. A. Settle, Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry: Voltammetric Techniques, Arlington, Virginia : National Science Foundation, 1997.
- [42] W. W. DUNGCHAI, S. MOTOMIZU y S. CHUANUWATANAKUL, «Highly Sensitive Determination of Cadmium and Lead Using a Low-cost Electrochemical Flow-through Cell Based on a Carbon Paste Electrode,» *ANALYTICAL SCIENCES FEBRUARY*, vol. 28, pp. 141-146, 2012.
- [43] W. Siriangkawut, P. Sittichan y K. Ponghong, «Stripping voltammetric determination of trace cadmium and lead in Thai organic unpolished rice after ultrasound-assisted digestion,» *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 59, pp. 145-152, 2017.
- [44] S. Illuminati, A. Annibaldi, C. Truzzi, C. Finale y G. Scarponi, «Square-wave anodic-stripping voltammetric determination of Cd, Pb and Cu in wine: Set-up and optimization of sample pre-treatment and instrumental parameters,» *Electrochimica Acta*, vol. 104, pp. 148-161, 2013.
- [45] V. Meuccia, S. Laschib, M. Minunnib, C. Prettic, L. Intorrea, G. Soldania y M. Mascinib, «An optimized digestion method coupled to electrochemical sensor for the determination of Cd, Cu, Pb and Hg in fish by square wave anodic stripping voltammetry,» *Talanta*, vol. 77, pp. 1143-1148, 2009.
- [46] P. T. Kissinger y W. R. Heineman, «Cyclic voltammetry,» *J. Chem. Educ*, vol. 60, nº 9, p. 706, 1983.
- [47] J. B. Malherbe, O. S. Odutemowo, E. G. Njoroge, D. F. Langa, T. T. Hlatshwayo y C. C. Theron, «Ion bombardment of glassy carbon,» *Vacuum*, vol. 149, pp. 19-22, 2018.
- [48] C. O. Ania, A. Gomis-Berenguer, J. Dentzer y C. Vix-Guterl, «Nanoconfinement of glucose oxidase on mesoporous carbon electrodes with tunable pore sizes,» *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 808, pp. 372-379, 2018.
- [49] J. Cho, A. Ide, Y. B. Truong y I. L. Kyratzis, «High surface area mesoporous titanium–zirconium oxide nanofibrous web: a heavy metal ion adsorbent,» *Journal of Materials Chemistry A*, 2013.
- [50] Universidad de Córdoba , «Diagrama de distribución de especies del plomo,» [En línea]. Available: <http://www.uco.es/~iq2sagr/QIMediambiente/TranspTema9-web.pdf>.

- [51] F. Arduini, C. Q. Josefina, A. Amine, G. Palleschi y D. Moscone, «Bismuth-modified electrodes for lead detection,» *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 29, nº 11, pp. 1295-1304, 2010.
- [52] Association of Official Analytical Chemists AOAC, «Determination of Lead Cadmium, Copper, Iron and Zinc in Foods,» 1999. [En línea]. Available: <http://img.21food.cn/img/biaozhun/20100108/177/11285282.pdf>.
- [53] B. I. ENEDEIDA, K. D. C. H. ACOSTA y A. R. M. ANDREA, «Implementación del método de análisis,» de *DETERMINACIÓN DE CADMIO EN CHOCOLATE DE MESA COMERCIALIZADO EN LA ZONA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR*, San Salvador,, 2017, pp. 69-72.
- [54] C. Bi, Y. Zhou, Z. Chen, J. Jia y X. Bao, «Heavy metals and lead isotopes in soils, road dust and leafy vegetables and health risks via vegetable consumption in the industrial areas of Shanghai,» *Science of the Total Environmen*, Vols. %1 de %2619-620, pp. 1349-1357, 2018.
- [55] M. Riisom, B. Gammelgaard, I. H. Lambert y S. Stürup, «Development and validation of an ICP-MS method for quantification of total carbon and platinum in cell samples and comparison of open-vessel and microwave-assisted acid digestion methods.,» *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* , vol. 158, pp. 144-150, 2018.
- [56] A. Ferrer D, «Intoxicación por metales,» *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, vol. 26, pp. 141-153, 2003.
- [57] The Perkin-Elmer Corporation, «Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy,» *The Perkin-Elmer Corporation.*, p. 310, 1996.
- [58] C. Rubio, A. Gutiérrez, M.-I. RE, R. C, L. G y H. A, «El plomo como contaminante alimentario,» *Toxicología*, vol. 21, pp. 72-80, 2004.
- [59] Organización Mundial de la Salud, *CÓDIGO DE PRÁCTICAS PARA LA PREVENCIÓN Y REDUCCIÓN DE LA PRESENCIA DE PLOMO EN LOS ALIMENTOS*, Ginebra -Suiza, 2004.
- [60] Organización Mundial de la Salud, «Environmental Health Impacts from Exposure to Metals,» Nueva Dheli, 2005.
- [61] M. Caro Cassali y A. Salís Moya, «Intoxicación crónica por plomo: presentación de un caso clínico y revisión de la literatura,» *Asociación Costarricense de Pediatría*, pp. 34-39, 1997.

- [62] C. B. DAVID ANDRÉS, *CONTAMINACION POR METALES PESADOS EN EL EMBALSE DEL MUÑA Y SU RELACION CON LOS NIVELES EN SANGRE DE PLOMO, MERCURIO Y CADMIO Y ALTERACIONES DE SALUD EN LOS HABITANTES DEL MUNICIPIO DE SIBATÉ (CUNDINAMARCA)*, Bogotá: UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, 2007.
- [63] Y. C. Reyes, I. Vergara, O. Torres, M. Díaz y E. Gonzalez, *CONTAMINACIÓN POR METALES PESADOS: IMPLICACIONES EN SALUD, AMBIENTE Y SEGURIDAD ALIMENTARIA*, vol. 16, Boyaca, Sogamoso: Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo, 2016, pp. 66-77.
- [64] L. M. LINARES CASTILLO y L. MELO ROJAS, *EVALUACIÓN DE LA HUELLA HÍDRICA DEL CULTIVO DE FRESA EN UNA FINCA DEL MUNICIPIO DE SIBATÉ, CUNDINAMARCA*, Bogotá D.C.: UNIVERSIDAD DE LA SALLE, 2015.
- [65] A. M. RESTREPO, M. CORTÉS y B. ROJANO, «DETERMINACIÓN DE LA VIDA ÚTIL DE FRESA (*Fragaria ananassa* Duch.) FORTIFICADA CON VITAMINA E,» *DYNA2009*, vol. 76, nº 159, pp. 163-175, 2009.
- [66] P. Inagan, «Partes de la Fresa,» 2010. [En línea]. Available: <http://paulainaganlcnoveno.blogspot.com/2010/04/partes-de-la-fresa.html>.
- [67] ASOHOFRUCOL, «INFORME DE GESTIÓN AÑO 2017; FONDO NACIONAL DE FONDO NACIONAL DE FOMENTO HORTIFRUTÍCOLA,» Bogotá D.C., 2017.
- [68] L.-F. LUIS FERNANDO, L.-M. PAULA TATIANA y M.-G. FABIÁN GERARDO, «LOS RIESGOS DE LOS METALES PESADOS EN LA SALUD HUMANA Y ANIMAL,» *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, vol. 14, nº 2, pp. 145-153, 2016.
- [69] MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL, *RESOLUCIÓN 4506 DE 2013*, Bogotá D.C.: MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL, 2013.
- [70] A. A. Díaz, *CONTENIDOS MAXIMOS EN METALES PESADOS EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS*, Valencia: UNION EUROPEA, 2017.
- [71] S. María Inés, J. I. Álvaro, R. Mauricio, D. M. María del Pilar y G. Alejandro, «Evaluación del Impacto de la Contaminación del Embalse del Muña Sobre

- la Salud Humana,» *REVISTA DE SALUD PUBLICA* , vol. 1, nº 2, pp. 159-171, 1999.
- [72] Observatorio Ambiental, *Caso Emblemático OPSOA Contaminación Embalse del Muña*, Bogotá, 2006.
- [73] J. L. Paul, «Convenience sampling,» de *Encyclopedia of Survey Research Methods*, vol. 2, Los Angeles, SAGE , 2002, pp. 148-149.
- [74] F. Priego-Capote y M. Luque de Castro, «Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation,» *Biochemical and Biophysical methods*, Córdoba, España, 2006.
- [75] F. Érico Marlon de Moraes, «Chapter 1 - Introduction to Sample Preparation for Trace Element Determination,» de *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*, USA, Elsevier, 2014, pp. 1-58.
- [76] B. A. B. María, « “Study of the stramberry drying process using microwave dryer,» *Prospectiva*, vol. 15, nº 1, pp. 29-34, 2017.
- [77] W. Zhou, C. Li, C. Sun y X. Yang, «Simultaneously determination of trace Cd²⁺ and Pb²⁺ based on L-cysteine/graphene modified glassy carbon electrode,» *Food Chemistry*, vol. 192, pp. 351-357, 2016.
- [78] Y. Li, X. Liu, X. Zeng, Y. Liu, X. Liu, W. Wei y S. Luo, «Simultaneous determination of ultra-trace lead and cadmium at a hydroxyapatite-modified carbon ionic liquid electrode by square-wave stripping voltammetry,» *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 139, pp. 604-610, 2009.
- [79] E. A. Jens, «The standard addition method revisited,» *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 89, pp. 21-33, 2017.
- [80] S. T. Paulina, «Digestión en horno de microondas para determinación de contenido de hierro y zinc totales en alimentos.,» *Tecnología en Marcha*, vol. 25, nº 3, pp. 96-100, 2012.
- [81] Universidad de barcelona, «TÉCNICAS Y OPERACIONES AVANZADAS EN EL LABORATORIO QUÍMICO (TALQ),» 4 Abril 2014. [En línea]. Available: <http://www.ub.edu/talq/es/node/261>.
- [82] J. V, I. H. N y B. H. S, «Copper film electrode for anodic stripping voltammetric determination of trace mercury and lead,» *Electrochemistry Communications*, vol. 57, pp. 1-4, 2015.

- [83] M. Libansky, J. Zima, J. Barek, A. Reznickova, V. Svorcik y H. Dejmko, «Basic electrochemical properties of sputtered gold film electrodes,» *Electrochimica Acta*, vol. 251, p. 452–460, 2017.
- [84] H. J. C. Rodríguez y V. V. Torres Guerrero, *EVALUACIÓN DE CONTAMINACIÓN EN AGUA, SUELO Y SEDIMENTOS, ASOCIADA A PLOMO Y CADMIO EN LA SUBCUENCA EMBALSE DEL MUÑA, RÍO BOGOTA*, Bogotá: UNIVERSIDAD DE LA SALLE, 2012.
- [85] L. M. M. Yuri, M. G. C. José y P. C. A. Sandra, «VOLTAMMETRIC QUANTIFICATION OF LEAD AND CADMIUM IN FRESH POTATO,» *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, vol. 19, nº 1, pp. 97-104, 2016.
- [86] Organización Mundial de la Salud, *Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud*, Organización Mundial de la Salud, 2017.
- [87] S. Gómez-Biedma, E. Soria y M. Vivó, «Análisis electroquímico,» *Revista de Diagnóstico Biológico*, vol. 51, nº 1, pp. 18-27, 2002.
- [88] L. D. Martínez y J. A. Gasquez, *DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO EN AGUAS: DIFERENTES TÉCNICAS Y METODOLOGÍAS*, San Luis : Universidad Nacional de San Luis, 2005.
- [89] Organización Mundial de la Salud, *Lead in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality*, Geneva, 2003.
- [90] D. PEM y R. JEEWON, «Fruit and Vegetable Intake: Benefits and Progress of Nutrition Education Interventions,» *Iranian Journal of Public Health*, vol. 44, nº 10, pp. 1309-1321, 2015.
- [91] K.-H. Lubert y K. Kalcher, «History of Electroanalytical Methods,» *ELECTROANALYSIS*, vol. 22, nº 17-18, pp. 1937-1946, 2010.
- [92] X. Zou, H. E. Tahir, Y. Xu y W. Zhang , «Determinations of trace lead in various natural samples by a novel active microband-electrode probe,» *Chemical Engineering Journal*, vol. 309, pp. 305-312, 2017.
- [93] F. Fuqiang, D. Junfeng, D. Aizhong, Z. Kedong y W. Yingying, «Determination of Lead by Square Wave Anodic Stripping Voltammetry

Using an Electrochemical Sensor,» *ANALYTICAL SCIENCES*, vol. 29, pp. 571-577, 2013.

- [94] J.-M. Jian, Y.-Y. Liu, Y.-L. Zhang, X.-S. Guo y Q. Cai, «Fast and Sensitive Detection of Pb²⁺ in Foods Using Disposable Screen-Printed Electrode Modified by Reduced Graphene Oxide,» *Sensors*, vol. 13, pp. 13063-13075, 213.
- [95] O. Krystofova, L. Trnkova, V. Adam, J. Zehnalek, J. Hubalek, P. Babula y R. Kizek, «Electrochemical Microsensors for the Detection of Cadmium(II) and Lead(II) Ions in Plants,» *Sensors*, vol. 10, pp. 5308-5328, 2010.
- [96] D. T. G. Chasteen, «Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy,» Huntsville, Sam Houston State University, 2000.
- [97] M. Resano, F. Vanhaeckeb y a. M. T. C. d. Loos-Vollebregt, «Electrothermal vaporization for sample introduction in atomic absorption, atomic emission and plasma mass spectrometry—a critical review with focus on solid sampling and slurry analysis,» *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, vol. 23, pp. 1450-1475, 2008.
- [98] K. Fytianos, G. Katsianis, P. Triantafyllou y Zachariadis, *Accumulation of heavy metals in vegetables grown in an industrial area in relation to soil.*, vol. 67, 2001, pp. 0423-0430.
- [99] F. Valdés, *La contaminacion por metales pesados en Torreón, Coahuila:* Texas center for policity studies, 1999.
- [100] A. Singh, *Risk assessment of heavy metal oxicity through contaminated vegetables from waste water irrigated area of Varanasi*, India: Tropical Ecology, 2010, pp. 375-387.
- [101] L. Rodríguez-Lado, G. Sun, M. Berg, Q. Zhang, H. Xue, Q. Zheng y C. A. Johnson, *Ground water arsenic contamination throughout China*, New York: Science, 2013.
- [102] Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible , *DIAGNÓSTICO NACIONAL DE SALUD AMBIENTAL*, Bogotá DC.: Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible , 2012.
- [103] N. Shaheen, N. M. Irfan, I. N. Khan, S. Islam, M. S. Islam y M. K. Ahmed, *Presence of heavy metals in fruits and vegetables: Health risk implications in Bangladesh*, Bangladesh: Chemosphere, 2016.

- [104] Z. U. Rehman, S. Khan y M. L. T. S. Brusseau, *Lead and cadmium contamination and exposure risk assessment via consumption of vegetables grown in agricultural soils of five-selected regions of Pakistan*, Pakistan: Chemosphere, 2016.
- [105] A. Economou, S. D. Bolis, C. E. Efstathiou y G. J. Volikakis, «A “virtual” electroanalytical instrument for square wave voltammetry,» *Analytica Chimica Acta* , vol. 467, pp. 179-188, 2002.
- [106] B. R. Scharifker, «Diffusion controlled growth of hemispheres in ordered arrays.,» *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 458, pp. 253-255, 1998.
- [107] K. J. Powell, P. L. Brown, R. H. Byrne, T. Gajda, G. Hefter, A.-K. Leuz y S. Sjöberg, «Chemical speciation of environmentally significant metals with inorganic ligands.,» *Pure and Applied Chemistry*, vol. 83, nº 5, pp. 1163-1214, 2011.
- [108] US EPA, «METHOD 7000B: FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROPHOTOMETRY,» p. 23, 2007.
- [109] M. Libansky, «Basic electrochemical properties of sputtered gold film electrodes.,» *Electrochimica Acta*, vol. 251, p. 452–460, 2017.
- [110] L. M. Lorena, «Legislación para metales en alimentos,» de *Influencia del tratamiento de muestra y material de envasado, para la determinación de elementos minerales en zumos.*, España, UNIVERSIDAD DE JAÉN, 2016, pp. 34-40.
- [111] M. L. Guerinot, «The ZIP family of metal transporters,» *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, vol. 1465, pp. 190-198, 2000.
- [112] L. López Montoro, «Influencia del tratamiento de muestra y material de envasado, para la determinación de elementos minerales en zumos,» Universidad de Jaén, Jaén, 2016.