



**FACULTAD DE FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA Y FARMACIA
LABORATORIO DE QUÍMICA ANALÍTICA Y AMBIENTAL**

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL RIESGO A LA SALUD POR
EXPOSICIÓN A MERCURIO (Hg) MEDIANTE EL CONSUMO DE
PESCADOS: SCREENING ALEATORIO EN PESCADOS COMERCIALES
DE DIFERENTES FORMATOS OBTENIDOS EN UN SUPERMERCADO.**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

NATALIA ANDREA ACEVEDO MONTIEL

Director de Tesis: Dra. María Gabriela Lobos Valenzuela
Proyectos FONDECYT 1150855, ECOS C15E04 y EQM 120169

2018

**“Dedicado a mis padres, a mi abuela y a los amigos/as que se
convirtieron en familia”**

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mis padres y a mi abuela, por el amor y el apoyo incondicional, gracias por creer en mí incluso cuando ni yo misma creí poder lograrlo, sé que se sienten orgullosos de mí por mis logros, pero más orgullosa me siento yo de ustedes, porque son las personas más maravillosas y bondadosas que existen, todo esto se los debo a ustedes, los amo.

Quiero agradecer a mi directora de tesis, Gabriela Lobos, a la profesora Patricia Díaz y a cada una de las personas con los que compartí en el Laboratorio de Química Analítica y Ambiental, por recibirme con los brazos abiertos y hacer cada instante más cálido y ameno, sin duda no podría haber elegido un mejor lugar para desarrollar mi tesis, gracias por todas las risas y buenos momentos compartidos.

A mis compañeros de U, aquellos con los que compartí desde el primer año y a mi grupo de amigas las MMA, gracias por apoyarme cada vez que lo necesité y por compartir tantas anécdotas juntas, espero que estos años hayan sido solo el inicio de una eterna amistad.

A mi compañera, amiga y futura colega, Daniela Norambuena, con quién hemos compartido sudor y lágrimas desde que cursamos QFII hasta ahora que somos tesisistas. Gracias amiga, somos la mejor dupla, sin ti todo hubiera sido más difícil y aburrido, deseo lo mejor para ambas desde ahora en adelante, que terminemos con broche de oro esta etapa y que nos espere un próspero futuro lleno de éxitos.

A mis amigos de la vida, aquellos que siguen estando a mi lado pese al transcurso del tiempo, gracias por tan lindos años de amistad. Especialmente, quiero dirigir mis más sinceros agradecimientos a mi amiga Camila Fara, que en este último tiempo más que una amiga se convirtió en una hermana, me faltará vida para agradecer todo lo que has hecho por mí, gracias por tanto.

Por último, agradecer a proyectos FONDECYT 1150855, ECOS CONICYT C15E04, y FONDEQUIP EQM 120169 por colaborar con el desarrollo de mi tesis.

RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud clasificó a mercurio dentro de los 10 elementos químicos más peligrosos por su alta toxicidad neuronal, afectando principalmente a embarazadas y niños. La principal vía de exposición a mercurio es el consumo de pescados contaminados, los cuales también acumulan selenio, un oligoelemento esencial con efecto neuroprotector que actúa contra la toxicidad de mercurio. El objetivo general del presente estudio es evaluar el nivel de riesgo a la salud humana por exposición a mercurio mediante el consumo de pescados comerciales de diferentes formatos, obtenidos aleatoriamente en un supermercado de Valparaíso. Se determinó la concentración de mercurio y selenio en 16 muestras de pescados, congelados y en conservas, usando espectrometría de fluorescencia atómica por vapor frío y previa generación de hidruros respectivamente, para luego calcular algunos índices de riesgo. Todos los pescados cumplieron con la normativa chilena establecida para mercurio, no así para selenio. La albacora presentó la mayor concentración de mercurio ($4,8 \pm 0,2 \mu\text{g/g}$ peso seco) sobrepasando el límite establecido a nivel internacional, además según los resultados obtenidos, es el pescado que representa mayor riesgo a la salud humana, presentando una proporción molar de 0,8, un *Valor de Selenio Beneficioso para la Salud* de -8,3 y una Ingesta Semanal Tolerable Provisional mayor a la recomendada para metilmercurio en pescados ($1,6 \mu\text{g/kg/semana}$). Además, según la Ingesta Semanal Tolerable Provisional, el consumo de albacora, atún, reineta y congrio dorado podría ser de alto riesgo principalmente en niños.

ABSTRACT

The World Health Organization classified mercury as one of the 10 most dangerous chemical elements due to its high neuronal toxicity, affecting mainly pregnant women and children. The main route of mercury exposure is the consumption of contaminated fish, which also accumulate high amounts of selenium, a trace essential element with a neuroprotective effect that acts against the toxicity of mercury. The main objective of this study is a human health risk assessment related with mercury exposure through the consumption of different formats of commercial fish obtained randomly in a supermarket at Valparaíso city. The concentration of mercury and selenium was determined in sixteen fish samples, frozen and canned format, were analyzed by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry and cold vapor atomic fluorescence spectrometry to determine selenium and mercury concentrations, respectively, and some risk indices were calculated with them. All the fish complied with the Chilean regulations established for mercury, but not for selenium. Albacore presented the highest concentration of mercury ($4.8 \pm 0.2 \mu\text{g} / \text{g}$ ps), exceeding the international limit, and according to the results it is the fish that represents the greatest risk to the human health, with a molar ratio of 0.8, a *Selenium Health Benefit Values* of -8.3 and a Provisional Tolerable Weekly Intake greater than that recommended for methylmercury in fish ($1.6 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{week}$). In addition, according to the Provisional Tolerable Weekly Intake, the consumption of albacore, tuna, reineta and golden conger could be of high risk mainly in children.

Lista de abreviaturas

- Hg: mercurio
- CH_3Hg^+ : metilmercurio
- Hg^0 : mercurio elemental
- Hg^+ : mercurio monovalente
- Hg^{+2} : mercurio divalente
- $\text{C}_2\text{H}_5\text{Hg}^+$: etilmercurio
- $\text{C}_6\text{H}_5\text{Hg}^+$: fenilmercurio
- CH_3HgCH_3 : dimetilmercurio
- Se: selenio
- SeO_3^{-2} : selenito
- SeO_4^{-2} : selenato
- Se^0 : selenio elemental
- SeCys: selenocisteína
- SeMet: selenometionina
- GPx: glutatión peroxidasa
- NaBH_4 : borhidruro de sodio
- NaOH: hidróxido de sodio
- HCl: ácido clorhídrico
- $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$: cloruro de estaño dihidratado
- μg : microgramo
- mg: miligramo
- nmol: nanomol
- g: gramos
- kg: kilogramo
- L: Litro
- mL: mililitro
- p.s.: peso seco

- p.h.: peso húmedo
- °C: grados Celsius
- v/v: volumen/volumen
- p/v: peso/volumen
- CV-AFS: Espectrometría de fluorescencia atómica por vapor frío
- HG-AFS: Espectrometría de fluorescencia atómica por generación de hidruros
- ISTP: Ingesta Semanal Tolerable Provisional
- HBV_{Se}: Selenium Health Benefit Values o Valor de Se beneficioso para la Salud
- Ds: desviación estándar
- \bar{x} : promedio
- CV: coeficiente de variación
- ppb: partes por billón
- ppm: partes por millón
- FAO: Food and Agriculture Organization/ Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- MINSAL: Ministerio de Salud
- RSA: Reglamento Sanitario de Alimentos
- FDA: Food and Drug Administration/ Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
- FNB: Food And Nutrition Board/ Junta de Alimentos y Nutrición
- JECFA: Joint Expert Committee on Food Additives/ Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos
- CXS: Codex Alimentarius
- IDR: Ingesta Diaria Recomendada
- DDR: Dosis Diaria de Referencia

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	1
I.1. Mercurio.....	1
I.1.1. Formas químicas de mercurio.....	1
I.1.2. Ciclo biogeoquímico del mercurio.....	1
I.1.3. Toxicocinética de mercurio.....	3
I.1.4. Normativa en Chile y el mundo.....	5
I.1.4.1. Normas internacionales que regulan la concentración de mercurio en los alimentos.....	5
I.1.4.2. Normas en Chile que regulan la concentración de mercurio en los alimentos.....	6
I.2. Relación existente entre selenio y mercurio.....	7
I.3. Selenio.....	7
I.3.1. Formas químicas de selenio	7
I.3.2. Ciclo biogeoquímico del selenio.....	8
I.3.3. Rol biológico de selenio	8
I.3.4. Toxicocinética de selenio	9
I.3.5. Ingesta de selenio recomendada en Chile y el mundo.....	10
I.3.5.1. Recomendación internacional.....	10
I.3.5.2. Recomendación en Chile.....	10
I.3.6. Normativa en Chile y el mundo.....	10
I.3.6.1. Normas internacionales que regulan la ingesta de selenio	10
I.3.6.2. Normas en Chile que regulan la concentración de selenio en los alimentos.....	11
I.4. Fundamentos teóricos de los métodos analíticos.....	11
I.4.1. Digestión ácida por vía húmeda con microondas.....	11
I.4.2. Espectrometría de fluorescencia atómica por vapor frío (CV-AFS).....	12
I.4.2. Espectrometría de fluorescencia atómica por generación de hidruros (HG-AFS).....	13

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
III. HIPÓTESIS.....	15
IV. OBJETIVOS.....	16
IV.1. Objetivo general.....	16
IV.2. Objetivo específico	16
V. METODOLOGÍA.....	17
V.1. Materiales, reactivos y material certificado.....	17
V.2. Equipos e instrumentos.....	18
V.3. Procedimiento experimental.....	19
V.3.1. Selección de las muestras.....	19
V.3.2. Pretratamiento de las muestras.....	20
V.3.3. Digestión de las muestras.....	20
V.3.3.1. Digestión de las muestras para la determinación de Hg total.....	20
V.3.3.2. Digestión de las muestras para la determinación de Se total.....	21
V.3.4. Determinación de la concentración total de Hg y Se.....	22
V.3.4.1. Determinación de Hg Total por CV-AFS.....	22
V.3.4.2. Determinación de Se Total por HG-AFS.....	23
V.4. Validación de la metodología analítica.....	24
V.4.1. Linealidad.....	24
V.4.2. Límite de detección (L.D.) y Límite de cuantificación (L.C.).....	24
V.4.3. Sensibilidad	25
V.4.4. Precisión Intermedia	25
V.4.5. Exactitud del método.....	25
V.5. Análisis de resultados	26
V.5.1. Expresión de resultados.....	26
V.5.2. Estimación de parámetros para evaluar el riesgo por exposición a mercurio.....	27
V.5.2.1 Cálculo de la proporción molar Se:Hg.....	27
V.5.2.2. Cálculo del Selenium Health Benefit Values (HBVSe).....	27
V.5.2.3. Cálculo de la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ISTP).....	27

VI. RESULTADOS Y DISCUSIONES	28
VI.1. Determinación de parámetros analíticos.....	28
VI.1.1. Rango de Linealidad.....	28
VI.1.2. Límite de detección (L.D.) y Límite de cuantificación (L.C.).....	29
VI.1.3. Sensibilidad	30
VI.1.4. Precisión Intermedia	30
VI.1.5. Exactitud del método.....	31
VI.2. Determinación de mercurio y selenio total en muestras de pescados comerciales.....	32
VI.2.1. Concentración total de Hg en pescados comerciales congelados y en conservas.....	33
VI.2.2. Concentración total de Se en pescados comerciales congelados y en conservas.....	36
VI.3. Evaluación del riesgo por exposición a mercurio mediante el consumo de pescados comerciales.....	39
VI.3.1. Determinación de la proporción molar Se:Hg.....	40
VI.3.2. Determinación del HBVSe (Selenium Health Benefit Values).....	43
VI.3.3. Cálculo de la Ingesta semanal tolerable provisional de mercurio (ISTP).....	44
VII. CONCLUSIONES	48
VIII. PROYECCIONES Y RECOMENDACIONES.....	49
IX. BIBLIOGRAFÍA	50
ANEXO 1.....	56
ANEXO 2.....	57
ANEXO 3.....	58

I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

I.1. Mercurio

Mercurio (Hg) es un elemento químico de número atómico 80 y peso atómico 200,59 g/mol. Es un metal pesado que a temperatura ambiente se encuentra en estado líquido, tiene la capacidad de emitir vapores desde los 18°C y a medida que asciende la temperatura se convierte en un gas tóxico, inodoro e incoloro (Avella y Vides, 2009). Ebulle a 356,72°C, tiene una presión de vapor de 14 mg/m³ a 20°C, es insoluble en agua, soluble en lípidos y un buen conductor de la electricidad, pero no así del calor (Yarto, Gavilán y Castro, 2004).

I.1.1. Formas químicas de mercurio

Las formas inorgánicas de mercurio pueden encontrarse en distintos estados de oxidación, ya sea, monovalente (Hg⁺), divalente (Hg⁺²) o elemental (Hg⁰). Cuando el mercurio reacciona con el carbono forma compuestos orgánicos como metilmercurio (CH₃Hg⁺), etilmercurio (C₂H₅Hg⁺), fenilmercurio (C₆H₅Hg⁺) y dimetilmercurio (CH₃HgCH₃) (González et al., 2014).

I.1.2. Ciclo biogeoquímico del mercurio

El ciclo del Hg se refiere a los múltiples y complejos intercambios entre la hidrósfera, atmósfera, biósfera, pedósfera y litósfera, entre diversos estados físicos (sólido, líquido o gas), y diferentes especies químicas (inorgánica, orgánica, reducida u oxidada), que controlan su origen y destino (Molina et al., 2010).

Hg es un elemento contaminante que se distribuye entre los distintos ecosistemas. Su concentración, transformación, acumulación, movilidad y especiación dependen de las características físico-químicas presentes en el medioambiente, como el pH, el potencial redox, la presencia de ligandos y sus características orgánicas o inorgánicas. Las vías de transformación de Hg en ecosistemas acuáticos se ilustran en la **Figura 1**.

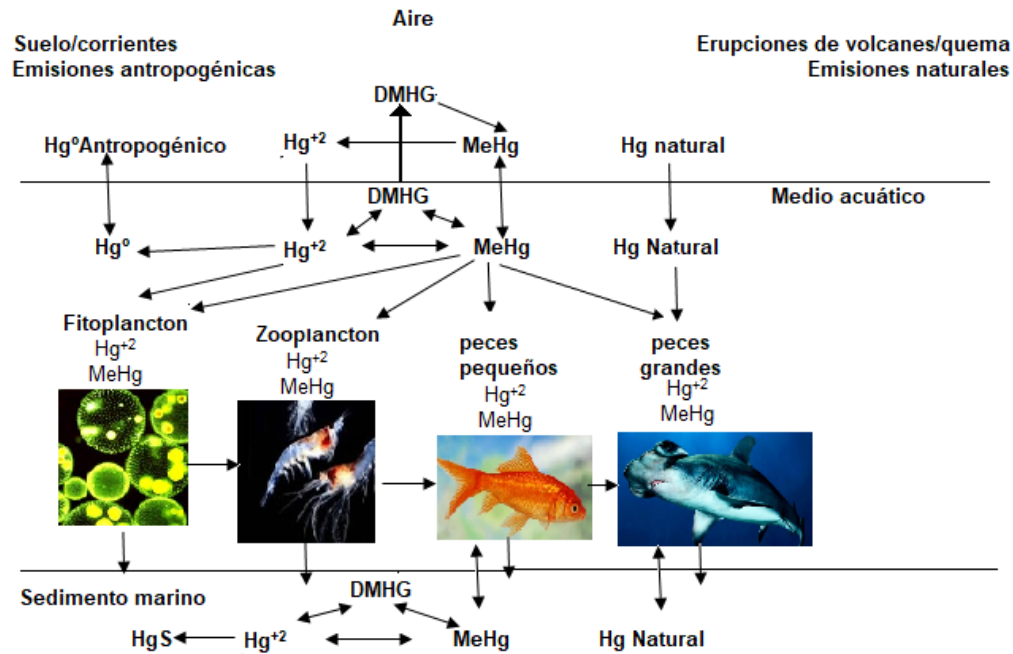


Figura 1: Vía de transformación del mercurio en ecosistema acuático. DMHG: dimetilmercurio; MeHg: metilmercurio, Hg^{+2} : mercurio divalente; HgS: cinabrio; Hg^0 : mercurio elemental.

Fuente: Adaptado de León & Peñuela, 2011.

El Hg atmosférico puede ser transportado largas distancias y retornar a los ecosistemas acuáticos y/o terrestres en forma de lluvia (García, 2010).

En la corteza terrestre, las bacterias sulfato reductoras forman CH_3Hg^+ a partir de Hg^{+2} mediante diversos procesos (Revis, Osborne, Holdsworth y Hadden, 1990). Los microorganismos aeróbicos o anaeróbicos metilan el Hg en sedimentos y suelos para formar CH_3Hg^+ . La formación de este se ve favorecida cuando la concentración de Hg es alta y el pH es bajo (Nriagu, 1979).

En ecosistemas acuáticos, el Hg^0 es levemente disuelto y reemitido a la atmósfera, por lo que Hg^{+2} es la forma dominante capaz de conformar ligandos inorgánicos y orgánicos, como CH_3Hg^+ que atraviesa fácilmente las barreras biológicas entre los seres vivos y el ambiente (Boudou y Ribeyre, 1997). Cerca del 90% del contenido de Hg en los peces se encuentra en forma de CH_3Hg^+ unido a proteínas (González, et al., 2014), el cual se bioacumula y biomagnifica en los organismos acuáticos incorporándose en la cadena trófica alimentaria, esto significa que la concentración

de CH_3Hg^+ aumenta en los organismos a medida que el nivel trófico de la cadena asciende (González, et al., 2014).

Los peces asimilan el Hg en las branquias, el recubrimiento cutáneo y el tracto digestivo, y lo eliminan principalmente por vía urinaria o fecal (Molina et al., 2010). La concentración de CH_3Hg^+ es mayor en sistemas acuáticos que terrestres, predominando en aguas dulces, ya que en estas la metilación ocurre principalmente a bajas concentraciones de oxígeno (Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, 2002). En cambio, en sistemas de aguas saladas las altas concentraciones de sulfuro inhiben la metilación (Wiener, Krabbenhoft, Heinz & Scheuhammer, 2003).

I.1.3. Toxicocinética de mercurio

Luego de la masiva intoxicación por la descarga de Hg en una planta de acetaldehído en Minamata (Japón) en la década de 1950 (León y Peñuela, 2011), la población ha tomado conciencia de los riesgos a la salud y el medioambiente que conlleva la exposición a este metal, considerado un contaminante bioacumulable, persistente y global (Chen et al., 2015).

Las especies de Hg orgánico se consideran más tóxicas que su forma elemental, siendo el CH_3Hg^+ la fuente más común de exposición por medio del consumo de pescados y mariscos contaminados (León y Peñuela, 2011).

El CH_3Hg^+ se puede absorber hasta en un 95% en el intestino, pasando a la sangre en una proporción de 20 (hematíes)/L (plasma), alcanzando una vida media larga de 44-80 días (González et al., 2014).

Antiguamente se creía que la amplia distribución tisular de CH_3Hg^+ se debía a su lipofilicidad, sin embargo, nuevos estudios demuestran que su carga catiónica y su capacidad de formar complejos hidrosolubles con proteínas (péptidos, glutatión reducido y aminoácidos) por medio de grupos tiol (-SH), facilitan su movilidad a través de los compartimentos y la entrada de estos complejos a las células endoteliales (González et al., 2014). Cuando CH_3Hg^+ se une a cisteína, forma una molécula similar a metionina, tal como muestra la **Figura 2**, lo que le permite entrar

a las células por transportadores de aminoácidos neutros LAT1 y LAT2 (Simmons-Willis, Koh, Clarkson y Ballatori, 2002).

De esta forma CH_3Hg^+ puede atravesar todos los tejidos, incluyendo la barrera hematoencefálica y la placenta, por lo que puede causar efectos teratogénicos a nivel cerebral, alterando la migración neuronal, la estratificación de neuronas corticales y la organización de núcleos cerebrales (Raimann, Rodríguez, Chávez, y Torrejón 2014).

La neurotoxicidad por CH_3Hg^+ se puede explicar por varios mecanismos de acción y sus efectos en el Sistema Nervioso Central (SNC) son múltiples, ya que también forma complejos con homocisteína, metalotioneínas, glutatión y albúmina (Vendrell, 2006). Además, puede alterar el equilibrio entre especies prooxidantes y antioxidantes.

Por otro lado, CH_3Hg^+ también tiene efectos cardiovasculares, causando dislipidemia, aterosclerosis u otras afecciones de este tipo, lo cual se debe a la inactivación de enzimas (superóxido dismutasa, catalasa) y a la alta afinidad de este compuesto por moléculas antioxidantes (González et al., 2014).

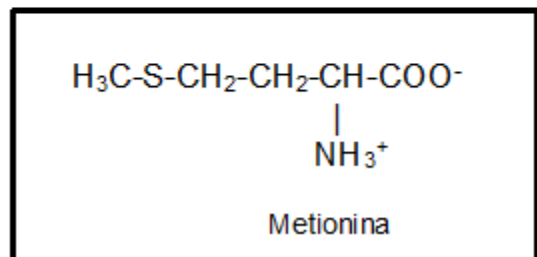
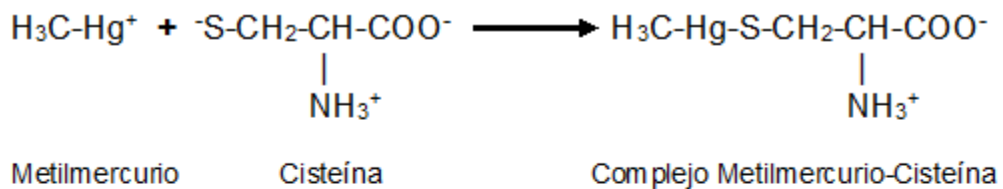


Figura 2. El catión metilmercurio se adhiere al ligando tiol de la cisteína, para formar un complejo que imita la estructura de la metionina.

Fuente: (León y Peñuela, 2011)

I.1.4. Normativa en Chile y el Mundo.

I.1.4.1. Normas internacionales que regulan la concentración de mercurio en alimentos

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) junto a la Organización Mundial de la Salud (OMS) establecieron en 1956 el Comité Mixto de Expertos en Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (JECFA), el cual se reúne regularmente para actualizar las normas internacionales sobre la inocuidad y la calidad de los alimentos establecida a través del Codex Alimentarius (CXS 193-1995). Los límites máximos de CH_3Hg^+ permitidos en pescados establecidos por la FAO/OMS se muestran en la **Tabla 1**.

Además, en el Codex Alimentarius también se establece la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ISTP) para Hg inorgánico y CH_3Hg^+ , que se informan en la **Tabla 2**. El ISTP representa la exposición humana semanal permisible a contaminantes mediante el consumo de alimentos.

Tabla 1. Concentraciones máximas de metilmercurio (CH_3Hg^+) permitidas en pescados establecidas en el Codex Alimentarius.

Tipos de peces	Concentración máxima permitida (mg/kg= $\mu\text{g/g}$ p.h. ^a)	Concentración máxima permitida (mg/kg= $\mu\text{g/g}$ p.s. ^{b,c})
Todos, excepto depredadores	0,5	1,9
Depredadores	1	3,9

^ap.h.: peso húmedo;

^bp.s.: peso seco.

^cCalculado considerando un promedio de humedad en peces grasos y magros de 74,2%.

Fuente: (FAO/OMS, 2017)

Tabla 2. *Ingesta Semanal Provisional Tolerable (ISTP) para mercurio inorgánico y metilmercurio (CH_3Hg^+) recomendada en el Codex Alimentarius.*

Sustancia	ISTP $\mu\text{g}/\text{Kg}$ peso corporal/semana
Mercurio inorgánico	4
Metilmercurio	1,6

Fuente: (FAO/OMS, 2017)

Actualmente la ISTP para Hg inorgánico se considera aplicable al total de la exposición alimentaria a mercurio a partir de otros alimentos distintos a pescados y mariscos. Para la exposición alimentaria a mercurio de estos alimentos, deberá aplicarse la ISTP previamente establecida para CH_3Hg^+ (FAO/OMS, 2017).

I.1.4.2. Normas en Chile que regulan la concentración de mercurio en alimentos.

Actualmente el Ministerio de Salud (MINSAL) estableció un valor límite para las concentraciones de Hg en productos marinos como pescados y mariscos, lo cual está estipulado por el Reglamento Sanitario de Alimentos (RSA), D.S. N° 977/96, artículo 160 y se muestran a continuación en la **Tabla 3**.

Tabla 3. *Límites máximos de concentración de mercurio en pescados y mariscos (RSA).*

Alimentos	Límite máximo (mg/kg producto final)	Límite máximo (mg/kg peso seco) ^a
Conservas de pescados y mariscos	1,0	3,9
Pescado fresco, enfriado y congelado talla pequeña	0,5	1,9
Pescado fresco, enfriado y congelado talla grande	1,5	5,8

^aCalculado considerando un promedio de humedad en peces grasos y magros de 74,2%
Fuente: (MINSAL, 2017).

I.3. Relación existente entre selenio y mercurio

Se ha demostrado que “Se” además de contribuir en la prevención de enfermedades, también protege contra los efectos tóxicos de CH_3Hg^+ (Park y Mozaffarian, 2010). Esto sería posible gracias a diversos mecanismos, como la desintoxicación de Hg por formación de complejos, o por medio de efectos antioxidantes, obtenidos por estímulo de la actividad de GPx o por un aumento de la síntesis de otras selenoproteínas (Bjørklund et al., 2017). Pese a lo anterior, en la actualidad aún no existe un consenso sobre la cantidad de “Se” necesaria para reducir el riesgo de toxicidad por Hg (Burger y Gochfeld, 2013).

Para muchos, el riesgo de la exposición a CH_3Hg^+ depende de la relación molar Se:Hg, por lo cual en el presente trabajo, la determinación de dicha relación puede significar una herramienta útil para medir el riesgo al cual se expone la población al ingerir productos de origen marino de distintas marcas comerciales que se puedan encontrar a la venta en supermercados, en distintos formatos, ya sea en conserva, congelados o enlatados.

I.2. Selenio

El selenio (Se) en su estado puro se puede observar de color gris-metálico o incluso en forma de cristales negros. Es un metaloide de número atómico 34 y pertenece al grupo 16 en la tabla periódica, su punto de fusión es de 271°C y ebulle a los 685°C (Wilber, 1980). Fue descubierto en 1817 por el químico sueco Jöns Jacob Berzelius (Bjørklund et al., 2017), sin embargo, recién a fines de la década de los 50 fue reconocido como un oligoelemento esencial en la dieta humana (Sánchez, 2009).

I.2.1. Formas químicas de Selenio

En la naturaleza se pueden encontrar formas inorgánicas de selenio, como selenito (SeO_3^{-2}), selenato (SeO_4^{-2}) y selenio elemental (Se^0). O bien, formas orgánicas, como compuestos metilados de selenio (dimetilselenio, dimetildiselenio, otros.), selenoazúcares o selenoaminoácidos (selenocisteína (SeCys) y selenometionina (SeMet)), que forman parte de la estructura de las selenoproteínas (Sánchez, 2009).

I.2.2. Ciclo biogeoquímico del selenio

El comportamiento de “Se” ambiental depende de varios factores como: el pH, la temperatura, la presencia de minerales y la actividad microbiológica y antropogénica. El ciclo del “Se” comienza cuando las plantas y algas lo absorben desde el suelo, para luego incorporarlo a sus proteínas tisulares (Suarez y Michelsen, 2004).

“Se” puede movilizarse en el ecosistema por deposición de las lluvias en los suelos o por desgaste de estos. Las regiones volcánicas, los suelos ricos en metales (como hierro o aluminio) y aquellos con mayor acidez, tienden a presentar bajas concentraciones de selenio, ya que este se encuentra principalmente como selenito, el cual tiene menor solubilidad y alcanza menor disponibilidad en las plantas debido a que requiere transporte activo (Matamoros, 2002). Ocurre lo contrario cuando el pH aumenta, ya que el “Se” se oxida y se presenta como selenato, el cual alcanza una mayor disponibilidad en las plantas.

Las bacterias anaeróbicas tienen la capacidad de reducir SeO_4^{-2} en SeO_3^{-2} , y este último en Se^0 , en el proceso de respiración (Oremland et al., 1989) o bien de detoxificación (Lortie, Gould, Rajan, McCready y Cheng, 1992).

Los seres humanos y los animales pueden incorporar “Se” del medioambiente por dos vías, inhalación o ingestión, siendo esta última la más importante (Bennett, 1983). “Se” es acumulado en tejidos corporales e incorporado a la cadena alimenticia, siendo biomagnificado en niveles superiores. Esta biomagnificación comienza cuando los animales consumen plantas o seres invertebrados, como zooplancton o bivalvos, que contienen altos niveles de este elemento.

I.2.3. Rol biológico de selenio

“Se” es un oligoelemento esencial en la dieta del ser humano, implicado en diversas funciones biológicas en el organismo, actuando en la prevención de lesiones vasculares, musculares y hepáticas (Combs, 2001).

Las principales fuentes alimentarias donde se encuentra este oligoelemento son: las nueces, los cereales, los huevos, los mariscos y los pescados (Sánchez, 2009).

SelMet se sintetiza en plantas, (Papp, Lu, Holmgren y Khanna, 2007), en cambio, SelCys se encuentra en productos de origen animal y es la responsable de la actividad biológica de las selenoproteínas. Ambas son bien absorbidas a nivel intestinal (Sánchez, 2009).

Con el paso de los años y el avance de la ciencia, se descubrió que “Se” es un elemento esencial para el funcionamiento de una importante enzima antioxidante llamada glutatión peroxidasa (GPx) (Combs, 2001). Actualmente se reconocen 5 isoformas de GPx, además de varias otras selenoenzimas (Combs, 2001).

Las selenoproteínas tienen variadas funciones, tales como: combatir el estrés oxidativo disminuyendo radicales libres e hidroperóxidos; regular la función de la glándula tiroides mediante el catabolismo de las hormonas tiroideas; regular el estado redox de la vitamina C (Sánchez, 2009).

Una deficiencia grave de “Se” en el organismo puede causar daño cerebral irreversible, debido a que este elemento es particularmente importante para las funciones del SNC. Es por esto, que cuando cesan los niveles de “Se” en el organismo, la cantidad total de este se reduce sustancialmente en otros órganos como hígado, riñón y pulmón, pero no en el cerebro (Bjørklund et al., 2017).

I.2.4. Toxicocinética de selenio

Así como la deficiencia de “Se” puede causar daños graves a la salud, el consumo en exceso de este micronutriente puede provocar intoxicación, llamada *selenosis* (Gutiérrez et.al., 2008), que se manifiesta mediante la pérdida y fragilidad de las uñas, problemas gastrointestinales, erupción cutánea y anomalías del sistema nervioso (Olmedo et al., 2013).

La absorción de “Se” puede ocurrir por vía oral, inhalatoria o dérmica, aunque esta última es tan escasa que resulta ser relativamente insignificante (Palazón, 2016).

Luego de la ingesta oral de “Se”, este es absorbido en el tracto gastrointestinal, principalmente en el duodeno y el yeyuno proximal (Amaya, Vilchez, Campos, Sánchez y Pereira, 2012). La velocidad y el grado de absorción dependen de varios

factores, observándose en animales y en humanos que las formas orgánicas de Se logran absorberse mejor que las inorgánicas (Palazón, 2016).

En el organismo, “Se” suele acumularse en órganos como riñones, hígado, testículos y músculo esquelético, siendo este último el que acumula cerca del 50% del selenio corporal (Manzanares, 2007).

“Se” es excretado mayoritariamente por medio de la orina y las heces, aunque también puede eliminarse a través del sudor y el aire expirado (Palazón, 2016).

I.2.5. Ingesta de selenio recomendada en Chile y el Mundo.

1.2.5.1. Recomendación Internacional

La Junta de Alimentos y Nutrición (*Food And Nutrition Board (FNB)*) estableció una Ingesta Diaria Recomendada (IDR) para “Se” de 55 µg para hombres y mujeres mayores de 14 años, basándose en el criterio de satisfacer las necesidades de la mayoría de las personas sanas (97-98%) según edad y sexo (Institute of Medicine, 2000). En el **ANEXO 2** se describen las IDR para los distintos grupos etarios.

1.2.5.2. Recomendación en Chile

En Chile la Resolución exenta 394/2002 establece que la Dosis Diaria de Referencia (DDR) para “Se” es de 70 µg/día. La DDR es la cantidad diaria recomendada para cubrir las necesidades nutricionales de una persona (MINSAL, 2002).

I.2.6. Normativa en Chile y el Mundo

I.2.6.1. Normas internacionales que regulan la ingesta de selenio

La FNB establece un nivel de ingesta máxima tolerable para “Se” de 400 µg/día para hombres y mujeres mayores de 14 años (IOM, 2000). En el **ANEXO 3** se detallan los niveles establecidos para los distintos grupos etarios.

I.2.6.2. Normas en Chile que regulan la concentración de selenio en los alimentos.

El artículo 160 del Reglamento Sanitario de los Alimentos (MINSAL, 2017) establece los límites máximos permitidos de “Se” en los alimentos en Chile, los cuales se detallan en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Límites de selenio permitidos en alimentos chilenos.

Alimentos	Límite Máximo (mg/kg de producto final)	Límite Máximo (mg/kg peso seco) ^a
En productos sólidos	0,30	1,2
En productos líquidos	0,05	
Agua mineral de mesa	0,01	

^aCalculado considerando un promedio de humedad en peces grasos y magros de 74,2%
Fuente: (MINSAL, 2017).

I.4. Fundamentos teóricos de los métodos analíticos

I.4.1. Digestión ácida por vía húmeda con microondas

La mayoría de los métodos analíticos utilizados para determinar niveles traza de metales, requieren que la muestra se encuentre en disolución. Para disolver las muestras de pescado se requieren reactivos fuertes y un tratamiento adecuado, que garantice la disolución completa de todo el analito de interés para el análisis, sin contaminar la muestra en el proceso. Para la determinación de Hg hay que tener especial cuidado durante la digestión debido a que es altamente volátil y su concentración es muy baja. Cuando se trata de muestras orgánicas, es necesario destruir la matriz para que se libere el analito, lo cual se logra mediante una reacción de oxidación por vía húmeda usando reactivos ácidos (Vandecasteele y Block, 1993).

La digestión en microondas cuenta con un sistema que permite el calentamiento gradual de varias muestras simultáneamente, facilitando la disolución de estas y

reduciendo el tiempo del proceso. Además, el hecho de que la disolución se haga en vasos cerrados reduce la posibilidad de contaminación de las muestras (Martínez y López, 2017).

I.4.2. Espectrometría de fluorescencia atómica por vapor frío (CV-AFS)

Esta técnica permite una determinación cuantitativa de trazas de metales como Hg. Se utiliza el término “vapor frío” debido a que no es necesario el uso de una llama para generar energía térmica, ya que este analito se encuentra como un elemento neutro en fase gaseosa a temperatura ambiente (García, 2010).

El equipo utilizado cuenta con una lámpara que usa fotones de alta energía que causan la excitación de la muestra liberando fotones de menor energía. El equipo mide la fluorescencia emitida por el decaimiento de los átomos excitados. La intensidad de la fluorescencia aumenta proporcionalmente con la concentración de analito en la muestra.

Para llevar a cabo la cuantificación de Hg, es necesario preparar una solución de cloruro estanoso (SnCl_2) que actúa reduciendo cualquier forma de Hg contenida en la muestra líquida en Hg^0 , tal como indica la reacción **(1)**. El vapor de Hg^0 es conducido por una corriente de gas Argón (Ar) hasta el camino óptico del espectrómetro.



Para mejorar la eficiencia de la detección, se recomienda agregar un exceso de oxidante a la muestra antes de agregar la solución reductora, así la mayor parte de Hg estará en su forma Hg^{+2} (Tsalev, 1995). La cuantificación por fluorescencia atómica requiere la comparación con una curva de calibrado preparada a partir de soluciones estándar de concentración conocida (PSAnalytical, 1997).

I.4.3. Espectrometría de fluorescencia atómica por generación de hidruros (HG-AFS)

Este método requiere de una llama de difusión de Hidrógeno y Argón como sistema de atomización. La generación de hidruros se produce a partir de una solución de NaBH_4 en medio ácido. Cuando el hidruro alcanza el atomizador se produce la transformación en vapor atómico (Stripeikis, 2002).

Esta técnica se puede aplicar para la determinación de distintos metales como selenio, bismuto, telurio, arsénico y antimonio (Moscoso, 2003). “Se” solo en su estado de oxidación +4 es capaz de generar hidruros (Stripeikis, 2002). NaBH_4 no tiene la capacidad de reducir Se^{+6} por lo que para lograr la cuantificación total de este metaloide es necesario realizar una pre-reducción de las muestras con HCl mediante calentamiento por un tiempo determinado, por lo cual este es uno de los pasos críticos en el tratamiento previo de las muestras (Ruiz de Cenzano, 2017).

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a los cuestionamientos que surgen por parte de la población ante las recomendaciones realizadas por la FAO/OMS que promueven el consumo de productos acuícolas por su elevado contenido de proteínas y ácidos grasos omega 3, considerando los potenciales efectos toxicológicos que tiene el metilmercurio presente en estos alimentos, es que se hace necesario realizar un análisis cuantitativo del contenido de mercurio total en productos de origen marino, congelados o en conservas, ampliamente vendidos en supermercados, para así verificar si efectivamente cumplen la normativa nacional e internacional establecida por el Ministerio de Salud y la FAO/OMS respectivamente, y asegurar la ingesta inocua de estos alimentos a los consumidores. Además, con el fin de realizar una evaluación del potencial riesgo toxicológico al cual se expone la población, se hace necesario determinar el porcentaje de contribución a la Ingesta Semanal Tolerable Provisional de metilmercurio considerando consumidores adultos y niños.

Por otro lado, gracias al conocido efecto protector de selenio sobre metilmercurio, demostrado desde hace décadas atrás, es que también se considera pertinente la determinación de este oligoelemento en los productos analizados, y así poder calcular otros parámetros, como la proporción molar de Se:Hg y el HBV_{Se} (*Selenium Health Benefit Value*), los cuales pueden ayudar a determinar qué especies de pescados son potencialmente más tóxicos al momento de consumirlos.

De esta forma, los antecedentes aportados en el siguiente estudio podrían brindar información importante a la población, tanto para ayudar a los consumidores a seleccionar de manera consiente los productos marinos congelados o en conservas que ofrecen los supermercados, como para incorporar las porciones semanales adecuadas en la dieta de niños y adultos, aprovechando de esta forma los beneficios a la salud que trae consigo el consumo de pescados.

III. HIPÓTESIS

En base a la información antes expuesta, se plantea como hipótesis que independiente del cumplimiento de la normativa establecida a nivel nacional e internacional, existe un potencial riesgo a la salud humana por exposición a mercurio mediante el consumo de pescados, lo cual depende de factores como: la especie de pescado, la concentración de selenio acumulada en este, la cantidad de pescado consumida y la susceptibilidad de las personas que lo consumen.

IV. OBJETIVOS

IV.1. Objetivo General:

Evaluar el nivel de riesgo a la salud humana por exposición a Hg mediante el consumo de pescados comerciales de diferentes formatos, obtenidos en un muestreo aleatorio en supermercado.

IV.2. Objetivos Específicos:

1. Validar la metodología analítica para la determinación de Hg y Se total mediante espectrometría de fluorescencia atómica por vapor frío (CV-AFS) y previa generación de hidruros (HG-AFS) respectivamente.
2. Determinar la concentración de Hg y Se total en muestras de pescados de diferentes formatos obtenidos por muestreo aleatorio en un determinado supermercado.
3. Evaluar el cumplimiento de las normas nacionales e internacionales con respecto a los límites máximos permitidos para el contenido total de Se y Hg en pescados.
4. Evaluar el nivel de riesgo a la salud humana por exposición a Hg, mediante la estimación y análisis de índices seleccionados: proporción molar Se:Hg; Valor de Se Beneficioso a la Salud (Selenium Health Benefit Values (HBV_{Se})) y la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ISTP).

V. METODOLOGÍA

V.1. MATERIALES, REACTIVOS Y MATERIAL CERTIFICADO

En la elaboración de las curvas de calibrado de cada analito se utilizó una solución patrón de Titrisol® Hg 1000 ± 2 mg/L y de Titrisol® Se 1000 ± 5 mg/L, ambos marca MERCK.

Para la cuantificación de Se y Hg total por HG-AFS y CV-AFS, respectivamente, se utilizaron los gases Argón, Hidrógeno y Aire sintético de pureza espectroscópica (AIR LIQUIDE de 99,999%).

Los reactivos utilizados en la digestión de las muestras, como ácido nítrico HNO_3 (65%), peróxido de hidrógeno H_2O_2 (30%) y ácido clorhídrico HCl (37%), fueron de calidad p.a. (MERCK). Por otro lado, los reactivos requeridos para llevar a cabo las técnicas de HG-AFS y CV-AFS, fueron Borohidruro de sodio (NaBH_4), Hidróxido de Sodio (NaOH) y Cloruro de Estaño dihidratado ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), todos de calidad p.a. marca MERCK.

Para la validación de la metodología analítica empleada en la determinación de "Se" se utilizó Material de Referencia Certificado de proteínas de pescado DORM-2 (NRC-CNRC) ($\text{Se}=1,40 \pm 0,09$ mg/kg) y para Hg se utilizó DORM-4 ($\text{Hg}=0,412 \pm 0,036$ mg/kg).

El agua utilizada en la preparación de las muestras y soluciones fue de calidad ultrapura, libre de materia orgánica, cuya conductividad fue de 18,2 M Ω , obtenida mediante el sistema de destilación marca Pobel modelo 710 710 y posterior desionización por medio del sistema ThermoScientific™ Barnstead™ modelo EasyPure™ (II).

Todo el material de vidrio y teflón utilizado fue lavado con abundante agua potable y detergente, posteriormente lavado tres veces con agua desionizada y luego sumergido en una solución de HNO_3 al 10% v/v. Al día siguiente, el material utilizado para la determinación de selenio se enjuagó tres veces más con agua ultrapura y se dejó secando en estufa a 40°C durante algunas horas, mientras que el material utilizado para la determinación de Hg fue enjuagado con agua

desionizada y sumergido de manera consecutiva en una solución de HNO_3 al 10% v/v y dos soluciones diferentes de HCl al 10% v/v. Cada lavado en ácido fue por períodos de aproximadamente 90 minutos y entre cada uno de ellos el material fue lavado tres veces más con agua desionizada. Finalmente, el material fue secado en estufa a 40°C .

V.2. EQUIPOS E INSTRUMENTOS

Las muestras recién obtenidas fueron conservadas en congelador Mademsa modelo MFV540B a -18°C hasta ser procesadas.

Para liofilizar las muestras se utilizó un liofilizador marca VirTis modelo Benchtop K 6KBTES.

Se utilizó una picadora marca THOMAS modelo TH-9010V para procesar las muestras antes y después del proceso de liofilización.

Se utilizó una balanza analítica marca Shimadzu modelo AUX220 para masar las muestras en viales de teflón. En cambio, para la preparación de la solución de NaBH_4 0,4% p/v en NaOH 0,5 % p/v y de la solución de SnCl_2 al 2% p/v en HCl al 10%, se utilizó una balanza granataria marca BEL Engineering ($\pm 0,01$ g).

El proceso de digestión se llevó a cabo en un Horno Microondas marca Milestone modelo ETHOS EASY con control automático de temperatura y rotor con vasos de Teflón.

En el proceso de pre-reducción de Se con HCl mediante calentamiento se utilizó una placa calefactora marca DragonLAB modelo MS-H280-PRO.

Para la determinación de Se total se empleó un equipo de fluorescencia atómica modelo Millenium Excalibur, mientras que para la determinación de Hg total se utilizó un equipo de fluorescencia atómica modelo Millenium Merlin, ambos marca PSAnalytical.

Para secar el material de vidrio y plástico se utilizó la estufa marca DRYING OVEN modelo DHG-9053A ($\text{RT} + 10^\circ\text{C} - 250^\circ\text{C}$)

V.3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

V.3.1. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Durante el mes de diciembre del año 2017 se seleccionó de forma aleatoria un total de 16 pescados comerciales encontrados en un determinado supermercado de la ciudad de Valparaíso. Por medio de este muestreo se obtuvieron productos congelados y en conserva, de distintas marcas comerciales y diferentes lugares de procedencia, asignándoles a cada uno un código de identificación, tal como indica la **Tabla 5**.

Una vez efectuada la compra, las muestras fueron trasladadas hasta el laboratorio de Química Analítica y Ambiental de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso.

Tabla 5. *Pescados comerciales obtenidos en un supermercado de Valparaíso clasificados según formato de venta, especie, código asignado y procedencia*

FORMATO DE VENTA	ESPECIE	CÓDIGO	PROCEDENCIA
TARROS EN CONSERVA	ATÚN	ATÚN-1	COLOMBIA (CARTAGENA)
	ATÚN	ATÚN-2	TAILANDIA
	ATÚN	ATÚN-3	ECUADOR (GUAYAQUIL)
	JUREL	JUREL-1	CHILE (CONCEPCIÓN)
PRODUCTOS CONGELADOS	ATÚN	ATÚN-4	CHILE (VALPARAÍSO)
	ALBACORA	ALBACORA-1	CHILE
	JUREL	JUREL-2	CHILE (CONCEPCIÓN)
	ALBACORA	ALBACORA-2	CHILE
	MERLUZA	MERLUZA	CHILE (CONCEPCIÓN)
	REINETA	REINETA	CHINA
	CONGRIO DORADO	CONGRIO DORADO	CHILE (PUERTO MONTT)
	SALMÓN	SALMÓN	CHILE (PUERTO MONTT)
	PANGASIUS	PANGASIUS	VIETNAM
	CORVINA	CORVINA	CHILE (PUERTO MONTT)
	ALASKA POLLOCK	ALASKA POLLOCK	CHINA
	TILAPIA	TILAPIA	CHINA

V.3.2. PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron congeladas a -18°C , trituradas y envasadas en frascos, que posteriormente fueron almacenados en congelador a -80°C , para luego liofilizarlas durante un período de 96 horas. Las muestras liofilizadas fueron pulverizadas, homogeneizadas y envasadas nuevamente en sus respectivos frascos, cada uno de ellos con la rotulación correspondiente para identificar la muestra contenida. Todos los frascos herméticamente cerrados con tapa y sellados con papel PARAFILM[®], fueron guardados en una bolsa de plástico con el fin de evitar que las muestras absorbieran humedad del ambiente.

V.3.3. DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS

Tanto para la determinación de Hg como de Se total, se llevó a cabo una digestión ácida de las muestras por triplicado, con el propósito de mejorar la confiabilidad de los datos obtenidos y detectar contaminación, ya sea de las muestras o de los reactivos utilizados en el tratamiento de estas. Los blancos tuvieron el mismo tratamiento que las muestras.

V.3.3.1. Digestión de las muestras para la determinación de Hg total

Se masaron aproximadamente 0,1250 g de muestra pulverizada en viales de teflón. Luego se realizó una pre-digestión ácida de las muestras, para lo cual se agregaron 4,5 mL de H_2O_2 al 30%, se dejó transcurrir 15 minutos y se adicionaron 4,5 mL de HNO_3 al 65%. Posteriormente se llevó a cabo la digestión de las muestras.

El microondas digestor fue programado para realizar solo un ciclo de tres etapas; la etapa de calentamiento, en la cual la temperatura y la potencia ascendieron gradualmente hasta alcanzar 180°C y 900 W, respectivamente, tardando 10 minutos en el proceso; la segunda etapa, en que las condiciones se mantuvieron estables por un período de 10 minutos; y la tercera etapa o etapa de enfriamiento de 25 minutos.

Las muestras digeridas se enfriaron a temperatura ambiente, se aforaron a 25 mL con agua ultra pura y se homogeneizaron. Posteriormente, se realizó la

determinación de Hg total por CV-AFS, para lo cual fue necesario realizar diluciones variables de cada muestra en tubos de 10 mL agregando 1 mL de HCl al 37% y agua ultrapura.

V.3.3.2. Digestión de las muestras para la determinación de Se total

Se masaron aproximadamente 0,2500 g de cada muestra pulverizada en viales de teflón y se realizó una pre-digestión ácida de cada una de las muestras, agregando 9 mL de HNO₃ al 65% y 1 mL de H₂O₂ al 30%, se dejaron bajo campana durante una hora y luego se taparon con PARAFILM® por 12 horas. Una vez transcurrido este tiempo se trasladaron las muestras al microondas donde se llevó a cabo la digestión. El microondas fue programado para realizar dos ciclos de tres etapas cada uno; la primera fue una etapa de calentamiento que demoró 15 minutos y consistió en un aumento gradual de la temperatura hasta llegar a los 180°C alcanzando una potencia de 1800 W; en la segunda etapa se mantuvieron estables las condiciones anteriores por un período de 15 minutos y la tercera etapa fue de enfriamiento, la cual tardó 25 minutos.

Las soluciones resultantes de la digestión se enfriaron a temperatura ambiente, se aforaron en matraces de 25 mL con agua ultrapura y se trasvasijaron en envases limpios de polietileno que luego fueron cerrados con tapa rosca.

Para poder cuantificar Se total por HG-AFS, se requiere reducir Se⁺⁶ en Se⁺⁴, por lo cual se realizó una pre-reducción de las muestras digeridas. Para esto se tomó una alícuota de 200 µL de cada muestra con 1 mL de HCl al 37% y 800 µL de agua ultrapura en tubos de vidrio. Posterior a esto, los tubos fueron ligeramente cerrados y calentados en placa calefactora hasta 92°C por 45 minutos. Transcurrido el tiempo, las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se trasvasijaron a matraces de aforo de 10 mL, adicionando 1 mL de HCl al 37% y agua ultrapura hasta el aforo. Luego cada matraz fue cerrado y agitado hasta homogeneizar la solución.

V.3.4. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN TOTAL DE Hg y Se

V.3.4.1. Determinación de Hg Total por CV-AFS

Para poder determinar la concentración total de Hg en las muestras fue necesario preparar una curva de calibrado utilizando una solución estándar de concentración conocida. Los rangos de concentración usados para la curva de calibrado se resumen en la **Tabla 6** y los parámetros instrumentales empleados para la determinación en la **Tabla 7**.

Tabla 6. Rango de concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) de la curva de calibrado utilizada en la determinación de Hg total.

Analito	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)							
Hg total	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5

Para el desarrollo de la técnica se preparó previamente:

- 1) Solución de HCl al 8% v/v
- 2) Solución reductora de SnCl_2 al 2% p/v con HCl al 10% v/v, desgasada con Argón 30 minutos antes de utilizar.

Tabla 7: Parámetros Instrumentales

Ganancia	100
Período de retardo (s)	15
Período de análisis (s)	40
Período de memoria (s)	35
Flujo de solución reductora SnCl_2/HCl (mL/min)	4,5
Flujo de HCl (mL/min)	9
Flujo de muestra (mL/min)	9
Presión de Argón (psi)	75
Presión de Hidrógeno (psi)	45
Longitud de onda (nm)	253,7

V.3.4.2. Determinación de Se Total por HG-AFS

Para la determinación de Se total se construyó una curva de calibrado utilizando una solución estándar de concentración conocida. Los rangos de concentración usados para la curva de calibrado se resumen en la **Tabla 8** y los parámetros instrumentales empleados para la determinación en la **Tabla 9**.

Tabla 8. Rango de concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$) de la curva de calibrado utilizada en la determinación de Se total.

Analito	Concentración ($\mu\text{g L}^{-1}$)						
	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1	1,5
Se total							

Además, para la generación de hidruros se utilizó:

- 1) Solución de HCl al 1,5 M.
- 2) Solución reductora de NaBH_4 al 0,75% p/v en NaOH al 0,2 % p/v.

Tabla 9. Parámetros Instrumentales.

Ganancia	100
Período de retardo (s)	15
Período de análisis (s)	30
Período de memoria (s)	30
Corriente primaria de lámpara (mA)	20,0
Corriente de aumento de lámpara (mA)	25,1
Flujo de solución reductora $\text{NaBH}_4/\text{NaOH}$ (mL/min)	4,5
Flujo de HCl (mL/min)	9
Flujo de la muestra (mL/min)	9
Presión de Argón (psi)	75
Presión de Hidrógeno (psi)	45
Longitud de onda (nm)	196,0

V.4. VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA

V.4.1. Linealidad (rango de trabajo): para evaluar estadísticamente la linealidad del rango de trabajo empleado en la determinación de los elementos, se calculó el estimador t_{cal} según la siguiente ecuación:

$$t_{cal} = \frac{|r| \cdot \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad (2)$$

Donde n corresponde al número de puntos de la curva de calibrado, r es el coeficiente de correlación y r^2 es el coeficiente de determinación. Si el valor de t_{cal} es mayor que $t_{tab(n-2)}$ (al 95% de probabilidad) se puede concluir que existe una correlación lineal significativa entre ambas variables (Feist, Mikula, Pytlakowska, Puzio y Buhl, 2008).

V.4.2. Límite de detección (L.D.) y Límite de cuantificación (L.C.): con el fin de tener una visión más clara de lo que realmente se puede cuantificar con la metodología utilizada, se determinaron diferentes límites: las **ecuaciones 3 y 4** consideran la desviación estándar de la señal del blanco de calibración (Ds_{bc}) (definición clásica de IUPAC) y las **ecuaciones 5 y 6** consideran la señal del blanco de digestión (Ds_{bd}). La m en las siguientes ecuaciones corresponde a la pendiente determinada mediante el programa OriginPro 8.

$$L.D.^a = \frac{3Ds_{bc}}{m} \quad (3) \quad L.C.^a = \frac{10Ds_{bc}}{m} \quad (4) \quad L.D.^b = \frac{3Ds_{bd}}{m} \quad (5) \quad L.C.^b = \frac{10Ds_{bd}}{m} \quad (6)$$

Además, se determinó un $L.D.^c$ y $L.C.^c$ referidos a la muestra considerando el tratamiento de estas, ya que así lo recomienda actualmente la IUPAC (Taverniers, Loose y Bockstaele, 2014; Thompson, Ellison y Wood, 2002).

V.4.3. Sensibilidad: Este parámetro hace referencia a la pendiente de la curva de calibrado respectiva.

V.4.4. Precisión Intermedia: Se evaluó mediante la lectura de la señal analítica obtenida a partir de soluciones patrones de Hg y Se preparadas y analizadas en distintos días. La validación de este parámetro se realizó a través de la evaluación del coeficiente de variación (**CV**), que depende de la desviación estándar (**Ds**) y del promedio de la señal analítica (\bar{X}), según la ecuación siguiente:

$$\%CV = \frac{Ds}{\bar{X}} \cdot 100 \quad (7)$$

Como criterio de aceptación el **%CV** debe ser inferior a **%CV_h** (**Tabla 10**), este último determinado por la ecuación de Horwitz (**ecuación 8**) donde **C** es la concentración del analito expresada en mg L⁻¹.

$$\%CV_h = 2^{(4-0,5\log C)} \quad (8)$$

Tabla 10: Criterio de aceptación de CV Horwitz

Concentración de Hg o Se		Criterio de Aceptación de CV de Horwitz (%CV _h)
µg L ⁻¹	mg L ⁻¹	
0,1	0,1 x 10 ⁻⁴	64,00
0,75	0,75 x 10 ⁻⁴	47,26
1,5	1,5 x 10 ⁻³	42,58

V.4.5. Exactitud del método: Se evaluó a través del sesgo (o porcentaje de error) de la determinación de la concentración de Se y Hg en el Material de Referencia Certificado por la National Research Council Canada (NRC) DORM-2 y DORM-4 respectivamente, los cuales presentan concentraciones de Se y Hg certificadas. Como criterio de aceptación del error se usó el estimador t_{cal} definido en la siguiente ecuación:

$$t_{cal} = \frac{|\bar{X} - \mu| \sqrt{n}}{Ds} \quad (9)$$

Donde \bar{X} corresponde al promedio de la concentración determinada experimentalmente, μ el valor certificado, n el número de réplicas y Ds la desviación estándar de las réplicas. Si el valor de t_{cal} es menor que $t_{tab(n-1)}$ (95% de probabilidad) significa que los valores obtenidos no son estadísticamente diferentes de los valores teóricos (Caraballosa et al., 2016).

V.5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

V.5.1. EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Las concentraciones se informan en μg de analito por cada gramo de pescado seco ($\mu\text{g/g}$). Las muestras se analizaron por triplicado y el resultado informado corresponde al promedio de la concentración obtenida en las tres mediciones junto con su respectiva desviación estándar, como intervalo de confianza (**ecuación 10**).

$$\bar{X} \pm Ds \quad (10)$$

V.5.2. ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS PARA EVALUAR EL RIESGO POR EXPOSICIÓN A MERCURIO

V.5.2.1. Cálculo de la proporción molar Se:Hg.

La proporción o relación molar es un bioindicador, que se calcula mediante la división de las concentraciones molares de Se por las de Hg (nmol Se/nmol Hg). Para el cálculo de los nmoles se requiere saber la masa atómica (MA), que corresponde a 200,50 y 78,96 g/mol, para Hg y Se respectivamente (Burger y Gochfeld, 2013).

V.5.2.2. Cálculo del *Selenium Health Benefit Values* (HBV_{Se}):

Se desarrolló como un índice más preciso de los riesgos relativos, o bien, de los beneficios esperados asociados al consumo de pescados, ya que considera las concentraciones molares absolutas y relativas de CH_3Hg^+ y “Se” presentes.

Se modificó la fórmula antigua que se denominaba como Se-HBV y se eliminaron las relaciones molares que pueden dar como resultado valores desproporcionadamente altos como consecuencia de concentraciones muy bajas de Hg. La fórmula actual (**ecuación 11**) se denomina HBV_{Se} y se calcula a partir de las concentraciones molares ($\mu\text{mol kg}^{-1}$ o nmol g^{-1}) de selenio y mercurio determinadas en las muestras (Ralston, Ralston y Raymond, 2016):

$$\text{HBV}_{\text{Se}} = ([\text{Se} - \text{Hg}] / \text{Se}) \times (\text{Se} + \text{Hg}) \quad (11)$$

Este nuevo enfoque proporciona una evaluación directa de la disponibilidad de Se e indica si existe un excedente o un déficit neto de este.

V.5.2.3. Cálculo de la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (ISTP)

El ISTP corresponde a un parámetro toxicológico aplicado para los contaminantes alimentarios, como los metales pesados, que tienen propiedades acumulativas. Su valor representa la exposición humana semanal permisible a esos contaminantes, asociados de manera inevitable con el consumo de alimentos (FAO/OMS, 2017). Este se calcula según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ISTP} = \frac{([\text{Hg}] \times \text{CP}) / \text{PC}}{\text{ISTP}} \times 100 \quad (12)$$

[Hg] corresponde a la concentración de mercurio determinada en las muestras de pescado ($\mu\text{g/g}$ de peso húmedo), **CP** corresponde a la cantidad de pescado consumida semanalmente (gramos/semana), **PC** corresponde al peso corporal promedio en la población (Kg) e **ISTP** corresponde al valor recomendado por la FAO/OMS para metilmercurio ($1,6 \mu\text{g/kg/semana}$).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI.1. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS ANALÍTICOS

VI.1.1. Rango de Linealidad

Para determinar la linealidad en el intervalo de concentraciones trabajadas se evaluó la señal analítica de las soluciones patrones de Se y Hg, utilizando el método de los mínimos cuadrados, a través del programa OriginPro 8. En la **Tabla 11** que se presenta a continuación, se indica el coeficiente de correlación (**r**) y los parámetros estadísticos **t_{cal}** y **t_{tab}** para cada elemento analizado.

Tabla 11. *Coeficientes de correlación lineal, coeficientes de determinación, t_{cal} y t_{tab} determinado para Hg y Se analizados por CV-AFS y HG-AFS respectivamente.*

Elemento	Rango de trabajo (µg/L)	R	r ²	t _{cal}	t _{tab}
Hg	0,1-1,5	0,9998	0,9997	129	2,776
Se	0,1-1,5	0,9999	0,9998	141	2,570

Considerando que en ambos casos se cumple que **t_{tab} < t_{cal}**, se puede decir que los resultados obtenidos son estadísticamente aceptables, por lo tanto, el sistema presenta linealidad dentro del rango de concentración utilizado.

En la **Figura 3** se muestran las curvas de calibrado ajustadas para Se y Hg, ambas obtenidas a través del programa OriginPro 8.

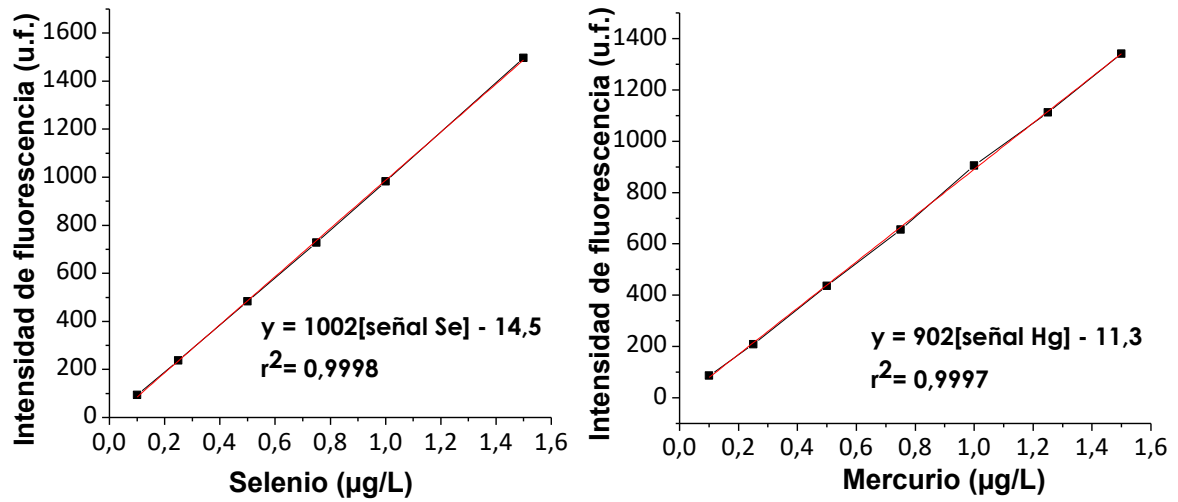


Figura 3. Curvas de calibrado ajustadas para la determinación de selenio y mercurio total mediante HG-AFS y CV-AFS, respectivamente.

VI.1.2. Límite de Detección (L.D.) y Cuantificación (L.C.)

En la **Tabla 12** se presentan los distintos límites de detección y cuantificación calculados a partir de las **ecuaciones 3, 4, 5 y 6** para la determinación de Hg y Se total en las muestras de pescado seleccionadas para este estudio.

Tabla 12. Determinación de límites de detección y cuantificación

Límites de detección (LD) y cuantificación (LC)	Hg	Se
LD ^a µg/L (ppb)	0,0002	0,001
LC ^a µg/L (ppb)	0,001	0,002
LD ^b µg/L (ppb)	0,001	0,004
LC ^b µg/L (ppb)	0,005	0,01
LD ^c µg/g (ppm)	0,0003	0,02
LC ^c µg/g (ppm)	0,001	0,1

^a cálculo realizado con la señal del blanco de calibración $3D_{Sbc}/m$ y $10D_{Sbc}/m$ para LD y LC respectivamente.

^b cálculo realizado con la señal del blanco de digestión $3D_{Sbd}/m$ y $10D_{Sbd}/m$ para LD y LC respectivamente.

^c cálculo referido a la muestra (LD y LC del método) partiendo desde los valores de límites de blanco de digestión. (Ejemplo: $3D_{Sbd}/m$ o $10D_{Sbd}/m$ x factor de dilución x volumen aforo/masa de la muestra) ppb: partes por billón; ppm: partes por millón.

VI.1.3. Sensibilidad

En la **Tabla 13** se detallan los estimadores estadísticos del intercepto (**b**) y de la pendiente (**m**) para cada elemento analizado, y sus respectivas desviaciones estándar (**Dsb** y **Dsm**), obtenidos con el programa OriginPro 8.0.

Tabla 13. *Estimadores estadísticos de las respectivas curvas de calibrado de Hg y Se analizadas por CV-AFS y HG-AFS respectivamente.*

Elemento	M	Dsm	B	Dsb
Hg	902	7,06	-11,3	6,37
Se	1002	6,90	-14,5	5,73

De acuerdo a los estimadores estadísticos se considera que la sensibilidad es la adecuada para los niveles de concentración de Hg y Se que se requiere determinar en la matriz a estudiar, y no presenta diferencias estadísticas con respecto al lo informado por el proveedor de los equipos utilizados.

VI.1.4. Presición intermedia

La **Tabla 14** muestra los resultados obtenidos respecto al CV de la señal analítica registrada 5 veces para las soluciones patrones de Hg y Se. Estas se prepararon en 3 niveles de concentración diferentes: bajo, medio y alto, en días distintos.

Tabla 14. *Coeficiente de variación (CV) de la señal registrada en CV-AFS y HG-AFS (n=5) a partir de soluciones estándar de Hg y Se respectivamente.*

Analito	Concentración $\mu\text{g L}^{-1}$	CV (%)
Hg	0,1	4,50
	0,75	1,60
	1,5	2,82
Se	0,1	2,68
	0,75	4,19
	1,5	5,13

De acuerdo a los resultados anteriormente presentados, se puede asegurar que la lectura de la señal analítica es precisa, ya que el coeficiente de variación determinado para cada analito (según la **ecuación 7**), resultó ser inferior a los valores aceptados (**Tabla 10**).

VI.1.5. Exactitud del método

En la **Tabla 15** se detallan las concentraciones certificadas para Hg y Se, y los valores obtenidos experimentalmente por CV-AFS y HG-AFS respectivamente, según la metodología propuesta para la determinación de los elementos en las muestras de pescado. La comparación de ambas concentraciones permitió determinar el sesgo (%), el coeficiente de variación y el estimador t_{cal} recomendado para la aplicación del test de significancia.

Tabla 15: *Valores del error (sesgo), el coeficiente de variación y los parámetros experimentales t_{cal} y t_{tab} para el análisis de Hg en el Material de Referencia Certificado DORM-4 y de Se en DORM-2 usando CV-AFS y HG-AFS, respectivamente.*

Analito	Valor certificado (mg kg ⁻¹)	Valor experimental (mg kg ⁻¹)	% E	%C.V.	t_{cal}	t_{tab}
Hg	0,412 ± 0,036	0,44 ± 0,09	+6,80	20,66	0,7618	2,5706
Se	1,40 ± 0,09	1,32 ± 0,07	-5,71	6,67	2,2463	2,5706

Conforme a estos resultados, es posible asegurar estadísticamente que el método, desde la pesada hasta la cuantificación, es exacto para Hg y Se debido a que en ambos casos el t_{cal} calculado fue inferior al t_{tab} .

VI.2. DETERMINACIÓN DE MERCURIO Y SELENIO TOTAL EN MUESTRAS DE PESCADOS COMERCIALES

En la **Tabla 16** se muestran las concentraciones de Hg y Se total determinadas en las muestras de pescados comerciales, informando su respectiva desviación estándar en cada caso.

Tabla 16. Concentración de mercurio y selenio ($\mu\text{g/g}$ peso seco) en distintas especies de pescados recolectadas en un determinado supermercado de la ciudad de Valparaíso.

Nombre común	Hg $\mu\text{g/g}$ $\bar{X} \pm Ds$	Se $\mu\text{g/g}$ $\bar{X} \pm Ds$
Atún-1	2,26 \pm 0,03	3,7 \pm 0,3
Atún-2	0,133 \pm 0,008	2,5 \pm 0,2
Atún-3	0,86 \pm 0,01	2,76 \pm 0,08
Atún-4	0,38 \pm 0,01	2,0 \pm 0,1
Jurel-1	0,108 \pm 0,002	2,3 \pm 0,1
Jurel-2	0,174 \pm 0,002	1,68 \pm 0,07
Albacora-1	4,8 \pm 0,2	1,59 \pm 0,03
Albacora-2	2,31 \pm 0,03	2,1 \pm 0,1
Merluza	0,197 \pm 0,006	1,5 \pm 0,1
Reineta	0,934 \pm 0,008	2,46 \pm 0,04
Congrio dorado	0,94 \pm 0,05	2,51 \pm 0,03
Salmón	0,004 \pm 0,001	0,36 \pm 0,02
Pangasius	0,0034 \pm 0,0002	0,37 \pm 0,01
Corvina	0,161 \pm 0,008	0,86 \pm 0,03
Alaska pollock	0,095 \pm 0,002	0,845 \pm 0,009
Tilapia	<LD	1,7 \pm 0,1

\bar{X} : Promedio de la concentración ($\mu\text{g/g}$ de peso seco) determinada por triplicado en cada muestra
 Ds: Desviación estándar de las concentraciones ($\mu\text{g/g}$ de peso seco) determinadas por triplicado en cada muestra.

VI.2.1. Concentración total de Hg en pescados comerciales congelados y en conservas

En la **Figura 4** se observan las concentraciones de Hg total de cada muestra analizada con su respectiva desviación estándar.

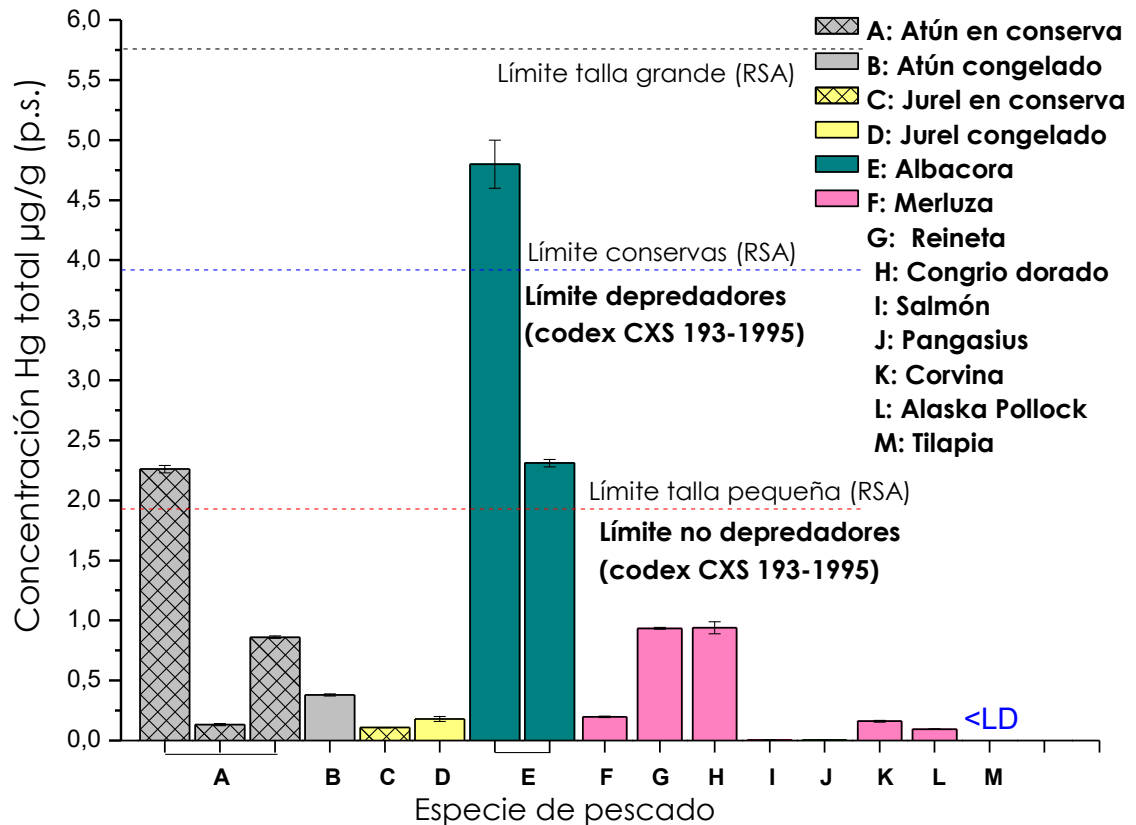


Figura 4. Concentración de Hg total (expresada en µg/g de pescado seco) en pescados comerciales de distintas especies, congelados o en conservas. Se muestra en línea punteada los límites determinados por el MINSAL y la FAO/OMS a través del Reglamento Sanitario de Alimentos (RSA) y el Codex Alimentarius (CXS 193-1995), respectivamente, adaptados a peso seco. <LD: Bajo el límite de detección; (p.s.): peso seco.

El orden decreciente de las especies de pescado según la concentración de Hg total acumulado en cada uno de ellos, es el siguiente: albacora > atún > jurel > congrio dorado > reineta > merluza > corvina > alaska pollock > salmón > pangasius > tilapia.

En la **Figura 4** se puede apreciar la variabilidad existente entre los resultados obtenidos, tanto entre las distintas especies, como dentro de las mismas.

Los límites informados en el RSA fueron adaptados a µg/g de peso seco (**Tabla 3**) para llevar a cabo un análisis adecuado de los resultados obtenidos.

La mayor concentración de Hg se encontró en albacora, seguido por atún, lo cual concuerda con lo esperado debido a que ambos son considerados pescados depredadores de talla grande (Cabañero, 2005). La albacora (o pez espada) cuyo nombre científico es *Xiphias gladius*, alcanza una longitud promedio de 1,9 m y su talla mínima de captura estipulada en el territorio nacional es de 1,06 m. En cambio, el atún puede llegar a medir hasta 2 m, aunque puede ser capturado en etapas más tempranas midiendo mucho menos (<http://www.subpesca.cl>).

Se analizaron dos muestras de albacora de distinta marca comercial, la albacora-1 presentó el doble de la concentración de Hg acumulada en la albacora-2, dando una concentración promedio de 3,555 µg/g.

Por otro lado, se analizaron cuatro muestras de atún, tres de ellas en conserva y una congelada, todas de diferente país de procedencia. Las muestras en conserva alcanzaron un promedio de Hg total de 1,08 µg/g superando la concentración determinada en el atún congelado que alcanzó una concentración de 0,38 µg/g.

Con respecto al jurel, se analizaron 2 muestras que presentaron un promedio de 0,141 µg/g de Hg total, ambas muestras son del mismo país de procedencia (Chile), pero de distinto formato de venta, siendo el jurel congelado el que presentó mayor concentración de Hg que el jurel en conserva.

La variabilidad intra-especies se puede deber a diversos factores: 1) la edad de captura del pez, siendo los peces más longevos los que presentan mayores niveles de Hg, evidenciando así la bioacumulación de este metal (Downs, MacLeod y Lester, 1998; Swanson et al., 2003); 2) lugar de procedencia, los niveles de Hg en los alimentos de los peces varían según los diferentes hábitats (Snodgrass, Jagoe, Bryan, Brant y Burger, 2000); 3) la contaminación de las aguas y la actividad industrial o minera desarrollada en la zona, los peces tienen diferentes rutas migratorias y algunos tienen tiempos de residencia más largos en aguas contaminadas que otros, lo que resulta en diferentes niveles de consumo de Hg dentro de una especie (Burger, 2009).

Llama la atención la gran diferencia existente entre los niveles de Hg acumulados en los atunes enlatados, es más, el atún-1 que corresponde a una marca comercial

colombiana ampliamente distribuida en distintos países, superó 17 veces los niveles del atún-2 (**Tabla 16**), sin embargo, el MINSAL a través del Programa de Inocuidad de los Alimentos, durante el año 2012 diseñó un Plan de Vigilancia Nacional de Metales Pesados en productos del mar, donde se consideró un total de 50 muestras de atunes enlatados provenientes de Ecuador y Tailandia, donde el rango observado fue entre 0,02-0,83 µg/g de peso húmedo (**ANEXO 1**) equivalente a un rango de 0,08-3,22 µg/g de peso seco, es decir, es común observar una gran variabilidad en los niveles de Hg de los atunes enlatados consumidos en Chile.

Por otro lado, pangasius, es un pescado importado desde Vietnam. Su venta ha sido muchas veces cuestionada por la población debido a que habita en ríos contaminados con metales pesados, por lo que en variadas ocasiones se ha puesto en duda la inocuidad de este alimento (Rodríguez et al, 2018), sin embargo, según este estudio, los niveles de Hg en el pangasius de esta marca comercial determinada, son muy bajos (0,0034 µg/g de peso seco), por lo que el consumo humano de este no significa un riesgo para la salud de las personas. Esto no aplica a todo pangasius a la venta, ya que para ello sería pertinente realizar un muestreo más amplio y representativo.

En el caso de tilapia, los niveles de Hg fueron menores al límite de detección (**Tabla 16**), por lo que su consumo no significa un riesgo toxicológico para el ser humano. Para este estudio los límites establecidos a nivel nacional e internacional se adaptaron a peso seco para poder hacer las comparaciones respectivas con los resultados obtenidos. Todas las muestras, congeladas y en conservas, presentaron niveles de Hg por debajo de los límites estipulados en el RSA (MINSAL, 2017), cumpliendo con la normativa vigente en Chile, sin embargo, la albacora-1 sobrepasa el límite establecido por la FAO/OMS en el Codex alimentarius para peces depredadores. Esto indica que la normativa nacional es más permisiva que la internacional, lo cual podría ser perjudicial para la salud de los consumidores de albacora chilena. En base a lo anterior se sugiere realizar una revisión de la normativa nacional y actualizarla.

VI .2.2. Concentración total de Se en pescados comerciales congelados y en conservas

En la **Figura 5** se observa el gráfico de barras con las concentraciones de Se total de cada muestra analizada con su respectiva desviación estándar.

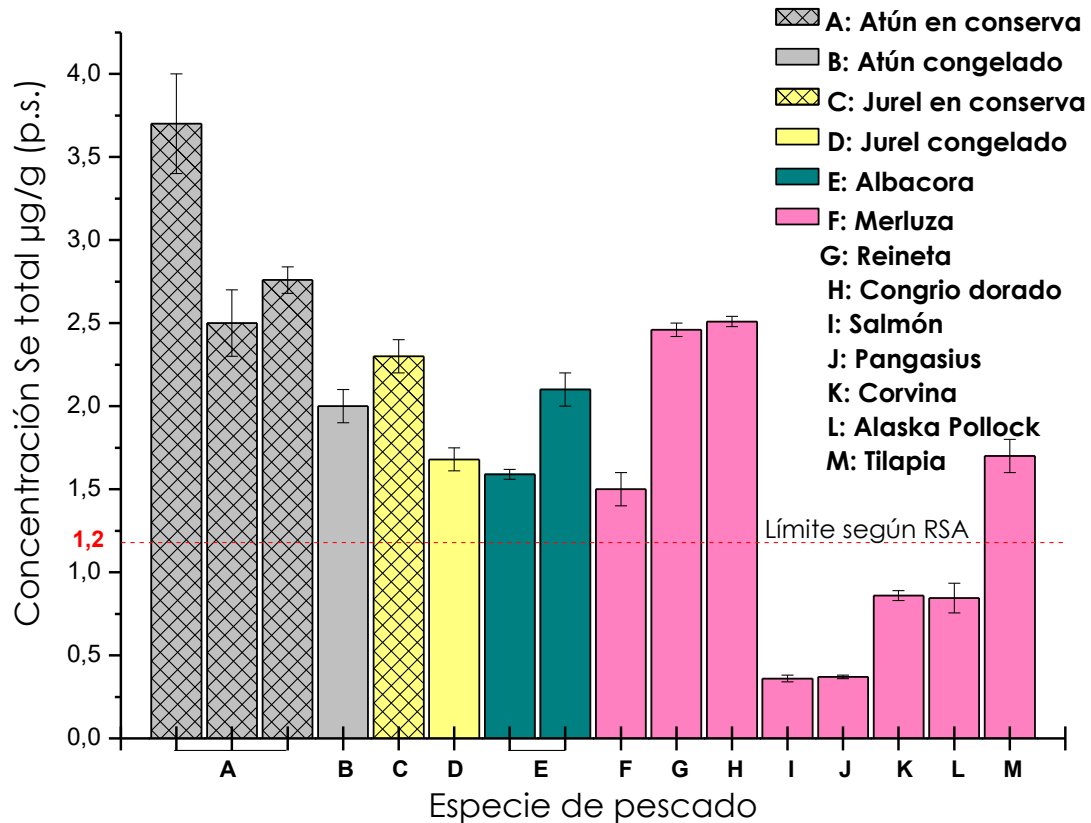


Figura 5. Concentración de Se total (expresada en µg/g de peso seco) en pescados comerciales de distintas especies, congelados o en conservas. En línea punteada se indica el límite establecido por el MINSAL a través del Reglamento Sanitario de Alimentos (RSA), D.S. N° 977/96, artículo 160. (p.s.): peso seco.

Con respecto a los niveles de selenio se esperaba poca variabilidad entre especies, ya que es un oligoelemento esencial regulado por el organismo, que se vuelve tóxico a niveles altos (Eisler, 2000). Sin embargo, los resultados mostraron lo contrario, lo cual se puede deber a los distintos lugares de procedencia de cada muestra, ya que los peces adquieren el Se del agua por medio de las branquias (Vinchira y Muñoz, 2010) y la cantidad que acumulan también es consecuencia de la concentración de Se en el ecosistema donde habitan.

Los pescados son alimentos con un alto contenido proteico, por lo que normalmente presentan mayor concentración de Se que otros alimentos (Iqbal, Iqbal, Gul, Iqbal, Akhtar y Adil, 2008). El rango de Se en carnes, pescados y huevos varía comúnmente entre 0,02-0,5 $\mu\text{g/g}$ de peso húmedo (Navarro y Cabrera, 2008), lo cual equivale a 0,08-1,9 $\mu\text{g/g}$ de peso seco, siendo notablemente inferior al rango de concentración determinado en las muestras analizadas, que fue entre 0,36 y 3,7 $\mu\text{g/g}$ peso seco.

Al observar el gráfico de la **Figura 5**, se puede apreciar que los niveles de Se en la mayoría de las muestras analizadas sobrepasan el límite establecido en el RSA, lo que significa que las autoridades están permitiendo la venta de alimentos que no cumplen con la normativa vigente dentro del territorio nacional. Según este estudio, solo el salmón, el pangasius, la corvina y el alaska pollock cumplen con la legislación actual en Chile.

Lo anterior suena alarmante, sin embargo, al revisar el artículo 160 del RSA, se puede apreciar que Se aún aparece considerado como un metal pesado y que los límites máximos permitidos en los alimentos sólidos (**Tabla 4**) son incluso más estrictos que los límites permitidos de Hg en pescados y mariscos (**Tabla 3**), lo cual es curioso debido a que desde fines de los años 50 que está demostrado su rol biológico en los humanos. Además, la norma es muy poco detallada, ya que no hace una distinción clara entre los distintos tipos de alimentos, ya sea de origen animal o vegetal, siendo que las concentraciones comúnmente encontradas en uno u otros son muy variables (Vinchira y Muñoz, 2010). Esto hace pensar que es necesario realizar una revisión y actualización de la normativa chilena que regula los niveles de Se permitidos en los alimentos de consumo humano.

Por otro lado, existen otros autores que han informado concentraciones de Se en distintas especies de pescados, que sirven para establecer ciertas comparaciones (**Tabla 17**). De acuerdo con lo anterior, tanto el salmón como el atún en conservas (considerando un promedio de 2,99 $\mu\text{g Se/g}$ peso seco) presentaron niveles menores a los reportados por dichos autores. En cambio, la tilapia presentó un valor 4 veces mayor.

Tabla 17. *Contenido de selenio de algunos pescados de interés comercial*

Pescado	Contenido de Selenio (µg/g peso húmedo)	Contenido de Selenio (µg/g peso seco)^a	Referencias
Salmón	0,27-0,37	1,05-1,43	Navarro y Cabrera, 2008
Tilapia	0,03	0,12	Gonzales y Brown, 2006
Atún enlatado	0,81	3,14	Navarro y Cabrera, 2008

^a Calculado considerando un promedio de humedad entre peces grasos y magros de 74,2%.

Hay quienes postulan que un exceso de Se ayuda a compensar la síntesis de selenoenzimas para cualquier Se secuestrado por Hg (Ralston, 2009), sin embargo, actualmente, la información existente con respecto al efecto modulador de Se sobre la neurotoxicidad inducida por Hg es contradictoria (Bjørklund et al., 2017), y dependería de dos factores importantes:

- 1) La dosis de Se: a dosis fisiológicas se observaría un efecto protector contra la neurotoxicidad inducida por mercurio, pero la sobreexposición a Se podría incluso potenciarla.
- 2) La forma química de Se: siendo selenito el responsable de potenciar los efectos neurodegenerativos y tóxicos causados por metilmercurio. (Bjørklund et al., 2017).

Por lo tanto, es importante que exista una regulación constante del contenido de Se en pescados, con el fin de que este sea el adecuado para llevar a cabo un rol protector y no perjudicial a la salud.

VI.3. EVALUACIÓN DEL RIESGO POR EXPOSICIÓN A MERCURIO MEDIANTE EL CONSUMO DE PESCADOS COMERCIALES

En la **Tabla 18**, se presentan dos parámetros importantes para evaluar el riesgo de exposición a metilmercurio: la proporción molar Se:Hg y el HBV_{Se} , indicando las concentraciones molares utilizadas para determinar dichos parámetros.

Tabla 18. Concentración molar de mercurio y selenio ($\mu\text{mol}/\text{kg}$ o nmol/g , peso seco), proporción molar y HBV_{Se} de distintas especies de pescados recolectadas en un determinado supermercado de la ciudad de Valparaíso.

Nombre común	$\mu\text{mol Hg}/\text{kg}^a$ (= $\text{nmol Hg}/\text{g}$) $\bar{X} \pm Ds$	$\mu\text{mol Se}/\text{kg}^a$ (= $\text{nmol Se}/\text{g}$) $\bar{X} \pm Ds$	Proporción molar Se:Hg	HBV_{Se}
Atún-1	$11,3 \pm 0,1$	47 ± 3	4,2	44,3
Atún-2	$0,66 \pm 0,04$	31 ± 2	47,1	31,2
Atún-3	$4,28 \pm 0,06$	35 ± 1	8,2	34,5
Atún-4	$1,89 \pm 0,07$	26 ± 2	13,6	25,6
Jurel-1	$0,538 \pm 0,009$	30 ± 1	54,9	29,6
Jurel-2	$0,87 \pm 0,01$	$21,3 \pm 0,8$	24,5	21,3
Albacora-1	24 ± 1	$20,2 \pm 0,4$	0,8	-8,3
Albacora-2	$11,5 \pm 0,2$	$27,2 \pm 1,6$	2,4	22,3
Merluza	$0,98 \pm 0,03$	$18,8 \pm 1,5$	19,1	18,8
Reineta	$4,66 \pm 0,04$	$31,1 \pm 0,5$	6,7	30,5
Congrio dorado	$4,7 \pm 0,3$	$31,8 \pm 0,4$	6,8	31,1
Salmón	$0,019 \pm 0,005$	$4,5 \pm 0,3$	237,8	4,5
Pangasius	$0,0171 \pm 0,0008$	$4,7 \pm 0,1$	276,6	4,7
Corvina	$0,80 \pm 0,04$	$10,9 \pm 0,4$	13,7	10,9
Alaska pollock	$0,476 \pm 0,009$	9 ± 1	20,6	9,8
Tilapia	<LD	21 ± 2	-	-

^a Calculados a partir de las concentraciones ($\mu\text{g}/\text{g}$ de peso seco) indicadas en la **Tabla 18**.

\bar{X} : Promedio de la concentración μmolar determinada por triplicado en cada muestra

Ds: Desviación estándar de las concentraciones $\mu\text{molares}$ determinadas por triplicado en cada muestra.

VI.3.1. Determinación de la proporción molar Se:Hg.

En la **Figura 6** se muestran dos gráficos de dispersión con las proporciones molares Se:Hg determinadas para todas las muestras de pescados analizadas, señaladas anteriormente en la **Tabla 18**. El gráfico del extremo superior derecho es una vista ampliada del gráfico del extremo izquierdo.

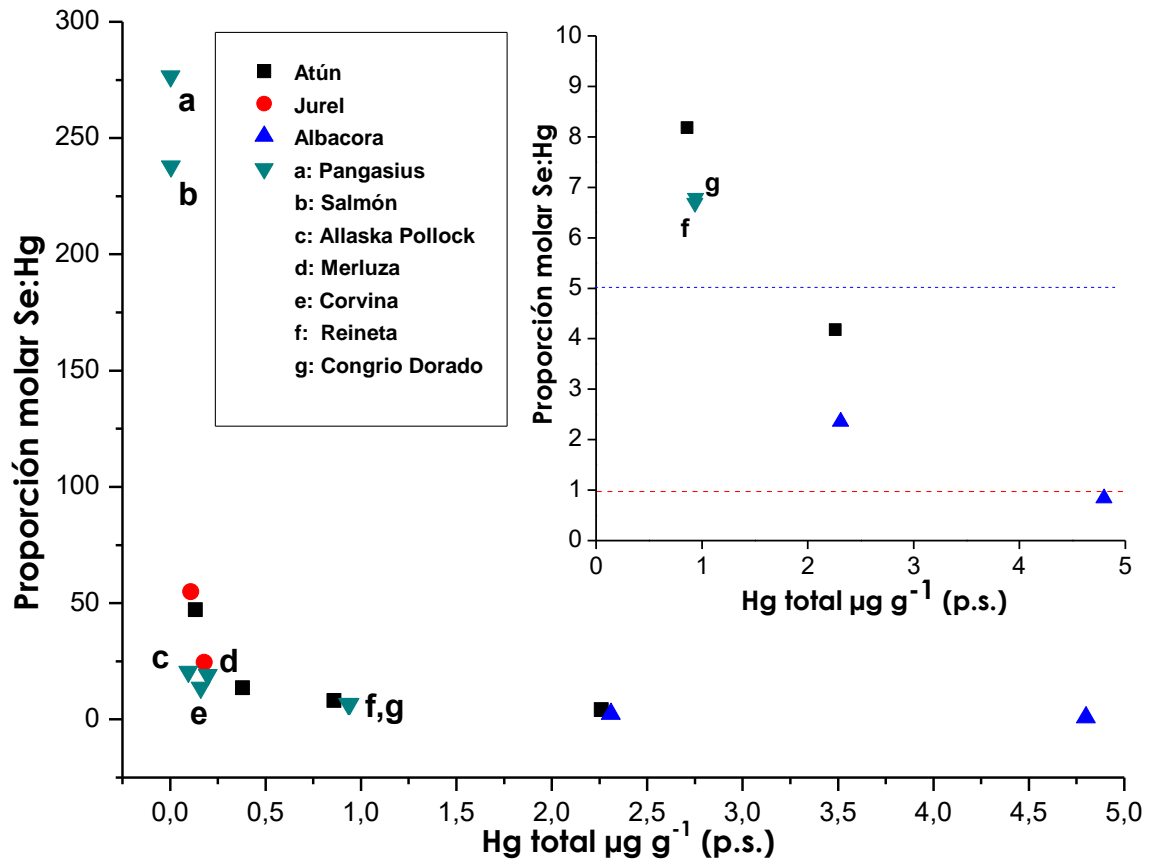


Figura 6. Proporción molar Se:Hg en función de la concentración de Hg total ($\mu\text{g/g}$, peso seco) en pescados comerciales de distintas especies y formatos. El gráfico del extremo inferior izquierdo muestra los resultados de todas las muestras analizadas, excepto tilapia ($[\text{Hg}] < \text{LD}$). El gráfico del extremo superior derecho es solo una vista ampliada del gráfico de la izquierda, donde se observan aquellas muestras que presentaron una menor proporción molar.

En el gráfico del extremo superior derecho de la **Figura 6**, se trazó una línea horizontal segmentada de color rojo que corresponde a una proporción molar de 1:1. Cuando la proporción molar es menor a 1 significa que es probable que ocurra toxicidad por metilmercurio (Ralston et al., 2008) lo que sugiere que este es un

parámetro clave en la evaluación del riesgo. Además, se trazó una línea horizontal segmentada de color azul que indica una proporción molar de 5:1, solo con fines comparativos.

En general, las proporciones molares Se:Hg observadas son bastante variables, encontrándose valores entre 0,8 y 276,6. Esto se debe a la amplia variabilidad observada en las concentraciones de Hg y Se determinadas en las muestras. Todos los productos analizados presentaron una proporción molar Se:Hg mayor a 1, excepto la albacora-1 que presentó una proporción de 0,8, lo cual se condice con la alta concentración de Hg encontrada en esta muestra (4,8 $\mu\text{g/g}$ de peso seco). Esto podría significar un llamado de atención, para las autoridades regulatorias, ya que si bien cumple con la normativa vigente en Chile, la relación Se:Hg determinada en este estudio indica lo contrario, poniendo en duda la inocuidad de este alimento para el consumo humano. Por otro lado, la muestra que sigue con menor proporción molar corresponde a la albacora-2 con un valor de 2,4, dando una proporción promedio para ambas muestras de 1,6, lo cual es bastante cercano al promedio obtenido en el estudio de Burger y Gochfeld, el cual fue de 1,23 y se obtuvo de un total de 18 muestras de albacoras comerciales recolectadas en los mercados de Chicago (Burger y Gochfeld, 2013). En esa ocasión la albacora también presentó la menor proporción molar con respecto a los demás pescados, lo cual sugiere que hay que tener prudencia al consumir esta especie de pescado, ya que su consumo en exceso podría causar efectos toxicológicos. Las concentraciones de Se en estos pescados son insuficientes para poder ejercer su rol protector contra los efectos nocivos de metilmercurio cuando este se encuentra acumulado en grandes cantidades. Por ende, se recomienda a mujeres embarazadas y niños en desarrollo, evitar el consumo de este producto y preferir otros pescados con mejor relación molar Se:Hg.

Por otro lado, en el gráfico de la **Figura 6**, se puede apreciar que el atún-1 se encuentra por debajo de la proporción 5:1, precisamente una de las muestras en conserva que presentó mayor concentración de Hg (2,26 $\mu\text{g/g}$ de peso seco). La proporción molar en el atún fue muy variable de 4,2 a 47,1, dando un promedio de

18,3. Estos resultados son difíciles de contrastar con los obtenidos en el estudio realizado en New Jersey y Chicago debido a que en ese caso se usaron atunes de distintas especies y no usaron muestras en conservas.

En este análisis la muestra con mayor proporción molar fue la de pangasius con un valor de 276,6, seguido por el salmón con una proporción de 237,8, lo cual en ambos casos se debe a la baja concentración de Hg encontrada en estas muestras, y en ningún caso por exceso de Se (**Tabla 16**). Si se compara el resultado obtenido en el salmón, se puede decir que sobrepasa notablemente el valor reportado en el estudio de Burger y Gochfeld de 28,86, lo cual podría deberse a varios factores como el tamaño del pescado, el cual no se especifica en ninguno de los dos estudios, o la zona geográfica de la que provienen. Los peces tienen rutas migratorias muy diferentes y sus tiempos de residencia en aguas contaminadas son muy variables, lo que conlleva a diferentes niveles de Hg acumulados dentro de una misma especie (Burger, 2009).

La variación observada de la proporción molar Se:Hg dentro de las especies dificulta el uso de este parámetro como medida de toxicidad reducida por Hg (Burger y Gochfeld, 2013). Sin embargo, en este análisis efectivamente se cumple la correlación negativa entre las proporciones molares Se:Hg y las concentraciones de Hg, por lo que aquellas muestras con mayor proporción molar fueron justamente aquellas que presentaron menor concentración de Hg.

Si bien no hay consenso sobre la cantidad de Se necesaria para reducir el riesgo de toxicidad por Hg, ni está claro si existe una relación lineal entre la relación de protección hipotética y la toxicidad real (Burger y Gochfeld, 2013), se ha demostrado que los riesgos de la exposición a CH_3Hg^+ son menores a mayor proporción molar Se:Hg. Sin embargo, hay quienes postulan que la proporción molar Se:Hg protectora puede variar entre individuos y tejidos (Lemire et al., 2010), por lo que a modo de prevención, se recomienda tener cuidado en el consumo de aquellos pescados con relación molar inferior a 5:1, ya que aquellos que son más vulnerables o sufren déficit de Se podrían presentar efectos tóxicos.

VI.3.2. Determinación del HBV_{Se} (Selenium Health Benefit Values)

En la **Tabla 18** anteriormente señalada se informan los HBV_{Se} calculados para cada muestra a partir de las concentraciones molares de Hg y Se total.

Con los HBV_{Se} obtenidos para cada muestra se elaboró un gráfico de barras, el cual se presenta en la **Figura 7**.

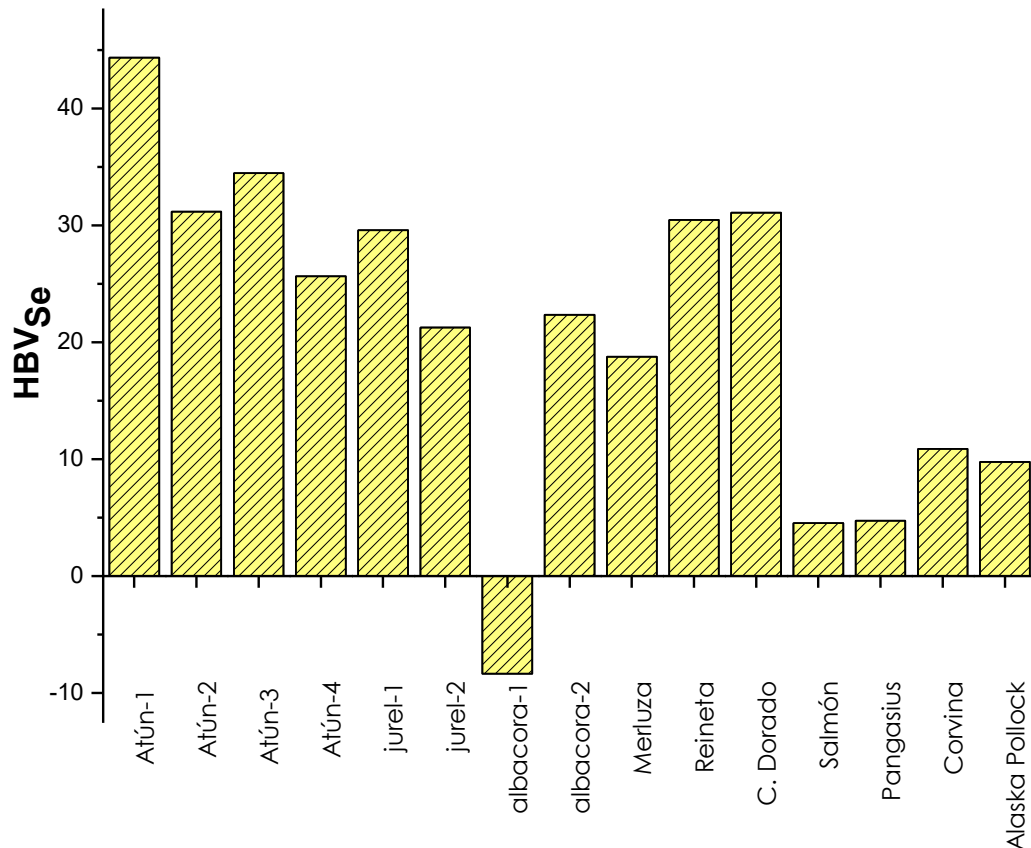


Figura 7. HBV_{Se} (Selenium Health Benefit Values) para distintas especies de pescados comerciales encontrados en supermercados.

HBV_{Se} se basa en el mecanismo bioquímico de la toxicidad de CH_3Hg^+ , proporcionando un índice objetivo para evaluar los efectos relativos de las exposiciones de CH_3Hg^+ y las ingestas de Se. Las predicciones de riesgo basadas solo en las exposiciones de CH_3Hg^+ son inexactas, el HBV_{Se} proporciona una evaluación directa de la disponibilidad de Se e indica la magnitud del déficit o

superávit relativo de Se en los pescados en comparación con CH_3Hg^+ (Ralston, Ralston y Raymond, 2016).

El consumo de productos del mar con HBV_{Se} positivo anularía los riesgos asociados con la exposición a CH_3Hg^+ . En la **Tabla 18** se muestran los HBV_{Se} determinados para cada muestra de pescado. A partir de ellos se confeccionó el gráfico de barras de la **Figura 7**, donde se puede observar que el único valor negativo se encontró en la albacora-1, que además fue la única muestra en presentar una relación molar menor a 1:1. Por lo tanto, pese a que la albacora-2 presentó un valor positivo de HBV_{Se} y una relación molar mayor a 1:1, es recomendable evitar el consumo de este alimento, especialmente en niños y mujeres embarazadas, ya que esto demuestra que aunque las muestras sean de la misma especie de pescado, hay algunas que tienen un mayor potencial de riesgo al ser consumidas por quienes son más vulnerables a la toxicidad por CH_3Hg^+ . Además, aunque el consumo intermitente de productos con HBV_{Se} negativo no causaría compromiso del Se materno/fetal, el consumo constante si puede causarlo (Ralston, Ralston y Raymond, 2016).

Sería interesante, hacer un estudio más extenso con un mayor número de muestras de albacoras por cada marca comercial encontrada a la venta en los supermercados, quizás existen marcas comerciales que usualmente distribuyen pescados más contaminados que otras.

HBV_{Se} es un índice consistente, confiable y fácil de entender que permite identificar aquellos productos pesqueros que son más, o menos recomendables al momento de consumirlos (Ralston, Ralston y Raymond, 2016).

VI.3.3. Cálculo de la Ingesta Semanal Tolerable Provisional de mercurio (ISTP)

A continuación, se presenta la **Tabla 19** donde se muestran los porcentajes de contribución a la ingesta semanal tolerable provisional de metilmercurio (%ISTP), calculados para hombres, mujeres y niños.

Tabla 19. Cálculo del %ISTP de metilmercurio en hombres, mujeres y niños considerando hasta dos porciones semanales de pescados comerciales congelados y/o en conservas de distintas especies.

Nombre común	Hg $\mu\text{g/g}$ p.s. $\bar{X} \pm \text{Ds}$	Hg $\mu\text{g/g}$ p.h. (a) $\bar{X} \pm \text{Ds}$	CH_3Hg^+ (b) $\bar{X} \pm \text{Ds}$	Hombre ^(c)		Mujeres ^(d)		Niños ^(e)	
				%ISTP ¹	%ISTP ²	%ISTP ¹	%ISTP ²	%ISTP ¹	%ISTP ²
Atún-1	2,26 \pm 0,03	0,579 \pm 0,007	0,520 \pm 0,006	52,2	104,3	60,8	121,7	117,8	235,5
Atún-2	0,133 \pm 0,008	0,034 \pm 0,002	0,030 \pm 0,002	3,1	6,1	3,6	7,2	6,9	13,9
Atún-3	0,86 \pm 0,01	0,220 \pm 0,003	0,198 \pm 0,003	19,8	39,7	23,2	46,3	44,8	89,6
Atún-4	0,38 \pm 0,01	0,097 \pm 0,004	0,088 \pm 0,003	8,8	17,5	10,2	20,5	19,8	39,6
Jurel-1	0,108 \pm 0,002	0,0277 \pm 0,0004	0,0249 \pm 0,0004	2,5	5,0	2,9	5,8	5,6	11,3
Jurel-2	0,174 \pm 0,002	0,0298 \pm 0,0005	0,0402 \pm 0,0004	4,0	8,0	4,7	9,4	9,1	18,1
Albacora-1	4,8 \pm 0,2	1,23 \pm 0,06	1,11 \pm 0,05	110,8	221,5	129,2	258,5	250,1	500,2
Albacora-2	2,31 \pm 0,03	0,593 \pm 0,008	0,534 \pm 0,007	53,3	106,6	62,2	124,4	120,4	240,7
Merluza	0,197 \pm 0,006	0,050 \pm 0,002	0,046 \pm 0,002	4,5	9,1	5,3	10,6	10,3	20,5
Reineta	0,934 \pm 0,008	0,239 \pm 0,002	0,216 \pm 0,002	21,6	43,1	25,1	50,3	48,7	97,3
Congrio dorado	0,94 \pm 0,05	0,24 \pm 0,01	0,22 \pm 0,01	21,7	43,4	25,3	50,6	49,0	98,0
Salmón	0,004 \pm 0,001	0,0006 \pm 0,0002	0,0009 \pm 0,0002	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4
Pangasius	0,0034 \pm 0,0002	0,00088 \pm 0,00004	0,00079 \pm 0,00004	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4
Corvina	0,161 \pm 0,008	0,041 \pm 0,002	0,037 \pm 0,002	3,7	7,4	4,3	8,7	8,4	16,8
Alaska pollock	0,095 \pm 0,002	0,0245 \pm 0,0004	0,0220 \pm 0,0004	2,2	4,4	2,6	5,1	5,0	9,9

(a) Calculado considerando una humedad promedio de 74,2% en peces magros y grasos.

(b) Calculado considerando que un 90% del Hg total corresponde a metilmercurio.

(c) Considerando un peso corporal promedio de 70 kg.

(d) Considerando un peso corporal promedio de 60 kg.

(e) Considerando un peso corporal promedio de 15,5 kg.

¹ Una porción de pescado semanal (4 onzas en adultos= 112 g; 2 onzas en niños= 56 g)

² Dos porciones de pescado semanales (8 onzas en adultos= 224g; 4 onzas en niños= 112g)

\bar{X} : Promedio de la concentración μmolar determinada por triplicado en cada muestra; Ds: Desviación estándar de las concentraciones $\mu\text{molares}$ determinadas por triplicado en cada muestra; CH_3Hg^+ : metilmercurio.

Para poder calcular el %ISTP en el presente estudio, fue necesario convertir las concentraciones de Hg en peso seco de pescado a peso húmedo considerando que la humedad promedio de los peces, ya sea grasos o magros, es de 74,2% (Durazo, 2006). Debido a que el ISTP recomendado por la FAO/OMS está basado en CH_3Hg^+ , se calculó la concentración de este teniendo en cuenta que corresponde al 90% aprox. del mercurio total en los pescados (González *et al.*, 2014).

El ISTP fue determinado para hombres, mujeres y niños (menores de 6 años), usando pesos corporales promedios de 70, 60 y 15,5 kg respectivamente (Ordiano, 2009) y considerando ingestas de una y dos porciones semanales de cada pescado analizado. En adultos la porción corresponde a 4 onzas (112 gramos) y en niños a 2 onzas (56 gramos) (Food and Drug Administration (FDA), 2017).

Al analizar los %ISTP obtenidos en cada muestra de pescado, se puede apreciar que basta consumir una porción semanal de albacora-1 para sobrepasar la ISTP que recomienda la FAO/OMS. En cambio, el consumo de la misma porción semanal de albacora-2 no significaría un riesgo a la salud en adultos, pero sí en niños, ya que el %ISTP en este caso fue de 120,4%. Según los resultados obtenidos, en ningún caso es recomendable aumentar el consumo de este pescado a dos porciones semanales, ya que los %ISTP calculados son extremadamente altos en hombres, mujeres y niños alcanzando valores de 221,5%, 258% y 500,2% respectivamente. Las observaciones anteriores coinciden con la recomendación de la FDA de evitar el consumo semanal de albacora (o pez espada) por sus altos niveles de mercurio (FDA, 2017).

Por otro lado, la FDA considera al atún enlatado dentro de su lista de buenas opciones para consumir, recomendando la ingesta de una porción semanal en adultos y niños (FDA, 2017). Según los resultados obtenidos, el consumo de una porción semanal de atún-1 en adultos, ya sea en hombres o mujeres, sería seguro y recomendable, sin embargo, en niños ocurre lo contrario, ya que el porcentaje de contribución a la ISTP resultó ser muy alto, alcanzando un 117,8%, lo que significa que el consumo de este producto en esa determinada cantidad ya puede causar un daño toxicológico dentro de la población infantil. Al igual como ocurre con las

albacoras, el consumo de dos porciones semanales de atún-1 supera el ISTP recomendable, tanto en la población adulta como infantil, lo cual es información importante para dar a conocer, ya que por ser un alimento fácilmente adquirible y rico en proteínas (Crespo y Gómez, 2004), el atún enlatado se ha convertido en un producto de preferencia dentro de la población. Es más, la Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas (JUNAEB), distribuye almuerzos en colegios y jardines infantiles que incluyen 3-4 porciones mensuales de productos pesqueros, cada una de 60 g que suelen ser alimentos en conserva como atún y jurel (Villena, 2012). Por lo tanto, a partir de los resultados observados en este estudio, se sugiere moderar el consumo de atún en conservas en niños, ya que si bien, solo una de las muestras presentó un % ISTP de alto riesgo, esta es razón suficiente para desconfiar de la inocuidad de este alimento al momento de ser ingerido en las porciones recomendadas.

El resto de los pescados analizados, presentaron porcentajes de contribución al ISTP de CH_3Hg^+ de bajo riesgo sin superar el 50%, considerando hasta dos porciones semanales en hombres y mujeres adultas. Sin embargo, se puede observar que el consumo infantil de dos porciones de atún-3, reineta y congrio dorado contribuyen en mayor medida al % ISTP, alcanzando valores de 89,6%, 97,3% y 98,0% respectivamente, por lo que es recomendable que tanto los padres como los colegios, limiten el consumo de estos productos a una porción semanal y preferir otras opciones de bajo riesgo (por ejemplo: jurel, merluza, salmón, corvina) para incluir a la dieta de los niños.

Según este estudio y lo indicado por la FDA, tilapia es una de las mejores opciones para recomendar a la población adulta e infantil, ya que prácticamente no acumula mercurio.

VII. CONCLUSIÓN

De acuerdo con los datos obtenidos en el presente estudio es posible realizar las siguientes conclusiones:

1. Las técnicas de espectrometría de fluorescencia atómica por vapor frío (CV-AFS) y previa generación de hidruros (HG-AFS) cumplen con los parámetros analíticos adecuados para la determinación de Hg y Se respectivamente, en las muestras de pescados.
2. La mayor concentración de Hg se encontró en la albacora-1 ($4,8 \pm 0,2 \mu\text{g/g p.s.}$), la menor en el pangasius ($0,0034 \pm 0,0002 \mu\text{g/g p.s.}$) y en la tilapia la concentración de Hg fue indetectable por el método analítico utilizado. Mientras que la mayor concentración de Se fue detectada en el atún-1 ($3,7 \pm 0,3 \mu\text{g/g p.s.}$) y la menor en el salmón ($0,36 \pm 0,02 \mu\text{g/g p.s.}$).
3. Todos los pescados, en conservas y congelados, cumplen con la normativa chilena establecida para Hg total, sin embargo, la albacora-1 no cumple con la normativa internacional estipulada por la FAO/OMS. Con respecto a los niveles de Se, solo el salmón, el pangasius, la corvina y el alaska pollock, cumplen con la normativa establecida por el Ministerio de Salud en Chile.
4. Según la proporción molar Se:Hg y el HBV_{Se} , solo el consumo de albacora-1 representa un riesgo alto para la salud humana. Sin embargo, según el %ISTP el consumo de albacora-2 y atún-1 (en conserva), también representan un riesgo alto en niños y un riesgo moderado en adultos, cuando no superan la porción semanal. Además, el consumo de atún-3 (en conserva), reineta y congrio dorado puede ser de alto riesgo en niños si superan las 2 porciones semanales.

VIII. PROYECCIONES Y RECOMENDACIONES

Con el propósito de ampliar la investigación sobre este tema, se propone realizar un muestreo anualmente, considerando un mayor número de muestras de distintas marcas comerciales, para lograr una mayor representatividad, y a partir de estas realizar una especiación de Hg y Se.

Como sugerencia se recomienda a las autoridades encargadas de establecer los niveles de metales pesados en los alimentos que están a la venta en Chile, actualizar los límites máximos establecidos basándose en las regulaciones internacionales y las investigaciones existentes hasta la fecha. Además de realizar controles más estrictos tanto a los productos nacionales como aquellos importados desde otros países, para garantizarle a los consumidores la inocuidad de estos.

Por otro lado, se sugiere comunicar a la población los posibles riesgos a la salud que conlleva el consumo de ciertas especies de pescados, y cuáles son las especies de pescados que pueden consumir los niños y adultos con mayor seguridad.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Amaya, M.J., Vilchez, F.J., Campos, C., Sánchez, P., Pereira, J.L. (2012). Micronutrientes en cirugía bariátrica. *Nutr Hosp*, 27(2), 349-361.
- Avella, C. y Vides, M. (2009). Hallazgos neuropsiquiátricos en una mujer quince años después de una intoxicación por mercurio elemental. *Rev. Colomb. Psiquiat.*, 38(3), 587-596.
- Bennett, B. G. (1983). Exposure of man to environmental selenium—an exposure commitment assessment. *Sci. Tot. Environ.*, 31(2), 117-127
- Bjørklund, G., Aaseth, J., Ajsuvakova, O. P., Nikonorov, A. A., Skalny, A. V., Skalnaya, M. G., & Tinkov, A. A. (2017). Molecular interaction between mercury and selenium in neurotoxicity. *Coord. Chem. Rev.* 332: 30-37.
- Boudou, A. y Ribeyre, F. (1997). Aquatic ecotoxicology: From the ecosystem to the cellular and molecular levels. *Environ. Health Perspect.*, 105 (SUPPL. 1), 21–35.
- Burger, J., (2009). Risk to consumers from mercury in bluefish (*Pomatomus saltatrix*) from New Jersey: size, season and geographical effects. *Environ. Res.* 109, 803–811.
- Burger, J., y Gochfeld, M. (2013). Selenium and mercury molar ratios in commercial fish from New Jersey and Illinois: variation within species and relevance to risk communication. *Food Chem. Toxicol.* 57, 235-245.
- Caraballoso, I., Calvo, A., De la Torre, J., Quintana, A., Quiñones, Y. y Norman, O. (2016). Validación y cálculo de la incertidumbre del resultado de la técnica cromatográfica para determinar G-1 y MBr en lotes de Furvina. *Revista Cubana de Química*, 28(3), 818-833.
- Cabañero, A. (2005). *Acumulación-interacción de especies de mercurio y selenio en tejidos animales: desarrollo de nuevas metodologías de análisis* (Tesis Doctoral). Universidad Complutense, Madrid, España.
- Chen, H., Wang, Z., Li, J., Tang, X., Ge, B., Wu, X. & Carmichael, G. (2015). GNAQPMS-Hg v1.0, a global nested atmospheric mercury transport model: Model description, evaluation and application to trans-boundary transport of Chinese anthropogenic emissions. *Geosci. Model Dev.*, 8(9), 2857–2876.
- Combs, G.F. (2001). Selenium in global food systems. *Br J Nutr.* 85(5), 517-547.

- Crespo, C. y Gómez, A. (2004). Estimación de la demanda de exportaciones del atún en conservas del Ecuador y estrategias para la industria (1996–2003). *Cuestiones Económicas*, 20(3), 143-185.
- Downs, S. G., MacLeod, C. A. y Lester, J. N. (1998). Mercury in precipitation and its relation to bioaccumulation in fish: a literature review. *Water, Air, and Soil Pollution*, 108(1-2), 149-187.
- Durazo, (2006). *Aprovechamiento de los productos pesqueros*. México: Universidad Autónoma de Baja California.
- Eisler, R. (2000). *Selenium Handbook of Chemical Risk Assessment: Health Hazards to Humans, Plants, and Animals*, vol. 3. CRC Press, Boca Raton, FL
- FAO/OMS. (2017). *Norma general del Codex para los contaminantes presentes en los alimentos y piensos*, Codex Stan 193-1995. FAO, Roma.
- Feist, B., Mikula, B., Pytlakowska, K., Puzio, B., & Buhl, F. (2008). Determination of heavy metals by ICP-OES and F-AAS after preconcentration with 2, 2'-bipyridyl and erythrosine. *J Hazard Mater*, 152(3), 1122-1129.
- Food and Drug Administration (FDA). (2017). *Consejos sobre el consumo de pescado: Lo que las embarazadas y los padres deben saber*. Recuperado de: <https://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm536869.htm>
- García, C. (2010). Determinación de mercurio por generación de vapor frío y detección vía absorción y fluorescencia atómica. *Universidad Simón Bolívar*, 1, 1–88. Recuperado de <http://159.90.80.55/tesis/000149413.pdf>.
- Gonzales, J. M. y Brown, P.B. (2006). Nile tilapia *Oreochromis niloticus* as a food source in advanced life support systems: Initial considerations. *Adv. Space. Res.* 38(6), 1132-1137
- González, M., Bodas, P., Gillén, J., Rubio, M., Ordoñez, M., Trasobares, E.,...Calle, A. (2014). Exposición al metilmercurio en la población general; toxicocinética; diferencias según el sexo, factores nutricionales y genéticos. *Nutr Hosp*, 30(5), 969-988.
- Gutiérrez, Á. J., González-Weller, D., González, T., Burgos, A., Lozano, G., y Hardisson, A. (2008). Content of trace metals (iron, zinc, manganese, chromium, copper, nickel) in canned variegated scallops (*Chlamys varia*). *Int J Food Sci Nutr*, 59(6), 535-543.

- Iqbal, S., Gul, T., Iqbal, M., Akhtar, M. y Adil, R. (2008) Determination of selenium content in selected Pakistani foods. *Int J Food Sci Technol.*, 43, 339-45.
- Institute Of Medicine (IOM), (2000). Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington, DC: The National Academies Press.
- Lemire, M., Fillion, M., Frenette, B., Mayer, A., Philibert, A., Passos, C. J. S., ... & Mergler, D. (2010). Selenium and mercury in the Brazilian Amazon: opposing influences on age-related cataracts. *Environmental health perspectives*, 118(11), 1584.
- León, D. y Peñuela, G. (2011). Trascendencia del metilmercurio en el ambiente, la alimentación y la salud humana. *Producción Más Limpia*, 6(2), 108-116.
- Lortie, L., Gould, W., Rajan, S., McCreedy, R. y Cheng, K. (1992). Reduction of selenate and selenite to elemental selenium by a *Pseudomonas stutzeri* isolate. *Appl. Environ. Microbiol.* 58(12), 4042-4044.
- Manzanares, W.C. (2007). Selenium in critically ill patients with systemic inflammatory response. *Nutr hosp*, 22(3), 295-306.
- Martínez, M. R. y López, M A. (2017). Digestión de muestras para análisis en microondas. En Menéndez, J.A. y Moreno, A.H. (eds.), *Aplicaciones industriales del calentamiento con energía microondas*. (pp.301-3015). Ecuador: Editorial Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Matamoros, A. (2002). *Distribución especial de selenio en suelos y su comportamiento geoquímico local al oriente de los municipios de Útica y villeta* (Tesis Maestría). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- MINSAL (2002). Resolución exenta N° 394/2002 "Fija directrices nutricionales sobre suplementos alimentarios y sus contenidos en vitaminas y minerales". Recuperado de: <https://www.leychile.cl/Navegar?idNorma=194953>
- MINSAL (2017). Reglamento Sanitario de los Alimentos DTO. N° 977/96. Recuperado de: http://www.dinta.cl/wp-dintacl/wp-content/uploads/RSA-DECRETO_977_96_actualizado-Dic-2017http://www.dinta.cl/wp-dintacl/wp-content/uploads/RSA-DECRETO_977_96_actualizado-Dic-2017.pdf.pdf
- Molina, C., Gibon, F., Sánchez, Y., Achá, D., Benefice, E. y Guimaraes, J. (2010). Implicancia ambiental del mercurio en ecosistemas acuáticos de la Amazonía: Situación en Bolivia. *Revista virtual REDESMA*, 4(2), 25-42.

- Moscoso, C. M. (2003). *Determinación de metales formadores de vapor mediante generación de hidruros acoplada a espectroscopía de absorción y fluorescencia atómica*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Coruña, España.
- Navarro, M. y Cabrera, C. (2008). Selenium in food and the human body: A review. *Sci Total Environ.*, 400, 115-41.
- Nriagu, J. (Ed.). (1979). *The Biogeochemistry of mercury in the environment*, Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press.
- Olmedo, P., Hernández, A.F., Pla, A., Femia, P., Navas-Acien, A. y Gil, F. (2013). Determination of essential elements (copper, manganese, selenium and zinc) in fish and shellfish samples. Risk and nutritional assessment and mercury-selenium balance. *Food Chem. Toxicol.*, 62, 299-307.
- Ordiano, A. (2009). *Bioacumulación y biomagnificación de mercurio en atún aleta amarilla, Thunnus albacares, del Océano Pacífico Oriental*. (Tesis de Maestría). Universidad Nacional Autónoma de México, La Paz B.C.S., México.
- Oremland, R.S., Hollibaugh, J.T., Maest, A.S., Presser, T.S., Miller, L. G. y Culbertson, C.W. (1989). Selenate reduction to elemental selenium by anaerobic bacteria in sediments and culture: biogeochemical significance of a novel, sulfate-independent respiration. *Appl. Environ. Microbiol* 55(9), 2333-2343.
- Palazón, I. (2016). *Asociación entre la concentración sérica de selenio y el perfil lipídico en una población infantil y adulta* (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Papp, L.V., Lu, J., Holmgren, A. y Khanna, K.K. (2007). From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signal*, 9(7), 775-806.
- Park, K. y Mozaffarian, D. (2010). Omega-3 fatty acids, mercury, and selenium in fish and the risk of cardiovascular diseases. *Curr atheroscler rep*, 12(6), 414-422.
- Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) Productos Químicos (2002) “*Evaluación mundial sobre el mercurio*”, Ginebra, Suiza.
- PSAnalytical. (1997). *Method for mercury in sludge, soils and sediments*. Manual Merlin PSA 10.023
- Raimann, X., Rodríguez, L., Chávez, P., y Torrejón, C. (2014). Mercurio en pescados y su importancia en la salud. *Rev Med Chile*, 142, 1174–1180.

- Ralston, N. (2009). Introduction to 2nd issue on special topic: selenium and mercury as interactive environmental indicators. *Environ. Bioindicat*, 4(4), 286-290. doi: 10.1080/15555270903448682
- Ralston, N.V., Ralston, C.R., y Raymond, L.J. (2016). Selenium health benefit values: Updated criteria for mercury risk assessments. *Biol Trace Elem Res*, 171(2), 262-269.
- Revis, N.W., Osborne, T.R., Holdsworth, G. & Hadden, C (1990). Mercury in soil: a method for assessing acceptable limits. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19: 221-226.
- Rodríguez, M., Gutiérrez, Á. J., Rodríguez, N., Rubio, C., Paz, S., Martín, V., ... & Hardisson, A. (2018). Assessment of mercury content in Panga (*Pangasius hypophthalmus*). *Chemosphere*, 196, 53-57.
- Ruiz de Cenzano, M. (2017). *Nuevos desafíos en el análisis de la composición de alimentos*. (Tesis de Doctorado). Universidad de Valencia, Valencia, España.
- Sánchez, A. (2009). Selenio y tiroide. *Rev. Glánd Tir Paratir.*, (18),40-45.
- Skoog, D y Leary, J (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. España: Editorial Mc Graw Hill.
- Snodgrass, J. W., Jagoe, C. H., Bryan, Jr, A. L., Brant, H. A., & Burger, J. (2000). Effects of trophic status and wetland morphology, hydroperiod, and water chemistry on mercury concentrations in fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 57(1), 171-180.
- Stripeikis, J.D. (2002). *Optimización de la producción de átomos de selenio en espectroscopías atómicas: aplicaciones a su especiación y cuantificación en matices ambientales* (Tesis de Doctorado). Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- Suarez, M. y Michelsen, J. (2004). El papel del selenio y la vitamina E en la prevención y tratamiento del cáncer de próstata. *Rev. costarric. salud pública*. 13(24), 01-14.
- Simmons-Willis, T., Koh, A., Clarkson, T. & Ballatori, N. (2002). Transport of a neurotoxicant by molecular mimicry: the methylmercury-L-cysteine complex is a substrate for human L-type large neutral amino acid transporter (LAT) 1 and LAT2. *The Biochemical journal*, 367 (Pt 1), 239–246.

- Swanson, H., Johnston, T., Leggett, W., Bodaly, R., Doucett, R. y Cunjak, R. (2003). Trophic positions and mercury bioaccumulation in rainbow smelt (*Osmerus mordax*) and native forage fishes in northwestern Ontario lakes. *Ecosystems*, 6(3), 289-299.
- Taverniers, I, Loose, M. y Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends Analyt Chem.*, 23(8), 535-552.
- Thompson, M., Ellison, S. y Wood, R. (2002). Harmonized Guidelines For Single-Laboratory Validation Of Methods Of Analysis, *Pure Appl. Chem.* 74(5), 835-855.
- Tsalev, D. (1995). *Atomic Absorption Spectrometry in Occupational and Environmental Health Practice* (Vol.III). Estados Unidos de América: CRC Press.
- Vandecasteele, C. y Block, C.B., (1993). *Modern Methods for Trace Element Determination*. Inglaterra: John Wiley y Sons.
- Vendrell, I (2006). *Evaluación y desarrollo de modelos in vitro para la predicción de neurotoxicidad. Aproximación proteómica a la neurotoxicidad inducida por metilmercurio* (Tesis doctoral). Universidad de Barcelona, Barcelona, España.
- Villena, M. (2012). Diagnóstico del Consumo Interno de Productos Pesqueros en Chile (Informe Final). Recuperado de: http://www.subpesca.cl/portal/618/articles-94615_documento.pdf
- Vinchira, J.E. y Muñoz, A.P. (2010). Selenio: Nutriente objetivo para mejorar la composición nutricional del pescado cultivado. *Rev. Med. Vet. Zoot.*, 57(1), 59-75.
- Wiener, J., Krabbenhoft, P., Heinz, G. y Scheuhammer, A. (2003). "Handbook of Ecotoxicology", Sección II. Contaminant Sources and Effects, Ecotoxicology of Mercury, Lewis Publishers by CRC Press LLC, Segunda edición, Cap.16.
- Wilber, C.G. (1980). Toxicology of selenium: a review. *Clin toxicol*, 17(2), 171-230.
- Yarto, M., Gavilán, A. y Castro, J. (2004). La contaminación por mercurio en México. *Gaceta Ecológica* , 72, 21–34.

ANEXO 1:

Tabla 2. Resultados medición mercurio en pescados y mariscos. Plan de vigilancia nacional de metales pesados en productos del mar, MINSAL 2012

Producto	Situación por especie				Norma RSA (mg/kg)
	n muestras	Regiones involucradas	Rango Resultados (mg/kg)	Promedio Resultados (mg/kg)	
Albacora	19	II-III-IV-V	0,280 - 1,570	0,739	1,5
Anchoveta	11	I-II	0,010 - 0,080	0,021	0,5
Atún conserva (aceite y agua)	50	I-RM	0,020 - 0,830	0,212	1,0
Besugo	3	VIII	0,070 - 0,095	0,080	0,5
Bilagay	3	III	0,070 - 0,130	0,110	0,5
Caballa	3	IV	0,025 - 0,180	0,085	0,5
Cabrilla	2	XV	0,180 - 0,370	0,275	0,5
Cojinova	2	XV	0,040 - 0,050	0,045	0,5
Congrio (Colorado, Dorado y Negro)	27	V- VIII-XIV-X:XI-XII	0,020 - 0,290	0,117	0,5
Corvina	6	I-IX	0,030 - 0,140	0,056	0,5
Jurel	18	I-II-VIII	0,020 - 0,050	0,038	0,5
Merluza (Común, de Cola)	56	V- VII-VIII-X:XI	0,015 - 0,260	0,065	0,5
Pejerrey	4	I	0,020 - 0,320	0,103	0,5
Reineta	22	VII-VIII	0,043 - 0,185	0,090	0,5
Róbalo	8	XIV-X	0,028 - 0,140	0,076	0,5
Rollizo	3	III	0,090 - 0,120	0,107	0,5
Salmón (Atlántico y Plateado)	40	XIV-X:XI-XII	0,020 - 0,130	0,034	0,5
Sardina	4	XIV-X	0,025 - 0,118	0,067	0,5
Sierra	18	V-VIII-XIV-X	0,030 - 0,220	0,066	0,5
Almeja	22	XV-V-VIII-X:XI	0,010 - 0,110	0,041	0,5
Chorito	39	II-V-XIV-X	0,010 - 0,710	0,054	0,5
Choros	6	XV-X	0,010 - 0,060	0,025	0,5
Total	366		0,010 - 1,570	0,118	

Raimann, X., Rodríguez, L., Chávez, P., y Torrejón, C. (2014). Mercurio en pescados y su importancia en la salud. *Rev Med Chile*, 142, 1174–1180.

ANEXO 2

Ingesta Diaria Recomendada (IDR) de selenio para los distintos grupos etarios.

Edad	Hombre (µg)	Mujer (µg)	Embarazo (µg)	Lactancia (µg)
Bebés hasta 6 meses de edad	15	15		
Bebés desde 7 a 12 meses de edad	20	20		
Niños desde 1 a 3 años	20	20		
Niños de 4 a 8 años	30	30		
Niños de 9 a 13 años	40	40		
Adolescentes de 14 a 18 años	55	55	60	70
Adultos de 19+ años	55	55	60	70

Institute Of Medicine (IOM), (2000). Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington, DC: The National Academies Press.

ANEXO 3

Nivel de ingesta máxima tolerable para selenio

Edad	Hombre (µg/día)	Mujer (µg/día)	Embarazo (µg/día)	Lactancia (µg/día)
Bebés hasta 6 meses de edad	45	45		
Bebés desde 7 a 12 meses de edad	60	60		
Niños desde 1 a 3 años	90	90		
Niños de 4 a 8 años	150	150		
Niños de 9 a 13 años	280	280		
Adolescentes de 14 a 18 años	400	400	400	400
Adultos de 19+	400	400	400	400

Institute Of Medicine (IOM), (2000). Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids. Washington, DC: The National Academies Press.