

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



**DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MERCURIO EN
TEJIDO MUSCULAR DE *Cichlasoma managuense* (PEZ TIGRE
O GUAPOTE) DEL LAGO DE AMATITLÁN POR
ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON
VAPOR FRÍO**

Aída Vanessa Rouanet Mora

**Guatemala
2007**

**DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MERCURIO EN
TEJIDO MUSCULAR DE *Cichlasoma managuense* (PEZ TIGRE
O GUAPOTE) DEL LAGO DE AMATITLÁN POR
ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON
VAPOR FRÍO**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades
Departamento de Química Farmacéutica



**DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE MERCURIO EN
TEJIDO MUSCULAR DE *Cichlasoma managuense* (PEZ TIGRE
O GUAPOTE) DEL LAGO DE AMATITLÁN POR
ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON
VAPOR FRÍO**


Trabajo de Investigación presentado por:

Aída Vanessa Rouanet Mora

para optar el grado de Licenciatura en Química Farmacéutica


**Guatemala
2007**

Vo.Bo.:




Lda. Carolina Guzmán

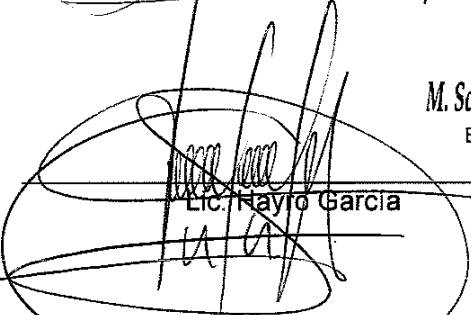
Tribunal:



Lic. Efigenio Rolando López



Lda. Carolina Guzmán



Lic. Hayro García

M. Sc. Hayro Oswaldo García García
Biólogo, Colegiado 1852
Recursos Hidráulicos,
Calidad del Agua

Fecha de aprobación: 11 de diciembre de 2008

ÍNDICE

Página

LISTA DE TABLAS	viii
LISTA DE FIGURAS Y GRÁFICAS	ix
RESUMEN	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO CONCEPTUAL	3
2.1 Antecedentes del problema.....	3
2.2 Justificaciones.....	4
2.3 Planteamiento del problema.....	5
2.4 Alcance y limitantes del problema.....	5
III. MARCO TEÓRICO	7
3.1. Generalidades del Lago de Amatitlán.....	7
3.2 Descripción del pez <i>Cichlasoma managuense</i>	10
3.3 Propiedades del mercurio.....	12
3.4 Toxicocinética del mercurio.....	17
3.5 Toxicología del mercurio.....	19
3.6 Procesos descontaminantes del mercurio.....	25
3.7 Límites del metilmercurio en pez según Codex Alimentarius.....	25
3.8 Digestión ácida por microondas.....	26
IV. MARCO METODOLÓGICO	29
4.1 Objetivos.....	29
4.2 Hipótesis.....	29
4.3 Variables.....	30
4.4 Población y muestra.....	30
4.5 Procedimiento.....	31
4.6 Diseño de investigación.....	33
4.7 Análisis estadístico.....	33
V. MARCO OPERATIVO	35
5.1 Recaudación y tratamiento de los datos.....	35
5.2 Recursos.....	35
VI. RESULTADOS	37
VII. DISCUSIÓN	40

	Página
VIII. CONCLUSIONES	43
IX. RECOMENDACIONES	44
X. BIBLIOGRAFÍA	46
10.1 Referencias bibliográficas.....	46
10.2 Referencias electrónicas.	47
XI. ANEXOS	50
11.1 Mapa Departamento de Guatemala.....	51
11.2 Ubicación Lago de Amatitlán.	52
11.3 Ríos que conforman la Cuenca del Lago de Amatitlán.....	53
11.4 Puntos de muestreo en Lago de Amatitlán.....	54

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
Tabla No 1. Niveles tóxicos de concentración de mercurio y su acumulación en humanos.....	23
Tabla No. 2. Límites metilmercurio según Codex.....	25
Tabla No 3. Comparación sistema cerrado con sistema abierto.	27
Tabla No. 4. Concentración de mercurio y metilmercurio en Cichlasoma managuense en las cercanías del Río Villalobos, Río Michatoya y Silla del Niño, Lago de Amatitlán, Guatemala.....	37
Tabla No. 5. Valores t y conclusión de Hipótesis.....	38
Tabla No. 6. Promedio concentración metilmercurio de Cichlasoma managuense del Lago de Amatitlán en 1976 y 2007.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura No. 1. Ciclo natural del mercurio.	13
Figura No. 2. Ciclo antropogénico del mercurio.....	14
Figura No. 3. Ciclo acuático del mercurio.	15

RESUMEN

En esta investigación, se determinó y se cuantificó la concentración de mercurio en el tejido muscular de *Cichlasoma managuense* (pez tigre o guapote) del Lago de Amatitlán. Esta especie constituye actualmente un 95% de la pesca de este lago, y es uno de los peces de mayor consumo de los pobladores de Amatitlán y sus alrededores.

Los peces se recolectaron en tres puntos: Río Villalobos, Río Michatoya y Silla del Niño, los cuales son los puntos de mayor descarga industrial y contaminación del lago.

Para la extracción de la muestra, se utilizó digestión ácida por microondas con vasos cerrados, técnica que ha demostrado ser altamente eficiente y sin pérdidas de muestra. El análisis de mercurio se realizó por medio de espectrofotometría de absorción atómica con vapor frío, la que utiliza cloruro de estaño para reducir el mercurio a su nivel basal; y no utiliza llama (vapor frío), para evitar pérdidas de muestra debido a la presión de vapor que tiene este metal a temperatura ambiente.

Como resultado se obtuvo una concentración promedio de metilmercurio de 0.17 ± 0.07 mg/kg, valor que se encuentra dentro de los niveles permisibles que indica el Codex Alimentarius, que fija como un límite 1 mg/kg para peces depredadores.

A pesar que los niveles determinados cumplen para la ingesta recomendada por la OMS/OPS, pueden provocar efectos adversos en la población vulnerable: niños y principalmente el feto.

I. INTRODUCCIÓN

El Lago de Amatitlán recibe contaminación de desechos agrícolas como abonos, pesticidas, así como también de materiales de construcción, residuos industriales, domésticos, defecaciones diarias. Lamentablemente por las grandes cantidades de vertidos industriales y agrícolas que recibe este cuerpo hídrico, se ha determinado plomo, cadmio y arsénico en peces, a unas concentraciones más altas que los niveles aceptados por los normativos de la Organización Mundial de la Salud (García, 1997).

Alrededor de 1959, fue cultivada una especie de pez en el Lago de Amatitlán, el guapote o pez tigre (***Cichlasoma managuense***). Este pez es carnívoro, se alimenta de las especies herbívoras y omnívoras, lo cual provocó un desequilibrio en el ecosistema del lago. Este hecho ocasionó también la proliferación de algas y plantas acuáticas flotantes. La Autoridad del Lago de Amatitlán -AMSA- a partir del año de 1996 efectúa muestreos cualitativos sobre las especies que se encuentran presentes en el Lago, los puntos de mayor densidad poblacional es en el lado Oeste en las riberas, específicamente en la desembocadura del río Villalobos, lugar donde el río recibe la mayor parte de su contaminación. El pez que más se ha cuantificado es el ***Cichlasoma managuense*** (pez tigre o guapote) que constituye el 95% de la pesca del lago.

Un estudio de investigación desarrollado en el ***Cichlasoma managuense*** del Lago de Amatitlán, mostró que dicho pez tiene presencia de mercurio (Ramos, 1976). Este metal resulta tóxico en concentraciones de 10-50 mg/kg (EPA, 2007). Todas las formas del mercurio son tóxicas para el feto, sin embargo el metilmercurio, componente mercurial que se biotransforma en el pez y se bioacumula, es el componente que atraviesa más rápidamente la placenta, lo cual puede ocasionar efecto teratogénico, mutagénico y efectos negativos sobre el sistema nervioso central. Las concentraciones más bajas de metilmercurio relacionadas con síntomas identificables son de 0.2 µg/mL, y niveles de hasta 0.07µg/kg/día, que han demostrado tener un efecto negativo sobre el feto.

El objetivo fundamental de este trabajo de investigación, fue determinar y cuantificar los niveles de metilmercurio en el Guapote, y compararlo con los niveles permisibles de normas internacionales, para determinar si el consumo de este pez constituye un riesgo para la población de Guatemala, principalmente para los habitantes de las cercanías del Lago de Amatitlán.

II. MARCO CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES DEL PROBLEMA.

2.1.1 Estudios previos sobre determinación de mercurio en peces del Lago de Amatitlán. En 1976, previo a optar el título de licenciado en Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, Alberto Ramos Medrano determinó la concentración de mercurio en peces de Guatemala (Ramos, 1976).

En este estudio se analizaron 310 especímenes, mediante la técnica de Absorción Atómica. Además estudiaron 14 muestras con el propósito de examinar la distribución del mercurio en el organismo, y compararon las concentraciones de mercurio en el músculo y en la masa total del mismo pez (Ramos, 1976).

En el lago de Amatitlán, recolectó *Cichlasoma maculicauda* (mojarra), guapote y *Procambarus mexicanus* (cangrejo) (Ramos, 1976).

Como resultados, obtuvo del análisis de 38 muestras del lago de Amatitlán, una concentración mínima de 0.01 mg/kg y una concentración máxima de 0.23 mg/kg. El promedio fue de 0.13 ± 0.07 mg/kg (Ramos, 1976).

Del análisis de 14 peces, para comparar la concentración de mercurio en el músculo y en la masa total del pez, se encontró que la concentración de mercurio es mayor en el músculo que en el pez entero. Esto confirma que el mercurio se encuentra principalmente ligado a las proteínas del músculo. La diferencia más grande se encontró en una mojarra de 80 gramos en la cual la concentración en el pez entero fue de 0.01 mg/kg, mientras que en el músculo del mismo pez fue de 0.28 mg/kg (Ramos, 1976).

La mayor contaminación con mercurio se encontró en peces de Amatitlán y de la costa del Atlántico, con promedios de 0.13 ± 0.07 mg/kg y

0.12±0.17 mg/kg, respectivamente. Todas las muestras contenían mercurio (Ramos, 1976).

A partir de esa fecha, no hay ningún estudio conocido que vincule el mercurio presente en peces del Lago de Amatitlán.

2.2 JUSTIFICACIONES.

El Lago de Amatitlán es un ecosistema, desde el punto de vista turístico, y una fuente de alimentación para la población. En él, habita el pez ***Cichlasoma managuense***, el cual constituye uno de los peces de mayor consumo de la población guatemalteca, principalmente de los habitantes de los alrededores del Lago.

El mercurio es un metal, que se bioacumula en los animales y se biomagnifica a medida que aumenta la cadena trófica. Éste se convierte en metilmercurio, componente mercurial muy tóxico. Es decir que la concentración de mercurio en el humano va a ser mayor que en el pez. La exposición a este componente es teratógena y neurotóxica.

Un estudio de investigación desarrollado en 1976, determinó la presencia de dicho metal en el tejido muscular de ciertos peces en el Lago de Amatitlán, incluyendo al ***Cichlasoma managuense***, a niveles permitidos por las normas Codex.

Sin embargo, la contaminación del lago durante el transcurso de los años ha ido aumentando. A pesar que no se conoce con certeza las industrias que contribuyen a la contaminación de los afluentes con mercurio, dicho metal puede ser transportado hasta el Lago de Amatitlán debido a la movilidad ambiental de la naturaleza.

Es de suma importancia determinar y cuantificar el mercurio presente en el tejido muscular del Guapote; y así comprobar si los niveles cumplen con los niveles de referencia. De esta manera, se pudo determinar si este alimento

constituye un riesgo para la población, principalmente para las mujeres embarazadas, debido al alto daño que causa el metilmercurio en el feto.

2.3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El mercurio es un metal tóxico, que se bioacumula y se convierte a metilmercurio al ser ingerido por los peces. En diferentes partes del mundo, se presentan intoxicaciones de personas debido al alto consumo de peces contaminados con metilmercurio.

El metilmercurio atraviesa la barrera hematoencefálica y atraviesa la barrera placentaria, lo cual indica que afecta principalmente el sistema nervioso central y es teratogénico y mutagénico. Este mercurio organometálico también se excreta por la leche materna. Niveles de hasta $0.07\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ han demostrado tener un efecto negativo sobre el feto.

2.4 ALCANCE Y LIMITANTES DEL PROBLEMA.

2.4.1 Alcances. La Autoridad para el Manejo de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA), el Centro de Información y Asesoría Toxicológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y el Laboratorio Nacional de Salud, cuentan con el equipo necesario para realizar el análisis de mercurio. La Universidad del Valle de Guatemala también, cuenta con reactivos químicos necesarios para la preparación de la muestra.

De las instituciones anteriormente mencionadas, se recibió ayuda para realizar el análisis de mercurio en muestras de peces recolectados en el Lago de Amatitlán.

2.4.2 Límites. Mediante este estudio se determinó que el nivel de mercurio presente en el *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán, está

dentro de los límites permisibles del Codex Alimentarius; sin embargo, no se determinó la concentración de este metal en otros peces de alto consumo por la población, ni se tomó en cuenta otros lagos o ríos donde la pesca artesanal es alta. Debido a falta de recursos no se pudo realizar un estudio estadísticamente significativo.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. GENERALIDADES DEL LAGO DE AMATITLÁN.

El municipio de Amatitlán se encuentra ubicado al sur del departamento de Guatemala, a 27 km. de la ciudad capital. Tiene una extensión territorial aproximada de 115 km². Es uno de los siete municipios con mayor influencia en el deterioro del Lago de Amatitlán (González, 2003).

Amatitlán tiene al norte los municipios de Villa Nueva y Villa Canales, al Sur Palín y San Vicente Pacaya (Escuintla) y Villa Canales, al Este Villa Canales; y al oeste Magdalena Milpas Altas y Santa María de Jesús (Sacatepéquez) (González, 2003).

El Lago de Amatitlán está ubicado en los paralelos 14°23'25" y 14°40'25" latitud norte y meridianos 90°41'25" longitud Oeste, en el municipio de Amatitlán, y constituye el límite geopolítico entre éste los municipios de Villa Canales, Villa Nueva y San Miguel Petapa. La cuenca del lago tiene aproximadamente 396 km² (García, 1997).

La topografía de la cuenca se caracteriza por un relieve muy fuerte y subsuelo muy suelto, forma un terreno de relieve moderado, al norte de una cadena volcánica, paralela a la costa pacífica (García, 1997).

Los peces presentes en el lago son: ***Cichlasoma managuense*** (Guapote) que constituye el 95% de la pesca del lago, ***Cichlasoma gutulatum*** (mojarra), ***Cichlasoma nigrofasciatum*** (mojarra negra), ***Tilapia nilotica*** (Carpa), ***Tilapia mossambica*** (Tilapia), ***Cyprinus Carpio*** (Tilapia), ***Astianaxfasciatus*** (Pepesca), ***Ctenopharyngodon idella*** (Vaca de agua), ***Mollinesia sphenops*** (pescadito), ***Poesilistes peurospilas*** (Pupo). Además de estos peces se menciona *Potamocarcinus guatemalensis* (Cangrejo café), *Pomacea flagellata* (caracol negro), ***Sanguinolaria rostrata*** (almeja) y ***Macrobrachium rosenberguii*** (Camarón) (García, 1997).

La cuenca del Lago de Amatitlán es un área delimitada geográficamente, cuyas aguas superficiales drenan hacia un mismo punto que puede ser un río, un lago, un canal o el mar. Las cuencas generalmente empiezan en la parte alta de las montañas o volcanes y rodean el cauce de los ríos principales. Por lo tanto, la cuenca del lago es un área geográfica, cuyas aguas desembocan en el Lago a través del río Villa Lobos y sus afluentes (González, 2003).

El Lago de Amatitlán recibe contaminación de diferentes fuentes: desechos agrícolas como abonos, pesticidas, así como también materiales de construcción, residuos industriales, domésticos y defecaciones diarias. El Lago está perdiendo en su actualidad gran cantidad de profundidad. Cada año recibe aproximadamente 0.75 cm de sedimentos. También está sufriendo el proceso de eutrofización, que es el exceso de nutrientes que regularmente contienen las aguas negras, que alimentan en forma desproporcionada la flora acuática, produciendo el desequilibrio con la proliferación de algas, las plantas ya no producen oxígeno, con lo cual la fauna se muere (González, 2003).

La deforestación es un factor de degradación, no sólo del recurso forestal, sino que conlleva la erosión de los suelos (Escobar, 1989).

Alrededor de 1959, fue cultivada una especie de pez en el Lago de Amatitlán, el guapote o pez tigre (***Cichlasoma managuense***). Este pez es carnívoro, se alimenta de las especies herbívoras y omnívoras, lo cual provocó un desequilibrio en el ecosistema del lago. Este hecho ocasionó también la proliferación de algas y plantas acuáticas flotantes. El ***Cichlasoma managuense*** presenta en promedio 16 ppm de plomo, es decir ocho veces más de lo que un ser humano puede soportar en toda su vida; se ha detectado en el lomo del pez también, elevadas concentraciones de materia fecal (González, 2003).

En la actualidad, en Guatemala operan más de 3193 industrias reportadas por el INE, en 1996. De éstas, 900 se encuentran ubicadas en la Cuenca del Lago de Amatitlán distribuidas en varias ramas como: textiles,

alimenticia, metalúrgica, galvanoplásticas, químicas, agroquímicas, jabones y cosméticos, yeso y cerámica, entre otros (González, 2003).

En términos económicos, el área de la cuenca del lago de Amatitlán es una de las más importantes del país. Según el INE, en dicha área se sitúa el 25% de la industria nacional. Aproximadamente 72 industrias generan contaminantes químicos y muchas de ellas utilizan grandes cantidades de agua, produciendo un mayor grado de contaminación (INE, 2005).

Hay otras empresas establecidas que no utilizan tanta cantidad de agua pero su grado de contaminación es grande; por ejemplo, los molinos de granos aportan el 24% de la carga total de sólidos en suspensión (INE, 2005).

A mediados de la década de los ochenta, se habían identificado 125 núcleos poblacionales y 272 industrias con alto potencial contaminante químico. En 1988, se identificaron 341 industrias en el área de influencia del lago (INE, 2005). Datos recientes, recopilados por la Autoridad, dan cuenta de la existencia de 655 industrias con descargas hacia fuentes del lago (INE, 2005).

Además, en la cuenca del lago se encuentran 23 beneficios de café y un ingenio de azúcar, que utilizan agua en diferentes partes del proceso de producción, ya que la mayoría de las fincas cuentan con un beneficio húmedo. Las descargas de desechos y agua utilizada no se conocen exactamente, aunque el único dato disponible es que ambas actividades requieren un suministro del vital líquido de 190 lt/seg y vuelcan sus aguas usadas a efluentes del lago, sin tratamiento alguno (INE, 2005).

La vida acuática, y aun la vida animal terrestre, ha sido diezmada y se encuentra en un acelerado proceso de extinción, al grado de que varias especies nativas han desaparecido totalmente. Por otra parte, las especies existentes representan un gran peligro para el consumo humano debido a la gran cantidad de contaminantes y microorganismos patógenos con los que entran en contacto (INE, 2005).

3.2 DESCRIPCIÓN DEL PEZ *Cichlasoma managuense*.

El pez *Cichlasoma managuense*, pez tigre o guapote, es un pez originario de la vertiente Atlántica Centroamericana, desde el río Ulua en Honduras hasta la cuenca del río Matina en Costa Rica aunque por su tamaño y buen sabor ha sido introducido en otras localidades incluyendo la vertiente pacífica Centroamericana (Blanco, 2001).



Es un pez de boca grande, típico depredador ictiófago, con la mandíbula inferior prominente. El iris es de color cobrizo, el cuerpo y las aletas moteadas de negro sobre un fondo variable pardo verdoso con flancos dorados y/o rojizos. El vientre suele virar hacia el amarillo. Además del moteado aparece con claridad una banda negra desde el ojo hasta la cola por la zona media. Su tamaño se aproxima a los 30 cm (en acuario) (Blanco, 2001).

En 1954 la FAO dio inicio a un estudio de aguas continentales, donde se evaluó la posibilidad de mantener y aumentar las poblaciones ícticas y de introducir especies exóticas en las aguas interiores. Entre los resultados de ese estudio se determinó que la fauna íctica del Lago de Amatitlán estaba compuesta en un 52% de mojarra (*Cichlasoma guttulatum*), 22% de pulpo (Poeciliidae), 15% de guapote (*Cichlasoma managuense*), 2% de pepesca (*Astyanax sp*) y 1% de sirica (*Cichlasoma nigrofasciatum*). En 1959 el lago de Amatitlán se repobló con pez tigre o guapote (*Cichlasoma managuense*), mojarra negra (*Cichlasoma macracanthus*) y en 1960 con tilapia (*Oreochromis mossambicus*) (García, 2007).

La Autoridad del Lago de Amatitlán -AMSA- a partir del año de 1996 ha realizado muestreos cualitativos sobre las especies que se encuentran

presentes en el Lago, los puntos de mayor densidad poblacional es en el lado Oeste en las riberas, específicamente en la desembocadura del río Villalobos. El pez que más se ha cuantificado es el ***Cichlasoma managuense*** (pez tigre o guapote) que constituye el 95% de la pesca del lago (García, 2007).

La introducción de especies como el Guapote y la Tilapia han logrado hacer con el tiempo un equilibrio dentro de las poblaciones nativas e introducidas, ya que a pesar del constante incremento del esfuerzo pesquero, contaminación y depredación de las especies nativas por las introducidas, se ha observado que existen lugares de permanente distribución de especies nativas (García, 2007).

En el centro lado Oeste hay mayores poblaciones de especies, pero menos diversidad y se debe a que las descargas orgánicas derivadas del río Villalobos hace que haya más comida para éstos, entre los cuales se incluye el Guapote (García, 2007).

Otra de las características de la mayor población de guapotes se debe a su alta precocidad sexual y sus hábitos alimenticios (García, 2007).

Lamentablemente por las grandes cantidades de vertidos industriales y agrícolas que recibe éste cuerpo hídrico se han cuantificado peces con cantidades de plomo, cadmio y arsénico más altos que los niveles aceptados por los normativos de la Organización Mundial de la Salud (García, 2007).

- *Clasificación taxonómica Cichlasoma managuense*

Todos los grupos de especies del género *Cichlasoma* han sido caracterizados, primordialmente, por la forma, tamaño y disposición de los dientes, así como el tipo de escamas. Dentro de la clasificación general del Reino Animal, las especies estudiadas se encuentran clasificados así:

Phylum Chordata
Subphylum Vertebrata
Clase Osteichthyes

Subclase Actinopterygii
Super Orden Teleostei
Orden Perciformes
Familia Cichlidae
Género *Cichlasoma*

Especie: *Cichlasoma managuense*
Nombre común: pez tigre o guapote

(García, 1997)

3.3 PROPIEDADES MERCURIO.

3.3.1 Propiedades físicas y químicas del mercurio. El mercurio elemental es el único metal líquido a temperatura ambiente y posee una presión de vapor relativamente alta, por lo que pasa fácilmente a la atmósfera (Moreno, 2003).

El mercurio tiene una masa atómica de 200.59 g/mol. En la forma inorgánica, el mercurio existe en tres estados oxidativos: Hg° (metálico), Hg_2^{2+} (mercurioso), y Hg^{2+} (mercúrico). Los estados de mercurioso y mercúrico pueden formar numerosos compuestos químicos inorgánicos y orgánicos. Las formas orgánicas son aquellas en las cuales el mercurio está unido covalentemente a un átomo de carbono (WHO, 1990).

En su forma elemental, el mercurio a temperatura ambiente es un líquido plateado pesado. A 20°C, la presión de vapor es 0.16 Pa (0.0012 mmHg). La atmósfera saturada a 20°C contiene una concentración aproximada de 15 mg/m³ de vapor de mercurio. Esta concentración es 200 veces mayor que la concentración aceptada por exposición ocupacional (WHO, 1990).

Los componentes del mercurio difieren significativamente en su solubilidad. La solubilidad en agua incrementa en este orden: cloruro mercurioso, mercurio elemental, cloruro de metilmercurio, cloruro mercúrico. Ciertas especies de mercurio son solubles en solventes no polares. Estos

incluyen el mercurio elemental y los compuestos haluros de alquilvercurio (WHO, 1990).

Desde el punto de vista bioquímico, el punto más importante en su propiedad química es su alta afinidad por grupos sulfhidrilos (WHO, 1990).

3.3.2 Ciclo del mercurio.

3.3.2.1 Ciclo natural del mercurio. Un esquema de este ciclo puede observarse en la figura No. 1. En él se puede apreciar, que es un ciclo atmosférico, y que la principal incorporación del mercurio a la atmósfera es debida al vulcanismo y al proceso de desgasificación del mercurio metal, por sublimación. A partir de la atmósfera, o bien se inhala directamente, o se incorpora a las cadenas tróficas, mediante el ciclo del agua (Doadrilo, 2004).

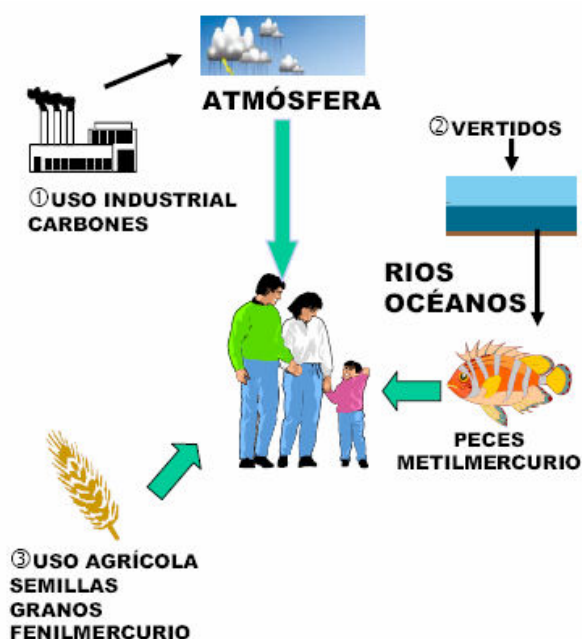
Figura No. 1. Ciclo natural del mercurio.



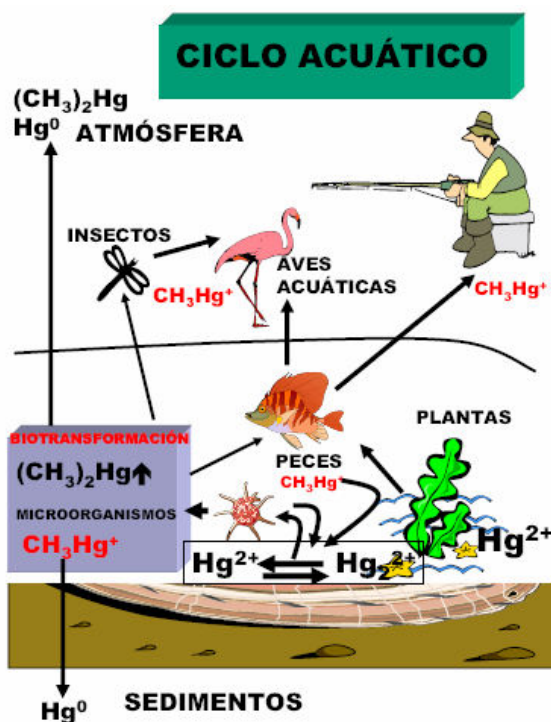
3.3.2.2 Ciclo antropogénico del mercurio. En la figura No. 2, se muestra un esquema de este ciclo, donde se observa la incorporación del mercurio a las cadenas tróficas, por esta vía, es más variada que la anterior. El

mercurio, puede entrar en un ciclo atmosférico, por los vertidos industriales atmosféricos o por la combustión de carbones, donde se introduce en las cadenas tróficas por el ciclo del agua, o bien se inhala directamente. También entra directamente en el ciclo del agua, mediante el vertido de residuos a las aguas de los ríos y mares, y a través de vertidos industriales o domésticos. Por último, debido al uso agrícola del mercurio, está presente como contaminante del suelo, donde se incorpora a las cadenas tróficas (Doadrilo, 2004).

Figura No. 2. Ciclo antropogénico del mercurio.



3.3.2.3 Ciclo acuático de biotransformación del mercurio. En el esquema de la figura No. 3, se aprecia que la especie predominante es la de Hg^{2+} , muy soluble y que puede ser bioacumulado directamente por los peces, o seguir un proceso de biotransformación, realizado por microorganismos acuáticos, dando lugar a dos especies orgánicas, el dimetilmercurio volátil, que se recicla a la atmósfera y el metilmercurio, que se bioacumula en los peces, y por tanto es incorporado a las cadenas tróficas. A su vez, el metilmercurio formado, puede transformarse en Hg_2^{2+} , el cual se oxida a Hg^{2+} , siguiendo su ciclo de biotransformación, o en Hg metal, que se deposita en forma de sedimentos (Doadrilo, 2004).

Figura No. 3. *Ciclo acuático del mercurio.*

El mecanismo de síntesis de compuestos metilmercurio (CH_3Hg^+ y $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$) ocurre por medio de una metilación no enzimática de Hg^{2+} por compuestos de metil cobalamina (análogos a la vitamina B₁₂), que son producidos como resultado de una síntesis bacteriana. Sin embargo, otras rutas enzimáticas y no enzimáticas, pueden jugar un papel importante (WHO, 1990).

Una vez que el metilmercurio se libera de los microorganismos, penetra en la cadena alimenticia por difusión rápida y se une fuertemente a las proteínas de la biota acuática. El metilmercurio se libera rápidamente por muchos animales acuáticos, alcanzando una concentración más alta en los tejidos del pez, conforme aumenta la cadena alimenticia (WHO, 1990).

Además de la influencia de los niveles tróficos o especies, factores como la edad del pez, actividad microbiana y sedimento, contenido orgánico disuelto, salinidad, pH, y potenciales de redox, afectan los niveles de metilmercurio en pez (WHO, 1990).

3.3.3 Historia del mercurio. El mercurio (Hg) se constituyó en uno de los medicamentos más populares, incluso en el Siglo XVI se recomendaba para el tratamiento para la sífilis, sin saber exactamente si el paciente moría por la enfermedad venérea o intoxicado con mercurio (Valle, 1986).

El calomel (cloruro de mercurio) fue usado como purga (catártico) popular. También algunas de sus sales eran usadas como diuréticos y en odontología se ha usado como amalgama en caries (Valle, 1986).

En agricultura se utilizaba alquilvercurio para evitar el crecimiento de hongos, desgraciadamente este compuesto puede ser incorporado al interior de frutas (Valle, 1986).

3.3.4 Toxicología de compuestos mercuriales. La dosis letal de sales de mercurio en forma de cloruro mercúrico (corrosivos sublimados) es de 1 g. Por lo general, el mercurio metálico ingerido no es tóxico, ya que no se absorbe; sin embargo, el mercurio metálico retenido en los pulmones o inyectado por vía intravenosa produce toxicidad, aunque esto no sucede con frecuencia. El vapor de mercurio se encuentra en estado monoatómico y es lipofílico. Se transfiere a las células cerebrales donde se oxida para formar Hg^{2+} produce efectos tóxicos. La inhalación de vapor de mercurio causa neumonitis aguda. No es probable que el cloruro mercurioso, mercurato de amonio, protoyoduro de mercurio y los mercuriales antisépticos orgánicos, como acetomerocetol, merbronina, mercocresol, nitromesol, sales y ésteres fenilmercúricos y timerosal (Merthiolate[®]) causen intoxicación aguda, porque su absorción es mínima. La dosis letal única de estos compuestos es de 2 a 4 veces mayor que la de sales solubles de mercurio inorgánico. Los diuréticos mercuriales (mersalilo, meralurida, mercurofilina, mercumatilina, mercactomerina, clormerodrina y meretoxilina) son tóxicos como el cloruro de mercurio en animales de experimentación, cuando se compara el contenido de mercurio. El límite de exposición para el mercurio o los compuestos mercuriales es de 0.05 mg/m^3 . Los compuestos alquilvercúricos como el cloruro de metilmercurio, cianuro de metilmercurio, hidróxido de metilmercurio,

pentaclorofenato de metilmercurio, sulfonato de toluenetilmercúrico son más tóxicos que el cloruro de mercurio y el límite de exposición es de 0.01 mg/m³.

La contaminación ambiental por la eliminación de compuestos mercuriales orgánicos ocasiona intoxicación con mercurios orgánicos (debido al consumo de peces procedentes del área de descarga de estos compuestos) y teratogénesis. Los granos tratados con fungicidas a base de compuestos orgánicos con mercurio causan intoxicación cuando se utilizan como alimentos. La concentración de los compuestos alquilmecúricos (metilmercurio) en alimentos no excederá 0.5 mg/kg; para los alimentos con estas concentraciones, el consumo se limita a un máximo de 0.5 kg/semana (True y Dreisbach, 2003).

3.4 TOXICOCINÉTICA DEL MERCURIO.

3.4.1 Mercurio metálico. La absorción del mercurio elemental por vía oral es muy pobre, por lo que la ingestión accidental de mercurio por rotura de termómetros clínicos no presenta importancia. Sin embargo, la absorción del vapor de mercurio por vía inhalatoria es del 80%, lo que es especialmente trascendente ya que el mercurio es el único metal que en condiciones normales, debido a su tensión de vapor, libera al ambiente vapores de mercurio en forma metálica. La absorción por vía dérmica es del 6%. Una vez absorbido, se distribuye unido a los eritrocitos, atravesando y alterando la barrera hematoencefálica y acumulándose en nervios periféricos, cerebro, riñón y testículos. En la sangre y los tejidos es biotransformado por la catalasa, que lo oxida a ion mercúrico. Se elimina por vía renal en forma mercúrica, con una vida media de 60 días (Mencías y Mayero, 2000).

3.4.2 Compuestos organometálicos. La absorción por vía inhalatoria es del 80%; por vía oral es buena y por dérmica importante. Se distribuyen unidos a proteínas, atraviesan la barrera hematoencefálica por difusión pasiva o por transportadores de aminoácidos, acumulándose en cerebro y en

eritrocitos; también atraviesan la barrera placentaria. Son biotransformados por desalquilación, perdiendo el grupo orgánico. La desmetilación ocurre en el riñón, hígado y heces, y la destilación se produce en riñón, hígado y cerebro. Se eliminan por las vías biliar y renal, así como por la leche y pelo, con una vida media de 70 días (Mencías y Mayero, 2000).

3.4.3 Toxicodinamia. El mercurio es el elemento metálico que presenta mayor afinidad en medio biológico por los grupos sulfhidrilo, y en forma decreciente por otros grupos: $\text{SH} > \text{CONH}_2 > \text{COOH} > \text{PO}_4^{2-}$. Por ello, produce una masiva inhibición enzimática (glucosa-6-fosfatasa, fosfatasa alcalina, ATPasa, succinato deshidrogenada, etc.). Los efectos dependen del compuesto concreto, y la toxicidad se incrementa con la liposolubilidad, por lo que las formas orgánicas alquílicas son más tóxicas que el mercurio elemental y las sales inorgánicas (Mencías y Mayero, 2000).

El primer tejido que entra en contacto es la membrana citoplásmica, a la que se unen incrementando su permeabilidad; con ello disminuyen los gradientes de concentración y eléctrico, provocando despolarización de la misma e incrementando el volumen celular. Se inhibe la ATPasa sódico-potásica y el transporte de aminoácidos (Mencías y Mayero, 2000).

El *mercurio metálico* por oxidación intracelular se transforma en mercurio divalente, que es la especie tóxica inmediata. Las formas iónicas de mercurio se unen a grupos sulfhidrilo, con la inhibición enzimática subsiguiente. Alteran la membrana celular, el metabolismo intermediario y, a altas dosis, producen rotura lisosómica con liberación de hidrolasas ácidas. Inducen la peroxidación lipídica y la liberación de neurotransmisores. Su capacidad diurética se debe a la interferencia en la reabsorción de sodio en los túmulos proximales por inhibición de las enzimas succinato deshidrogenada, anhidrasa carbónica, etc. (Mencías y Mayero, 2000).

El *mercurio organometálico* deprime la síntesis de macromoléculas, fundamentalmente de proteínas, pero también de ADN, ARN y ATP, con

inhibición de enzimas glucolíticas y respiratorias, desacoplando la fosforilación oxidativa. Altera la captación de glucosa en la barrera hematoencefálica e induce la ruptura de la membrana citoplásmica. Estimula la liberación de neurotransmisores, disminuyendo la síntesis de dopamina y la sensibilidad de los receptores neuromusculares de acetilcolina. La destrucción y desnaturalización de proteínas tiene especial incidencia sobre los microtúbulos, alterando el flujo axoplásmico. Los efectos prenatales se deben fundamentalmente a la interferencia sobre la emigración neuronal y a su actividad antimitótica (Mencías y Mayero, 2000).

3.4.4 Biomagnificación del mercurio. En la cadena alimenticia, el Hg se bioacumula, ya que primero es absorbido por el plancton, que posteriormente será ingerido por peces para ser acumulado en grasa, especialmente por animales que tienen un metabolismo acelerado, como el atún. El mercurio tiene una vida media de 200 días en peces, pero en la cadena alimenticia puede bioacumularse hasta que las aves marinas, ballenas y focas lo acumulen a concentraciones superiores (Valle, 1986).

3.5 TOXICOLOGÍA DEL MERCURIO.

3.5.1 Dosis tóxicas. Se estima que la dosis tóxica de compuestos mercuriales es de 10-50 mg/kg. También se estima que la dosis letal mínima de metilmercurio es de 20 a 60 mg/kg (EPA, 2007).

Todas las formas de mercurio son tóxicas para el feto, sin embargo el metilmercurio es el componente que atraviesa más rápidamente la placenta. Aún cuando es asintomático en un paciente, la exposición materna puede llevar a una absorción espontánea (Diner, 2006).

La FDA (Food and Drug Administration), ha recomendado que mujeres embarazadas, mujeres en período de lactancia, y niños pequeños, eviten el

consumo de peces que pudieran estar altamente contaminados con mercurio, como el atún, tiburón, entre otros (Diner, 2006).

La normativa de la OMS/OPS permite una ingesta tolerable de metilmercurio de $3.3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$. Sin embargo, la exposición de metilmercurio en el útero puede resultar efectos neurológicos, incluyendo síntomas a nivel del sistema nervioso central. Basado en estudios animales, niveles a partir de $0.07\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ puede desarrollar efectos adversos sobre el feto (Stern, 1993).

3.5.2 Intoxicación aguda. La ingestión del *mercurio elemental (metálico)* contenido en un termómetro clínico no se absorbe en cantidad suficiente como para producir sintomatología. Distinto caso sería si el termómetro se clavara en los tejidos, incluso en tejidos óseos, se inyectara el contenido por vía intravenosa, se produjera contacto cutáneo prolongado o se calentara el mismo y se inhalaran los vapores. En estos casos o si se ingiere mercurio elemental en grandes cantidades, se producirá sintomatología gastrointestinal, respiratoria y neurológica (Mencías y Mayero, 2000).

La inhalación aguda de vapores de mercurio desencadena tos, disnea, dolor torácico, hipersecreción bronquial, neumonitis, vómitos, diarreas, anorexia, astenia, escalofríos, artralgias y daño renal (Mencías y Mayero, 2000).

La exposición prenatal a *mercurio organometálico*, especialmente metilmercurio, es teratógena y neurotóxica, originando ataxia y alteraciones mentales. La exposición postnatal produce alteraciones vasculares, respiratorias, renales y depresión del sistema nervioso; neurotoxicidad que se manifiesta tras 16-38 días de latencia, en forma de ataxia, parestesias, disartria, signos extrapiramidales, alteraciones visuales y auditivas (Mencías y Mayero, 2000).

3.5.3 Intoxicación crónica (Hidrargirismo). La intoxicación crónica más frecuente por mercurio, se produce en el ambiente laboral a través de la vía inhalatoria, generalmente por mezclas de vapor de mercurio. No obstante, también se origina la intoxicación crónica por ingestión de alimentos contaminados con mercurio, principalmente peces contaminados por metilmercurio (Mencías y Mayero, 2000).

En la intoxicación por vapor de mercurio se afecta el sistema nervioso central con el llamado eretismo mercurial, caracterizado por alteración del carácter y de la personalidad, timidez, excitabilidad, insomnio, pérdida de memoria, alucinaciones y estados maniaco-depresivos. Es típico el temblor mercurial que, comenzando en párpados, lengua y labios, se extiende a extremidades superiores e inferiores, así como el resto del cuerpo, creando disartria y ataxia. Puede alterarse el sistema nervioso periférico mediante degeneración fibrilar, principalmente de fibras sensitivas (Mencías y Mayero, 2000).

El órgano crítico en la exposición crónica a *mercurio mercúrico* es el riñón, donde produce una neuropatía glomerular y tubular. Como signos precoces suelen aparecer gingivitis y estomatitis acompañados de sialorrea. Las encías están inflamadas, duelen y sangran con facilidad; se producen úlceras bucales y a veces un ribete gingival mercurial. El paciente presenta halitosis fétida, anorexia y digestiones pesadas (Mencías y Mayero, 2000).

La intoxicación por *metilmercurio* (enfermedad de Minamata) en forma crónica es muy similar a la forma aguda. Tras un periodo de latencia de varios meses, aparecen efectos no específicos como malestar general, parestesias y visión borrosa, y prosigue hacia un daño limitado exclusivamente al sistema nervioso, especialmente el central (Mencías y Mayero, 2000).

3.5.4 Enfermedad de Minamata. En Japón, durante los años de 1953 a 1960 se presentó una serie de problemas que al inicio se consideraban inespecíficos en la ciudad de Minamata, algunos habitantes mostraron

irritabilidad, cansancio, dolor de cabeza, entumecimiento en las extremidades, dificultad para ingerir alimentos, visión borrosa, problemas auditivos y pérdida de la coordinación muscular, hinchazón de encías, diarrea y muerte (Valle, 1986). Este problema se debió a que la Bahía de Minamata recibió durante 30 años, vertidos ricos en mercurio procedentes de una fábrica de plásticos (Chisso Co.) que utilizaba mercurio como catalizador. El mercurio fue acumulándose en los sedimentos, a un ritmo estimado de 100 toneladas de mercurio vertido por año. La actividad bacteriana y del zooplancton sobre los sedimentos ricos en mercurio produjo su conversión en metilmercurio. Este compuesto es muy liposoluble y presenta una fuerte tendencia a la bioconcentración y biomagnificación en la cadena trófica. Los peces de la Bahía de Minamata presentaban una elevada concentración de mercurio, alcanzando en algunos casos un contenido del 0.02% en peso de este elemento. El consumo de peces capturados en la zona por la población local dio lugar a una presencia elevada de metilmercurio en la dieta, con resultado de la aparición de la enfermedad de Minamata (Moreno, 2003).

Los peces de esta región contenían hasta 102 ppm (peso seco) de mercurio. Esta contaminación resultó en la muerte de 43 personas y 111 intoxicaciones irreversibles (Valle, 1986).

En Niigata se presentó algo similar debido al alto consumo de pez, 3 veces al día, con una concentración de 5-20 ppm de Mercurio (Valle, 1986).

3.5.5 Diagnóstico. El diagnóstico se confirmará mediante el análisis el mercurio presente en la orina. Se considera normal si el nivel es de 0.1-6.9 $\mu\text{g/L}$. Los trabajadores expuestos no deben sobrepasar los 50 $\mu\text{g/L}$. Los síntomas suelen aparecer con más de 300 $\mu\text{g/L}$. En suero se considera normal el rango de mercurio de 0.6-3.8 $\mu\text{g/L}$ y en sangre total de 1.7-9.9 $\mu\text{g/L}$ (Mencías y Mayero, 2000).

Las concentraciones más bajas de metilmercurio relacionadas con síntomas identificables son de 0.2 $\mu\text{g/mL}$. Se ha establecido una prueba

tentativa estándar para el metilmercurio u otros derivados mercuriales orgánicos: ésta no debe exceder de 0.1 µg/mL (True y Dreisbach, 2003).

Tabla No 1. Niveles tóxicos de concentración de mercurio y su acumulación en humanos.

	Sangre en µ/kg	Eritrocitos en µ/kg	Cabello en µ/kg
Normal	5	10	10
Límite de seguridad	50	100	-
Aparición de síntomas	500	1000	150
Efectos fatales	1300	2400	500

(Valle, 1986)

3.5.6 Tratamiento.

3.5.6.1 Intoxicación aguda.

- *Tratamiento de urgencia:* eliminar tóxico ingerido mediante lavado gástrico o carbón activado y un catártico salino (True y Dreisbach, 2003).
- *Antídotos:* administrar dimercaprol (BAL) por vía intramuscular, a dosis de 4 mg/kg/4 horas o bien 5 mg/kg como dosis de ataque, seguida de 2,5 mg/kg/8-12 horas y los 9 días siguientes 2.5 mg/kg/12-24 horas (Mencías y Mayero, 2000).

3.5.6.2 Intoxicación crónica.

- Retirar al paciente de la fuente de exposición y se administrará d-penicilamina (que es preferible al BAL en cuadros avanzados) en dosis de 25 mg/kg/día repartidos en tres tomas, por vía oral; la dosis máxima diaria es de 2g. En los días sucesivos se puede ir disminuyendo la dosis (Mencías y Mayero, 2000).

- También se puede utilizar como quelante el ácido 2,3-dimercaptosuccínico (DMSA) o el 2,3-dimercapto-1-propanosulfonato (DMPS).
- Además de hacer tratamiento sintomático, es necesario administrar vitamina B, antiparkinsonianos, etc. (Mencías y Mayero, 2000).

3.5.7 Pronóstico. En intoxicaciones agudas y crónicas la recuperación es probable si el tratamiento con dimercaprol se administra por lo menos durante una semana. La recuperación del deterioro mental causado por intoxicación crónica por mercuriales no es completa. El daño inducido por compuestos de alquilvercurio es permanente, la mejoría requiere de 1 a 2 años (True y Dreisbach, 2003).

3.5.8 Prevención. Los límites de exposición se observan en todo momento; por ello es necesario obtener muestras frecuentes de aire. Los pisos de las habitaciones donde se utiliza mercurio serán impermeables sin fisuras. El mercurio derramado se recogerá de inmediato con una bomba de succión, o por un dispositivo de barrido húmedo. Después de manejar el mercurio o los compuestos mercuriales se lavará la piel de manera enérgica. En niños se evitará la administración de mercurio en cualquier forma (True y Dreisbach, 2003).

3.5.9 Fuentes de exposición. Extracción de minerales, refinado del mercurio; se emplea en pilas, baterías, lámparas, termómetros, explosivos, pigmentos, fungicidas y material fotográfico. En medicina se utiliza como antiséptico y, afortunadamente, se está abandonando su uso en amalgamas dentales debido a su toxicidad. A través de la dieta, por ingestión de peces contaminados con mercurio, fundamentalmente en forma de metilmercurio. Por otro todo ello, se consideran grupos de riesgo a los trabajadores que emplean compuestos de mercurio, dentistas y pacientes con amalgamas dentales que lo

contengas, y a las poblaciones que ingieren mucho pez, como los pescadores y sus familias (Mencías y Mayero, 2000).

3.6 PROCESOS DESCONTAMINANTES DEL MERCURIO.

Tradicionalmente hay tres posibilidades de combatir un contaminante: eliminación de la materia prima, trabajar con procesos más limpios y eliminación del contaminante una vez producido (Mendioroz, 2001).

Así a la hora de trabajar con procesos más limpios, en la industria de cloro-álcali de Japón se han substituido todas las plantas que producían cloro por cátodo de mercurio (aproximadamente el 31%), por celdas de membrana, y lo mismo esta ocurriendo en Canadá (Mendioroz, 2001).

Igualmente se podrían sustituir los catalizadores de Hg por Pd (industria de plásticos), los fungicidas mercuriales de amplio uso, por otros de menor espectro de aplicación pero más inocuos (thiran, polyram, captan, maneb, mancoceb etc.) (Mendioroz, 2001).

3.7 LÍMITES DE METILMERCURIO EN PEZ SEGÚN CODEX ALIMENTARIUS.

Tabla No. 2. Límites metilmercurio según Codex.

Metilmercurio	Nivel de referencia
Todos los peces con excepción de los depredadores	0.5 mg/kg
Peces depredadores (tiburón, pez espada, atún, lucio y otros)	1 mg/kg

(Codex, 1991)

3.8 DIGESTIÓN ÁCIDA POR MICROONDAS.

La radiación de microondas es un método alternativo para dar energía térmica a una reacción. La calefacción dieléctrica mediante microondas utiliza la posibilidad que tienen algunos sólidos o líquidos para transformar la energía electromagnética en calor. Este modo de convertir energía *in situ* tiene muchos atractivos en química ya que su magnitud depende de las propiedades de las moléculas por lo que puede utilizarse para introducir una cierta selectividad. Las principales aplicaciones pueden resumirse en (Gutwerk, 2005):

- Digestión con microondas para el análisis elemental.
- Extracción asistida por microondas.
- Deserción de sólidos.
- Descontaminación y recuperación de suelos.
- Recuperación de petróleo.
- Reducción de emisiones de SO₂ y óxidos de nitrógeno.
- Vitricación de basura radiactiva. Aplicaciones en catálisis, síntesis de compuestos organometálicos y de coordinación, sinterización de materiales cerámicos, síntesis inorgánica, orgánica y de polímeros (Gutwerk, 2005).

Las muestras en el equipo de la digestión calentado por microondas son calentadas directamente por la absorción de la radiación de la microonda. Esto permite una calefacción extremadamente rápida y simultánea de, típicamente, 8-12 soluciones (24 en los últimos modelos). Este es el “efecto real de la microonda” o la real ventaja de la calefacción de microonda. Una vez que se alcanza la temperatura programada, las reacciones de descomposición proceden en la misma razón que en recipientes de digestión a presión de acero inoxidable convencionalmente calentados (Gutwerk, 2005).

Así, las digestiones típicas de microonda toman simplemente de 20 a 40 minutos. Según lo ilustrado en la tabla 2, las digestiones por microonda, se emplean hoy para todos los tipos de muestras y por lo tanto han substituido los recipientes de la digestión a presión de acero inoxidable en todos los usos con excepción de los usos especializados citados arriba. La principal característica

de la digestión por microonda radica en su rendimiento de procesamiento perceptiblemente más alto de muestras resultando de la disminución de la duración de los tiempos de digestión (Gutwerk, 2005).

Existen dos sistemas sustancialmente diferentes de digestión ácida asistida por microondas: uno de ellos usa recipientes abiertos de vidrio o cuarzo (ocasionalmente de PTFE) y el otro utiliza recipientes cerrados de PTFE, polietileno u otros materiales y realiza las digestiones a alta presión (Jenck, 2000).

Tabla No 3. Comparación sistema cerrado con sistema abierto.

Sistema cerrado	Sistema abierto
Muestras grandes (del orden de 5g y más) lo que permite mayor sensibilidad.	Tamaño de muestra más limitado (sobre todo en muestras orgánicas, que generan mucho gas).
Agregado automático de reactivos durante la digestión.	Es muy difícil agregar reactivos.
Temperatura limitada a la temperatura de ebullición de la mezcla de ácidos.	Mayor presión, mayor temperatura y mayor velocidad. Permite digerir muestras orgánicas usando sólo HNO ₃ ó HNO ₃ +H ₂ O ₂ , evitando el uso de HClO ₄ o H ₂ SO ₄ .
Fácil de aprender a usar, similar a placa calefactora.	Algunas digestiones requieren varios pasos o el desarrollo de un método.
Posibilidad de digerir diferentes tipos de muestras al mismo tiempo.	Se deben digerir muestras similares en matrices similares.
Comienzo independiente de la digestión para cada muestra.	Se realizan todas las digestiones al mismo tiempo.
Control individual de temperatura de cada celda.	Mismas condiciones para todos los recipientes.
Menos contaminación externa que en placa calefactora pero más que en sistemas cerrados	Elimina totalmente la contaminación externa.

Enfriamiento muy rápido debido al pequeño volumen de líquido.	Enfriamiento más lento.
El uso de recipientes transparentes permite ver la muestra durante la digestión.	No se ve nada debido a que los recipientes son opacos.
Posibilidad de pérdida de volátiles.	Recuperación 100% de los volátiles.
Los recipientes son frágiles.	Los recipientes son irrompibles.

(Jenck, 2000)

En síntesis, la gran ventaja de los **sistemas cerrados** es que, al trabajar a alta presión, se incrementa en gran medida la temperatura de ebullición y el poder de oxidación de los ácidos; esto permite digerir la mayoría de las muestras usando sólo HNO_3 o $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (evitando el uso de HClO_4 o H_2SO_4) y a muy alta velocidad. Las desventajas son que no se puede digerir en general más de 1 gramo de muestra y las muestras a digerir simultáneamente tienen que ser similares. Si se tiene muchas muestras iguales y necesita alta productividad, éste puede ser el sistema más apropiado (Jenck, 2000).

Por otro lado, las ventajas de los **sistemas de vasos abiertos** son que permiten digerir mayor masa de muestra en cada vaso, y el control totalmente independiente de hasta 6 vasos. Si se tiene muestras diferentes, y/o si necesita alta sensibilidad en la determinación de metales en muestras con mucha materia orgánica, el sistema abierto puede ser el más adecuado (Jenck, 2000).

IV. MARCO METODOLÓGICO

4.1 OBJETIVOS.

4.1.1 Objetivos generales.

4.1.1.1 Determinar los niveles de mercurio en tejido muscular del *Cichlasoma managuense* muestreados en tres puntos diferentes del Lago de Amatitlán mediante el método de absorción atómica.

4.1.1.2 Generar información de utilidad referente a la contaminación de *Cichlasoma managuense* con mercurio, lo que permitirá a las autoridades correspondientes instaurar medidas de prevención que eviten el riesgo a la población que consume este tipo de alimento.

4.1.2 Objetivos específicos.

4.1.2.1 Cuantificar el mercurio por método de absorción atómica con vapor frío presente en el tejido muscular del *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán.

4.1.2.2 Verificar que el nivel de mercurio presente en el tejido muscular del *Cichlasoma managuense* cumpla con las normas internacionales del Codex Alimentarius.

4.1.2.3 Comparar los niveles de mercurio presentes en el estudio actual contra el estudio realizado en el año 1976 por Alberto Ramos.

4.2 HIPÓTESIS.

Los valores de concentración de mercurio en el tejido muscular del *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán, exceden rangos superiores a los establecidos por la norma internacional Codex Alimentarius, niveles mayores a 1 mg/kg.

4.3 VARIABLES.

4.3.1 Independientes.

- Movilidad ambiental de la naturaleza, como posible contaminante.
- Exposición a mercurio por medio de peces contaminados.
- Concentración de mercurio presente en el agua y sedimentos del lago.
- Edad y peso del pez *Cichlasoma managuense*.
- Hora y cantidad de comida ingerida por el pez.

4.3.2 Dependientes.

- Concentración de mercurio en el tejido muscular del pez *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán.
- Puntos críticos de mayor contaminación industrial del Lago de Amatitlán.
- Industrias contaminantes de mercurio en las cercanías del Lago de Amatitlán.

4.4 POBLACIÓN Y MUESTRA.

Los tres puntos donde se recolectaron las muestras del pez *Cichlasoma managuense* (pez tigre o guapote), se determinaron con base a estudios realizados por la Autoridad para el Manejo Sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA), áreas que tiene mayor descarga de contaminantes químicos y materia orgánica derivados de la ciudad capital y de los municipios que rodean el lago. Dichos puntos son: Punto A (Río Villalobos), ubicado a 14 28' latitud norte y 90 36' longitud oeste; y el Punto B (Río Michatoya), ubicado a 14 29' latitud norte y 90 36' longitud oeste (Ver anexo) y Punto C Silla del Niño, Cuerpo Noroccidental.

En cada punto se colectaron tres peces, para tener un total de nueve peces. La pesca del Guapote se realizó por medio de pescadores del Lago de Amatitlán. Esta cantidad de muestreo es por conveniencia, ya que debido a la

falta de tiempo y recursos, no se pueden pescar una cantidad estadísticamente significativa para esta investigación.

4.5 PROCEDIMIENTO.

4.5.1 Preparación de las soluciones estándares.

- Pipetear 1.0 mL de mercurio estándar 1000 $\mu\text{g/mL}$ y trasladarlo a un balón volumétrico de 100 mL que contenga 2 mL de ácido nítrico 3%. Diluir y aforar con ácido nítrico 3%. Se obtendrá una solución estándar de 10 $\mu\text{g/mL}$.
- Preparar las siguientes soluciones para la curva de calibración (se deben preparar en el día):

Reactivo		Concentración de mercurio
0 mL	Aforar a 100 mL con ácido nítrico 3%	0 $\mu\text{g/mL}$ ó 0 $\mu\text{g/L}$
0.1 mL		0.01 $\mu\text{g/mL}$ ó 10 $\mu\text{g/L}$
0.2 mL		0.02 $\mu\text{g/mL}$ ó 20 $\mu\text{g/L}$
0.3 mL		0.3 $\mu\text{g/mL}$ ó 30 $\mu\text{g/L}$
0.4 mL		0.4 $\mu\text{g/mL}$ ó 40 $\mu\text{g/L}$

(FSIS, 1991)

4.5.2 Preparación de la muestra.

- Eliminar toda la grasa posible del tejido muscular.
- Pasar rápidamente tres veces a través de un triturador de comida.
- Homogenizar el tejido muscular.

(FSIS, 1991)

4.5.3 Extracción de la muestra.

- Limpiar la cristalería con una solución de ácido nítrico y agua (1:1), luego lavar con agua destilada antes de su uso.

- Colocar aproximadamente 1.00 g de tejido homogenizado en un vessel 100 mL previamente tarado.
- Agregar 10 mL de ácido nítrico concentrado.
- Tapar el vessel y colocarlo en el rotador del microondas.
- Cargar el método y digerir.
- Enfriar el vessel a temperatura ambiente y analizar el contenido de mercurio por absorción atómica.

(Evans *et. al.*, 1986)

4.5.4 Método microondas.

- Tipo de muestra: tejido animal.
- Tipo de aplicación: digestión ácida.
- Tipo de vaso: 55 mL.
- Número de vasos: 40.
- Reactivos: ácido nítrico (70%).
- Tipo de método de muestra: orgánica.
- Peso de muestra: 1.0 gramos.
- **Paso 1:** tipo de ácido: ácido nítrico, volumen: 10 mL.
- Programa de calentamiento:

Etapa	Potencia máx.	% potencia	Rampa (min.)	Presión (psi)	Temperatura (°C)	Mantenimiento (min.)
(1)	1200 W	50	15:00	-	200	15:00

(Evans *et. al.*, 1986)

4.5.5 Análisis por absorción atómica.

- Se utiliza una bomba VGA-77 Varian.
- Como gas de arrastre se utiliza argón.
- Como agente reductante se utiliza SnCl₂ (25% p/v) en HCl (20% v/v).
- Se debe conectar el flujo de aspirado de la muestra en 6-8 mL/min.
- El flujo de aspirado del reductante y del ácido debe ser 0.8-1.2 mL/min.

- Descontinuar la aireación hasta que la lectura se vuelve constante, usualmente 1-1.5 minutos.

(Evans *et. al.*, 1986)

4.5.5.1 Interpretación de datos.

- El análisis se realiza en duplicado, para calcular el promedio de ambas lecturas.
- Por medio de una regresión lineal, calcular la pendiente y el intercepto de la curva de calibración.
- Calcular los μg de mercurio en la muestra, sustituyendo “y” por el resultado del análisis, y se divide entre el peso de la muestra en gramos para obtener el resultado en ppm.
- Realizar una conversión de mercurio a metilmercurio por estequiometría.

$$1\text{g Hg} \frac{1\text{mol}}{200.59\text{g}} \frac{1\text{mol MeHg}}{1\text{mol MeHg}} \frac{215.62\text{g MeHg}}{1\text{mol}} = \underline{\underline{1.075\text{g MeHg}}}$$

(FSIS, 1991)

4.6 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.

El diseño de esta investigación es cuasi-experimental, ya que se escogió un tipo de muestra específica, en este caso el pez *Cichlasoma managuense*, y se escogió determinar un tipo de metal únicamente, el mercurio.

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Hipótesis.

Éxito (μ): Presentará valores iguales o mayores a la norma

Fracaso (μ): Cumple con la norma

$$H_0: \mu \geq 1$$

$$H_a: \mu < 1$$

(Anderson *et. al.*, 2004)

Regla del rechazo hipótesis.

La prueba de hipótesis se trabajará con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$, determinando con el número de éxitos obtenidos. Se rechazará H_0 si se obtiene la probabilidad de error tipo I, la cual deberá ser $t < t_{\alpha}$. $t_{0.05} = 1.860$, utilizando 8 grados de libertad (n-1).

		Condición de la población	
		Ho verdadera	Ha verdadera
Conclusión	Aceptar Ho	Conclusión correcta	Error de tipo II
	Rechazar Ho	Error de tipo I	Conclusión correcta

(Anderson *et. al.*, 2004)

Para determinar t se utilizará la siguiente ecuación:

$$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{s / \sqrt{n}}$$

donde: t = distribución de muestreo de la estadística de prueba.

\bar{x} = resultado promedio de las muestras.

μ_0 = valor promedio poblacional que aparece en H_0 .

s = desviación estándar muestral.

n = tamaño de la población.

(Anderson *et. al.*, 2004)

V. MARCO OPERATIVO

5.1 RECAUDACIÓN Y TRATAMIENTO DE LOS DATOS.

Para la ejecución de este trabajo de investigación, se recolectaron peces *Cichlasoma managuense* (pez tigre o guapote), en tres puntos distintos del Lago de Amatitlán. En cada punto se colectaron 3 peces por conveniencia. Los peces se pesaron y se colocaron en refrigeración en bolsas herméticamente selladas para su conservación. Se utilizó el tejido muscular de dicho pez para determinar y cuantificar el mercurio presente en ppm.

5.2 RECURSOS.

5.2.1 Recursos humanos.

- Autora: Aída Vanessa Rouanet Mora.
- Asesora: Lda. Carolina Guzmán. Directora del Centro de Información y Asesoría Toxicológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (CIAT).
- Colaborador: Lic. Hayro García, Jefe de División de Control Ambiental de la Autoridad para el Manejo de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA).
- Colaboradora: Lda. Carmen María Escribá. Laboratorio Nacional de Salud.
- Colaborador: Lic. Héctor Bol. Laboratorio Nacional de Salud.

5.2.2 Recursos físicos.

- Biblioteca Universidad del Valle de Guatemala.
- Biblioteca Central Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Centro de Información y Asesoría Toxicológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (CIAT).
- Laboratorio de Química Universidad del Valle de Guatemala.
- Información del Manejo de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA).

- Equipo Laboratorio Nacional de Salud.

5.2.3 Recursos materiales.

- Bolsas plásticas.
- Hielo.
- Hielera.
- Guantes.
- Beakers de 10 mL, 1 L.
- Balones de 25 mL, 100 mL.
- Cuchillo.
- Espátula.
- Pipetas de 1, 2, 3, 5 mL, 10 mL.
- Micropipeta de 20 μ L.
- Vessels de 55 mL.

5.2.4 Equipo.

- Lancha con motor.
- Caña de pescar.
- Homogenizador.
- Espectrofotómetro de Absorción Atómica marca Varian modelo AA240.
- Microondas MarsXpress.
- Campana para extracción de gases.
- Refrigeradora.
- Balanza analítica.

5.2.5 Reactivos.

- Solución ácido nítrico (HNO_3) y agua destilada (1:1).
- Ácido nítrico (HNO_3) grado analítico concentrado (70%).
- Solución de cloruro de estaño (SnCl_2) al 25% (p/v) en ácido clorhídrico (HCl) al 20% (v/v).
- Mercurio estándar 1000 $\mu\text{g/mL}$.

VI. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos en esta investigación.

Tabla No. 4. Concentración de mercurio y metilmercurio en *Cichlasoma managuense* en las cercanías del Río Villalobos, Río Michatoya y Silla del Niño, Lago de Amatitlán, Guatemala.

*Límite aceptado por Codex Alimentarius: 1 mg/kg

Punto	Lectura	Resultado	Promedio mercurio en mg/kg	Promedio metilmercurio en mg/kg
A: Río Villalobos	1A	0.17	0.20 ± 0.04	0.22 ± 0.04
	1B	0.23		
	2A	0.14	0.21 ± 0.10	0.23 ± 0.10
	2B	0.28		
	3A	0.07	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.02
	3B	0.09		
	Promedio			0.18 ± 0.08
B: Río Michatoya	1 A	0.19	0.20 ± 0.00	0.21 ± 0.00
	1B	0.20		
	2A	0.34	0.25 ± 0.11	0.27 ± 0.11
	2B	0.17		
	3A	0.03	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.00
	3B	0.03		
	Promedio			0.17 ± 0.12
C: Silla del Niño	1A	0.16	0.16 ± 0.01	0.17 ± 0.01
	1B	0.15		
	2A	0.14	0.16 ± 0.03	0.17 ± 0.03
	2B	0.19		
	3A	0.09	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.03
	3B	0.14		
	Promedio			0.15 ± 0.03

Gráfica No. 1. Concentración de mercurio y metilmercurio en *Cichlasoma managuense* en las cercanías del Río Villalobos, Río Michatoya y Silla del Niño, Lago de Amatitlán, Guatemala.

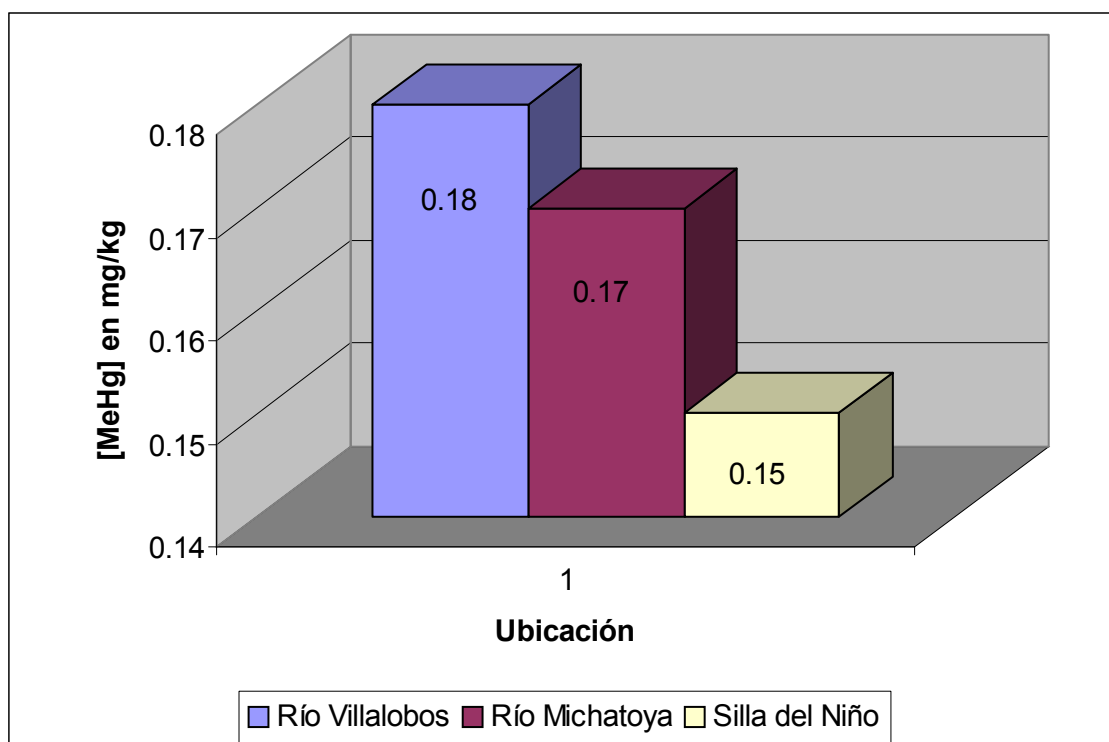


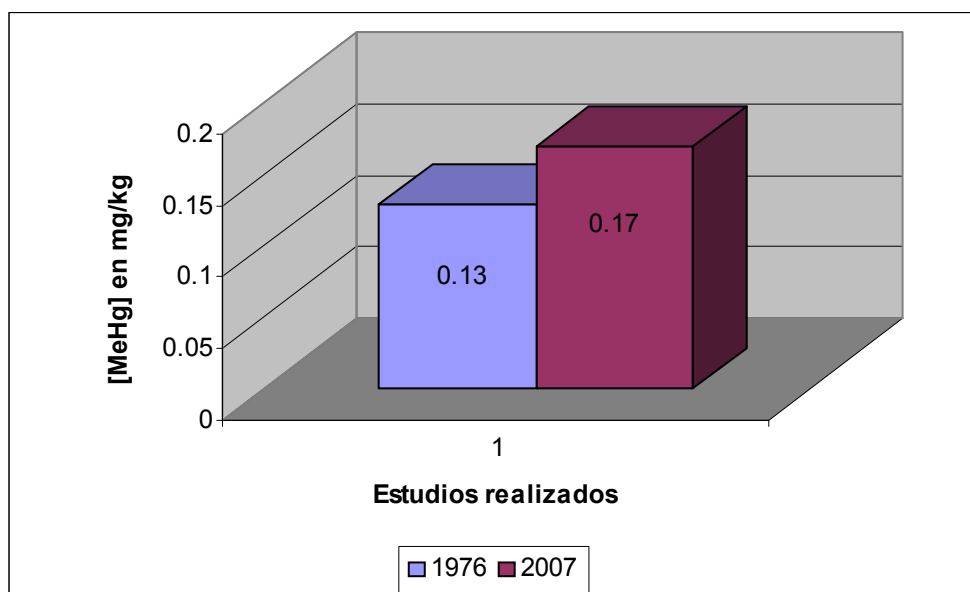
Tabla No. 5. Valores *t* y conclusión de Hipótesis.

Valor <i>t</i> experimental	Valor <i>t</i> teórico	Conclusión
-33.288	1.860	Rechazar H_0

Tabla No. 6. Promedio concentración metilmercurio de *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán en 1976 y 2007.

Promedio metilmercurio 1976	Promedio metilmercurio 2007
0.13 ± 0.07 mg/kg	0.17 ± 0.07 mg/kg

Gráfica No. 2. Promedio concentración metilmercurio de *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán en 1976 y 2007.



VII. DISCUSIÓN

El objetivo principal de este trabajo fue la determinación y cuantificación de mercurio en tejido muscular de los peces *Cichlasoma managuense* (Pez tigre o guapote) del Lago de Amatitlán. Se deseaba también, comparar los resultados con las normas internacionales Codex Alimentarius y con el promedio de metilmercurio obtenido en un estudio realizado en 1976.

La recolección de los peces se realizó en tres puntos del lago de Amatitlán, Punto A (Río Villalobos), Punto B (Río Michatoya), y Punto C Silla del Niño. Con base a estudios realizados por la Autoridad para el Manejo de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA) y tesis anteriores, se escogieron estos puntos, ya que son lugares donde la contaminación del Lago de Amatitlán es mayor; debido a que es el área receptora de todas las descargas industriales y domésticas derivadas de los municipios alrededores del lago. En cada punto se recolectaron tres peces.

La muestra fue homogenizada y digerida por microondas, ya que es un método bastante eficaz y la pérdida de muestra es nula. Las lecturas se realizaron por espectrofotometría de absorción atómica con vapor frío, que es el método de elección para mercurio. Los resultados obtenidos, se convirtieron por estequiometría a metilmercurio, ya que de esta forma está presente el metal en el tejido muscular de los peces.

Los resultados obtenidos se observan en la tabla No. 4. Se observa que la concentración más alta de metilmercurio se obtuvo en el Río Michatoya, la cual fue de 0.27 ± 0.11 mg/kg. La concentración más baja de mercurio se obtuvo en el mismo punto también, que fue de 0.04 ± 0.00 mg/kg. El promedio de metilmercurio de este punto fue de 0.17 ± 0.12 mg/kg. Sin embargo, el promedio más alto de metilmercurio se encontró en el Río Villalobos, el cual fue de 0.18 ± 0.08 mg/kg. Finalmente en el punto C, Silla del Niño, se obtuvo una concentración de 0.15 ± 0.03 mg/kg.

Con base a los resultados obtenidos, el promedio más elevado obtenido fue en el Río Villalobos, posiblemente a que éste tiene mayor carga de contaminación. Sin embargo, se observa que no hay diferencia significativa entre los tres puntos estudiados, lo cual demuestra que la contaminación de este metal en los peces *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán, es homogénea. Esto se puede deber a la movilidad que tienen los peces en el lago; así como la del agua también.

Las posibles fuentes de contaminación de mercurio del Lago de Amatitlán, son la desgasificación de la corteza terrestre, incluyendo las emisiones volcánicas y la evaporación de los océanos, extracción minera de mercurio, industria de pinturas, utilización de fungicidas alquimercuriales, y muy probablemente, el desecho de termómetros en los basureros y en las aguas.

El promedio general de los tres puntos de metilmercurio fue de 0.17 ± 0.07 mg/kg. Con base a la prueba del rechazo de hipótesis, se concluyó que la hipótesis nula debe ser rechazada y se debe aprobar la hipótesis alternativa, que indica que la concentración de metilmercurio en tejido muscular de *Cichlasoma managuense*, cumple con los límites permitidos por las normas internacionales Codex Alimentarius (1 mg/kg).

Según un estudio realizado en 1976 por Alberto Ramos, el promedio de metilmercurio obtenido en tejido muscular de *Cichlasoma managuense* fue de 0.13 ± 0.07 mg/kg. Se observa un aumento de la concentración de este metal en este estudio realizado. A pesar que la diferencia es poca, es importante seguir realizando estudios de este tipo, ya que la contaminación del Lago de Amatitlán tiende a aumentar.

Los niveles de ingesta diaria de metilmercurio a través *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán se encuentran dentro de lo permitido por Codex; estudios en animales han descubierto que niveles a partir de $0.07 \mu\text{g} / \text{kg} / \text{día}$ puede desarrollar efectos adversos sobre el feto. Es importante

recordar que niños, lactantes, las mujeres embarazadas y el feto, son más vulnerables a sufrir una intoxicación por mercurio que cualquier otra persona.

A pesar que la contaminación por metilmercurio en *Cichlasoma managuense* cumple con los estándares de Codex Alimentarius, la normativa de la OMS/OPS permite una ingesta tolerable de metilmercurio de $3.3\mu\text{g}/\text{kg}/\text{semana}$, lo cual indica que un adulto, puede ingerir entre 200-300 μg a la semana, sin exponerse a sufrir intoxicación por metilmercurio. La población de los alrededores del Lago de Amatitlán, principalmente los pescadores, ingieren este tipo de pez a diario, lo cual indica que su ingesta semanal de metilmercurio es de 100-130 μg .

Con base a los resultados obtenidos, se estima que una porción de 7 onzas (0.2 kg aproximadamente) de pescado, tendrá aproximadamente 34 μg de metilmercurio. Según los niveles permisibles de la OMS/OPS, un adulto de 70 kg, puede ingerir hasta 6 porciones de pescado a la semana, sin sufrir efectos colaterales a consecuencia de esto. Un niño de 20 kg, por el contrario, puede ingerir un total de 66 μg de metilmercurio a la semana. Esto significa que un niño con este peso, no puede comer más de dos porciones de pescado a la semana.

De esta manera, se considera importante que la población ingiera este tipo de alimentos de forma espaciada durante la semana, para evitar la bioacumulación de mercurio en el organismo; así como también evitar la ingesta de peces depredadores, como pez guapote, tiburón y atún. Estas medidas puede prevenir que la población que consume este pez, sufra intoxicaciones agudas o crónicas debido a este metal, lo cual puede incluir efectos como malestar general, parestesias, visión borrosa, malformaciones del feto y desórdenes del sistema nervioso central.

VIII. CONCLUSIONES

1. La concentración promedio de metilmercurio en el tejido muscular de *Cichlasoma managuense* es de 0.17 ± 0.07 mg/kg.
2. Los niveles encontrados de metilmercurio en el tejido muscular de *Cichlasoma managuense* cumple con las normas internacionales Codex Alimentarius.
3. No hay diferencia significativa en los tres puntos de muestreo, Río Villalobos, Río Michatoya y Silla del Niño; por lo que se concluye que la concentración de mercurio el lago es homogénea.
4. Se observó un aumento de contaminación de metilmercurio en *Cichlasoma managuense* del Lago de Amatitlán desde 1976 hasta la fecha.
5. Según los niveles permisibles de la OMS/OPS de $3.3\mu\text{g /kg/ semana}$, un adulto de 70 kg puede ingerir hasta 6 porciones de 7 onzas de pescado a la semana; y un niño de 20 kg, puede ingerir no más de dos porciones a la semana.
6. La población de Amatitlán y sus alrededores, debe ingerir este tipo de alimentos de forma espaciada durante la semana, para evitar la bioacumulación de mercurio en el organismo.

IX. RECOMENDACIONES

1. Capacitación a la población de los alrededores del Lago de Amatitlán, que los adultos de 70 kg ingieran guapote únicamente 6 porciones de 7 onzas cada una por semana, y niños de 20 kg no más de dos porciones a la semana, para evitar cualquier efecto adverso ocasionado por la contaminación de este pez con metilmercurio.
2. Elaboración de una investigación similar en otros lagos de importancia pesquera en Guatemala, como Izabal, Petén Itzá y Atitlán.
3. Determinación del valor de metilmercurio en otros peces de alto consumo alimenticio, como tilapia y mojarra en el Lago de Amatitlán.
4. Seguimiento de esta investigación con un muestreo en otros puntos del Lago de Amatitlán, para confirmar el dato obtenido en este estudio.
5. Cuantificación de mercurio en peces de los ríos Villalobos y Michatoya, afluentes del Lago de Amatitlán.
6. Desarrollo de un estudio de investigación en el cual se amplíe el número de especímenes para que sea más representativo.
7. Cuantificación de los niveles de mercurio en peces del Lago de Amatitlán y otros lagos periódicamente.
8. Realización de un estudio de determinación y cuantificación de mercurio en los habitantes de los alrededores del Lago de Amatitlán, a través de la orina o del pelo, ya que la ingesta de pez es diaria, por lo que dicho metal puede acumularse en el organismo.
9. Elaboración de este tipo de estudios con otros tipos de metales, para determinar el grado de contaminación de los peces.

10. Seguimiento de estudios de cuantificación de metales pesados en el agua y sedimentos del Lago de Amatitlán, ya que éstos pueden ser indicadores de contaminación de metales en plantas y animales habitantes del lago.

X. BIBLIOGRAFÍA

10.1 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Anderson, D. *et.al.* 2004. *Estadística para Administración y Economía*. 8ª Edición. Internacional Thomson Editores, S.A. México.
2. AOAC. 1984. *Mercury in Fish. Flameless Atomic Absorption Method*. 14th Edition. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Virginia, USA.
3. Doadrilo, A. 2004. *Ecotoxicología y Acción Toxicológica del Mercurio*. Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia. ISSN 0034-0618, No. 44. Págs. 933-958.
4. Escobar, V. 1989. *Compilación Bibliográfica del Medio Ambiente del Lago de Amatitlán*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
5. García, H. 2007. *Análisis del Ambiente Biológico*. Manejo Sustentable de la Cuenca y del Lago de Amatitlán (AMSA), Guatemala.
6. García, H. 1997. *Determinación y Cuantificación de Metales Pesados (Pb, As, Cd y Cr VI) y Sustancias Tóxicas (PO₄, NO₂⁻ y CN⁻) Por Métodos Espectrofotométricos en Tejido Muscular de Cichlasoma Managüense (Gunter) Guapote o Pez Tigre en el Lago de Amatitlán*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
7. González, B. 2003. *Amatitlán, Ayer y Hoy. El proceso histórico del rescate del lago*. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

8. Mencías, E. y L.M. Mayero. 2000. *Manual de Toxicología Básica*. Ediciones Díaz Santos, S.A. Madrid, España.
9. Moreno, M. 2003. *Toxicología Ambiental. Evaluación de riesgo para la salud humana*. Mc-Graw Hill. España.
10. Pineda, J. 1981. *Determinación de Cobre, Mercurio y Plomo en Aguas y Sedimentos del Lago de Amatitlán*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
11. Ramos, A. 1976. *Determinación de Mercurio en Pescado de Guatemala*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
12. True, B. y R. Dreisbach. 2003. *Manual de Toxicología Clínica de Dresibach: prevención, diagnóstico y tratamiento*. 7ª edición. Editorial El Manual Moderno, México.
13. Valle, P. 1986. *Toxicología de Alimentos*. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. México.
14. WHO. 1990. *Methylmercury*. International Program on Chemical Safety. World Health Organization. Finland.

10.2 REFERENCIAS ELECTRÓNICAS.

15. Blanco, J. 2001. *Cichlasoma managuense*. Costa Rica.
<http://www.geocities.com/ciclididos/articulos/managuense.htm>
16. Codex. 1991. *Niveles de Referencia para el Metilmercurio en el Pescado*. CAC/GL 7-1991. Normas Oficiales del Codex. FAO/WHO Food Standards.
www.codexalimentarius.net

17. Diner, B. 2006. *Toxicity, Mercury*. Department of Emergency Medicine, Emory University. Estados Unidos.
<http://www.emedicine.com/EMERG/topic813.htm>
18. EPA. 2007. *Mercury Compounds*. U.S. Environmental Protection Agency. Estados Unidos.
<http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/mercury.html>
19. Evans, S. et. al. 1986. *Determination of Mercury in Fish Tissue, a Rapid, Automated Technique for Routine Analysis*. School of Biology, University of Liverpool. U. K. Varian, Atomic Absorption. United Kingdom.
<https://www.varianinc.com/media/sci/apps/aa060.pdf>
20. FSIS. 1991. *Determination of Mercury by Atomic Absorption Spectrophotometry*. Food Safety and Inspection Service. United States Department of Agriculture. Estados Unidos.
www.fsis.usda.gov/PDF/CLG_TM_5_00.pdf
21. Gutwerk, D. 2005. *Procesos modernos para la digestión de materiales*. BERGHOF instrumentos GMBH, Alemania.
<http://www.tecnologia-aplicada.com/>
22. Jenck. 2000. *Digestión Ácida asistida por Microondas: ¿Recipientes Abiertos o Cerrados?*. CEM: Innovadores en Tecnología de Microondas, Argentina.
<http://www.jenck.com/cem-abierto-cerrado.htm>
23. Mendioroz, S. 2001. *Mercurio*. Instituto y Petroleoquímica del CSIC. Cantoblanco, Madrid.
www.icp.csic.es/cyted/Monografias/Monografias2001/C1-317.pdf
24. Pape, Y., et. al. 2005. *Economía ambiental y desarrollo sostenible: valoración económica del Lago de Amatitlán, Guatemala: FLACSO-*

Guatemala, 1998. Pag. 308. Publicado por el Instituto Nacional de Ecología INE, México.

<http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/286/pape.html>

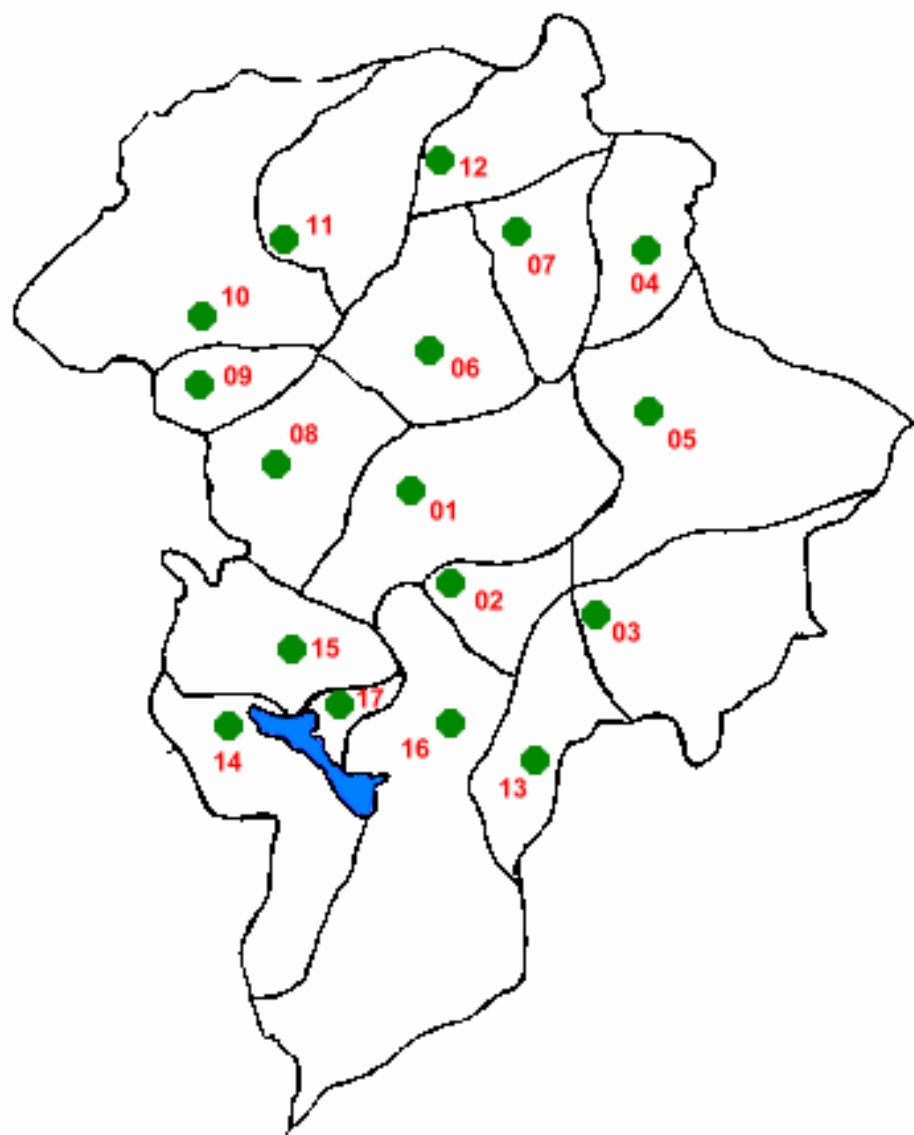
25. Stern, A. 1993. *Re-evaluation of the Reference Dose for Methylmercury and Assessment of Current Exposure Levels*. Division of Science and Research, New Jersey Department of Environmental Protection and Energy. Estados Unidos.

<http://www.blackwell-synergy.com/doi/abs/10.1111/j.1539-6924.1993.tb01087.x?cookieSet=1&journalCode=risk>

XI. ANEXOS

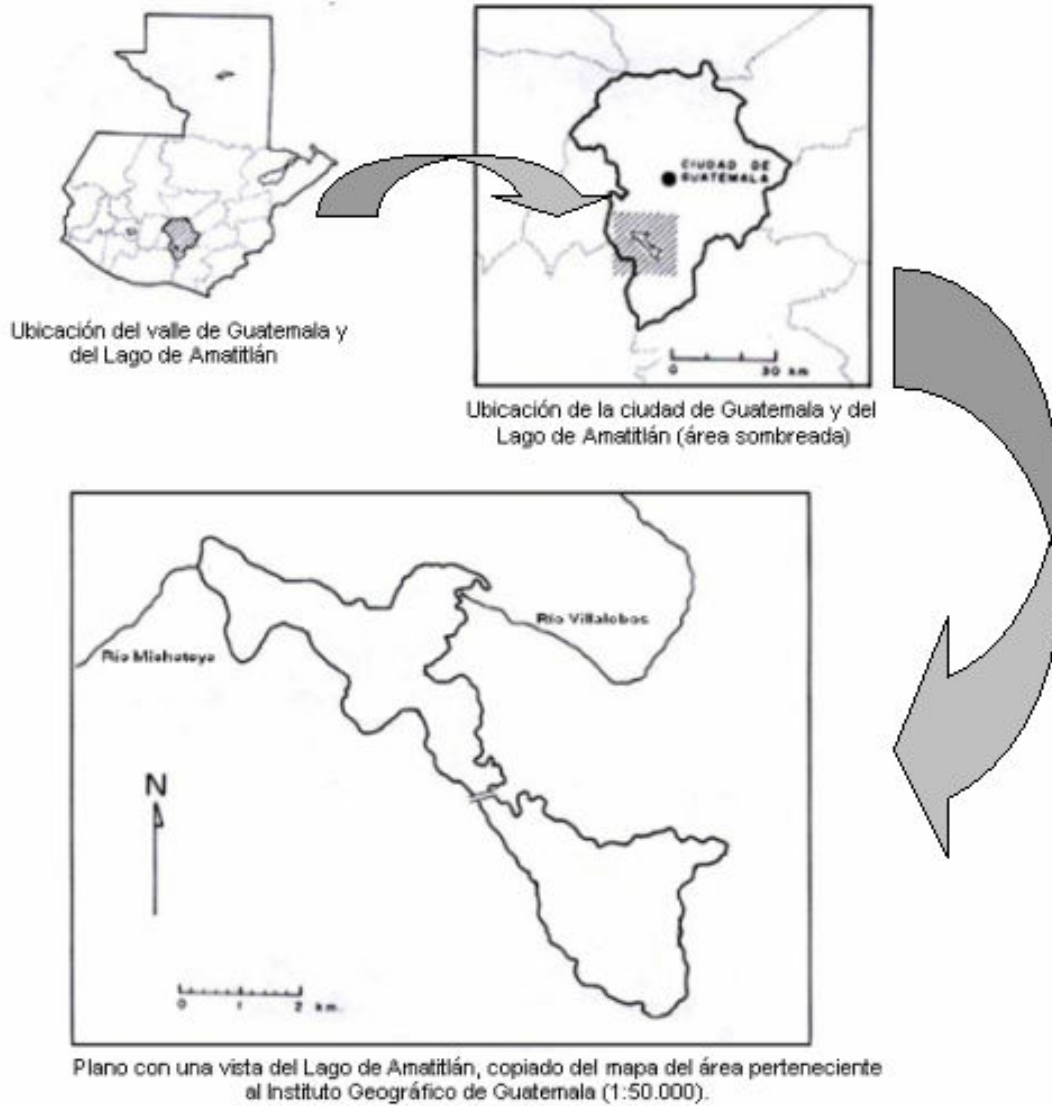
- 11.1 Mapa Departamento de Guatemala.
- 11.2 Ubicación Lago de Amatitlán.
- 11.3 Ríos que conforman la Cuenca del Lago de Amatitlán.
- 11.4 Puntos de muestreo en Lago de Amatitlán.

11.1 Mapa Departamento de Guatemala.



1. Guatemala, 2. Santa Catarina Pinula, 3. San José Pinula,
4. San José del Golfo, 5. Palencia, 6. Chinautla, 7. San Pedro Ayampuc,
8. Mixco, 9. San Pedro Sacatepéquez, 10. San Juan Sacatepéquez
11. San Raimundo, 12. Chuarrancho, 13. Fraijanes,
14. Amatitlán,
15. Villa Nueva, 16. Villa Canales, 17. Petapa

11.2 Ubicación Lago de Amatitlán.



11.4 Puntos de muestreo en Lago de Amatitlán.

