

**Universidad Católica de Santa María**

**Escuela de Postgrado**

**Maestría en Química del Medio Ambiente**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE Cd, Pb, Hg, Al y As EN  
CONSERVAS DE *Thunnus* (ATÚN), AREQUIPA- 2016**

Tesis presentada por la Bachiller:

Ramos Cáceres, Karla Nohely

Para optar el Grado Académico de

Maestro en Química del Medio Ambiente

Asesor: Prof. Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.

**Arequipa-Perú**

**2017**



*Universidad Católica de Santa María*

(5154)251210 (5154)251213 ucsm@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe Apto. 1350  
AREQUIPA – PERÚ

*“En la Ciencia y en la Fe esta nuestra Fortaleza para mayor Gloria de Dios”*

Arequipa, 03 de noviembre del 2017

Señor Doctor,

**Hugo Tejada Pradell**

Director de la Escuela de Postgrado de la UCSM.

Presente.

**Ref.: Dictamen de Borrador de Tesis – Expediente 46592**

De mi consideración,

Me es grato dirigirme a Ud. con el fin de saludarlo atentamente y en atención al nombramiento como DICTAMINADOR del Borrador de Tesis titulado **“DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE Cd, Pb, Hg, Al y As EN CONSERVAS DE *Thunnus* (ATUN) AREQUIPA-2016”** con el que la Bachiller **Karla Nohely Ramos Cáceres**, pretende optar el Grado Académico de **Maestro en Química del Medio Ambiente**, debo mencionar que realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, las mismas que han sido salvadas satisfactoriamente, considero se encuentra **APTO** para continuar con los tramites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Escuela de Postgrado.

Atentamente,



José A. Villanueva Salas, PhD

Docente de la Escuela de Postgrado

INFORME

A : Dr. Hugo Tejada Pradell  
Director de la Escuela de Post Grado  
Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DE : Julio C. Bernabé Ortiz PhD.

ASUNTO : Informe de Dictamen de Borrador de Tesis  
"Determinación de la presencia de Cd, Pb, Hg, Al y As en conservas de *Thunnus* (Atún), Arequipa-2016", presentado por la Bachiller Karla Nohely Ramos Cáceres, para optar el grado de Maestro en Química del Medio Ambiente.

FECHA : Arequipa, 30 de Octubre del 2017.

Tengo a bien dirigirme a usted, con la finalidad de informarle sobre el asunto, lo siguiente; después de haber revisado y evaluado el mencionado borrador de tesis titulado: "Determinación de la presencia de Cd, Pb, Hg, Al y As en conservas de *Thunnus* (Atún), Arequipa-2016", soy de la opinión de APROBAR en el formato actual.

Es todo cuanto tengo que informar sobre el particular quedando en espera para cualquier esclarecimiento.

Atentamente,



Julio C. Bernabé Ortiz PhD.

DNI

Dictaminador

INFORME No. 008-2017-LAPS

A : **Dr. Hugo Tejada Pradell**  
Director de la Escuela de Post Grado  
Universidad Católica de Santa María de Arequipa.

DE : Prof. Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.

ASUNTO : Informe de Dictamen de Borrador de Tesis “Determinación de la presencia de Cd, Pb, Hg, Al y As en conservas de *Thunnus* (Atún), Arequipa 2016”, presentado por la Bachiller Karla Nohely Ramos Cáceres, para optar el grado de Maestro en Química del Medio Ambiente.

FECHA : Arequipa, 30 de Octubre del 2017.

---

Tengo a bien dirigirme a usted, con la finalidad de informarle sobre el asunto, lo siguiente; después de haber revisado y evaluado el mencionado borrador de tesis intitulado “Determinación de la presencia de Cd, Pb, Hg, Al y As en conservas de *Thunnus* (Atún), Arequipa 2016”, soy de la opinión de APROBAR en el formado actual.

Es todo cuanto tengo que informar sobre el particular quedando en espera para cualquier esclarecimiento.

Atentamente,



Prof. Luis Alberto Ponce Soto Ph.D.  
DNI 29546298  
Asesor



## PRESENTACIÓN

Durante las últimas décadas, los ecosistemas continentales y marinos están expuestos a una contaminación excesiva de metales pesados debido al crecimiento industrial progresivo, aumento de la población; las industrias, las aguas residuales de la casa, insumos externos, deposición, erosión geológica, vertido de agua de las tierras agrícolas la combustión del carbón y el derrame de gasolina por parte de barcos pesqueros. Estos metales representan un alto riesgo ambiental debido a su largo persistencia en la naturaleza y posible bioacumulación en organismo vivos como plantas y peces.

Los metales pesados en los sistemas marinos son un problema mundial, ya que la exposición continua de organismos marinos a sus bajas concentraciones puede dar lugar a la bioacumulación, y transferencia al hombre a través de la red alimentaria.

Por consiguiente, el riesgo sanitario asociado al consumo de pescado contaminado por metales pesados es una importante preocupación mundial. Este trabajo pretende determinar la presencia de metales traza y establecer si estos se encuentran en concentraciones permisibles según la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera del Instituto Tecnológico del Perú, la Comisión de las Comunidades Europeas, Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) y la Norma Nacional de la República Popular de China.

## DEDICATORIA

*A las personas más importantes de mi vida*

*Olga, Tory, Eveling y Kathy, por todo su amor, apoyo, comprensión, por ser  
mi motivación y mayor inspiración.*



## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios, por ser la piedra angular en mi vida.*

*A la Universidad Católica de Santa María, Escuela de Post grado,  
por ser la casa de estudios de mi formación profesional.*

*A mis docentes por sus conocimientos y enseñanzas,  
que contribuyeron a mi formación académica.*

*Al Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad de la UCSM, por el soporte técnico  
durante la ejecución del trabajo de investigación.*

*A mi asesor de Tesis, el Prof. Luis Ponce Soto, por su apoyo y los  
consejos brindados, durante el desarrollo del presente trabajo.*

*A mis padres Olga y Tory por ser mis guías, por sus enseñanzas, por sus palabras de  
aliento que me hicieron creer en mi capacidad para poder superarme cada día.*

*A mis hermanas Eveling y Kathy por su paciencia, compañía  
y ser mis mejores amigas.*

## INTRODUCCIÓN

Los peces marinos son fuentes importantes de proteínas. Forman una parte importante de la dieta humana a una multitud de personas que viven alrededor de las ciudades costeras y pueblos. La carne de pescado se consume ampliamente al proporcionar aminoácidos, nutrientes de alto valor como vitaminas y minerales y es una fuente excelente de ácidos grasos esenciales.<sup>1 2-3</sup>

Algunos metales pesados como el Fe, Zn y Cu son esenciales y requeridos por el cuerpo humano así como para organismos acuáticos como los peces.<sup>4</sup> Los metales pesados presentes en el medio ambiente pueden provenir de fuentes naturales o antropogénicas. Aunque a nivel traza constituyen componentes normales del medio marino, todos los metales son tóxicos por encima de cierto umbral.<sup>2, 5,6</sup>

Las actividades humanas en las aguas costeras y los ríos que desembocan en los estuarios y océanos del mundo han deteriorado severamente la calidad del agua a través de metales; éstos tienen una importancia ecotoxicológica debido a su persistencia y toxicidad, el aumento de los niveles de estos contaminantes químicos pueden afectar seriamente a las comunidades acuáticas debido a que no son biológica ni químicamente degradados, es decir, se bioacumulan en organismos que incluyen plantas y peces.<sup>1,7</sup>

Debido a la importancia ecotoxicológica de los metales pesados, es que se ha investigado el uso de animales como bioindicadores para la evaluación de los impactos ambientales debido a la acción humana, como las aguas residuales y vertederos en los cuerpos de agua. Los bioindicadores son especies utilizadas como indicadores primarios en la contaminación medioambiental, que son definidas como respuestas o reacciones de cualquier tipo, que puede ser medido en una matriz biológica individual, indicando la desviación de su homeostasis.<sup>8 9</sup>



Los peces sufren la bioacumulación de metales pesados a través de la absorción y retención de los metales a lo largo de la cadena alimentaria. Esto se facilita en el medio acuático mediante filtración de agua y retención de partículas en suspensión por organismos como el fitoplancton y los mariscos. Los peces acumulan metales al alimentarse y también a través de las branquias.<sup>8-10</sup>

Sanches *et al.* (2017) y Albu *et al.* (2015) realizaron investigaciones sobre la bioacumulación de metales en peces, concluyendo que las especies estudiadas son resistentes a la presencia de metales pesados, presentaban una alta tasa de acumulación de metales y que son potenciales biomarcadores de la contaminación ambiental en ecosistemas acuáticos.<sup>8 11</sup>

Autores como Storelli *et al.* (2010) y Mol (2011) realizaron la cuantificación de Hg, Cd y Pb en conservas de *Thunnus* (atún), en donde Storelli *et al.* (2010) encontraron valores altos de metilmercurio. Araujo *et al.* (2016) realizó la cuantificación de los mismos metales en el tejido muscular del *Thunnus albacares* en donde obtuvieron que alrededor la mitad de las muestras musculares de ambas especies presentaron niveles de Cd y Hg por encima de los límites considerados seguros para consumo humano establecido por la Unión Europea.<sup>12 13</sup>

Storelli *et al.* (2010) refieren que los peces grandes y mayores presentan concentraciones, por lo general, más altas que los peces más pequeños y más jóvenes. Así mismo afirma que en el caso de mercurio (Hg), se bioamplifica en la cadena alimenticia de alto nivel trófico, es decir, especies depredadoras, como el tiburón túnido y el pez espada, generalmente, presentan altas concentraciones de este metal.<sup>12</sup>

Mol (2011) menciona que posiblemente la contaminación de conservas de pescado por metales pesados, se produzca durante la manufactura, por la manipulación de la materia prima y el proceso industrial. Sin embargo, autores como Emami *et al.* (2005) informa que la cocción, durante el procesamiento, reduce la cantidad de metales.<sup>13-14</sup>

Obeid *et al.* (2011), determinaron la cantidad de Hg presente conservas de *Thunnus* (atún). De igual manera, Tuzen y Soylak (2007) determinaron las

concentraciones de Al, Pb y Cd en conservas de *Thunnus* (atún) en donde encontraron cantidades altas de estos metales.<sup>16-17</sup>

Entre otros resultados reportados se encuentran los de Emami, *et al.* (2005), en donde determinaron la cantidad de Pb, Cd, Hg y As en conservas de *Thunnus* (atún), encontrando que ningún metal sobrepasó el límite permitido por la FAO/OMS, Emami, *et al.* (2005) consideran que la tecnología de envasado reduce la cantidad de metales en alimentos.<sup>14</sup>

Por lo anterior, es claro que existe la preocupación e interés de investigar la presencia de metales traza en peces, estos metales en los sistemas marinos son un problema mundial, debido a su toxicidad y bioacumulación por los organismos marinos y posterior transferencia al hombre a través de la red alimentaria. Por lo tanto, es importante determinar el contenido químico acumulado, especialmente de los contaminantes de interés, como las concentraciones de metales traza en especies de peces muy consumidas.<sup>4, 6, 15</sup>

Este trabajo pretende determinar la presencia de metales traza y establecer si estos se encuentran en concentraciones permisibles según la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera del Instituto Tecnológico del Perú,<sup>16</sup> la Comisión de las Comunidades Europeas<sup>17</sup> la Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS).<sup>18</sup> y la Norma Nacional de la República Popular de China.<sup>19</sup>

## RESUMEN

Los peces marinos son fuentes importantes de proteínas, aminoácidos y ácidos grasos esenciales. Las actividades humanas en las aguas costeras y los ríos que desembocan en los estuarios y océanos del mundo han deteriorado severamente la calidad del agua a través de metales; debido a su persistencia, toxicidad; se bioacumulan en organismos que incluyen plantas y peces. Los metales pesados en los sistemas marinos son un problema mundial, debido a la transferencia al hombre a través de la red alimentaria. Para la realización de este trabajo se utilizó la técnica de Espectrometría de Emisión de Plasma Acoplada Inductivamente (ICP-OES), lo cual es una técnica ideal debido a que se pueden determinar varios elementos de manera simultánea y a bajas concentraciones (ppm, ppb). Para el presente estudio descriptivo se tomaron 96 muestras de conservas de *Thunnus* (atún) de 8 marcas que se comercializan en nuestra ciudad, entre nacionales e importadas provenientes de Ecuador y Tailandia con líquidos de gobierno agua y aceite vegetal. Se determinaron las concentraciones de As, Al, Cd, Hg y Pb, éste último resultando en todas las muestras no detectable. Los resultados obtenidos fueron comparados con la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera y la Comisión de la Comunidades europeas que establecen 0.05 mg/kg y 0.1 mg/kg para Cd, respectivamente, obteniendo valores de 0.5-1.25mg/kg; estas entidades estipulan 1mg/kg de Hg, obteniendo valores de 0.25-1mg/kg. Los valores de As obtenidos fueron de 0.75-13.5mg/kg y Al de 2.5-24.5mg/kg, pero dado que no existe regulación sobre éstos elementos, no se pudieron comparar.

Palabras clave: Metales pesados, conservas de *Thunnus*, atún

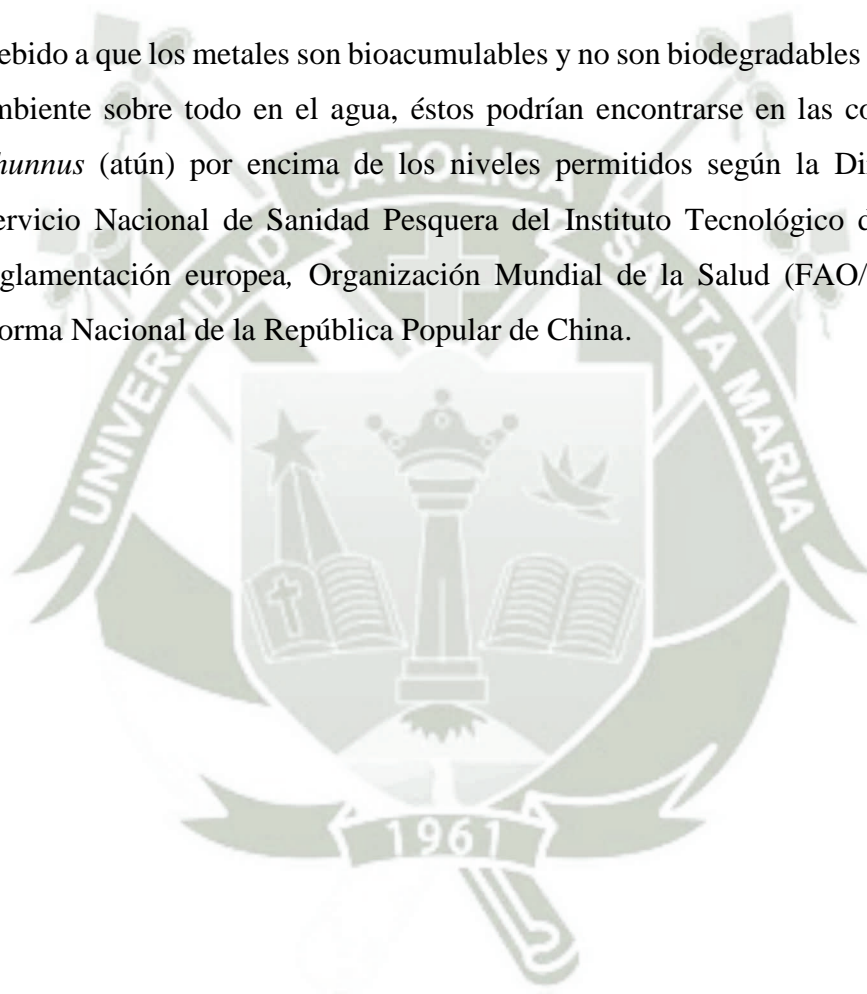
## ABSTRACT

Marine fish are important sources of protein, amino acids and essential fatty acids. Human activities in coastal waters and rivers flowing into the estuaries and oceans of the world have severely impaired water quality through metals; due to its persistence, toxicity; Bioaccumulate in organisms that include plants and fish. Heavy metals in marine systems are a global problem, due to the transfer to man through the food web. For the accomplishment of this work the technique of Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry (ICP-OES) was used, which is an ideal technique because several elements can be determined simultaneously and at low concentrations (ppm, ppb). For the present descriptive study 96 samples of canned of *Thunnus* (tuna) of 8 brands were commercialized in our city, between national and imported from Ecuador and Thailand with water and vegetable oil. Concentrations of As, Al, Cd, Hg and Pb were determined, the latter resulting in all samples not detectable. The results obtained were compared with the Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera and the Commission of the European Communities, which establishes 0.05 mg / kg and 0.1 mg / kg for Cd, respectively, obtaining values of 0.5-1.25mg / kg; these entities stipulate 1mg / kg of Hg, obtaining values of 0.25-1mg/kg. The values obtained for As were 0.75-13.5mg/kg and Al values of 2.5-24.5mg / kg, but since there is no regulation on these elements, they could not be compared.

Keywords: Heavy metals, canned *Thunnus*, tuna

## HIPÓTESIS

Debido a que los metales son bioacumulables y no son biodegradables en el medio ambiente sobre todo en el agua, éstos podrían encontrarse en las conservas de *Thunnus* (atún) por encima de los niveles permitidos según la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera del Instituto Tecnológico del Perú, la reglamentación europea, Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) y la Norma Nacional de la República Popular de China.



## OBJETIVOS

### General

Determinar la concentración de Cd, Pb, Hg, As y Al en conservas de *Thunnus* (atún), Arequipa 2016.

### Específicos

- Validar el método de Espectrometría de Emisión Óptica Inductivamente acoplado a plasma (ICP-OES) para la determinación de Cd, Pb, Hg, As y Al en conservas de *Thunnus* (atún).
- Determinar la concentración de Cd, Pb, Hg, As y Al en conservas de *Thunnus* (atún) mediante la técnica de Espectrometría de Emisión Óptica Inductivamente acoplado a plasma (ICP-OES).
- Comparar los resultados obtenidos con los valores establecidos por la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera del Instituto Tecnológico del Perú, la Comisión de las Comunidades Europeas, Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) y la Norma Nacional de la República Popular de China.
- Comparar los resultados obtenidos en función de la marca y forma de presentación de la conserva de *Thunnus* (atún).

## INDICE

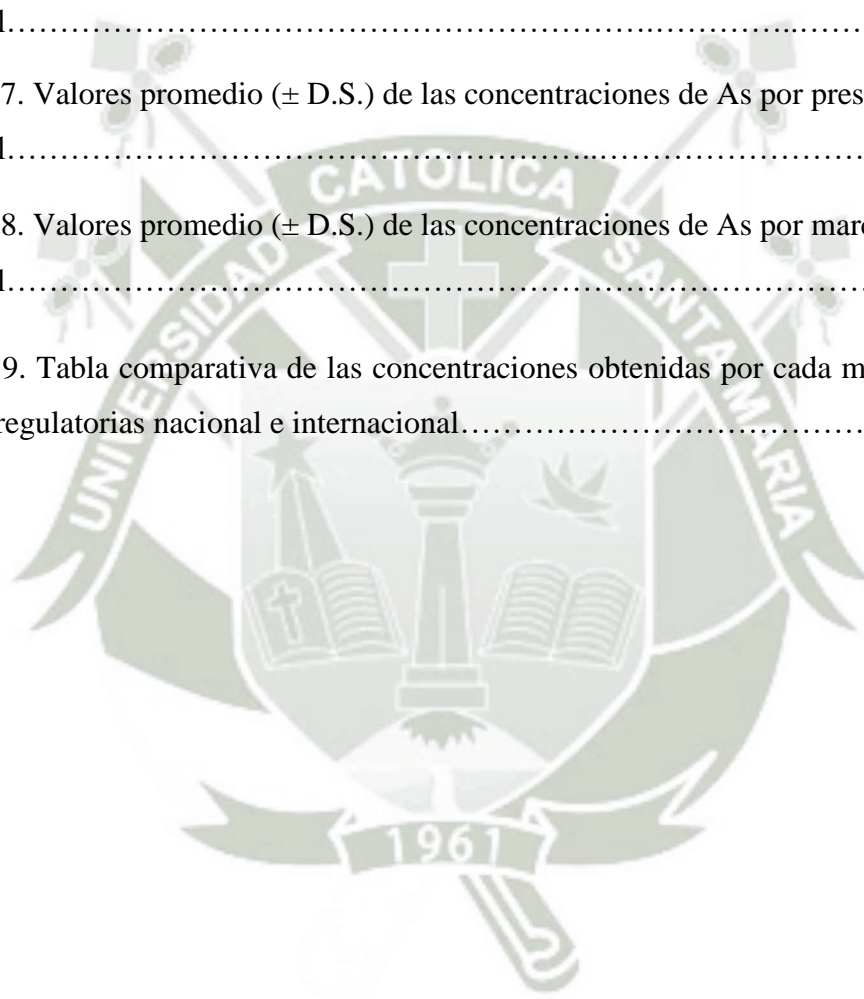
PRESENTACIÓN	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
INTRODUCCION	
RESUMEN	
ABSTRACT	
HIPÓTESIS	
OBJETIVOS	
INDICE DE CONTENIDO	
INDICE DE TABLAS	
INDICE DE FIGURAS	
CAPÍTULO I .....	1
MARCO TEORICO .....	1
CAPÍTULO II.....	31
MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
CAPÍTULO III.....	41
RESULTADOS.....	41
DISCUSIÓN.....	69
CONCLUSIONES .....	77
SUGERENCIAS.....	78
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXOS .....	89

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Medidas regulatorias del contenido de metales en pescados frescos y productos enlatados. ....	28
Tabla 3.1 Esquema para la elaboración de la curva de calibración.....	41
Tabla 3.2. Longitudes de onda de calibración recomendadas por la EPA 200.7.....	42
Tabla 3.3: Intensidades obtenidas para cada concentración de Cd.....	42
Tabla 3.4: Intensidades obtenidas para cada concentración de Hg.....	44
Tabla 3.5: Intensidades obtenidas para cada concentración de Pb.....	45
Tabla 3.6: Intensidades obtenidas para cada concentración de As.....	46
Tabla 3.7: Intensidades obtenidas para cada concentración de Al.....	47
Tabla 3.8. Valores de las mediciones de As, Hg, Pb, Cd y Al para determinar la precisión.....	48
Tabla 3.9. Valores obtenidos para el cálculo de la precisión .....	48
Tabla 3.10. Tabla resumen de los Límites de Detección y Cuantificación de los metales en estudio.....	49
Tabla 3.11. Valores promedios obtenidos para el % de Recuperación.....	50
Tabla 3.10. Codificación de las muestras de conservas de <i>Thunnus</i> (atún).....	51
Tabla 3.11. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de Cd por presentación comercial.....	52
Tabla 3.12. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de Cd por marca comercial.....	54



Tabla 3.13. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de Hg por presentación comercial.....	56
Tabla 3.14. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de Hg por marca comercial.....	58
Tabla 3.15. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de Al por presentación comercial.....	60
Tabla 3.16. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de Al por marca comercial.....	62
Tabla 3.17. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de As por presentación comercial.....	64
Tabla 3.18. Valores promedio ( $\pm$ D.S.) de las concentraciones de As por marca comercial.....	66
Tabla 3.19. Tabla comparativa de las concentraciones obtenidas por cada metal con las medidas regulatorias nacional e internacional.....	68



## INDICE DE FIGURAS

Fig. 1.1. Diagrama Eh-pH para el sistema Cd-C-S-O-H. $Cd=10^{-8}$ , $C=10^{-3}$ , $S=10^{-3}$ , a 25°C y 1 bar de presión.....	10
Fig. 1.2. Diagrama Eh-pH para el sistema Pb-S-C-O-H. $Pb=10^{-6}$ , $S=10^{-3}$ , $C=10^{-3}$ a 25°C y 1 bar de presión. ....	13
Fig. 1.3. Diagrama Eh-pH para el sistema Hg-O-H-S-Cl. $Hg=10^{-8}$ , $Cl=10^{-3}$ , $S=10^{-3}$ a 25°C y 1 bar de presión. ....	17
Fig. 1.4. Diagrama Eh-pH para el sistema Al-O-H. $Al=10^{-4}$ , a 25°C y 1 bar de presión.....	22
Fig. 1.5. Diagrama Eh-pH para el sistema As-O-H. $As=10^{-6}$ , a 25°C y 1 bar de presión.....	25
Fig. 2.1. Flujograma de la metodología del trabajo.....	33
Fig.2.2. Equipo de microondas Mars 5 que se utilizó para digestar las muestras de <i>Thunnus</i> (atún).....	33
Fig. 2.3. Espectrofotómetro de Emisión Óptica inductivamente acoplado a Plasma (ICP-OES) Óptima 8000- Perking Elmer que se utilizó para cuantificar los metales traza en las muestras de <i>Thunnus</i> (atún).....	39
Fig 3.1. Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Cd.....	43
Fig 3.2. Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Hg.....	44
Fig 3.3. Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Pb.....	45

Fig 3.4. Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de As.....	46
Fig 3.5. Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Al.....	47
Fig. 3.6. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Cd (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial .....	53
Fig. 3.7. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Cd (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial.....	55
Fig. 3.8. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Hg (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial.....	57
Fig. 3.9. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Hg (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial.....	59
Fig. 3.10. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Al (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial.....	61
Fig. 3.11. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Al (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial.....	63
Fig. 3.12. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de As (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial.....	65
Fig. 3.13. Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de As (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial.....	67

## CAPITULO I

### 1. MARCO TEÓRICO

#### 1.1. CONTAMINACIÓN DEL AGUA

En las últimas décadas, la alta densidad industrial y el crecimiento socioeconómico ha generado una tremenda cantidad de contaminación. Los efluentes industriales continuamente descargados en los ríos causan gradualmente el deterioro de nuestro ambiente global.<sup>20-21</sup>

La contaminación de ambientes acuáticos por metales pesados ha atraído la atención generalizada por su persistencia, acumulación en los alimentos, efectos negativos sobre la salud humana y ecológica. Los metales pesados se encuentran entre los contaminantes más importantes en los ecosistemas acuáticos debido a su persistencia ambiental, efectos adversos sobre los organismos, bioacumulación y biomagnificación.<sup>22, 23- 24</sup>

La industrialización vierte cantidades de metales antropogénicos residuales, por ejemplo, óxidos de hierro, manganeso, compuestos orgánicos, etc., que luego se depositan y unen rápida y fuertemente a diferentes tipos de granos finos sedimentarios, pero después de entrar en el ecosistema acuático, sólo una pequeña porción de iones metálicos permanece libre en el agua, debido a las particularidades de metales pesados y metaloides, el resto se deposita en los sedimentos. Por lo tanto, los sedimentos son un componente ecológicamente importante del sistema y desempeñan un papel importante en el transporte y almacenamiento de metales potencialmente peligrosos. Los metales también pueden desprenderse y liberarse en la columna de agua, afectando negativamente calidad del agua. El enriquecimiento de metales pesados en sedimentos induce efectos tóxicos sobre la vida cuando superan determinados límites de

concentración. La concentración de metales traza en los sedimentos suele exceder a la columna de agua superpuesta unas tres a cinco veces su magnitud y pueden ser transferidos a regiones tróficas superiores a través de la biomagnificación. Esto ocurre más a menudo en los sedimentos superficiales cuando existen grandes variaciones pueden alterar rápidamente diferentes factores como el pH, la temperatura y la bioturbación (o resuspensión). Los metales de origen antropogénico se diferencian de los que son litogénicos, porque son muy móviles y biodisponibles, por lo tanto, son más propensos a afectar negativamente a las especies acuáticas.<sup>22, 25, 26 -27 28</sup>

## **1.2. GENERALIDADES SOBRE PECES MARINOS Y SU CONTAMINACION POR METALES PESADOS**

Los peces marinos son fuentes importantes de proteínas, forman una parte importante de la dieta humana a una multitud de personas que viven alrededor de las ciudades costeras, pueblos y aldeas. También son bajos en colesterol, calorías, sodio y grasas saturadas; tienen alta calidad de proteínas, minerales esenciales tales como calcio, potasio, yodo, hierro, zinc y selenio, y son ricos en ácidos grasos esenciales como el omega-3. La diferencia básica entre el pescado y otros productos animales es el contenido de ácidos grasos insaturados esenciales como docosahexaenoico, eicosapentaenoico y docosapentaenoico<sup>1,3, 29-30</sup>

La contaminación por metales pesados, por ejemplo, Cd, Cr, Pb, etc. se ha convertido en un serio problema debido a su naturaleza estable, persistente y no biodegradable.<sup>4</sup>

Sin embargo, no todos los metales son peligrosos, ya que algunos son elementos esenciales en sistemas biológicos, sólo se vuelven tóxicos cuando están presentes en altas concentraciones. Metales como el Cu y Zn tienen un papel importante en sistemas biológicos, pero están asociados con toxicidad a concentraciones altas, mientras que Cd, Pb, Cr y Ni son tóxicos incluso en concentraciones trazas.<sup>2,29</sup>

Las actividades humanas cerca de las aguas de los ríos que desaguan en los estuarios y océanos del mundo han causado el deterioro severo de la calidad del

agua a través de la contaminación con metales pesados entre muchos otros problemas.<sup>1,4,31-32</sup>

Entre los factores ambientales que influyen en la bioacumulación de metales está la presencia de sedimentos. Los metales se descargan en los ríos, que pueden ser fuertemente acumulados y biomagnificado a lo largo de agua, sedimentos y alimentos acuáticos, lo que resulta en efectos subletales o la muerte en poblaciones locales de peces. Los sedimentos suspendidos absorben contaminantes del agua, disminuyendo así su concentración en la columna de agua. Los metales pesados son inertes en el ambiente del sedimento y son a menudo considerados como contaminantes conservadores, aunque pueden ser liberados en la columna de agua en respuesta a ciertas perturbaciones, causando amenaza potencial a los ecosistemas. Adicionalmente, los metales pueden asociarse con material particulado y favorecer su entrada en el medio marino. Dado que los metales interactúan químicamente con otros elementos, la unión al material particulado en suspensión, puede precipitar junto al sedimento o quedarse en la columna de agua para estar disponible para la biota.<sup>8 33 34</sup>

Otra vía de entrada de los metales pesados en ambientes marinos incluye el transporte atmosférico de polvo y sedimentos del suelo a través flujos y vías fluviales. Por tanto, los metales pesados persisten en el suelo y desde los sedimentos donde se liberan gradualmente en los cuerpos de agua. Dentro de los sedimentos es importante la división química de metales en sedimentos y la columna de agua para distinguir la fracción biodisponible. Entre las fracciones metálicas, las cambiables y las fracciones unidas al carbonato se consideran biodisponibles, determinan la bioacumulación y la biomagnificación. Las fracciones de metal también pueden verse afectadas por los cambios en el pH, redox potencial, desorción y ligandos.<sup>35 36</sup>

Por lo tanto, los metales pesados tienen una importancia ecotoxicológica debido a su persistencia y toxicidad, además son bioacumulables en organismos, incluyendo plantas y peces, especialmente en hígado de peces. Ellos también pueden biomagnificar a través de la cadena alimenticia, provocando daños ecológicos y riesgos sanitarios para los ecosistemas y los seres humanos.<sup>1</sup>

Por otro lado, los peces son consumidos ampliamente por los seres humanos, han recibido especial atención como fuente potencial de contaminación de metales. En el caso de los depredadores superiores como los grandes peces pelágicos, cuando están expuestos a metales, los riesgos tienden a ser exacerbados, dado que, muchos metales pesados tienden a acumularse en su cuerpo a concentraciones superiores a los encontrados en el medio ambiente y en sus presas. Cabe mencionar, que, para los peces comercialmente importantes, la bioacumulación de metales pueden tener serias implicaciones para la salud humana.<sup>37</sup>

Aunque la carne de pescado es altamente nutritiva, su consumo puede tener efectos adversos significativos en la salud debido a la bioacumulación de metales pesados en los músculos de los peces. La acumulación de metales pesados en los peces puede ocurrir debido a los metales naturalmente presente en el medio acuático, pero puede deberse a las actividades antropogénicas, como la actividad industrial y la contaminación. En ambientes fluviales, sin embargo, contaminación de metales puede ser el resultado de deposición, desgaste geológico o por la descarga de residuos agrícolas, municipales, residenciales o industriales, así como el derrame de gasolina de barcos pesqueros. La combustión de carbón es una de las actividades antropogénicas con una importante emisión de metales.<sup>2, 4, 15,38-39</sup>

Por lo tanto, la contaminación marina por metales pesados y el pescado se ha convertido en un motivo de gran preocupación, no sólo por la salud de los peces, sino también por el peligro para la salud humana por el consumo de peces marinos.<sup>31,40,41</sup>

La cadena de contaminación de estos metales y metaloides sigue un orden cíclico: Industria, atmósfera, tierra, agua, fitoplancton, zooplancton, peces y seres humanos a través de la red alimentaria.<sup>42</sup>

Existen diferentes vías de exposición a metales pesados como inhalación y contacto dérmico, pero el consumo de alimentos es la vía principal, que representa más del 90% para la exposición humana a metales pesados, por

ejemplo, los pescados en conserva son alimentos populares en muchos países. Los peces pueden estar expuestos a productos químicos, aguas contaminadas durante el crecimiento, pero la contaminación también ocurre durante el enlatado.<sup>4, 15, 43- 44</sup>

Debido a la acumulación de metales en los peces, éstos representan uno de los mejores indicadores para la estimación de contaminación, por lo que es importante no sólo para la protección del medio ambiente, sino también para la calidad del pescado. Los peces responden con sensibilidad a un aumento de la concentración de contaminante como metales y contaminantes orgánicos en agua. El nivel de acumulación de metales en los órganos y tejidos depende de la taxonomía de las especies de peces, a través de la cadena alimentaria estado nutricional, patrones de edad, características físico-bioquímicas y estado químico del medio ambiente y comportamientos de predación.<sup>43,45-46-34</sup>

La bioacumulación de metales pesados en los peces, puede darse por absorción directa del agua a través de sus branquias y/o piel, y por ingestión de alimentos o partículas no alimentarias. Los metales pesados se acumulan en los tejidos de los animales acuáticos cuando alcanzan determinados umbrales de toxicidad, estos valores que varían considerablemente entre metales, especies de metales, taxonomía de especies y organismos. Los metales entran en el torrente sanguíneo de los peces y se transportan y se acumulan en sus tejidos, principalmente hígado, donde se biotransforman y se excretan o son consumidos por los seres humanos, causando efectos adversos para la salud tales como deterioro de la capacidad reproductiva, daño hepático, cáncer de piel y vejiga, dolor abdominal, dolor de cabeza, irritabilidad, presión sanguínea; daño en los riñones, daños en el nervio, daño en el esqueleto, cáncer, y altera las funciones intelectuales, e incluso la muerte.<sup>1, 4,47, 48</sup>

Las bioacumulaciones de metales en los peces, como en la mayoría de los organismos depende de la biodisponibilidad, que es determinada por la prevalencia de factores ambientales como la estación, ubicación, como el pH, la temperatura y la alcalinidad, tipo de contaminante, lugar de muestreo y características fisiológicas y ecológicas específicas de cada especie; como



hábitos alimenticios, edad/duración de vida, tamaño, sexo, hábitats, trófico y regulación homeostática. En la cadena alimentaria acuática, los peces se encuentran en el extremo medio del nivel trófico. La acumulación de metales es menor en peces a niveles tróficos bajos pero alta en aquellos situados en lo alto de la cadena alimentaria, aunque se han comunicado resultados contradictorios en metales.<sup>1, 32, 39, 49,50</sup>

Los metales absorbidos por los peces se distribuyen diferencialmente en los órganos de los peces, por ejemplo, el hígado, las branquias, el músculo y las gónadas; provocando así variaciones de acumulaciones metálicas en estos órganos.<sup>1</sup>

En los peces, la vía gastrointestinal representa más del 90% de la absorción total de elementos, mientras que las branquias y la piel sirven también como vías para la incorporación de metal / elementos, en la contaminación de diferentes partes del cuerpo, incluyendo los músculos.<sup>51</sup>

Los peces son ampliamente utilizados para monitorear las variaciones en el ambiente marino de contaminantes. El hígado, las branquias y los músculos se usan principalmente como bioindicadores de metal en los peces, debido a sus diferentes papeles en la bioacumulación de metales y su potencial en la dieta humana. El músculo es la principal parte comestible de los peces, forma la herramienta más preferida para la evaluación de los riesgos sanitarios asociados a la contaminación de los peces por los metales.<sup>1, 4,24</sup>

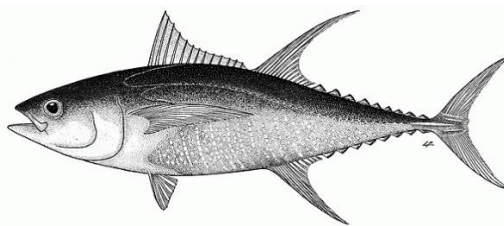
### 1.3. GÉNERO *Thunnus*

El género *Thunnus*, que pertenece a la familia *Scombridae*, está compuesto de ocho especies que comúnmente se conocen como atunes. Las especies de atún más valiosas comercialmente pertenecen al género *Thunnus*. El atún rojo del norte (*Thunnus thynnus*) existe en los océanos Pacífico y Atlántico. El atún rojo del sur (*T. maccoyii*) se encuentra en los océanos Atlántico, Índico y Pacífico. El atún patudo (*T. obesus*), el atún aleta amarilla (*T. albacares*) y la albacora (*T. alalunga*) se encuentran en los tres océanos. Las especies mencionadas

anteriormente son las principales especies de atún en el mercado, al encontrarse entre las más consumidas en el mundo.<sup>52-53 54</sup>

El atún se encuentra entre los principales depredadores que juegan un papel importante en el mantenimiento del equilibrio en el medio ambiente oceánico, su tejido muscular constituye una parte importante desde el punto de vista nutricional y también representa un lugar estable de metales traza. Como depredador superior se coloca en el ápice de las redes alimenticias marinas, propenso a la acumulación y concentración de una gran cantidad de metales pesados y contaminantes en sus tejidos a través de la biomagnificación. El atún también es altamente migratorio, por tanto, bioacumula contaminantes a grandes distancias geográficas. Esta especie se consume comúnmente como enlatado y algunas especies se utilizan para la biomonitorio de contaminación.<sup>30, 14 13 55 56</sup>

Una de las especies ecológica y comercialmente importante es el atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*) (Fig 1.1), ésta se distribuye ampliamente en los mares tropicales y subtropicales y es el más capturado. El *Thunnus albacares* se caracteriza por presentar un color azul metálico oscuro cambiando de amarillo a plateado en el vientre; el vientre frecuentemente se encuentra cruzado por aproximadamente 20 líneas rotas, casi verticales; aletas dorsal y anal, y aletillas dorsal y anal, de color amarillo brillante, las aletas con un borde negro estrecho. Especies dentro del género *Thunnus*, como el atún aleta amarilla se encuentra en el top de depredadores que se alimentan de peces forrajeros, calamares y crustáceos pelágicos, entre otros organismos. El atún aleta amarilla posee muchas características únicas incluyendo los músculos rojos internalizados y los intercambiadores vasculares de cabeza de contracorriente, y tienen tasas metabólicas ligeramente elevadas en relación con la mayoría de los peces. Cabe mencionar que existe una fuerte demanda internacional de atún aleta amarilla para consumo. Por lo que, varios estudios han informado sobre el contenido total de Hg y especies de mercurio (Hg) en el atún aleta amarilla.<sup>2 53 57-58 59,60</sup>



**Grafico 1.1** Imagen de *Thunnus albacares* (atún aleta amarilla). Fuente: Bonnaterre, 1788, Tableau Encyclopédique et Méthodique, Ichthyologie (Jamaica)

#### 1.4. GENERALIDADES SOBRE METALES PESADOS

"Metales pesados" es un término colectivo, que se aplica al grupo de metales y metaloides con una densidad atómica superior a 4 g/cm<sup>3</sup>, o 5 veces o más, mayor que el agua. Generalmente, la mayor parte de los metales pesados presentes en ríos provienen de diferentes fuentes, puede ser natural por erosión y/o antropogénica.<sup>33</sup>

Para la mayoría de los organismos la exposición a metales pesados, por encima de una concentración umbral, puede ser extremadamente tóxica. Los metales se encuentran originalmente presentes en los ambientes naturales, fuentes antropogénicas de metales como la minería, la industria, las aguas residuales domésticas y la deposición atmosférica, lo que conduce al aumento de la concentración de metales en el medio ambiente. En vista de la intensa actividad humana, el brusco crecimiento rápido de la población y el desarrollo, el aumento de la descarga de desechos en cuerpos acuáticos ha conducido a un aumento significativo de la contaminación. Por tanto, las fuentes naturales de metales pesados como la lixiviación y la meteorización de rocas en el medio ambiente, suelen ser de poca importancia. Los metales en el medio ambiente no son biodegradables y son persistentes, y resultan en la bioacumulación de los metales en los organismos.<sup>33 61 62 63</sup>

Muchas especies químicas de arsénico, mercurio y selenio, por ejemplo, son transformados en el medio ambiente durante procesos de captación y eliminación por la biota alteración abiótica, fijación y removilización en los sedimentos, etc. La presencia de metales pesados en los sedimentos se debe a la precipitación de sus carbonatos, hidróxidos y sulfuros, que se establecen y forman la parte de los

sedimentos. Las fuentes antropogénicas más importantes de metales pesados son las industrias y el alcantarillado doméstico. La práctica de descargar residuos de las industrias y las aguas residuales domésticas no tratadas en el ecosistema conduce al aumento de la concentración de metales pesados en aguas de ríos.<sup>33 63</sup>

La biodisponibilidad (la capacidad de un metal para unirse o atravesar / cruzar la membrana celular) de un metal es generalmente dependiente de la forma fisicoquímica, o especiación de un metal. Además, la biodisponibilidad del metal en agua dulce disminuye con el aumento de la dureza, con Ca y/o Mg compitiendo con metales para sitios de unión a la superficie en las membranas celulares. Una disminución del pH puede aumentar la biodisponibilidad de los metales a los organismos de agua dulce, en la desorción del metal de la materia coloidal y de las partículas, y disocian un poco de metal inorgánico y orgánico.<sup>64</sup>

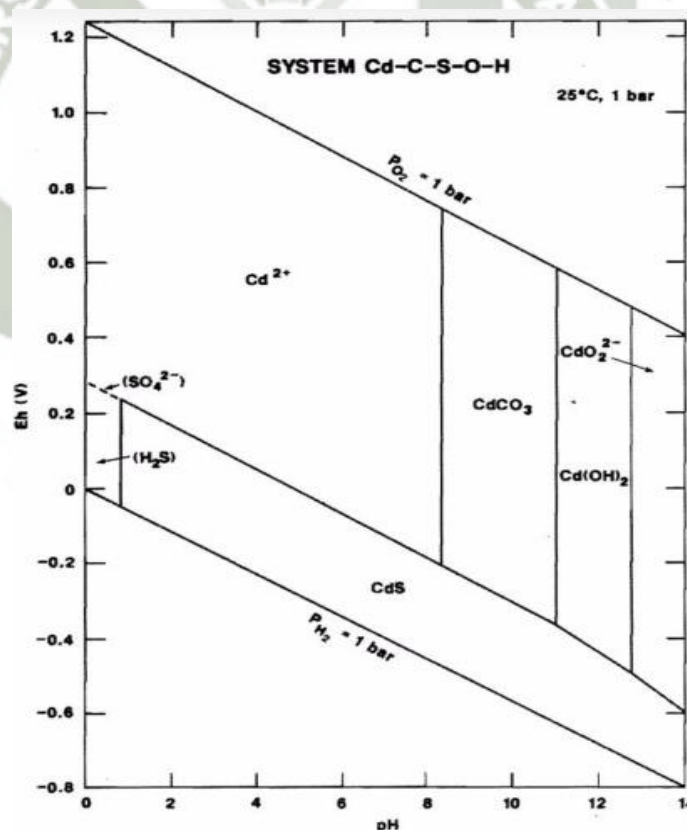
La forma más biodisponible de metales que resulta tóxico se cree que es la forma iónica disuelta. La toxicidad significativa del metal en los peces también puede derivar de las formas orgánicas de varios metales incluyendo estaño y mercurio. Múltiples sistemas fisiológicos se ven afectados por los metales (comúnmente las branquias) y la toxicidad depende de forma de metal, especiación, biodisponibilidad, toxicocinética (absorción, distribución, biotransformación y excreción) y toxicodinámica (interacciones con ligandos).<sup>48</sup>

De manera general la toxicidad de los metales pesados está relacionada con su capacidad de interferir en procesos enzimáticos y su baja movilidad en el organismo debido a su pequeño tamaño y a sus enlaces químicos insaturados que favorecen su acumulación y consiguiente alteración en el metabolismo de organismos. La toxicidad de metales pesados en organismos acuáticos y su equilibrio depende de varios factores limnológicos que determinan su concentración en el medio ambiente y la disponibilidad de la biota acuática como pH, alcalinidad, dureza, materia orgánica, sólidos totales y sedimentación. Dado que estos metales interactúan químicamente con otros elementos, uniéndose al material particulado en suspensión, pudiendo precipitar junto al sedimento o quedarse en la columna de agua y por tanto, estar disponible para la biota.<sup>8</sup>

### 1.4.1. CADMIO

#### 1.4.1.1. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS DEL CADMIO

El cadmio es un elemento del grupo 12 en la tabla periódica con un catión divalente muy estable en solución acuosa ( $\text{Cd}^{2+}$ ). El cadmio (Cd) es un metal natural que se encuentra en la Tabla Periódica de los Elementos entre zinc (Zn) y mercurio (Hg), con un comportamiento químico similar al Zn. El cadmio es un metal del grupo II B que tiene un peso atómico de 112,41; la forma iónica de cadmio ( $\text{Cd}^{2+}$ ) se combina usualmente con formas iónicas de oxígeno (óxido de cadmio,  $\text{CdO}_2$ ), cloro (cloruro de cadmio,  $\text{CdCl}_2$ ) o azufre (sulfato de cadmio,  $\text{CdSO}_4$ ). Por lo tanto, el Cd no se encuentra en el ambiente como un metal puro, sino en forma de óxidos complejos, carbonatos y sulfuros en el cinc, plomo y menas de cobre.<sup>65 66 67</sup>



**Fig. 1.1.** Diagrama Eh-pH para el sistema Cd-C-S-O-H.  $\text{Cd}=10^{-8}$ ,  $\text{C}=10^{-3}$ ,  $\text{S}=10^{-3}$ , a 25°C y 1 bar de presión. Fuente: Brookins, D.G., Eh-Ph Diagrams for Geochemistry, 1988

#### 1.4.1.2. FUENTES NATURALES Y ANTROPOGENICAS

El cadmio está ampliamente distribuido en la corteza terrestre. Es un elemento relativamente raro con un promedio concentración de 0,1-0,2 mg Cd / Kg. Las concentraciones más altas - con interés comercial - se encuentran en asociación con minerales de zinc, plomo y cobre, donde el cadmio se recupera invariablemente como subproducto, principalmente de minerales que contienen zinc. El Cd puede formar sales, y su movilidad en el medio ambiente y los efectos sobre el ecosistema dependen en gran medida sobre la naturaleza de estas sales en combinación con otros elementos tales como oxígeno (óxido de cadmio), cloro (cloruro de cadmio) o azufre (sulfuro de cadmio). El cadmio metálico y CdO son menos dañinos en el medio ambiente que el Cd<sup>2+</sup> soluble.<sup>64</sup>

Además de ser un metal pesado tóxico, es un contaminante ambiental y carcinogénico humano.<sup>68</sup> El agua y los alimentos contaminados son las fuentes más importantes de exposición en general, sin incluir fumadores ni ocupacionalmente expuestos. La exposición al Cd del agua contaminada se debe a las fábricas de acabados de metales, manufactura de pigmentos, electrónica, baterías, estabilizadores, plásticos entre otros que tiran sus residuos al río. Aproximadamente se absorbe en el sistema gastrointestinal el 7% de lo ingerido de Cd.<sup>39,69-70 67</sup>

Los mariscos, así como los riñones y el hígado de animales son alimentos que contienen concentraciones de cadmio que sobrepasan el 0.05 µg/g incluso en circunstancias normales.<sup>67</sup>

#### 1.4.1.3. CADMIO EN PECES MARINOS

En contraste con el Hg y el As, el Cd se encuentra normalmente a muy bajas concentraciones en filetes de pescado. Es bien sabido, sin embargo, que el cadmio puede estar presente a niveles elevados en mariscos como los cangrejos (más de 1 mg Cd/kg). Valores extremos de hasta 50 mg Cd /kg en la carne marrón de cangrejos de áreas aparentemente no contaminadas.<sup>71</sup>

#### 1.4.1.4. TOXICIDAD POR CADMIO

Luego de la absorción, el Cd es transportado por la sangre a diferentes órganos, donde se acumula con el tiempo. A dosis relativamente bajas, es uno de los principales metales pesados responsables de causar daño renal, trastorno renal, presión arterial alta, fractura ósea y destrucción de glóbulos rojos. Los órganos donde se acumula el Cd es el hígado y el riñón principalmente en donde se almacena un tercio de la carga total de Cd en el cuerpo, aunque también afecta a otros órganos como los huesos, el corazón, los testículos y el cerebro.<sup>68,70 72</sup>

El Cd entra al torrente sanguíneo por absorción en el estómago o en los intestinos, luego de la ingestión de comida o agua, o por absorción en los pulmones después de la inhalación. La absorción de cadmio en el ámbito intestinal se produce en dos etapas: en la primera, las células de la mucosa internalizan el cadmio presente en el lumen intestinal; y en la segunda etapa, una parte del cadmio atraviesa la membrana lateral de los enterocitos para pasar a la circulación sanguínea.<sup>67</sup>

Cuando la dosis oral de cadmio es elevada, el metal libre atraviesa la mucosa para pasar a la circulación sanguínea, almacenándose en el hígado y los riñones. Sólo en estos dos órganos se acumula entre 40 y 80% del cadmio presente en el organismo.<sup>67</sup>

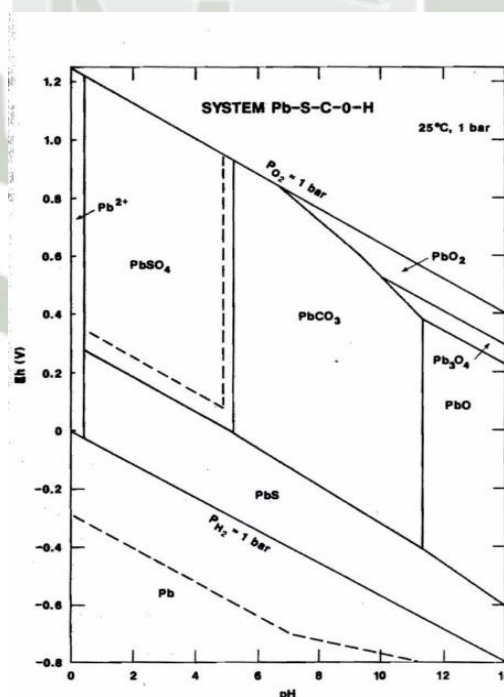
En las especies acuáticas la toxicidad del Cd depende de la especiación, siendo la especie  $\text{Cd}^{2+}$  principalmente absorbida, siguiendo principalmente las vías de absorción de las branquias e intestinal. El principal mecanismo de toxicidad es la interacción antagónica entre la captación de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Cd}^{2+}$ , debido a que tiene propiedades fisicoquímicas muy similares, con el  $\text{Ca}^{2+}$ , el  $\text{Cd}^{2+}$  puede interactuar con biomacromoléculas, como las proteínas de unión, se ha demostrado que  $\text{Cd}^{2+}$  puede desplazar  $\text{Ca}^{2+}$  de sus sitios de unión en calmodulina (CaM), sarcolemma, y troponina C in vitro, con el potencial para afectar otras proteínas que se unen a  $\text{Ca}^{2+}$ , lo que interrumpe la absorción de  $\text{Ca}^{2+}$  que conduce a hipocalcemia aguda y reducción del crecimiento, la reproducción problemática, así como deficiencias en el desarrollo y comportamiento.<sup>68 48</sup>

Los defectos biológicos más drásticos resultan de la exposición crónica al Cd, esto se relaciona en gran parte con su acumulación en tejidos biológicos más importantes tales como hígado, pulmones, riñones, huesos y órganos reproductivos y en última instancia produce varios problemas clínicos tales como disfunción renal, enfermedades óseas y disfunción hepática, dependiendo de la dosis, duración y vía de exposición. Por lo tanto, las manifestaciones clínicas de la exposición al cadmio pueden clasificarse, de acuerdo con el tiempo y modo de dicha exposición, en agudas y crónicas.<sup>67 73</sup>

## 1.4.2. PLOMO

### 1.4.2.1. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS DEL PLOMO

El plomo es un elemento miembro del Grupo 14 (IVA) de la tabla periódica, tiene un peso atómico de 207.2 y existe en tres estados: Pb (0), el metal; Pb (II); y Pb (IV). El plomo elemental es inodoro, de color plateado-azulado-blanco, suave, altamente maleable, dúctil y relativamente pobre conductor de la electricidad.<sup>66 74</sup>



**Fig. 1.2.** Diagrama Eh-pH para el sistema Pb-S-C-O-H.  $Pb=10^{-6}$ ,  $S=10^{-3}$ ,  $C=10^{-3}$  a 25°C y 1 bar de presión. Fuente: Brookins, D.G., Eh-Ph Diagrams for Geochemistry, 1988



#### 1.4.2.2. FUENTES NATURALES Y ANTROPOGENICAS

La abundancia promedio de Pb en la corteza terrestre es aproximadamente 15 mg/kg, lo que equivale a aproximadamente 14 g de Pb por tonelada de roca. Los contenidos principales de los tipos de rocas comunes van desde aproximadamente 30 mg/kg (rocas graníticas, riolita y lutita negra) a aproximadamente 1 mg/kg (sedimentos evaporíticos, basalto y rocas ígneas ultramáficas como dunita).<sup>74</sup>

El Pb se encuentra en forma inorgánica en el medio ambiente. Las fuentes comunes de contaminación de origen antropogénico por plomo en el medio ambiente incluyen la minería, la fundición de minerales, quema de carbón, efluentes de industrias de baterías de almacenamiento, escapes de automóviles, metalizado, curtido de cuero, operaciones de acabado, fertilizantes, pesticidas y de aditivos en pigmentos y gasolina y fabricación de baterías.<sup>74</sup>

No se conoce ningún papel biológico en el organismo humano y puede ser tóxico incluso a concentraciones muy bajas. Las vías de exposición al plomo más importantes son la inhalación y la ingestión. La población general está expuesta al plomo principalmente a través del consumo de alimentos, con aproximadamente el 5-15% de la ingesta oral que es absorbida por el tracto gastrointestinal una tasa mayor en niños menores de 6 años de edad.<sup>75-76 77</sup>

#### 1.4.2.3. PLOMO EN PECES MARINOS

La exposición al Pb en el ambiente acuático afecta negativamente reproducción, crecimiento y comportamiento en peces. Desde la más alta exposición al plomo hasta niveles traza pueden causar daño a todos los tejidos, sistema nervioso central y sangre y su exposición a la toxicidad del plomo en los peces puede inducir atrofia muscular, lordoscoliosis, entumecimiento, cola negra y degeneración caudal de la aleta, además de hiperactividad, natación errática y pérdida de equilibrio.<sup>78</sup>

Los organismos acuáticos bioacumulan Pb del agua y la dieta, aunque hay evidencia de que la acumulación de Pb en los peces, se origina más

probablemente en agua que en la dieta. La concentración y la biodisponibilidad de Pb depende principalmente de la absorción en los sedimentos, la materia orgánica natural, contenido de agua, así como el pH, la alcalinidad y la dureza. La forma más tóxica que se considera en el agua es el ion Pb libre ( $Pb^{2+}$ ). Los efectos tóxicos de Pb en los peces incluyen la interrupción de los ciclos de  $Na^+$ ,  $Cl^-$  y  $Ca^{2+}$ , mientras que los principales efectos tóxicos de la exposición crónica al plomo a los peces son hematológicos y neurológicos.<sup>48</sup>

Los compuestos orgánicos de plomo son metabolizados a plomo iónico, tanto en seres humanos como en animales, se espera que la toxicidad asociada con el plomo inorgánico se ejerza.<sup>76</sup>

Han sido varios los autores que han realizado investigaciones respecto a la presencia de Pb en conservas de pescados. Tuzen y Soylak (2007) mencionan que una fuente reconocida de contaminación de conservas de pescado por metales pesados es la fabricación de latas por la soldadura de las mismas. Sin embargo otros autores como Storelli, *et al.* (2010) y Emami *et al.* (2005) presumen que la nueva tecnología de envasado, especialmente el uso de latas con paredes lacadas y costura mecánica, han reducido o, en la mayoría de los casos disminución de los niveles de Pb.<sup>12 79</sup>

#### 1.4.2.4. TOXICIDAD DEL PLOMO

Los principales mecanismos de toxicidad del plomo son la activación de funciones celulares debido al efecto de mimetización del calcio a este metal, y la inhibición de la actividad de diferentes proteínas a través de su unión a grupos sulfhidrilo. El Pb tiene alta afinidad por los grupos sulfhidrilo y pueden inactivar enzimas, especialmente aquellas hemo, tal como la deshidratasa del ácido \ alfa - aminolevulínico y ferroquetasa. Por otro lado, el Pb tiene una mayor afinidad que el Ca para la calmodulina y puede activar algunos procesos dependientes de calmodulina, inhiben las bombas de Ca (Ca-ATPasa, Na-K) y los canales y reemplazar al calcio en varios de sus receptores.<sup>66</sup>

Los eritrocitos tienen alta afinidad por el Pb, y más del 90% de lo que es absorbido se une en el torrente sanguíneo después de la exposición. Con la edad, el Pb se deposita en el tejido óseo, con una vida media de 10-30 años.<sup>76</sup>

Los efectos de la exposición al Pb para la población adulta, se relacionan con trastornos del comportamiento de predominio agresivo que pueden llegar a la delincuencia, hipertensión, retardo del desarrollo sexual, disminución de la capacidad cerebral y de las funciones neurofisiológicas., pero son los sistemas renales y hepáticos los más críticamente afectados.<sup>76-80 81</sup>

El aumento de los niveles de Pb en la sangre en los niños presenta efectos sobre el sistema nervioso central, siendo más críticos, encefalopatía, disminución de la conducción nerviosa y los déficits cognitivos pueden ocurrir en niños con concentraciones de plomo en la sangre menor que el nivel que induciría efectos similares en adultos. Por lo tanto, se asocia con trastornos del aprendizaje, especialmente, problemas de atención, hiperactividad, desorganización, dificultad para seguir indicaciones, bajo cociente intelectual y retardo del lenguaje. Además, pueden presentar trastornos de la audición y el equilibrio, incapacidad para activar la vitamina D por daño renal y anemia por inhibición de ferroquelatasa.<sup>15,80</sup>

En el cuerpo humano, este elemento es distribuido principalmente en tejidos blandos como sangre, hígado y riñones, y también en la mineralización de huesos y dientes.<sup>15</sup>

### **1.4.3. MERCURIO**

#### **1.4.3.1. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS DEL MERCURIO**

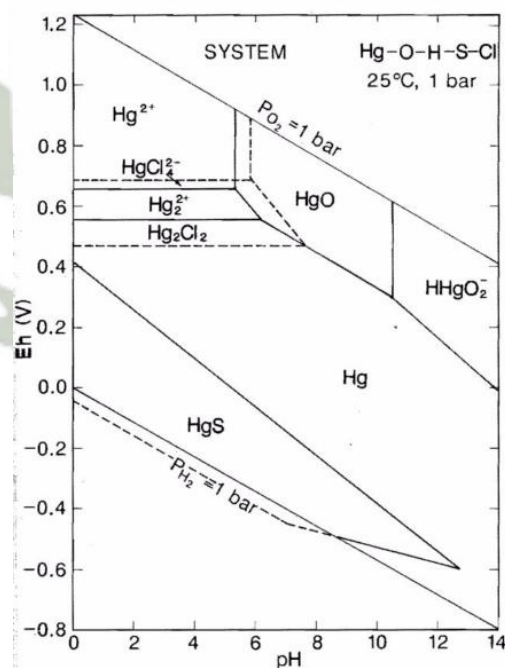
El Hg es un denso metal plateado (su densidad a 20 °C es de 13,5955 g cm-3) que, por tanto, se considera un metal pesado. Su símbolo químico es Hg, su número atómico es 80 y su peso atómico es 200,59 u.m.a. Se encuentra en el grupo IIb de la Tabla Periódica junto con Cd y Zn. Se caracteriza por ser el único metal líquido a temperatura y presión ambiental. Su punto de fusión es

el más bajo de todos los metales (- 38,87 °C) y su punto de ebullición es de 356,58 °C.<sup>70</sup>

El Hg es uno de los metales pesados más tóxicos de nuestro medio ambiente incluyendo la litósfera, la hidrósfera, la atmósfera y la biósfera.<sup>66</sup>

El Hg se puede encontrar en 3 estados de oxidación:  $Hg^0$  (metálico),  $Hg^+$  (mercurioso) y  $Hg^{2+}$  (mercúrico). Las formas mercuriosa y mercúrica pueden formar numerosos compuestos inorgánicos y orgánicos.<sup>82</sup>

Una serie de complejas transformaciones químicas permite tres estados de oxidación del ciclo del Mercurio (Hg) en el medio ambiente. En el estado de oxidación cero ( $Hg^0$ ), el mercurio existe en su estado forma metálica (que es un líquido brillante), el vapor es la forma más abundante (98%). El estado mercurioso y los estados mercúricos son los dos estados de oxidación más altos donde el átomo de mercurio ha perdido uno ( $Hg^+$ ) o dos electrones ( $Hg^{2+}$ ), respectivamente; el metilmercurio (MeHg) es la forma más importante de mercurio en términos de toxicidad y efectos sobre la salud y el medio ambiente.<sup>66 83</sup>



**Fig. 1.3.** Diagrama Eh-pH para el sistema Hg-O-H-S-Cl.  $Hg=10^{-8}$ ,  $Cl=10^{-3}$ ,  $S=10^{-3}$  a 25°C y 1 bar de presión. Fuente: Brookins, D.G., Eh-Ph Diagrams for Geochemistry, 1988

### 1.4.3.2. FUENTES NATURALES Y ANTROPOGENICAS

En el lecho rocoso, se encuentra principalmente en la forma mineral del cinabrio ( $\text{HgS}$ ), pero también está presente en cantidades menores en minerales tales como stonita viva ( $\text{HgSb}_4\text{S}_8$ ) y corderoita ( $\text{Hg}_3\text{S}_2\text{Cl}_2$ ). Los depósitos geológicos más ricos donde se puede encontrar mercurio están en áreas llamadas correas mercuríferas, que se refieren a regiones geológicas asociadas con actividad volcánica.<sup>84</sup>

El Hg es un metal que se encuentra naturalmente en formas inorgánicas (iHg), orgánicas y elementales ( $\text{Hg}^\circ$ ). El mercurio elemental se utiliza en la producción de gas cloro y en soda cáustica, así como equipo eléctrico, lámparas, termómetros, calibradores de presión, barómetros y amalgamas dentales. El mercurio inorgánico se presenta como sales de sus formas catiónicas divalente y monovalente, principalmente cloruros y sulfuros. El metilmercurio (MeHg) se forma en la naturaleza por metilación del mercurio inorgánico mediante la reducción de las bacterias acuáticas. El MeHg tiene una propiedad lipofílica y puede ser absorbido por el plancton, que es comido por los pescados y los mariscos con las concentraciones más grandes que ocurren a niveles tróficos superiores de la cadena alimentaria. Aunque menos del 15% del iHg es absorbida en el tracto gastrointestinal, se absorbe aproximadamente el 95% de MeHg ingerido y difunde a varios tejidos del cuerpo, incluyendo riñón y cerebro.<sup>76-80</sup>

### 1.4.3.3. MERCURIO EN PECES MARINOS

Entre los metales que se acumulan en los pescados y mariscos, el Hg es uno de los metales tóxicos más abundantes. El contenido total de mercurio (tHg) de los peces puede consistir en una combinación de varias especies de Hg (Metilmercurio, Etilmercurio y Hg inorgánico). La toxicidad de estas especies individuales de Hg difiere; las especies orgánicas de Hg (Metilmercurio y Etilmercurio) se consideran tóxicas y la forma inorgánica de Hg (iHg) se considera no tóxica, ya que no es tan fácil de absorber en organismos vivos

en comparación con las formas orgánicas, es baja su capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica y por lo tanto no presenta efectos tóxicos en peces o seres humanos. El metilmercurio (MeHg) se considera la forma más tóxica y es también la más abundante especie de Hg (75-100% de tHg) en la carne de pescado.<sup>2</sup>

La cadena de contaminación de Hg sigue, de cerca, el orden cíclico: industria, atmósfera, suelo, agua, fitoplancton, zooplancton, peces y humanos.<sup>66</sup>

En los sistemas acuáticos sólo una pequeña proporción se encuentra generalmente en forma metilada, pero esta fracción es importante desde el punto de vista de la contaminación de peces ya que su vida media biológica en ellos puede ser medida en años mientras que del mercurio inorgánico sólo se refiere a semanas.<sup>2</sup>

En grandes especies de peces pelágicos como el atún, la composición química de músculos y secciones anatómicas pueden variar ya que estos peces tienen dos tipos de músculos muy distintos (músculo oscuro y blanco), que tienen diferentes funciones y composiciones (Oscuro=movimiento lento y continuo, blanco=movimiento rápido y súbito). El Hg se acumula en la fracción proteica del músculo cuando se une a tiol. La presencia de los tipos musculares con composiciones de proteínas variables puede resultar en una variación en la acumulación y concentración de metales pesados a través de la cadena de los peces.<sup>2</sup>

Cabe mencionar que irónicamente, a pesar de las propiedades beneficiosas de los peces, éstos pueden acumular un alto nivel de mercurio y por más de treinta años, estudios han demostrado correlaciones positivas entre el mercurio en los seres humanos y en el consumo de pescado. El Hg en el tejido muscular de los peces puede representar un peligro para la salud humana y ecológica de quienes ingieren los peces, por lo que los riesgos de consumir pescado pueden contrarrestar los beneficios.<sup>85</sup>

#### 1.4.3.4. TOXICIDAD DEL MERCURIO

Los compuestos de mercurio causan una acción tóxica en el cuerpo por medio de numerosos mecanismos. Los efectos moleculares y celulares del mercurio orgánico en el sistema nervioso han sido descritos en varios estudios y han sugerido que  $\text{Hg}^{2+}$  puede desempeñar un papel después de la exposición a etilmercurio o metilmercurio y que la presencia de  $\text{Hg}^{2+}$  en las neuronas resulta de la descomposición de Hg orgánico en células gliales. Además, se encontró que los niveles de  $\text{Hg}^{2+}$  después de la exposición al etilmercurio fueron mayores que después de la exposición al metilmercurio, mientras que la capa granular dañada se observó sólo después de la exposición al metilmercurio. Por lo tanto, se propuso que la acción de desmetilación o  $\text{Hg}^{2+}$  no podría ser el promotor básico responsable de la neurotoxicidad por MeHg. Otros estudios sugieren que la desmetilación del metilmercurio se produce en las células gliales y que luego el Hg se traslada las neuronas y que contribuye a la neurotoxicidad de metilmercurio. Además, tanto metilmercurio como  $\text{Hg}^{2+}$  muestran una fuerte afinidad con los grupos tiol (-SH) que han demostrado jugar un papel importante en el mecanismo tóxico del Hg y sus compuestos. Cabe mencionar que los datos disponibles indican que existen algunas semejanzas significativas entre los mecanismos neurotóxicos entre el metilmercurio, etilmercurio y Hg inorgánico.<sup>86</sup>

La absorción digestiva del mercurio orgánico es superior al 90%, atraviesa la barrera placentaria y se elimina por la leche materna.<sup>80</sup>

Los niveles elevados de Hg pueden dañar el sistema nervioso humano, el cerebro y los riñones. Los compuestos de metilmercurio son casi completamente absorbidos por el tracto gastrointestinal. El metilmercurio tiene mayor solubilidad lipídica que el mercurio inorgánico y puede atravesar membranas biológicas, especialmente en el cerebro, la médula espinal, los nervios periféricos y la placenta. en la cirrosis hepática (enfermedades hepáticas) y, en casos extremos, en la muerte de humanos.<sup>64</sup>

Niveles de mercurio superiores a 5,8 mg/L en sangre del cordón umbilical indican intoxicación del feto, puesto que el mercurio orgánico en forma de metilmercurio cruza con facilidad las barreras placentarias y hematoencefálica, siendo los niveles de mercurio fetal iguales o superiores a los maternos.<sup>80</sup>

Las alteraciones congénitas más frecuentes son: ceguera, sordera, retardo del desarrollo psicomotor, convulsiones, trastorno de la atención, retardo en el desarrollo del lenguaje y autismo. Los efectos de la intoxicación con mercurio en niños y adultos incluyen: neuropatía, insuficiencia renal, compromiso visual, amnesia, trastorno de la coordinación y cambios en la personalidad.<sup>80</sup>

#### **1.4.4. ALUMINIO**

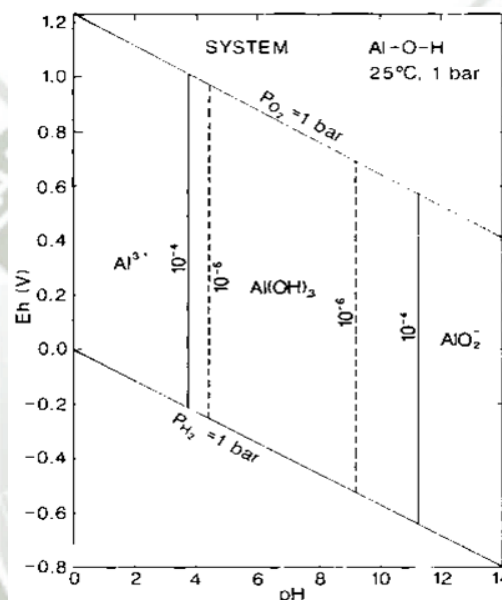
##### **1.4.4.1. PROPIEDADES QUÍMICAS Y FÍSICAS DEL ALUMINIO**

El aluminio es un elemento químico de símbolo Al y número atómico 13. Es un metal ligero de color blanco brillante, con peso atómico de 26,9815, tiene una densidad de 2700 kg/m<sup>3</sup>, y con un bajo punto de fusión (660 °C). El aluminio y sus aleaciones tienen una amplia gama de aplicaciones en las industrias aeroespacial, automotriz y de transporte debido a sus excelentes propiedades tales como alta resistencia específica, buena ductilidad, alta conductividad térmica, etc.<sup>87 88</sup>

En la mayoría de las condiciones, el Al en el suelo permanece como un sólido, ya sea como Al-oxihidróxidos (por ejemplo, Al(OH)<sub>3</sub>) o como arcilla mineral. Son observados a pH bajo en suelos muy ácidos (por debajo de pH 4,5), sin embargo, la disolución mineral aumenta y Al se convierte en soluble. El aluminio en solución puede existir en una variedad de formas iónicas dependiendo del pH de la solución. Debido a la observación de que la toxicidad del Al sólo se manifiesta en el suelo valores de pH inferiores a 4,5, se ha supuesto generalmente que la especie Al<sup>3+</sup> es responsable de la toxicidad.<sup>89</sup>



Tanto la biodisponibilidad y el efecto del Al dependen de la forma en que se encuentra en el agua. Las formas solubles de Al incluyen: Ion libre de  $\text{Al}^{3+}$ , complejos monoméricos con  $\text{OH}^-$  y  $\text{F}^-$ , Aluminio de forma coloidal y Al con materia orgánica. El Al es más tóxico bajo complejos monoméricos con el anión hidroxilo [p.e.  $\text{Al}^{+3}$ ;  $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ ;  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ ;  $\text{Al}(\text{OH})_4$ ]. Además la biodisponibilidad y la toxicidad del Al se ven aumentadas con el incremento en la concentración de carbono orgánico total, debido que la formación de complejos aluminio-materia orgánica faculta al Al mantenerse en formas solubles a pesar de condiciones fisicoquímicas no sean favorables.<sup>90</sup>



**Fig. 1.4.** Diagrama Eh-pH para el sistema Al-O-H.  $\text{Al}=10^{-4}$ , a 25°C y 1 bar de presión. Fuente: Brookins, D.G., Eh-Ph Diagrams for Geochemistry, 1988

#### 1.4.4.2. FUENTES NATURALES Y ANTROPOGENICAS

El Al es el tercer elemento más abundante en la litosfera, constituyendo el 8,13% de la corteza terrestre, normalmente bajo formas insolubles y representa casi el 8% de todos los minerales en la corteza terrestre.<sup>89 90 44</sup>

El Al se encuentra en el polvo, después de que las lluvias ácidas lo disuelvan se concentra en el agua y puede acumularse en los vegetales. El aluminio suele utilizarse en la industria agroalimentaria y farmacéutica y, en forma de sulfato, como agente purificador del agua.<sup>44</sup>

#### 1.4.4.3. ALUMINIO EN PECES MARINOS

Algunas características fisicoquímicas como la acidificación de las aguas, aumentan significativamente la acumulación de Aluminio en los tejidos, llevando a la disminución o eliminación de poblaciones naturales y comerciales de peces. Adicionalmente, en peces, se han descrito algunos efectos causados por la exposición al Al, se evidenció que los efectos de la exposición al Al y a pH bajo, son de mayor severidad a bajas concentraciones de Ca en el agua. Esto ha sido explicado por la competencia que existe entre estos dos elementos por los sitios de absorción en la membrana celular. También se ha estudiado el efecto de la combinación de Fe y Al a pH 5 en *Thymallus thymallus* por tres días, en donde hallaron mortalidades acompañadas de daño branquial extenso. En este trabajo se encontró que el Al se une e internaliza en la membrana epitelial branquial mientras el hierro no, además ha sugerido que la fuerza iónica del agua (cantidad de iones presentes en el agua, principalmente  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ ) puede resultar ser importante para la toxicidad del aluminio en peces. Otros resultados sugieren que el proceso de la polimerización del Al es el principal mecanismo de toxicidad aguda del Al en los peces.<sup>90</sup>

Algunos autores han determinado que existe una relación directa entre las concentraciones de aluminio en el agua y los niveles tisulares en peces, siendo dependiente de los niveles de Al particulado. Adicionalmente, se ha determinado mediante análisis histoquímico, que el Al se acumula en niveles altos en la superficie branquial, riñón y esqueleto. mientras en niveles relativamente bajos en hígado y músculo.<sup>90</sup>

#### 1.4.4.4. TOXICIDAD DEL ALUMINIO

La principal vía de absorción del Al es la gastrointestinal, la cual no está basada en un sistema de transporte activo, sino que dependería del estado del ión  $\text{Al}^{3+}$  en el tracto gastrointestinal.<sup>90 91</sup>

El Al es un agente neurotóxico y provoca varias alteraciones neurológicas como la pérdida de la memoria, disminución de la coordinación tremor,

pérdida de la curiosidad, ataxia, temblores mioclónicos y convulsiones generalizadas con estados epilépticos. La enfermedad de Alzheimer de tipo senil y demencia pre-senil, síndrome de Down con manifestaciones en la enfermedad de Alzheimer están relacionadas con las elevadas concentraciones de Al en el cerebro. Se ha descrito la relación del Al con la etiología de Alzheimer; haciendo referencia a la alteración de las células de glia e inducción de excitotoxicidad mediada por el  $\text{Ca}^{+2}$ , como posibles mecanismos de acción. Sin embargo, existe aún controversia sobre el papel que realmente cumple el Al en el desarrollo de esta enfermedad. También se encontró acumulación de Al en enmarañamientos neurofibrilares (NFT), pudiendo ser un efecto de la acumulación del Al, lo que se sabe es que el número de NFT aumenta cuatro a ocho veces en cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, las concentraciones de Al en el cerebro incrementa desde el nacimiento y hasta la vejez aun en humanos sin alteraciones demenciales.<sup>90</sup>

En caso de exceso, el metal se acumula en el esqueleto, hígado, bazo y cerebro.<sup>44</sup>

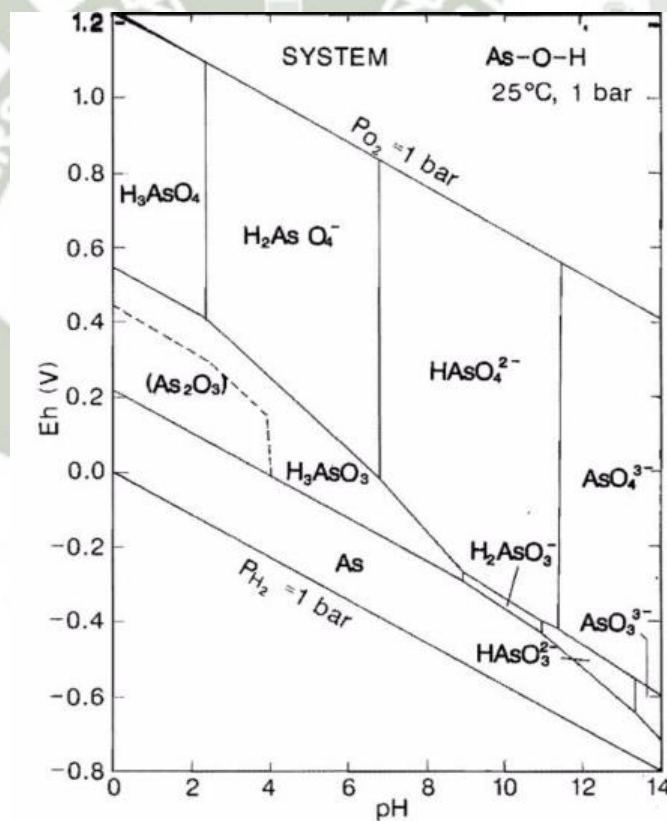
## **1.4.5. ARSENICO**

### **1.4.5.1. PROPIEDADES QUIMICAS Y FISICAS DEL ARSENICO**

El arsénico es el 33° elemento en la tabla periódica y se denomina el símbolo químico As. Se encuentra en el grupo 15 en la tabla periódica. El arsénico elemental es un metaloide que se presenta principalmente en tres formas alotrópicas: arsénico metálico, arsénico amarillo y arsénico negro. El arsénico metálico es el alotropo más estable y existe como un cristal trigonal gris plateado brillante. Es frágil debido a una unión débil entre sus capas y se empaña fácilmente en el aire. El arsénico amarillo, que se caracteriza por ser blando y ceroso, es el alotropo de arsénico más tóxico e inestable. El arsénico amarillo cambia rápidamente en arsénico metálico a través de la exposición a la luz o calentamiento suave.<sup>92</sup>

El arsénico tiene estructura química compleja y se puede encontrar en forma elemental, trivalentes (+3 arsenito) y pentavalente (+5 arseniato), formas inorgánicas y formas orgánicas trivalentes y pentavalentes. El arsénico orgánico se forma cuando los iones de arsénico se combinan con carbono e hidrógeno.<sup>66</sup>

En un medio oxidante, el arseniato (+5) es la forma predominante de arsénico. El arsénico pentavalente se encuentra en forma de  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  a pH inferior a 2. Éste se disocia a  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ,  $\text{HAsO}_4^{2-}$  y  $\text{AsO}_4^{3-}$  cuando se encuentra a un pH superior a 2. El arsenito trivalente se encuentra como  $\text{H}_3\text{AsO}_3$  a pH 9, éste se disocia a  $\text{H}_2\text{AsO}_3^-$ ,  $\text{HAsO}_3^{2-}$  y  $\text{AsO}_3^{3-}$  a un pH mayor a 9.<sup>92</sup>



**Fig. 1.5.** Diagrama Eh-pH para el sistema As-O-H.  $\text{As}=10^{-6}$ , a 25°C y 1 bar de presión. Fuente: Brookins, D.G., Eh-Ph Diagrams for Geochemistry, 1988

#### 1.4.5.2. FUENTES NATURALES Y ANTROPOGENICAS

El As se produce naturalmente en las cenizas volcánicas, roca volcánica, arcilla, óxidos de hierro, azufre mineral y materia orgánica. El arsénico, un elemento natural, es un contaminante mundial que se encuentra en la roca, el suelo, el agua, el aire y los alimentos. El arsénico inorgánico está presente en las aguas subterráneas, que se utiliza para beber en varios países de todo el mundo; mientras que los compuestos orgánicos de arsénico se encuentran principalmente en los peces y mariscos.<sup>66</sup>

La exposición humana al As se produce principalmente a través del consumo de agua y los mariscos. El As se encuentra en el medio ambiente en formas orgánicas, incluyendo monometilarsénico (MMA), dimetilarsénico (DMA), arsenobetaína, y arsenocholine, así como en formas inorgánicas (IAs) (AsIII y AsV).<sup>76</sup>

El As se encuentra en algunos alimentos, incluyendo mariscos y alimentos específicos para niños. Las algas fue el alimento con mayor concentración (IAs), seguido por el arroz y sus subproductos (en su mayoría como IAs) y mariscos (principalmente como dimetilarsénico).<sup>76</sup>

#### 1.4.5.3. ARSENICO EN PECES

La principal forma química del arsénico en pescado es la arsenobetaína, que es considerada no tóxica. En otros mariscos como los mejillones azules, una considerable cantidad de la concentración total de arsénico también pueden estar presente como arsénico inorgánico. La arsenobetaina es poco soluble en agua, poco se sabe sobre la estructura química y, por lo tanto, su toxicidad potencial de las formas de arsénico liposolubles. Respecto al arsénico soluble en lípidos, se cree que el arsénico consta de varias formas denominadas colectivamente arsenolípidos y que incluyen tanto hidrocarburos y ácidos grasos de cadena larga que contienen que contienen arsénico. La concentración del arsénico total en los mariscos varía considerablemente entre especies y dentro de ellas.<sup>71</sup>

#### 1.4.5.4. TOXICIDAD DE ARSENICO

Se ha estudiado la presencia de varias especies de arsénico en los productos del mar. La toxicidad del As depende de sus especies químicas entre las especies de As se encuentran la arsenobetaína (AsB) y la arsenocolina (AsC) que son consideradas no tóxicas. Las especies de arsénico, como el ácido monometilarsónico (MMA) y ácido dimetilarsénico (DMA), son ligeramente tóxicos para los seres humanos, mientras que las especies inorgánicas, como arsenito [As (III)] y arseniato [As(V)], son los más tóxicos.<sup>43,93</sup>

El arsénico (As) es un metaloide que se ha reportado ampliamente que tiene efectos adversos para la salud en humanos. Más del 80% del arsénico inorgánico se absorbe a través del tracto gastrointestinal y la excreción se produce principalmente a través de la orina. Muchos informes han demostrado que la exposición crónica se ha asociado con una variedad de problemas de salud humana principalmente varios tipos de cáncer (piel, pulmón, vejiga, riñón), y otras enfermedades (neurológicas, cardiovasculares, perinatales y otros benignos). Las dosis bajas y las exposiciones prolongadas a As conducen a unas complicaciones llamadas como "Arsenicosis".<sup>15,76</sup>

En Argentina, una serie de pacientes con Arsenicosis demostró que el 88% desarrolla cáncer de piel. Según estudios epidemiológicos, un aumento de la mortalidad por cáncer de vejiga, cáncer de laringe, cáncer de hígado, y renal crónica enfermedad en los adultos están marcadamente relacionados con la exposición como en los primeros años de vida, mientras que perinatal como las exposiciones se asociaron con aumentos de la mortalidad fetal tardía, neonatal y post neonatal.<sup>15</sup>

### 1.5. REGULACIONES NACIONALES E INTERNACIONALES DEL CONTENIDO DE METALES EN PRODUCTOS DE PESCA

Dada la importancia que tiene el contenido de metales en alimentos, por todo el mundo se han fijado regulaciones que limitan el contenido de metales en pescados frescos como en productos enlatados.

En la Tabla N°1 se observan las principales regulaciones nacionales e internacionales sobre el contenido de metales.

**Tabla 1.1.** Medidas regulatorias del contenido de metales en pescados frescos y productos enlatados

AGENCIA	DESCRIPCIÓN	As (mg/Kg)	Hg (mg/Kg)	Pb (mg/Kg)	Cd (mg/Kg)	Al (mg/Kg)
<b>Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera<sup>1</sup></b>	Productos pesqueros y acuícolas de consumo humano directo.	-	1	0.3	0.05	-
<b>La comisión de las Comunidades Europeas<sup>2</sup></b>	Carne muscular de pescado	-	1	0.3	0.1	-
<b>FAO/OMS<sup>3</sup></b>	Pescados	-	0.5 MeHg	0.3 Pb total	-	-
<b>Norma Nacional de la República Popular de China<sup>4</sup></b>	Pescados y los productos de la pesca (conservas en caso de Cd)	0.1 Arsénico inorgánico	1 MeHg	0.5	0.2	-

<sup>1</sup> Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquero, División del Control Sanitario del Medio Ambiente Acuicola. SCG-MAI/SANIPES. Manual: Indicadores o criterios de seguridad alimentaria e higiene para alimentos y piensos de origen pesquero y acuícola. Perú, 2010

<sup>2</sup> Commission regulation (CE) N°1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Oficial Journal of the European Union

<sup>3</sup> Joint FAO/WHO food standards programme Codex ommittee on contaminants in foods. List of Maximum Levels for Contaminants and Toxins in Foods, Part 1. Fifth session, The Hague, The Netherlands, 21 - 25 march 2011

<sup>4</sup> Norma Nacional de la República Popular de China. Norma Nacional de Inocuidad Alimentaria. Límites Máximos de Contaminantes en Alimentos. 2012

## 1.6. ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO A PLASMA

Espectrometría de emisión óptica inductivamente acoplada a plasma (ICP-OES), también llamada espectroscopía de emisión atómica (ICP-AES) es una técnica muy utilizada para la determinación de elementos traza debido a su alta sensibilidad y selectividad.<sup>94</sup>

Espectrometría de emisión óptica inductivamente acoplada a plasma (ICP-OES), es una valiosa herramienta para la determinación de metales en una variedad de matrices de muestra diferentes. Las fuentes del ICP permiten la atomización y la ionización casi completa de todos los elementos en una amplia gama de muestras.<sup>95</sup>

Por lo tanto, la técnica ICP-OES ha sido ampliamente utilizadas a lo largo de los años en aplicaciones, para realizar análisis multi-elementales. Con esta técnica, se inyectan muestras líquidas en un plasma de argón inducido por radiofrecuencia (RF) usando uno de una variedad de nebulizadores o técnicas de introducción de muestras. La niebla de muestra que llega al plasma se seca rápidamente, se vaporiza y se energiza a través de la excitación de colisión a alta temperatura. La emisión atómica que emana del plasma se ve en una configuración radial o axial, se recoge con una lente o espejo y se visualiza en la ranura de entrada de un dispositivo de selección de longitud de onda. Las mediciones de elementos individuales se pueden realizar de manera rentable con una combinación simple de monocromador-fotomultiplicador (PMT), y se realizan determinaciones simultáneas de multielemento para hasta 70 elementos con la combinación de un policromador y un detector de matriz. El rendimiento analítico de tales sistemas es competitivo con la mayoría de las otras técnicas de análisis inorgánico, especialmente con respecto al rendimiento de la muestra y la sensibilidad.<sup>95-96</sup>

El plasma es una masa de gas altamente energizado y eléctricamente neutro compuesto de iones, electrones y partículas neutras. Generalmente, es producido por argón que es energizado mediante un campo electromagnético de alta frecuencia (o por energía de microondas) o por una corriente continua. Cuando



se unen esta fuente con espectrómetros de alta calidad, resulta en una potente técnica de detección de elementos. Los plasmas producidos en estos espectrómetros generalmente tienen una alta temperatura (pueden llegar a 8.000 K) y un ambiente químico menos reactivo que la llama del atomizador.<sup>97</sup>

La elevada temperatura producida por la fuente de plasma permite disociar todos los compuestos y excitar los átomos o iones formados, estos átomos excitados emitirán energía a una longitud de onda característica. El monocromador dirige estas longitudes de onda a un detector. y, por tanto, permite su determinación de manera altamente sensible, de elementos difíciles de determinar a través de otras técnicas analíticas tales como metales refractarios o que forman óxidos refractarios, elementos de tierras raras y elementos ligeros como el boro. En teoría, todos los elementos de la tabla periódica podrían determinarse mediante técnicas basado en el ICP, pero, en la práctica, existen restricciones en el análisis con elementos producidos artificialmente, gases inertes y oxígeno, debido a sus propiedades físicas y espectrales.<sup>97</sup>

Entre las técnicas espectrométricas disponibles, la Espectrometría de emisión óptica de plasma inductivamente acoplado (ICP OES) se destaca hoy en día su versatilidad y capacidad de detección.<sup>97</sup>

## CAPITULO II

### 1. MATERIALES Y METODOS

#### 1.1. CAMPO DE INVESTIGACION

##### 1.1.1. Área del conocimiento

- **Área general:** Ciencias ambientales
- **Área específica:** Contaminación de conservas de *Thunnus*
- **Especialidad:** Química de medio ambiente
- **Línea:** Determinación de metales pesados

##### 1.1.2. Campo de verificación

###### 1.1.2.1. Ubicación espacial

Las instalaciones de la Universidad Católica de Santa María. Pabellón H-202 Laboratorio de Investigación de nuestra institución y Laboratorio de Farmacotecnia H-203 y en el H-204/205 Laboratorio de ensayo y Control de Calidad.

###### 1.1.2.2. Ubicación temporal

El estudio de ejecutará entre el año 2016 y 2017.

###### 1.1.2.3. Unidades de estudio

Las unidades de estudio son las muestras de conservas de *Thunnus* (atún) para determinar la concentración de metales presentes.

## 1.2. MATERIALES

### Reactivos químicos

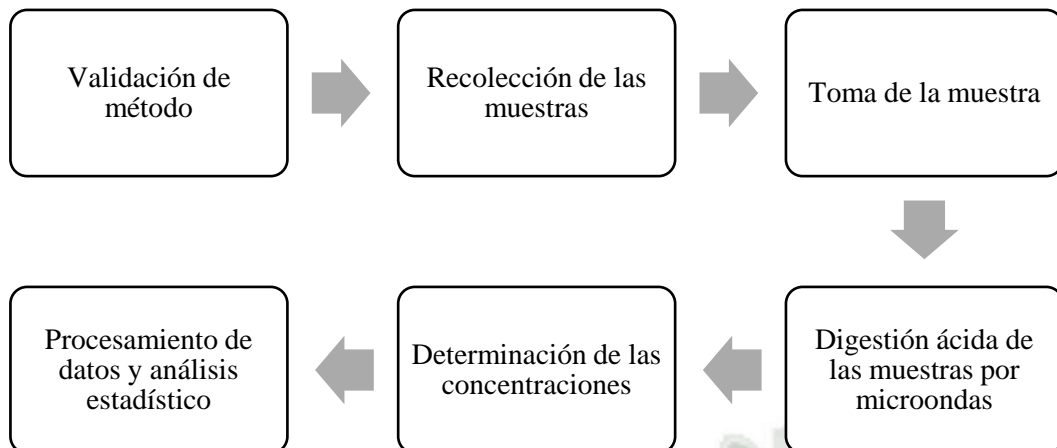
- Agua ultrapura (18,2mΩ)
- Ácido nítrico suprapuro 65 % (HNO<sub>3</sub>) de Merck
- Solución Stock de Cd, 1000 ppm de Merck.
- Solución Stock de Pb, 1000 ppm de Merck.
- Solución Stock de Hg, 1000ppm de Merck
- Solución Stock de As, 1000 ppm de Merck.
- Solución Stock de Al, 1000 ppm de Merck.

### Instrumentación

- Balanza Scpit Pro – OHAUS
- Digestor de microondas Mars 5
- ICP-OES óptima 8000 Perkin Elmer
- Equipo Barnstead ® Esay Pure III (18,2mΩ)
- Papel filtro Whatmann 0.45
- Micropipeta, Marca Gilson de 2 a 20 µL.
- Micropipeta, Marca Eppendorf de 20 a 200 µL y de 100 a 1000 µL.
- Porta filtros Swinnex, Marca Millipore.
- Papel filtro 0.45µm Whatman
- Jeringas desechables 5mL, Marca Segurimaxx
- Material de laboratorio

## 1.3. METODOLOGIA

La metodología del presente trabajo constó de varias etapas como se muestra en la Figura 2.1. La determinación de los metales traza en las conservas de *Thunnus* (atún) se realizó después de la validación del método por ICP-OES.



**Fig. 2.1.** Flujograma de la metodología del trabajo

### **1.3.1. VALIDACION DEL METODO DE ESPECTROMETRIA OPTICA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO A PLASMA PARA Cd, Pb, Hg, As y Al EN CONSERVAS DE *Thunnus* (ATÚN)**

La validación de un método analítico es el proceso por el cual queda establecido mediante estudios experimentales que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación deseada. El objetivo de la validación de un procedimiento analítico es demostrar que es adecuado para su propósito previsto.<sup>98</sup>

Entre los parámetros que se utilizaron para validar el método se encuentran la Linealidad, Precisión, Límites de detección y cuantificación y exactitud.

#### **1. LINEALIDAD**

La linealidad de un procedimiento analítico es su capacidad (dentro de un rango dado) para obtener resultados que son directamente proporcionales a la concentración o cantidad de analito en la muestra. La selección de rango y del número de puntos experimentales se encuentra relacionado con la aplicación del método.<sup>98</sup>

La curva de regresión se obtiene sobre los puntos individuales sin promediar por el método de los mínimos cuadrados. En el eje de las “x” se encuentra la concentración o la cantidad del analito y en el eje “y” la respuesta analítica (en el caso del ICP-OES es la intensidad).

Existen estimadores de regresión, uno de ellos es el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) en el que muchos autores indican que para que el método se considere lineal, el coeficiente de correlación debe ser mayor que 0.995. Otro estimador es la pendiente, también conocido como el coeficiente de regresión, el cual indica la sensibilidad del método o de la calibración. Se obtiene dividiendo la pendiente de la curva de calibración por la desviación estándar de las respuestas en cada punto o concentración, si se obtiene una mayor pendiente, se considera que presenta mayor sensibilidad. Finalmente, el intercepto que se relaciona con la presencia de errores sistemáticos o interferencias, para cumplir la ley de Lambert-Beer, proporcionalidad, el intervalo de confianza debe incluir al cero.<sup>99</sup>

Para realizar el ensayo de linealidad del método, se elaboró 5 curvas de calibración, una por cada metal. Cada curva de repitió por triplicado, se realizó el mismo día, por un mismo analista, utilizando misma muestra y con el mismo equipo.

## 2. PRECISION

La precisión es una medida de reproducibilidad y se detecta por error aleatorio. Dado que todas las mediciones contienen errores aleatorios, el resultado de una sola medición no puede ser aceptado como el verdadero valor. Una estimación de este error es necesario para predecir dentro de qué rango puede estar el verdadero valor, y esto se hace repitiendo una medición varias veces.<sup>100</sup>

Con la finalidad de evaluar la precisión, se realizaron 5 lecturas a 5 soluciones estándar de los diferentes metales traza. Las

concentraciones fueron de 0.096mg/L para As, 0.016mg/L para Hg, 0.16mg/L para Pb, 0.019mg/L para Cd y 0.08mg/L para Al. Para evaluar la precisión se expresa el valor del coeficiente de variación y se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$CV = \frac{DS}{X} \times 100$$

Donde:

CV: Coeficiente de variación

DS: Desviación estándar

X: promedio

### 3. LIMITE DE DETECCION Y CUANTIFICACION

El límite de detección es la menor cantidad de analito que puede detectarse en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse.

El límite de cuantificación de un procedimiento analítico individual es la cantidad más baja de analito en una muestra que puede determinarse cuantitativamente con la precisión adecuada y precisión.<sup>98</sup>

El límite de detección del método se calculó a partir de los datos de las curvas de calibración utilizando la siguiente fórmula:

$$LD = \frac{y_{bl} + 3s_{bl}}{b\sqrt{n}} \quad LC = \frac{y_{bl} + 10s_{bl}}{b\sqrt{n}}$$

Donde:

*LD*: Límite de detección

*LC*: Límite de cuantificación

*y<sub>bl</sub>*: Desviación estándar de la pendiente

*s<sub>bl</sub>*: Desviación estándar del blanco

*b*: pendiente de la curva de calibración

#### 4. EXACTITUD

La exactitud de un procedimiento analítico expresa la cercanía del acuerdo entre el valor que se acepta como un valor verdadero convencional o un valor aceptado como valor de referencia y el valor encontrado.<sup>98</sup>

La exactitud se expresó en términos de porcentaje de recuperación, para tal fin se procedió a realizar un proceso de digestión microondas utilizando  $0.1 \pm 0.001$ g de muestra de atún, 25µL de estándar de cada metal a 1000mg/L y 3mL de ácido nítrico suprapuro (HNO<sub>3</sub>). Luego de la digestión se procedió a enrasar a una fiola de 25ml, filtrar a 0.45µm y a realizar la lectura en el ICP-OES. Para determinar el porcentaje de recuperación se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%R = \frac{Cf - Cu}{Ca} * 100$$

Donde:

%R: porcentaje de recuperación

Cf: concentración de la muestra + estándar (mg/L)

Cu: concentración de la muestra (mg/L)

Ca: concentración del estándar (mg/L)

#### 1.3.2. RECOLECCION DE LAS MUESTRAS

Se realizó la recolección de conservas de *Thunnus* (atún) en 5 supermercados de la ciudad de Arequipa. Se recolectaron 8 marcas entre nacionales e importadas. Por cada marca se colocó una letra y su respectivo código numérico único para su identificación. Por cada marca se tomó al menos 3 y máximo 5 presentaciones con líquidos de gobierno aceite vegetal y agua, y por cada presentación, tres lotes diferentes. La cuantificación se realizó por duplicado.

### 1.3.3. TOMA DE LA MUESTRA

Cada conserva de *Thunnus* (atún) fue drenada para retirar su líquido de gobierno hasta eliminar a mayor parte de éste. El exceso fue retirado con papel absorbente. Seguidamente las muestras fueron homogenizadas de forma manual utilizando un mortero de porcelana.

### 1.3.4. DIGESTION DE LAS MUESTRAS POR MICROONDAS

El uso de energía de microondas para la digestión ácida de materiales en sistemas cerrados a altas temperaturas y presiones ha demostrado reducir significativamente los tiempos de preparación previa de muestras, para determinar componentes orgánicos o inorgánicos como por ejemplo el mercurio. El calentamiento de un material en horno de microondas involucra absorción directa de energía electromagnética en la forma de radiaciones no ionizantes. Una de las ventajas de las descomposiciones con microondas en comparación con los métodos convencionales como el uso de una llama o plaza caliente, es la velocidad. La diferencia se debe a la transferencia de energía a las moléculas en la disolución, en los métodos convencionales la transferencia se da por conducción, en cambio la energía por microondas se transfiere directamente a todas las moléculas, por tanto, se alcanzan temperaturas altas muy rápidamente.<sup>101</sup>

Determinación convencional multi-elemental por técnicas ICP requiere que las muestras se conviertan en una solución. Esto se puede lograr con el uso de oxidantes y fuentes de energía capaces de romper ciertos enlaces y estructuras cristalinas, promoviendo la digestión parcial o completa del sólido. Para la digestión de muestras que contienen principalmente compuestos orgánicos es importante el establecimiento de condiciones de reacción para promover procesos oxidativos. Los parámetros que son críticos para ajustar las condiciones experimentales adecuadas es la mezcla de ácido utilizada para la digestión y la temperatura aplicada para promover las reacciones. La temperatura es un parámetro crítico para



alcanzar las energías de activación necesarias para promover los procesos de oxidación. <sup>102 103 104</sup>

La mayoría de los métodos de digestión húmeda necesitan de reactivos que destruyan la materia orgánica; el ácido nítrico es el más utilizado como oxidante primario. El ácido nítrico caliente es un oxidante fuerte que descompone muestras orgánicas y determina su contenido de metales traza. Este proceso convierte materia orgánica en dióxido de carbono y agua <sup>101 105</sup>

La digestión se llevó a cabo utilizando un equipo de microondas Digestor Mars 5 (Fig. 2.2), con 1800 w de potencia y a 200°C de temperatura y con un carrusel de 8 vasos de teflón. Cada muestra se digirió en ácido nítrico al 65% suprapuro (0.1±0.001 g de muestra + 3ml de ácido nítrico 65% suprapuro) en los vasos de teflón. Cada vaso se tapó y se mantuvo dentro del equipo por 20 minutos para la digestión, 10 minutos para mantener constante presión y temperatura, y 10 minutos para el enfriamiento. <sup>106</sup>



**Fig.2.2.** Equipo de microondas Mars 5 que se utilizó para digerir las muestras de *Thunnus* (atún)

Una vez terminada la etapa de enfriamiento, cada solución obtenida de la digestión se trasvasó a una fiola de 25mL y se enrasó con agua ultrapura. Posteriormente, cada solución obtenida se filtró con papel filtro a 0.45 $\mu$ m. El material de vidrio que se usó fue el más indicado para evitar errores en las mediciones de volumen, cabe agregar que cada solución fue preparada con agua ultrapura según la metodología utilizando materiales de laboratorio debidamente lavados y secos.

### 1.3.5. DETERMINACION DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES TRAZA EN LAS MUESTRAS POR ICP-OES

Para la cuantificación de As, Cd, Pb, Hg y Al usando el ICP-OES-Perkin Elmer Óptima 8000 (Fig. 2.3), ubicado en el Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María, en el pabellón H 203. Se seguirá el método 200.7 de la EPA titulado “Determinación de metales y elementos traza en agua y residuos por plasma de acoplamiento inductivo a espectrometría de emisión atómica.”<sup>106</sup>



**Fig. 2.3.** Espectrofotómetro de Emisión Óptica inductivamente acoplado a Plasma (ICP-OES) Óptima 8000- Perking Elmer que se utilizó para cuantificar los metales traza en las muestras de *Thunnus* (atún)

En el método 200.7 de la EPA, las muestras son nebulizadas y el aerosol resultante es transportado a la antorcha de plasma. Los espectros de emisión de elementos específicos se producen mediante un plasma acoplado inductivamente de radiofrecuencia. Los instrumentos miden los espectros de emisión de líneas atómicas característicos por espectrometría óptica. Los espectros se dispersan mediante un espectrómetro de rejilla, y las intensidades de los espectros de línea se monitorean a longitudes de onda específicas mediante un dispositivo fotosensible. Las fotocorrientes del dispositivo fotosensible son procesadas y controladas por un sistema informático.<sup>106</sup>

### **1.3.6. PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANALISIS ESTADISTICO**

Para interpretar y analizar los resultados se utilizó la herramienta Excel 2016 utilizando estadística descriptiva. Estos resultados se agruparon en función de la presentación y marca y se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor con el fin de verificar si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas. Los resultados obtenidos fueron agrupados en gráficos de columna para su mejor apreciación.

Además, se compararon los resultados obtenidos en el presente trabajo con los valores permitidos según la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera del Instituto Tecnológico del Perú, la reglamentación europea, Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) y la Norma Nacional de la República Popular de China.

Asimismo, se recolectó toda la información disponible desde 2000 a la actualidad a fin de comparar los resultados obtenidos con otros trabajos similares. Para la búsqueda, se consultaron bases de datos como Google, ScienceDirect, Scielo y Google Scholar. Se excluyeron documentos en forma de presentación (ppt), folletos, notas de informativas que no sean publicadas por una agencia regulatoria, noticias y artículos científicos que no se encontrarán en revistas indexadas.

## CAPITULO III

### 2. RESULTADOS

#### 2.1. VALIDACION DEL METODO DE ESPECTROMETRIA OPTICA INDUCTIVAMENTE ACOPLADO A PLASMA PARA Cd, Pb, Hg, As y Al EN CONSERVAS DE *Thunnus* (ATUN)

##### 1. LINEALIDAD

Para la determinación de la linealidad, se elaboró un esquema relacionando los puntos tomados y la concentración de cada metal, dicho esquema se encuentra en la tabla 3.1.:

**Tabla 3.1** Esquema para la elaboración de la curva de calibración

Puntos	Cd (ppm)	Hg (ppm)	Pb (ppm)	As (ppm)	Al (ppm)
1	0.01	0.008	0.08	0.048	0.04
2	0.014	0.012	0.12	0.072	0.06
3	0.019	0.016	0.16	0.096	0.08
4	0.05	0.04	0.4	0.24	0.2
5	0.07	0.06	0.56	0.34	0.28
6	0.1	0.08	0.8	0.48	0.4

Las longitudes de onda específicas son sugeridas por la EPA 200.7:<sup>106</sup>

**Tabla 3.2.** Longitudes de onda de calibración  
recomendadas por la EPA 200.7

METAL	LONGITUD DE ONDA
Cd	226.502
Pb	200.353
Hg	194.168
As	193.696
Al	396.153

La linealidad se determina mediante un tratamiento matemático de los resultados conseguidos en el análisis del analito a diferentes concentraciones. La curva de regresión es determinada por los puntos individuales. En el eje de las “x” aparece la concentración del analito y en el eje de las “y” la respuesta analítica, en este caso la intensidad del ICP-OES.<sup>98</sup>

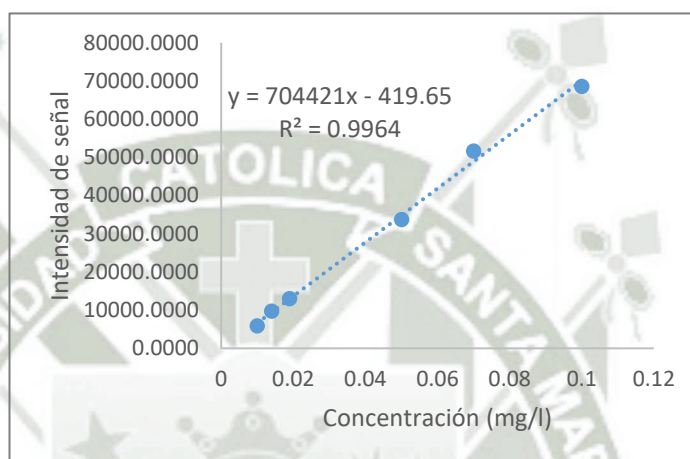
Para la determinación de la linealidad de la intensidad producida a diferentes concentraciones de cada metal se elaboró una gráfica de la representación de la recta de regresión de cada metal, en donde se relaciona intensidad versus concentración.

Las intensidades obtenidas para cada concentración, en el caso de Cd, se encuentran en la Tabla 3.3.

**Tabla 3.3:** Intensidades obtenidas para cada concentración de Cd

Concentración (mg/l)	Int 1	Int 2	Int 3	Promedio	Desviación estándar	%CV
0.01	5921.5	5882.3	5858.3	5887.3667	31.903	0.542
0.014	9788.4	9786.3	9793.8	9789.5	3.869	0.04
0.019	13059.2	13128.1	12934	13040.4333	98.401	0.755
0.05	33915.8	33845.2	33448.3	33736.4333	252.015	0.747
0.07	51734.4	51585.1	51706.6	51675.3667	79.399	0.154
0.1	68423.2	68753.7	68670.1	68615.6667	171.842	0.25

En la Fig.3.1. se presenta la gráfica de la linealidad obtenida a partir de las concentraciones de las soluciones estándar y el valor promedio de los resultados de intensidad. Como se observa dicha figura, se obtuvo un Coeficiente de correlación ( $R^2$ ) igual a 0.9964, una pendiente (b) de 704421 y un intercepto de -419.65.



**Fig 3.1.** Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Cd.

Según la AOAC, para considerar la linealidad como aceptable el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) debe ser  $\geq 0.995$ . Como podemos observar el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) para As es mayor a 0.995, por tanto, se asume que nuestro parámetro está dentro de lo establecido por la norma AOAC.

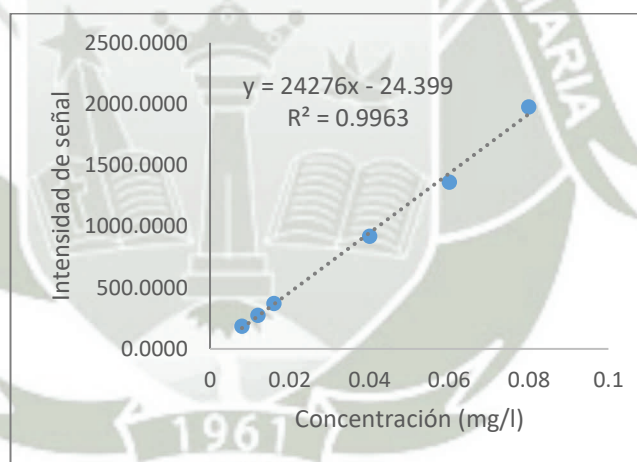
De igual manera para cada metal, se ha elaborado una tabla de intensidad por cada concentración y una gráfica de la linealidad obtenida.

Las intensidades obtenidas para cada concentración, en el caso de Hg, se encuentran en la Tabla 3.4.

**Tabla 3.4:** Intensidades obtenidas para cada concentración de Hg

Concentración (mg/l)	Int 1	Int 2	Int 3	Promedio	Desviación estándar	%CV
0.008	170	192.1	196.7	186.2667	14.274	7.66
0.012	269.6	272	286.1	275.9	8.915	3.23
0.016	384.6	373.5	361.4	373.1667	11.604	3.11
0.04	927.3	909.2	927.4	921.3	10.479	1.14
0.06	1364.1	1376.3	1350.8	1363.7333	12.754	0.94
0.08	1990.8	1957.2	1982.5	1976.8333	17.502	0.89

En la Fig.3.2. se presenta la gráfica de la linealidad obtenida a partir de las concentraciones de las soluciones estándar y el valor promedio de los resultados de intensidad. Como se observa dicha figura, se obtuvo un Coeficiente de correlación ( $R^2$ ) igual a 0.9963, una pendiente (b) de 24276 y un intercepto de -24.399.



**Fig 3.2.** Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Hg.

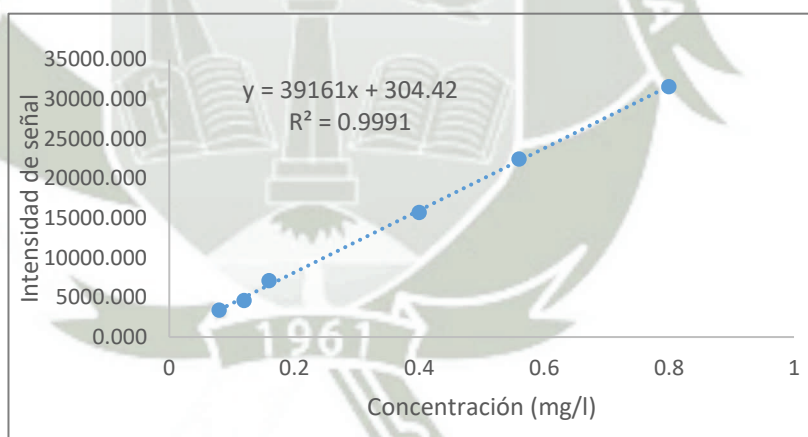
Para considerar la linealidad como aceptable, según la AOAC el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) debe ser  $\geq 0.995$ . Como podemos observar el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) para Hg es mayor a 0.995, por tanto, se asume que nuestro parámetro está dentro de lo establecido por la norma AOAC.

Para el caso de Pb, las intensidades obtenidas para cada concentración, se encuentran en la Tabla 3.5.

**Tabla 3.5:** Intensidades obtenidas para cada concentración de Pb

Concentración (mg/l)	Int 1	Int 2	Int 3	Promedio	Desviación estándar	%CV
0.08	3397	3353.5	3376.7	3375.733	21.766	0.64
0.12	4614.5	4607.4	4641	4620.967	17.709	0.38
0.16	7060.9	7080.4	7214.9	7118.733	83.852	1.18
0.4	15721.5	15728.7	15720.4	15723.533	4.508	0.03
0.56	22382.6	22520.5	22446.3	22449.8	69.017	0.31
0.8	31598.4	31643.5	31435.3	31559.067	109.531	0.35

En la Fig.3.3. se presenta la gráfica de la linealidad obtenida a partir de las concentraciones de las soluciones estándar y el valor promedio de los resultados de intensidad. Como se observa dicha figura, se obtuvo un Coeficiente de correlación ( $R^2$ ) igual a 0.9991, una pendiente (b) de 39161 y un intercepto de 304.42.



**Fig 3.3.** Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Pb

Se considera la linealidad como aceptable, según la AOAC, cuando el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) debe ser  $\geq 0.995$ . Como podemos observar el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) para Hg es mayor a 0.995, por tanto, se asume que nuestro parámetro está dentro de lo establecido por la norma AOAC.

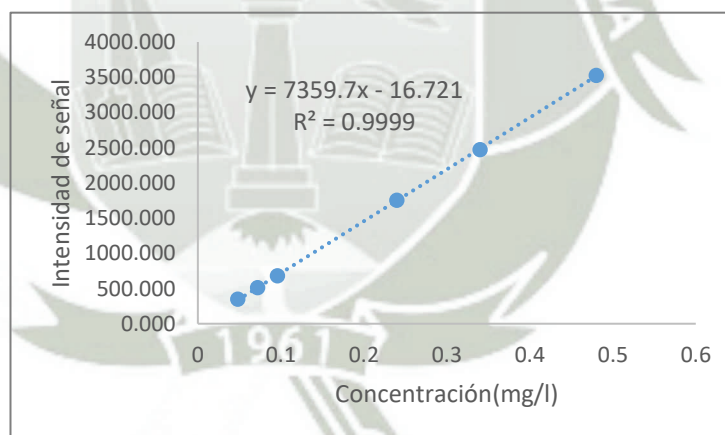


Para el caso de As, las intensidades obtenidas para cada concentración, se observan en la Tabla 3.6.

**Tabla 3.6:** Intensidades obtenidas para cada concentración de As

Concentración (mg/l)	Int 1	Int 2	Int 3	Promedio	Desviación Estándar	% CV
0.048	352.1	351.1	347	350.067	2.702	0.77
0.072	507.6	510.1	515.2	510.967	3.873	0.76
0.096	691.8	685	668.6	681.8	11.926	1.75
0.24	1744.7	1756	1753.1	1751.267	5.869	0.34
0.34	2484.9	2466.8	2456.4	2469.367	14.422	0.58
0.48	3540.6	3533.2	3507.6	3527.133	17.316	0.49

En la Fig.3.4. se presenta la gráfica de la linealidad obtenida a partir de las concentraciones de las soluciones estándar y el valor promedio de los resultados de intensidad. Como se observa dicha figura, se obtuvo un Coeficiente de correlación ( $R^2$ ) igual a 0.9999, una pendiente (b) de 7359.7 y un intercepto de -16.721.



**Fig 3.4.** Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de As

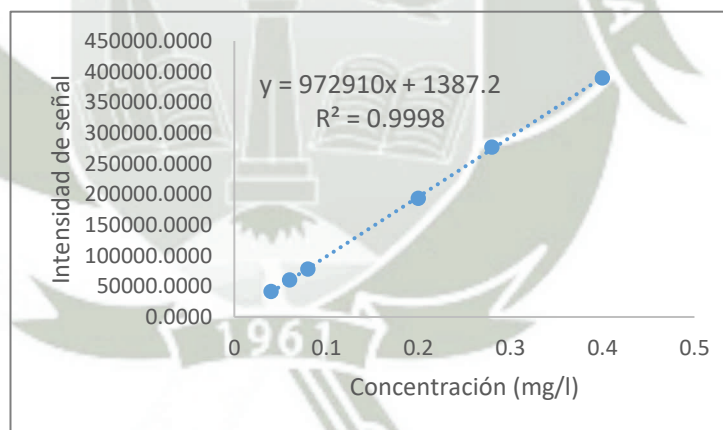
Según la AOAC, se considera la linealidad como aceptable cuando el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) debe ser  $\geq 0.995$ . Como podemos observar el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) para Cd es mayor a 0.995, por tanto, se asume que nuestro parámetro está dentro de lo establecido por la norma AOAC.

Finalmente, para el caso de Al, las intensidades obtenidas para cada concentración, se observan en la Tabla 3.7.

**Tabla 3.7:** Intensidades obtenidas para cada concentración de Al

Concentración (mg/l)	Int 1	Int 2	Int 3	Promedio	Desviación estándar	%CV
0.04	41859.4	41023.3	41045.4	41309.36	476.471	1.15
0.06	60476.8	59930	60107.4	60171.4	278.962	0.46
0.08	78473.5	77480.7	78555.5	78169.9	598.271	0.77
0.2	191763.5	194132.7	194045	193313.73	1343.257	0.69
0.28	275879.3	278382.5	276289.6	276850.46	1342.547	0.48
0.4	393030.1	388147.6	388201.3	389793	2803.539	0.72

En la Fig.3.5. se presenta la gráfica de la linealidad obtenida a partir de las concentraciones de las soluciones estándar y el valor promedio de los resultados de intensidad. Como se observa dicha figura, se obtuvo un Coeficiente de correlación ( $R^2$ ) igual a 0.9998, una pendiente (b) de 972910 y un intercepto de 1387.2.



**Fig 3.5.** Representación gráfica de la linealidad de método para la determinación de Al

Para considerar la linealidad como aceptable, según la AOAC, el coeficiente de correlación ( $R^2$ ) debe ser  $\geq 0.995$ . Como podemos observar los resultados de  $R^2$  son todos mayores a 0.995, por tanto, se asume que nuestros parámetros están dentro de lo establecido por la norma AOAC.

## 2. PRECISION

Para medir la precisión se realizó cinco mediciones de un estándar de 0.096mg/L de As, 0.016mg/L de Hg, 0.16mg/L de Pb, 0.019mg/L de Cd y 0.08mg/L de Al, para determinar el grado de similitud entre ellas. Los resultados se presentan en la Tabla 3.8.

**Tabla 3.8.** Valores de las mediciones de As, Hg, Pb, Cd y Al para determinar la precisión

Replicas	As	Hg	Pb	Cd	Al
1	0.098	0.014	0.159	0.019	0.081
2	0.099	0.013	0.158	0.019	0.08
3	0.097	0.014	0.158	0.019	0.08
4	0.101	0.015	0.158	0.019	0.08
5	0.098	0.015	0.159	0.019	0.08
<b>Promedio</b>	0.0986	0.0142	0.1584	0.019	0.0802

Luego de realizar los cálculos necesarios aplicando la fórmula mencionada en el apartado anterior, se obtuvieron los siguientes coeficientes de variación: 1.55 % para As, 5.89% para Hg, 0.35% para Pb, 0% para Cd y 0.56% para Al, dichos resultados se muestran en la Tabla 3.9. Según la AOAC 2002, indica que el %CV debe ser menor al 8% cuando las concentraciones se acercan a 1mg/L para ser considerado como preciso. Los valores obtenidos son inferiores al ocho por ciento, por lo que podemos afirmar que el método es preciso.<sup>99</sup>

**Tabla 3.9.** Valores obtenidos para el cálculo de la precisión

Metal	Valor teórico (ppm)	Promedio práctico	D.S.	%CV
As	0.096	0.0986	0.0015	1.54
Hg	0.016	0.0142	0.0008	5.89
Pb	0.16	0.1584	0.0005	0.35
Cd	0.019	0.019	0	0
Al	0.08	0.0802	0.0005	0.56

### 3. LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACION

Los Límites de Detección y Cuantificación se calcularon a partir de los gráficos de calibración, utilizando la fórmula mencionada en el apartado anterior.

**Tabla 3.10.** Tabla resumen de los Límites de Detección y Cuantificación de los metales en estudio

	As	Hg	Pb	Cd	Al
<i>b</i>	7359	2427	39161	704421	972910
<i>ybl</i>	16.721	24.399	304.42	414.65	1387.2
<i>sbl</i>	3.2903	10.301	19.16	41.483	38.72
<b>LD (mg/L)</b>	<b>0.0089</b>	<b>0.0558</b>	<b>0.0226</b>	<b>0.0019</b>	<b>0.0038</b>
<b>LC (mg/L)</b>	<b>0.0165</b>	<b>0.1135</b>	<b>0.0310</b>	<b>0.0029</b>	<b>0.0045</b>

Con los resultados obtenidos se deduce que el método es capaz de detectar cantidades mínimas de cada uno de los metales en estudio en una muestra y en caso de cuantificar, este método es confiable en caso de que las concentraciones estén por encima de 0.0165mg/L para As, 0.1135mg/L para Hg, 0.0310mg/L para Pb, 0.0029mg/L para Cd y 0.0045mg/L para Al.

### 4. EXACTITUD

Para la evaluar la exactitud se hicieron lecturas por quintuplicado de estándar, muestra y muestra con estándar para cada metal, dichas lecturas se muestran en la Tabla 3.11.

**Tabla 3.11.** Valores promedios obtenidos para el % de Recuperación

	<b>Cd</b>	<b>Hg</b>	<b>Pb</b>	<b>As</b>	<b>Al</b>
Estándar (mg/L)	0.38	0.162	0.363	0.369	0.38
Muestra (mg/L)	0.0028	0.0016	0.016	0.0064	0.006
Muestra + estándar (mg/L)	0.388	0.169	0.359	0.399	0.422
<b>%R</b>	<b>101.42</b>	<b>103.72</b>	<b>98.52</b>	<b>106.4</b>	<b>108.74</b>

Se realizó el cálculo para obtener el porcentaje de recuperación obteniendo para Cd un valor de 101.42%, para Hg 103.72%, para Pb 98.52%, 106.4 % para Cd y 108.74% para Al. Estos resultados fueron comparados con los valores de la AOAC que establece rangos de recuperación aceptables que se encuentran en función de la concentración. Para concentraciones cercanas a 1mg/L indica un rango aceptable de 75-120%. Los valores obtenidos se encuentran en la Tabla 3.9, tomando en cuenta las consideraciones de la AOAC 2002, podemos afirmar que se encuentra aceptable.<sup>99</sup>

## 2.2. RECOLECCION DE MUESTRAS

Se realizó la recolección de conservas de *Thunnus* (atún) de 8 marcas comercializadas en 5 supermercados de la ciudad de Arequipa, una de ellas nacional y las otras 7 importadas, dentro de las marcas importadas, 4 marcas de origen ecuatoriano y 3 de origen tailandés. Por cada marca se tomó un máximo de 5 presentaciones y un mínimo de 3, las presentaciones contaban con líquidos de gobierno de aceite vegetal y agua; y por cada presentación, se recolectó tres lotes diferentes, adquiriendo un total de 96 muestras. Se realizó la codificación de las muestras y se observa en la Tabla 3.10.

**Tabla 3.10.** Codificación de las muestras de conservas de *Thunnus* (atún)

	LOTE 1					LOTE 2					LOTE 3				
	Filete en aceite	Filete en agua	Trozo en aceite	Sólido en aceite	Grated en aceite	Filete en aceite	Filete en agua	Trozo en aceite	Sólido en aceite	Grated en aceite	Filete en aceite	Filete en agua	Trozo en aceite	Sólido en aceite	Grated en aceite
<b>A</b>	A1	A2	A3	A4	-	A11	A22	A33	A44	-	A111	A222	A333	A444	-
<b>B</b>	B1	-	B3	B4	-	B11	-	B33	B44	-	B111	-	B333	B444	-
<b>C</b>	C1	C2	C3	C4	-	C11	C22	C33	C44	-	C111	C222	D333	E444	-
<b>D</b>	-	D2	D3	D4	D5	-	D22	D33	D44	D55	-	D222	D333	D444	D555
<b>E</b>	E1	E2	E3	E4	E5	E11	E22	E33	E44	E55	E111	E222	E333	E444	E555
<b>F</b>	F1	-	F3	-	F5	F11	-	F33	-	F55	F111	-	F333	-	F555
<b>G</b>	G1	G2	G3	G4	G5	G11	G22	G33	G44	G55	G111	G222	G333	G444	G555
<b>H</b>	H1	H2	H3	H4	-	H11	H22	H33	H44	-	H111	H222	H333	H444	-

### 2.3. DETERMINACION DE LAS CONCENTRACIONES DE METALES TRAZA EN LAS MUESTRAS POR ICP-OES

Los metales fueron analizados en las muestras de conservas de *Thunnus* (atún) con un total de 96 muestras, mediante la técnica de Espectrometría de Emisión Óptica Inductivamente Acoplado a Plasma (ICP-OES). Los metales analizados fueron Cd, As, Al y Hg. El equipo de análisis fue facilitado por el Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María.

### 2.4. PROCESAMIENTO DE DATOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para una mejor visualización de los resultados, éstos han sido agrupados y analizados en función de formas de presentación y marcas comerciales mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor para verificar si existe diferencia estadísticamente significativa.

## 2.4.1. RESULTADOS DE Cd

### 2.4.1.1. ANALISIS DE Cd POR PRESENTACION COMERCIAL

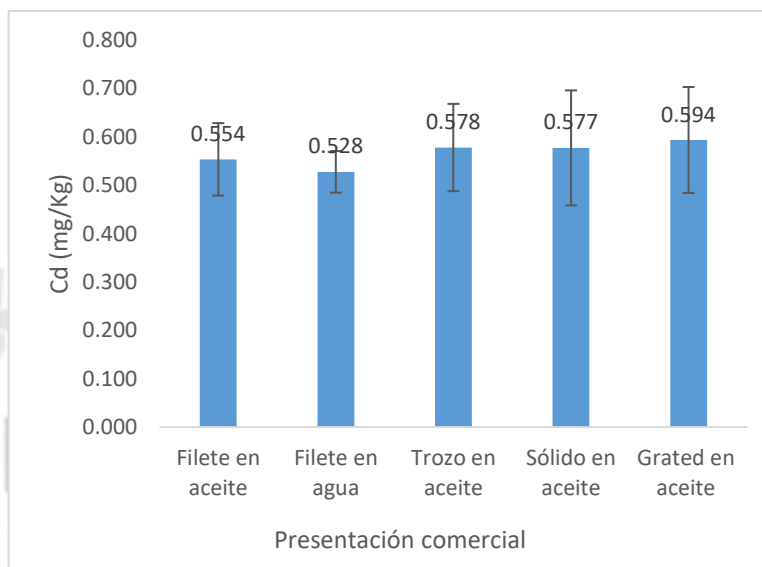
Los resultados de Cd se muestran en la Tabla 3.11, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°1.

**Tabla 3.11.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de Cd por presentación comercial

	Filete en aceite	Filete en agua	Trozo en aceite	Sólido en aceite	Grated en aceite
A	0.583	0.500	0.750	0.583	-
B	0.708	-	0.500	0.417	-
C	0.542	0.500	0.542	0.500	-
D	-	0.583	0.667	0.708	0.583
E	0.500	0.500	0.583	0.750	0.500
F	0.500	-	0.500	-	0.750
G	0.500	0.500	0.583	0.500	0.542
H	0.542	0.583	0.500	0.583	-
<b>Promedio</b>	<b>0.554</b>	<b>0.528</b>	<b>0.578</b>	<b>0.577</b>	<b>0.594</b>
<b>D.S.</b>	<b>0.075</b>	<b>0.043</b>	<b>0.090</b>	<b>0.119</b>	<b>0.110</b>

Para una mejor apreciación de los resultados, se presenta la Fig 3.1. en donde se observa los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de Cd, en función de su presentación comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.11. Como puede observarse, la presentación con mayor concentración de Cd se encuentra en el grated en aceite vegetal con  $0.594 \pm 0.11$  mg/Kg, y la menor se encuentra en el filete en agua con  $0.528 \pm 0.043$  mg/Kg, es probable que la diferencia se deba a que el aceite vegetal, el líquido de gobierno, esté aportando cantidades de Cd a la muestra analizada o quizás se deba las diferentes especies de *Thunnus*, debido a que la acumulación de metales es diferente por especie. A

primera vista se observa los resultados casi sin mayor variación entre presentaciones, pero es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



**Fig. 3.6.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Cd (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial

Para estimar si existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de Cd por presentación comercial, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor. El dato importante a considerar es el valor de  $p$ , cuando  $p \leq 0.05$ , se considera que no hay diferencia estadísticamente significativa. En el resultado del ANOVA realizado se obtuvo un valor de  $p = 0.766$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de Cd por presentación comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de Cd por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°2.

#### 2.4.1.2. ANALISIS DE Cd POR MARCA COMERCIAL

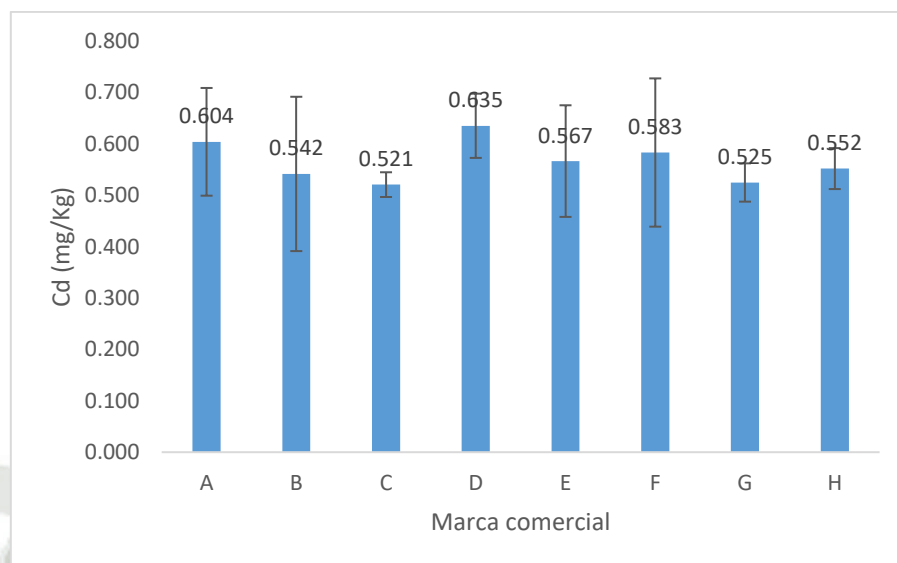
Los resultados de Cd se muestran en la Tabla 3.12, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°1.



**Tabla 3.12.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de Cd por marca comercial

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>
Filete en aceite	0.583	0.708	0.542	-	0.500	0.500	0.500	0.542
Filete en agua	0.500	-	0.500	0.583	0.500	-	0.500	0.583
Trozo en aceite	0.750	0.500	0.542	0.667	0.583	0.500	0.583	0.500
Sólido en aceite	0.583	0.417	0.500	0.708	0.750	-	0.500	0.583
Grated en aceite	-	-	-	0.583	0.500	0.750	0.542	-
<b>Promedio</b>	<b>0.604</b>	<b>0.542</b>	<b>0.521</b>	<b>0.635</b>	<b>0.567</b>	<b>0.583</b>	<b>0.525</b>	<b>0.552</b>
<b>D.S.</b>	<b>0.105</b>	<b>0.150</b>	<b>0.024</b>	<b>0.063</b>	<b>0.109</b>	<b>0.144</b>	<b>0.037</b>	<b>0.040</b>

Para una mejor visualización de estos resultados, tenemos la Fig.3.7, en donde se observa los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de Cd, en función de su marca comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.12. Como puede observarse, la marca comercial con mayor concentración de Cd se encuentra en la marca D con  $0.635 \pm 0.063 \text{ mg/Kg}$ , y la menor se encuentra en la marca C con  $0.521 \pm 0.024 \text{ mg/Kg}$ , ambas marcas importadas. es probable que la diferencia se deba a la procedencia de captura de *Thunnus*, debido a que los lugares de origen de captura son factores que influyen en bioacumulación de metales o quizás se deba las diferentes especies de *Thunnus*, debido a que la acumulación de metales es diferente por especie. A pesar de que los resultados de los promedios y las desviaciones estándar se ven muy cercanos entre sí, es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



**Fig. 3.7.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Cd (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial

Para estimar si existe diferencia estadísticamente significativa de las concentraciones de Cd entre las marcas comerciales. Se realizó un ANOVA de un factor, en donde se obtuvo un valor de  $p = 0.587$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de Cd por marca comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de Cd por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°3.

## 2.4.2. RESULTADOS DE Hg

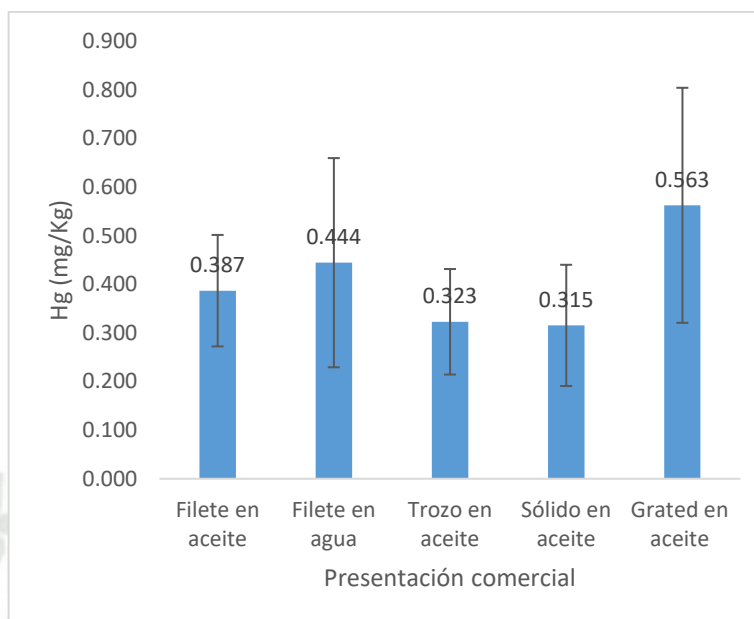
### 2.4.2.1. ANALISIS DE Hg POR PRESENTACION COMERCIAL

Los resultados de Hg se muestran en la Tabla 3.13, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°4.

**Tabla 3.13.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de Hg por presentación comercial

	<b>Filete en aceite</b>	<b>Filete en agua</b>	<b>Trozo en aceite</b>	<b>Sólido en aceite</b>	<b>Grated en aceite</b>
A	0.542	0.833	0.125	0.417	-
B	0.250	-	0.292	0.250	-
C	0.292	0.250	0.292	0.208	-
D	-	0.417	0.458	0.333	0.375
E	0.333	0.417	0.417	0.208	0.333
F	0.375	-	0.333	-	0.792
G	0.375	0.250	0.250	0.250	0.750
H	0.542	0.500	0.417	0.542	-
<b>Promedio</b>	<b>0.387</b>	<b>0.444</b>	<b>0.323</b>	<b>0.315</b>	<b>0.563</b>
<b>D.S.</b>	<b>0.115</b>	<b>0.215</b>	<b>0.109</b>	<b>0.125</b>	<b>0.242</b>

Se presenta la Fig 3.8. en donde se observa los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de Hg, en función de su presentación comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.13. Como puede observarse, la presentación con mayor concentración de Hg se encuentra en el grated en aceite vegetal con  $0.563 \pm 0.242$  mg/Kg, y la menor se encuentra en el sólido en aceite vegetal con  $0.315 \pm 0.125$  mg/Kg, es probable que la diferencia se deba a que el aceite vegetal, el líquido de gobierno, esté aportando cantidades de Hg a la muestra analizada o quizás se deba se deba las diferentes especies de *Thunnus*, debido a que la acumulación de metales es diferente por especie. A pesar de que los promedios y sobre todo las desviaciones estándar se aprecien dispersas entre ellas, es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre las mismas.



**Fig. 3.8.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Hg (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial

Se realizó el ANOVA para estimar si existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de Hg por presentación comercial. En el resultado del ANOVA realizado se obtuvo un valor de  $p = 0.1$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de Hg por presentación comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de Hg por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°5.

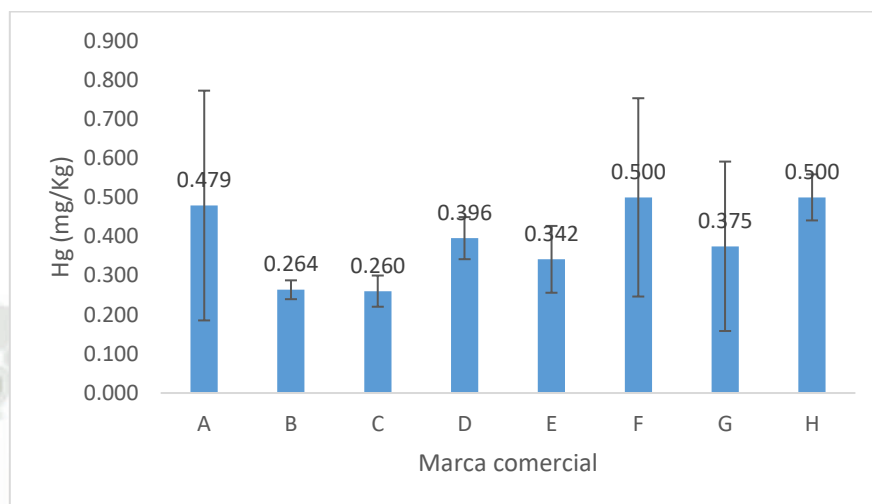
#### 2.4.2.2. ANALISIS DE Hg POR MARCA COMERCIAL

Los resultados de Hg se muestran en la Tabla 3.14, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°4.

**Tabla 3.14.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de Hg por marca comercial

	A	B	C	D	E	F	G	H
Filete en aceite	0.542	0.250	0.292	-	0.333	0.375	0.375	0.542
Filete en agua	0.833	-	0.250	0.417	0.417	-	0.250	0.500
Trozo en aceite	0.125	0.292	0.292	0.458	0.417	0.333	0.250	0.417
Sólido en aceite	0.417	0.250	0.208	0.333	0.208	-	0.250	0.542
Grated en aceite	-	-	-	0.375	0.333	0.792	0.750	-
<b>Promedio</b>	<b>0.479</b>	<b>0.264</b>	<b>0.260</b>	<b>0.396</b>	<b>0.342</b>	<b>0.500</b>	<b>0.375</b>	<b>0.500</b>
<b>D.S.</b>	<b>0.294</b>	<b>0.024</b>	<b>0.040</b>	<b>0.054</b>	<b>0.085</b>	<b>0.253</b>	<b>0.217</b>	<b>0.059</b>

En la Fig. 3.9 se observa los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de Cd, en función de su marca comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.14. Como puede apreciarse, las marcas comerciales con mayor concentración de Hg se encuentran en la marca F con  $0.5 \pm 0.253$  mg/Kg y en la marca H con  $0.5 \pm 0.059$  mg/Kg, y la menor se encuentra en la marca C con  $0.26 \pm 0.04$  mg/Kg, ambas marcas importadas. es probable que la diferencia se deba a la procedencia de captura de *Thunnus*, debido a que los lugares de origen de captura son factores que influyen en bioacumulación de metales o quizás se deba las diferentes especies de *Thunnus*, debido a que la acumulación de metales es diferente por especie. A pesar de que los resultados de los promedios y las desviaciones estándar se ven semejantes entre sí, es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



**Fig. 3.9.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Hg (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial

Para estimar si existe diferencia estadísticamente significativa de las concentraciones de Hg entre las marcas comerciales. Se realizó un ANOVA de un factor, en donde se obtuvo un valor de  $p = 0.279$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de Hg por marca comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de Hg por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°6.

### 2.4.3. RESULTADOS DE AI

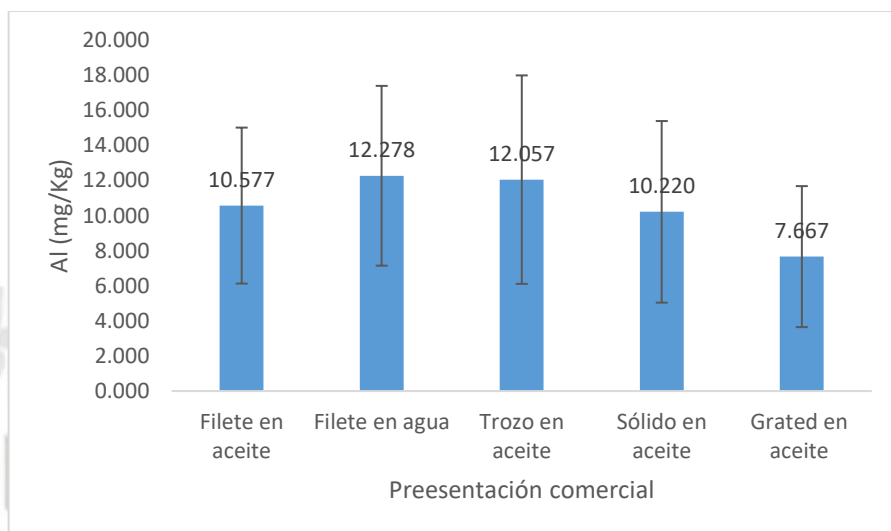
#### 2.4.3.1. ANALISIS DE AI POR PRESENTACION COMERCIAL

Los resultados de AI se muestran en la Tabla 3.15, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°7.

**Tabla 3.15.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de Al por presentación comercial

	<b>Filete en aceite</b>	<b>Filete en agua</b>	<b>Trozo en aceite</b>	<b>Sólido en aceite</b>	<b>Grated en aceite</b>
A	7.750	10.208	8.875	7.292	-
B	11.458	-	7.583	10.625	-
C	8.708	14.208	17.250	6.583	-
D	-	11.833	17.208	9.958	11.042
E	10.542	8.875	8.125	8.542	7.583
F	12.000	-	8.458	-	5.375
G	15.208	14.875	18.333	18.667	6.667
H	8.375	13.667	10.625	9.875	-
<b>Promedio</b>	<b>10.577</b>	<b>12.278</b>	<b>12.057</b>	<b>10.220</b>	<b>7.667</b>
<b>D.S.</b>	<b>4.448</b>	<b>5.126</b>	<b>5.945</b>	<b>5.178</b>	<b>4.021</b>

En la Fig 3.10. se observa los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de Al, en función de su presentación comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.15. Como puede apreciarse, la presentación con mayor concentración de Al se encuentra en el filete en agua con  $12.278 \pm 5.126$  mg/Kg, y la menor se encuentra en el grated en aceite vegetal con  $7.667 \pm 4.021$  mg/Kg, es probable que la diferencia se deba a que el agua, el líquido de gobierno, esté aportando cantidades de Al a la muestra analizada o quizás se deba las diferentes especies de *Thunnus*, debido a que la acumulación de metales es diferente por especie. A pesar de lo dispersos que se encuentran los promedios y las desviaciones estándar, es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



**Fig. 3.10.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Al (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial

Para estimar si existe diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de Al por presentación comercial, se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor. En el resultado del ANOVA realizado se obtuvo un valor de  $p = 0.276$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de Al por presentación comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de Al por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°8.

#### 2.4.3.2. ANALISIS DE AI POR MARCA COMERCIAL

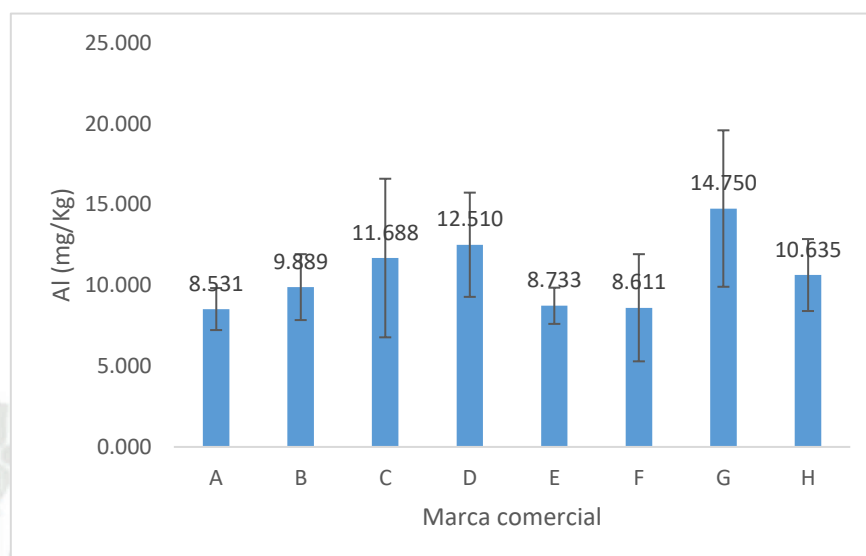
Los resultados de Al se muestran en la Tabla 3.16, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°7.



**Tabla 3.16.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de Al por marca comercial

	A	B	C	D	E	F	G	H
Filete en aceite	7.750	11.458	8.708	-	10.542	12.000	15.208	8.375
Filete en agua	10.208	-	14.208	11.833	8.875	-	14.875	13.667
Trozo en aceite	8.875	7.583	17.250	17.208	8.125	8.458	18.333	10.625
Sólido en aceite	7.292	10.625	6.583	9.958	8.542	-	18.667	9.875
Grated en aceite	-	-	-	11.042	7.583	5.375	6.667	-
<b>Promedio</b>	<b>8.531</b>	<b>9.889</b>	<b>11.688</b>	<b>12.510</b>	<b>8.733</b>	<b>8.611</b>	<b>14.750</b>	<b>10.635</b>
<b>D.S.</b>	<b>1.301</b>	<b>2.040</b>	<b>4.907</b>	<b>3.225</b>	<b>1.120</b>	<b>3.315</b>	<b>4.841</b>	<b>2.227</b>

En la Fig.3.11 se observan los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de Al, en función de su marca comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.16. Como puede observarse, la marca comercial con mayor concentración de Al se encuentra en la marca G con  $14.75 \pm 4.841$  mg/Kg, y la menor se encuentra en la marca A con  $8.531 \pm 1.301$  mg/Kg, ambas marcas importadas. es probable que la diferencia se deba a la procedencia de captura de *Thunnus*, debido a que los lugares de origen de captura son factores que influyen en bioacumulación de metales. A pesar de que los resultados de los promedios y las desviaciones estándar se ven muy alejados entre ellos, es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



**Fig. 3.11.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de Al (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial

Para estimar si existe diferencia estadísticamente significativa de las concentraciones de Al entre las marcas comerciales. Se realizó un ANOVA de un factor, en donde se obtuvo un valor de  $p = 0.09$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de Al por marca comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de Al por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°9.

#### 2.4.4. RESULTADOS DE As

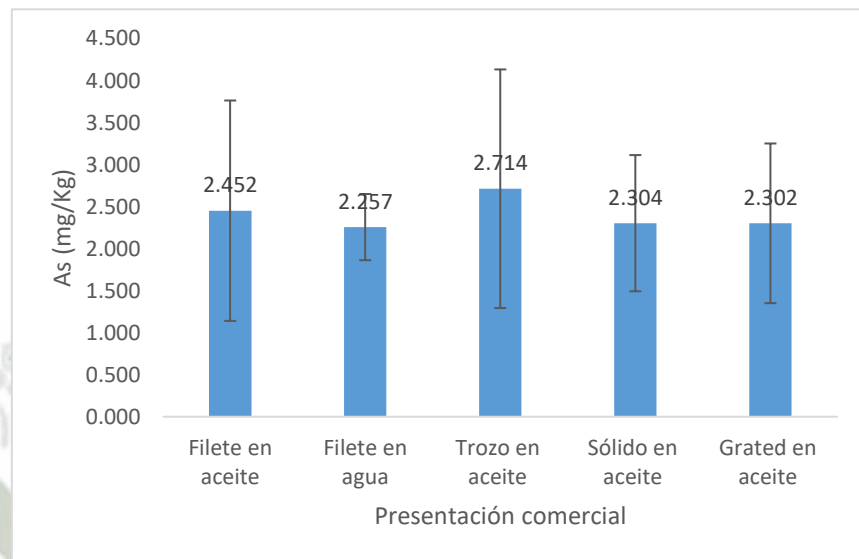
##### 2.4.4.1. ANALISIS DE As POR PRESENTACION COMERCIAL

Los resultados de As se muestran en la Tabla 3.17, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°10.

**Tabla 3.17.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de As por presentación comercial

	<b>Filete en aceite</b>	<b>Filete en agua</b>	<b>Trozo en aceite</b>	<b>Sólido en aceite</b>	<b>Grated en aceite</b>
A	2.250	2.125	6.375	1.875	-
B	1.667	-	2.083	1.500	-
C	2.042	2.375	1.875	2.000	-
D	-	1.667	2.292	4.167	3.667
E	1.750	2.375	2.333	1.875	2.208
F	2.125	-	1.875	-	1.542
G	1.708	2.042	1.958	2.458	1.792
H	5.625	2.958	2.917	2.250	-
<b>Promedio</b>	<b>2.452</b>	<b>2.257</b>	<b>2.714</b>	<b>2.304</b>	<b>2.302</b>
<b>D.S.</b>	<b>1.312</b>	<b>0.394</b>	<b>1.421</b>	<b>0.811</b>	<b>0.950</b>

Para una mejor apreciación de los resultados, se presenta la Fig 3.12. en donde se observa los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de As, en función de su presentación comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.17. Como puede observarse, la presentación con mayor concentración de As se encuentra en el trozo en aceite vegetal con  $2.714 \pm 1.421$  mg/Kg, y la menor se encuentra en el filete en agua con  $2.257 \pm 0.394$  mg/Kg, es probable que la diferencia se deba a que el aceite vegetal, el líquido de gobierno, esté aportando cantidades de As a la muestra analizada o quizás se deba las diferentes especies de *Thunnus*, debido a que la acumulación de metales es diferente por especie. A pesar de que los resultados se ven desiguales entre presentaciones, es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



**Fig. 3.12.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de As (mg/Kg) agrupadas en función de su presentación comercial

Se realizó un Análisis de Varianza (ANOVA) de un factor, para estimar si existe diferencia estadísticamente significativa, el valor importante a considerar es el valor de  $p$ , cuando  $p \leq 0.05$ , se considera que no hay diferencia estadísticamente significativa. En el resultado del ANOVA realizado se obtuvo un valor de  $p = 0.943$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de As por presentación comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de As por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°11.

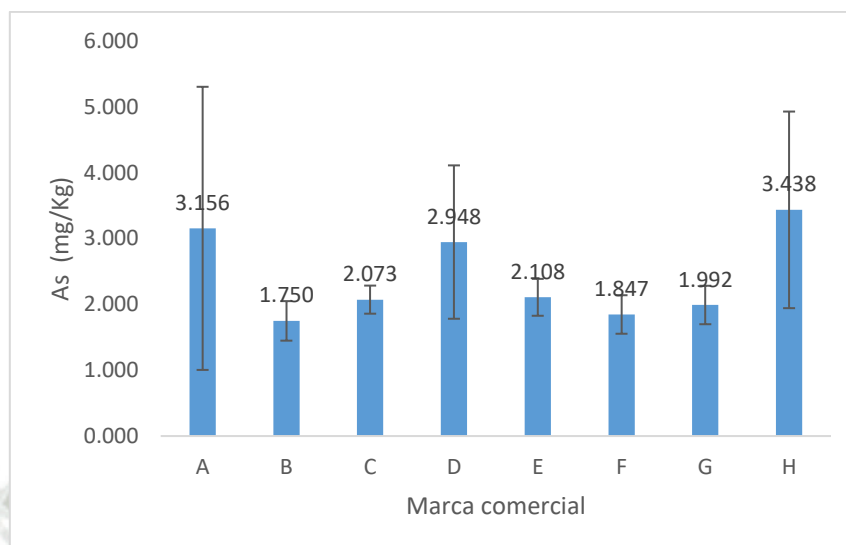
#### 2.4.4.2. ANALISIS DE As POR MARCA COMERCIAL

Los resultados de As se muestran en la Tabla 3.18, en él se visualizan los promedios de los tres lotes tomados por marca y por presentación comercial. Todos los datos obtenidos se encuentran en el Anexo N°10.

**Tabla 3.18.** Valores promedio ( $\pm$  D.S.) de las concentraciones de As por marca comercial

	A	B	C	D	E	F	G	H
Filete aceite	2.250	1.667	2.042	-	1.750	2.125	1.708	5.625
Filete agua	2.125	-	2.375	1.667	2.375	-	2.042	2.958
Trozo aceite	6.375	2.083	1.875	2.292	2.333	1.875	1.958	2.917
Sólido aceite	1.875	1.500	2.000	4.167	1.875	-	2.458	2.250
Grated en aceite	-	-	-	3.667	2.208	1.542	1.792	-
<b>Promedio</b>	<b>3.156</b>	<b>1.750</b>	<b>2.073</b>	<b>2.948</b>	<b>2.108</b>	<b>1.847</b>	<b>1.992</b>	<b>3.438</b>
<b>D.S.</b>	<b>2.151</b>	<b>0.300</b>	<b>0.213</b>	<b>1.165</b>	<b>0.280</b>	<b>0.293</b>	<b>0.292</b>	<b>1.494</b>

En la Fig.3.13 se observa los promedios y las desviaciones estándar de las concentraciones de As, en función de su marca comercial. Los datos obtenidos para la elaboración de dicha figura se encuentran expresadas en la Tabla 3.19. Como puede observarse, la marca comercial con mayor concentración de As se encuentra en la marca H con  $3.438 \pm 1.404$  mg/Kg, y la menor se encuentra en la marca B  $1.75 \pm 0.394$  mg/Kg, ambas importadas. es probable que la diferencia se deba a la procedencia de captura de *Thunnus*, debido a que los lugares de origen de captura son factores que influyen en bioacumulación de metales. A pesar de que los resultados se ven desiguales por los promedios y las desviaciones estándar entre las marcas, es el Análisis de Varianza (ANOVA) que nos determinará si existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



**Fig. 3.13.** Concentraciones promedio ( $\pm$ D.S.) de As (mg/Kg) agrupadas en función de su marca comercial

En el resultado del ANOVA realizado se obtuvo un valor de  $p = 0.199$ , por tanto, podemos afirmar que no existe diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de As por marca comercial. Todos los datos a considerar para el Análisis de Varianza de las concentraciones de As por presentación comercial se encuentran en el Anexo N°12.

#### 2.4.5. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON MEDIDAS REGULATORIAS NACIONAL E INTERNACIONAL

A continuación, se presenta los resultados obtenidos en este trabajo investigación, debido a que no se presenta diferencia estadísticamente significativa entre las presentaciones y marcas comerciales, se presenta las concentraciones máximas y mínimas obtenidas por cada metal y se comparan con la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera del Instituto Tecnológico del Perú, la Comisión de las Comunidades Europeas, Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) y la Norma Nacional de la República Popular de China.

**Tabla 3.19.** Tabla comparativa de las concentraciones obtenidas por cada metal con las medidas regulatorias nacional e internacional

AGENCIA	DESCRIPCIÓN	As (mg/Kg)	Hg (mg/Kg)	Pb (mg/Kg)	Cd (mg/Kg)	Al (mg/Kg)
Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera	Productos pesqueros y acuícolas de consumo humano directo.	-	1	0.3	0.05	-
La comisión de las Comunidades Europeas	Carne muscular de pescado	-	1	0.3	0.1	-
FAO/OMS	Pescados	-	0.5 MeHg	0.3	-	-
Norma Nacional de la República Popular de China	Pescados y los productos de la pesca (conservas en caso de Cd)	0.1 Arsénico o inorgánico	1 MeHg	0.5	0.2	-
<b>Resultados obtenidos</b>	-	<b>0.75-13.5</b>	<b>0.25-1</b> <b>9.4% sobrepasó el límite</b>	<b>N.D.</b>	<b>0.5-1.25</b> <b>100% muestras sobrepasó el límite</b>	<b>2.5-24.5</b>

### 3. DISCUSION

Los peces marinos constituyen un componente valioso de la dieta humana debido a su aporte de proteínas, minerales esenciales, ácidos grasos esenciales, además de ser bajos en colesterol, calorías, sodio y grasas saturadas.<sup>1</sup>

Durante las últimas décadas, los ecosistemas continentales y marinos están expuestos a una contaminación excesiva de metales pesados debido al crecimiento industrial progresivo y aumento de la población; las industrias, las aguas residuales de la casa como insumos externos y deposición, erosión geológica y vertido de agua de las tierras agrícolas. Estos metales representan un alto riesgo ambiental debido a su largo persistencia en la naturaleza, posible bioacumulación y transferencia al hombre a través de la red alimentaria..<sup>32,6,25</sup>

Además, se han realizado varios estudios que prueban que los peces marinos bioacumulan metales y estos resultados han sido tomados como bioindicadores del impacto ambiental por las descargas de contaminantes en ecosistemas acuáticos.<sup>8,10</sup>

Uno de estos estudios fue realizado por Sanches *et al.* (2017)<sup>8</sup> en donde evaluaron al pez *Phalloceros caudimaculatus* (conocido como Guarú) como un bioindicador de metales pesados. El estudio concluyó que los peces Guarú demostraron ser resistentes a la presencia de estos metales y mostraron una alta tasa de bioacumulación de metales pesados. De igual manera Albu *et al.* (2015) realizaron un trabajo sobre la bioacumulación de metales pesados como el Cd y Pb, en diferentes especies de peces. Los resultados mostraron que los metales estaban distribuidos de forma diferente en los tejidos y especialmente según las especies.<sup>8,11</sup>

Es por eso que es importante evaluar el contenido de metales traza en la carne de pescado. Los pescados en conserva son alimentos populares en muchos países, además de ser fácil acceso y bajo costo. En esta investigación se recolectaron 96 conservas de atún con líquidos de gobierno en aceite vegetal y agua. Luego de realizar el análisis de metales y debido a que los resultados resolvieron que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre las presentaciones ni entre las marcas comerciales, en ninguno de los metales en estudio, es que se comparan solo los valores máximos y mínimos obtenidos durante esta investigación con las normas nacionales



e internacionales que establecen valores máximos de contenido de dichos metales, todos éstos expresados en mg de metal por Kg de carne de pescado. Luego de esta primera parte de comparación se procederá a discutir con los resultados de otros autores con trabajos similares.

Entre los resultados que obtuvimos se encuentran los valores de Cd (mg/Kg) en conservas de atún, el valor mínimo que obtuvimos de Cd fue de 0.5mg/Kg y el máximo fue de 1.25mg/Kg. Según la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera el valor máximo permisible de Cd en productos pesqueros de consumo humano es de 0.05mg/Kg, según la Comisión de las Comunidades Europeas establecen un máximo de 0.1mg/Kg para carne muscular de pescado y la Norma Nacional de la República Popular de China establece un máximo de 0.2mg/Kg en conservas de pescado. Comparando los resultados obtenidos con las normas mencionadas, obtenemos que un 100% de las muestras sobrepasan los valores permisibles en todas las normas.

Respecto a los resultados de Hg, hemos obtenido un valor mínimo de 0.25mg/Kg y un máximo de 1mg/Kg. Según la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera y la Comisión de las Comunidades Europeas, el valor máximo permisible de Hg en carne de pescado es de 1mg/Kg, otras entidades como la FAO/OMS y la Norma Nacional de la República Popular de China establecen un valor máximo de 0.5mg/Kg de metilmercurio en pescados, debido a que el metilmercurio es una especie orgánica, es que no podemos comparar los valores que hemos obtenido en esta investigación, dado que los resultados corresponden a mercurio. Como se puede observar nueve muestras, que representan el 9.4%, han sobrepasado el valor máximo permisible según la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera y la Comisión de las Comunidades Europeas.

En cuanto a los resultados obtenidos de As encontrados en las conservas de atún, hemos obtenido un valor mínimo de 0.75mg/Kg y un máximo de 13.5mg/Kg. Según la Norma Nacional de la República Popular de China establece un máximo de 0.1mg/Kg de As inorgánico, no especificando la especie, si bien después del procesamiento de las muestras, todas las formas químicas de As presentes en ellas, tanto orgánicas como inorgánicas, se oxidan presuntamente a As (V), debido a que es

la forma inorgánica predominante en medios ácidos, y dado que no podemos asegurar que As (V) es la especie química que menciona esta norma, no podemos hacer la comparación de nuestros resultados con la Norma Nacional de la República Popular de China. Cabe agregar, que esta es la única norma que hace mención de As en pescados.

Respecto a los resultados de Al encontrados en las conservas de atún, se obtuvo un valor mínimo de 2.5mg/Kg y un máximo de 24.5mg/Kg, a pesar de la variabilidad de los resultados, el análisis de varianza rebeló que no había diferencia significativa por presentaciones comerciales ni por marcas. El aluminio no se considera un elemento esencial en humanos, la exposición al aluminio ha sido implicada en una serie de patologías humanas, incluida la encefalopatía, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer. Hasta el momento no hay ninguna norma que establezca valores máximos permisibles en pescados o productos marinos.

Finalmente, respecto a las concentraciones de Pb encontradas en las conservas de atún, estos resultaron ser no detectables. Presuntamente a que las cantidades presentes eran ínfimas, por tanto, indetectables.

Debido a la importancia ecotoxicológica de los metales pesados han sido varios los autores que han reportado cantidades de estos metales en muestras de pescado.

Araujo *et al*, (2016) realizaron una investigación sobre el contenido de Cd, Hg y Pb en el tejido muscular del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*), en Ecuador. Entre los resultados que obtuvieron es que alrededor la mitad de las muestras musculares de ambas especies presentaron niveles de Cd y Hg por encima de los límites considerados seguros para consumo humano establecido por la Unión Europea. Los resultados obtenidos por Araujo *et al*, (2016) respecto al Cd fue de  $2.4 \pm 5.1$ mg/Kg, los cuales resultan ser diferentes a los nuestros que oscilaron entre 0.5-1.25mg/Kg; respecto a Hg obtuvieron valores de  $1.4 \pm 1.3$ mg/Kg, que resultan ser diferentes a los nuestros que oscilaron entre 0.25-1mg/Kg y respecto al Pb,  $0.07 \pm 0.06$ mg/Kg, que no podemos comparar con los nuestros que resultaron ser no detectables.<sup>37</sup>

Entre las posibles razones que plantean Araujo *et al*, (2016) sobre las concentraciones encontradas, es que, debido a que el *Thunnus albacares* es una especie altamente

migratoria, los niveles de metal encontrados en el tejido muscular podrían responder a la contaminación de diversas áreas y no solo desde el sitio de captura. Además, las concentraciones halladas estarían relacionadas con las características oceanográficas regionales que favorecen la mayor disponibilidad de metales en la base de la red trófica, vinculado al alto tiempo de residencia regional del atún aleta amarilla (*Thunnus albacares*).<sup>37</sup>

Otro dato importante, que mencionan Araujo *et al.* (2016) son los parámetros fisicoquímicos y/o factores ambientales en cada sitio de captura y la extracción de metales por países industrializados como Japón y China. Finalmente, otro factor que podría contribuir a altos niveles de Hg en los peces es la actividad volcánica del Pacífico oriental ecuatorial, sin embargo, consideraron que esta relación depende en el tiempo de residencia en las regiones volcánicas. Muchas de las muestras analizadas en esta investigación son de procedencia ecuatoriana, quizás las cantidades encontradas se deban a las razones expuestas por los autores mencionados.<sup>37</sup>

Storelli *et al.* (2010) realizaron en Italia la cuantificación de Hg, Cd y Pb en conservas de *Thunnus Albacares* obteniendo resultados parcialmente semejantes a nuestra investigación. Storelli, *et al.* (2010) obtuvieron que un 8.9% sobrepasó la concentración de mercurio (0.41mg/Kg de Hg en promedio), mas nuestros resultados expresan que ninguno sobre pasó el 1mg/kg según la Norma Nacional y la legislación europea.<sup>12</sup>

Entre otros resultados obtenidos por Storelli *et al.* (2010), es que ninguna conserva de *Thunnus* sobrepasó el límite permitido de Cd (0.04 mg/Kg de Cd en promedio), en contraste con nuestro trabajo que obtuvimos que el 100%% sobrepasó el límite permitido para Cd. Respecto al Pb, nuestros resultados fueron no detectables, Storelli *et al.* (2010) alude que sus bajas concentraciones de Pb (0.06mg/Kg en promedio), puede deberse al avance de la nueva tecnología de envasado, especialmente el uso de latas con paredes lacadas y costura mecánica que han reducido o, en la mayoría de los casos, han eliminado la lixiviación de alimentos, puede ser responsable de los bajos niveles encontrados de Pb en estos productos.<sup>12</sup>

Mol (2011) realizó la determinación de Hg, Cd y Pb en conservas de *Thunnus* mas no especifica la especie, comercializados en Turquía, encontrando valores que oscilan de 0,06 a 0,30 mg/kg para mercurio, que resultan diferentes a nuestros resultados, que oscilaron entre 0.25-1mg/Kg. Respecto al Cd, Mol (2011) obtuvo un valor entre 0,01-0,02 mg/kg, siendo diferente a los resultados obtenidos en esta investigación en donde hallamos valores desde 0.5-1.25mg/Kg, que en porcentaje representa el 100% de las muestras que sobrepasaban las normas mencionadas.<sup>13</sup>

Finalmente, referente al Pb, Mol (2011) obtuvo un rango de 0,09-0,45 mg/kg, en nuestro caso el Pb resultó no detectable. Mol (2011) menciona que la contaminación del pescado enlatado por metales traza puede producirse durante la manipulación y procesamiento comercial, y dependiendo de las condiciones de la materia prima, es posible entonces que la contaminación de nuestras muestras se deba a esta razón.<sup>13</sup>

En Líbano, Obeid *et al.* (2011), determinó la cantidad de Hg presente en conservas de *Thunnus* (atún), obteniendo un promedio de 0.0737 mg/Kg. Los resultados obtenidos en nuestra investigación oscilan entre 0.25-1mg/Kg, los cuales son diferentes a los obtenidos por Obeid *et al.* (2011). Obeid *et al.* (2011) sugiere que las concentraciones de Hg en los peces se correlacionan a los niveles de Hg en su entorno ambiental donde los sedimentos parecen ser la principal fuente de Hg acumulado en peces.<sup>85</sup>

Tuzen y Soylak (2007), determinaron las concentraciones de metales en conservas de *Thunnus*, obteniendo  $0,45 \pm 0,04$  mg/Kg para Al;  $0,1 \pm 0,0015$  mg/Kg para Pb y  $0,08 \pm 0,065$  mg/Kg para Cd. Todos los resultados obtenidos por Tuzen y Soylak son diferentes a los nuestros, en el caso de Al, que resultaron ser altos, de 2.5-24.5mg/Kg; para el caso de Cd 0.5-1.25mg/Kg y en caso de Pb resultó ser no detectable. Es difícil asegurar las causas de las diferentes concentraciones obtenidas en ambos trabajos, una de las razones que exponen Tuzen y Soylak (2007) es la contaminación durante el proceso de fabricación, es probable que sea uno de los factores que haya conllevado a las concentraciones altas de Al y Cd, en este trabajo. Cabe mencionar, que un factor importante, en la bioacumulación de metales en peces, es el origen de captura del *Thunnus*, es decir, se relaciona las fuentes de contaminación de los lugares de procedencia de los peces con su posible bioacumulación.<sup>79 54</sup>

Los resultados obtenidos en nuestro estudio son diferentes a los obtenidos por Emami, *et al.* (2005) realizado en Irán, donde obtuvieron las concentraciones de Pb (0.0162–0.0726mg/kg), Cd (0.0046–0.0720mg/kg), Hg (0.0430–0.253mg/kg) y As (0.0369–0.261mg/kg) en conservas de *Thunnus* (no especifica la especie).<sup>14</sup> Los resultados obtenidos por Emami indican que ningún metal sobrepasa el límite permitido, en contraste con los nuestros que obtuvimos que el 100% sobrepasó el límite permitido de Cd. Respecto al Hg nuestros valores se oscilan entre 0.25-1mg/Kg, que indica que el 9.4% sobrepasa los límites permisibles. En cuanto al As, obtuvimos 0.75-13.5mg/Kg, los cuales son diferentes a los diferentes a los de Emami, *et al.* (2005). Respecto a las concentraciones de Pb, estas resultaron ser no detectables.<sup>14</sup>

De igual manera que, en nuestro estudio, Emami, *et al.* (2005) realizaron análisis estadísticos, obteniendo los mismos resultados, es decir, que no había diferencias significativas entre todas las muestras. Cabe agregar, que Emami *et al.* (2005) mencionan que los niveles de elementos tóxicos están relacionados a la edad, sexo, estación y lugar, además agregan que la cocción reduce la cantidad de metales y que la nueva tecnología de envasado, especialmente el uso de latas con paredes lacadas y costura mecánica, reduce o, en la mayoría de los casos, la lixiviación de metales pesados (plomo y estaño) en los alimentos. Es probable que se deba a esa nueva tecnología que la contaminación por Pb se haya reducido y que resultaran indetectables en las muestras estudiadas.<sup>14</sup>

Li *et al.* (2017) realizaron un trabajo en el que determinó la concentración de metales traza (Pb y Cd) y las especies de arsénico: As (III), As (V), ácido dimetilarsénico (DMA), el ácido monometilarsónico (MMA), la arsenobetaína (AsB) y la arsenocolina (AsC) en peces marinos recolectados en China (no en *Thunnus*). Los resultados encontrados por Li *et al.* (2017) se diferentes a los nuestros debido a que los valores de Cd fueron de 0.012-0.769mg/kg y los nuestros 0.5-1.25mg/kg, respecto a los de plomo (Pb) obtuvieron desde 0.012-0.769mg/kg, los cuales no podemos comparar con los nuestros que resultaron no detectables.<sup>93</sup>

Entre otros resultados obtenidos por Li *et al.* (2017), los valores de As total obtenidos oscilaron entre 22.02-65.66mg/kg, que resultan diferentes a los nuestros que obtuvimos desde 0.75-13.5mg/Kg. Entre otros resultados está el análisis de las

especies de As que mostró que AsB, la forma orgánica no tóxica, fue la principal especie en las muestras de peces; por lo tanto, la toxicidad del As en todos los peces fue pequeña, aunque con alta concentración total. Aunque no podemos comparar estos resultados con los nuestros, debido a que se trabajaron diferentes especies, es probable que la cantidad de As presente corresponda a AsB, por lo tanto, puede ser que las muestras de *Thunnus* sean no tóxicas.<sup>93</sup>

De manera general, cuando los metales se encuentran en los medios acuáticos, la distribución de los metales varía entre las especies de peces, dependiendo de la edad, estado de desarrollo y otros factores fisiológicos. Busamongkol *et. al.* (2014) concluye que es importante evaluar algunos factores biológicos y ambientales como el origen de los peces, el medio marino, hábitos de pescado, edad, entre otros factores, dado que éstos pueden influir significativamente en la concentración de estos elementos.<sup>14 46</sup>

Otro factor que influye en la bioacumulación de metales es el origen geográfico. Un estudio realizado por Nicklisch *et al.* (2017), determinó que el origen geográfico de los peces puede regir la carga de mercurio, es decir sus resultados indicaron que el origen geográfico de las capturas es un factor crítico para determinar niveles de mercurio de los peces dentro de las especies.<sup>54</sup>

En base a los resultados obtenidos en esta investigación podemos concluir que las concentraciones promedio de metales obtenidas han variado respecto a otros trabajos mencionados. Es necesario aclarar que estos trabajos cuentan con tamaños muestrales y características diferentes, por lo tanto, las posibles variaciones en las concentraciones podrían deberse a factores intrínsecos como extrínsecos que pueden influir significativamente en la concentración de estos metales. Las concentraciones observadas en las conservas dependen de diferentes factores como las características de las especies a considerar, los hábitos alimenticios, concentraciones de metales en el agua, temperatura, salinidad, pH, la presencia de sedimentos y cambios estacionales. La absorción de metales varía entre las especies de peces, debido a que depende de la edad, hábitat, tamaño, sexo estado de desarrollo, comportamientos de predación y otros factores fisiológicos.

Aunque la mayoría de las concentraciones resultaron con valores por debajo de los límites establecidos y otros que no se pudieron comparar dado que no existe legislación específica (Al y As), existe un porcentaje de riesgo con respecto a las concentraciones de Cd y Hg encontradas. El atún es una especie altamente consumida por lo que debe ser evaluada para la seguridad de la salud humana.



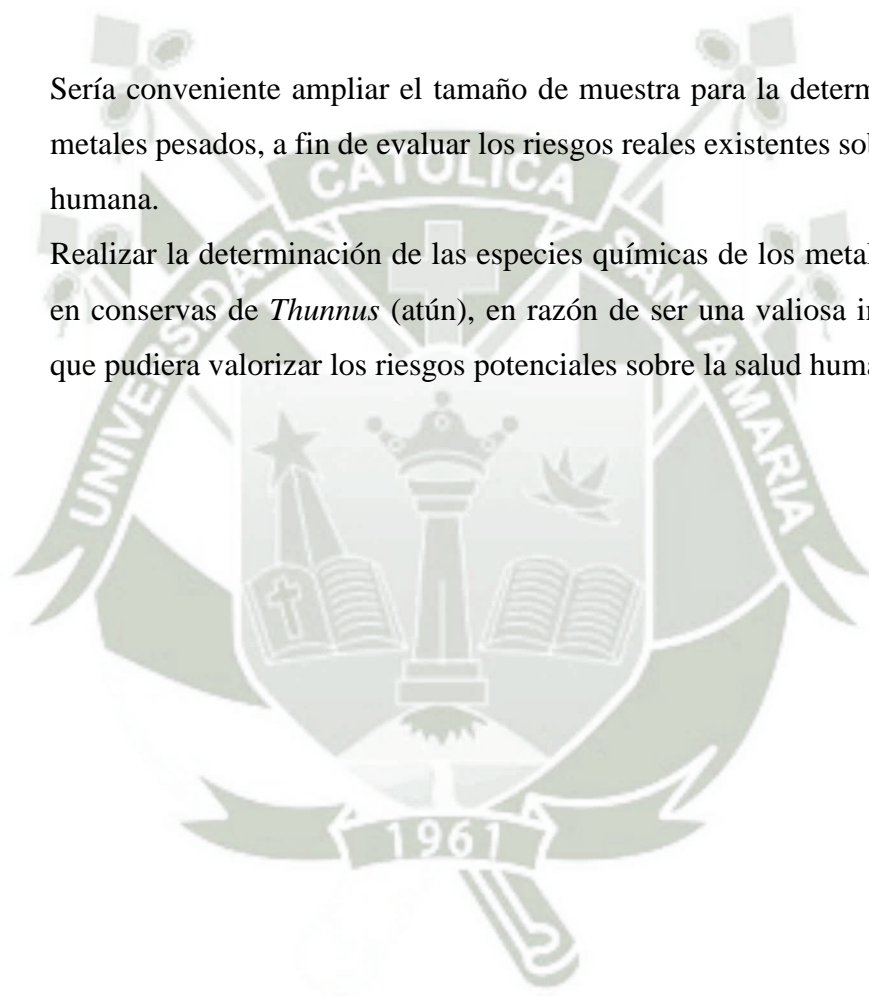
## CONCLUSIONES

1. Se validó el método de Espectrometría de Emisión Óptica Inductivamente acoplado a plasma (ICP-OES) para la determinación de Cd, Pb, Hg, As y Al en conservas de *Thunnus* (atún).
2. Se determinaron las concentraciones de Cd, Hg Al y As, pero los de Pb resultaron no detectables en todas las muestras de conservas de *Thunnus* (atún), para Cd se obtuvo un valor de 0.5-1.25mg/Kg, de Hg 0.25-1mg/Kg, de Al 2.5-24.5mg/Kg y de As 0.75-13.5mg/Kg.
3. Se compararon los resultados obtenidos con los valores establecidos por la Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera del Instituto Tecnológico del Perú, la Comisión de las Comunidades Europeas y la Norma Nacional de la República Popular de China, obteniendo que el 100% de las muestras sobrepasó el límite permitido para Cd. De igual se obtuvo que el 9.4% de las muestras sobrepasó el límite permitido para Hg establecido por las dos primeras entidades. Respecto a los valores de As y Al, dado que no existe regulación sobre estos elementos, no se pudieron comparar.
4. Se compararon los resultados obtenidos en función de la marca y forma de presentación comercial de la conserva de *Thunnus* (atún), resultando que no existe diferencia estadísticamente significativa entre ellas.



## SUGERENCIAS

1. Sería conveniente ampliar el tamaño de muestra para la determinación de metales pesados, a fin de evaluar los riesgos reales existentes sobre la salud humana.
2. Realizar la determinación de las especies químicas de los metales pesados en conservas de *Thunnus* (atún), en razón de ser una valiosa información que pudiera valorizar los riesgos potenciales sobre la salud humana.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mziray, P.; Kimirei, I. A., Bioaccumulation of heavy metals in marine fishes (*Siganus sutor*, *Lethrinus harak*, and *Rastrelliger kanagurta*) from Dar es Salaam Tanzania. *Regional Studies in Marine Science* **2016**, *7*, 72-80.
2. Bosch, A. C.; O'Neill, B.; Sigge, G. O.; Kerwath, S. E.; Hoffman, L. C., Mercury accumulation in Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) with regards to muscle type, muscle position and fish size. *Food Chemistry* **2016**, *190*, 351-356.
3. 6 - Canning of fish and seafood A2 - Featherstone, Susan. In *A Complete Course in Canning and Related Processes (Fourteenth Edition)*, Woodhead Publishing: 2016; pp 231-265.
4. Saha, N.; Mollah, M. Z. I.; Alam, M. F.; Safiur Rahman, M., Seasonal investigation of heavy metals in marine fishes captured from the Bay of Bengal and the implications for human health risk assessment. *Food Control* **2016**, *70*, 110-118.
5. Makedonski, L.; Peycheva, K.; Stancheva, M., Determination of heavy metals in selected black sea fish species. *Food Control* **2017**, *72, Part B*, 313-318.
6. Gu, Y.-G.; Lin, Q.; Wang, X.-H.; Du, F.-Y.; Yu, Z.-L.; Huang, H.-H., Heavy metal concentrations in wild fishes captured from the South China Sea and associated health risks. *Marine pollution bulletin* **2015**, *96 (1)*, 508-512.
7. Morcillo, P.; Esteban, M. Á.; Cuesta, A., Heavy metals produce toxicity, oxidative stress and apoptosis in the marine teleost fish SAF-1 cell line. *Chemosphere* **2016**, *144*, 225-233.
8. Sanches Filho, P. J.; Caldas, J. S.; da Rosa, N. N.; Pereira, F. O. P., Toxicity test and Cd, Cr, Pb and Zn bioaccumulation in *Phalloceros caudimaculatus*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* **2017**, *4 (3)*, 206-211.
9. Sia Su, G. L.; Ramos, G. B.; Sia Su, M. L. L., Bioaccumulation and histopathological alteration of total lead in selected fishes from Manila Bay, Philippines. *Saudi Journal of Biological Sciences* **2013**, *20 (4)*, 353-355.

10. Burger, J.; Gochfeld, M.; Jeitner, C.; Pittfield, T.; Donio, M., Heavy metals in fish from the Aleutians: Interspecific and locational differences. *Environmental Research* **2014**, *131*, 119-130.
11. Albu, P.; Onita, B.; Baranyai, E.; Harangi, S.; Keki, S.; Nagy, L.; Nagy, T.; Vilmos, J.; Dénes, G.; Károly, G.; Ardelean, D.; Ardelean, A.; Hermenean, A., The impact of trace metals on wild fish living in Crisul-Negru river from North-Western Romania: Bioaccumulation and histopathological biomarkers. *Toxicology Letters* **2015**, *238* (2), S128.
12. Storelli, M. M.; Barone, G.; Cuttone, G.; Giungato, D.; Garofalo, R., Occurrence of toxic metals (Hg, Cd and Pb) in fresh and canned tuna: Public health implications. *Food and Chemical Toxicology* **2010**, *48* (11), 3167-3170.
13. Mol, S., Levels of selected trace metals in canned tuna fish produced in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis* **2011**, *24* (1), 66-69.
14. Emami Khansari, F.; Ghazi-Khansari, M.; Abdollahi, M., Heavy metals content of canned tuna fish. *Food Chemistry* **2005**, *93* (2), 293-296.
15. Griboff, J.; Wunderlin, D. A.; Monferran, M. V., Metals, As and Se determination by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) in edible fish collected from three eutrophic reservoirs. Their consumption represents a risk for human health? *Microchemical Journal* **2017**, *130*, 236-244.
16. <Dirección del Servicio Nacional de Sanidad Pesquera, División de Control Sanitario de Medio Ambiente Acuicola. Peru.pdf>.
17. <European Commission 2006 Commission regulation (EC) No. 1881 2006.pdf>. *Official Journal of the European Union L 364* 5-24.
18. <FAO WHO 2011 List of Maximum Levels Recommended for Contaminants by the Joint FAO WHO Codex Alimentarius Commission.pdf>. 8-89.
19. <Norma Nacional de la República Popular de China Inocuidad Alimentaria Límites Máximos de contaminantes en alimentos.pdf>.
20. Rahman, Z.; Singh, V. P., Assessment of heavy metal contamination and Hg-resistant bacteria in surface water from different regions of Delhi, India. *Saudi Journal of Biological Sciences* **2016**.
21. Abarshi, M. M.; Dantala, E. O.; Mada, S. B., Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of croaker fish from oil spilled rivers of Niger Delta region, Nigeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* **2017**, *7* (6), 563-568.

22. Vu, C. T.; Lin, C.; Shern, C.-C.; Yeh, G.; Le, V. G.; Tran, H. T., Contamination, ecological risk and source apportionment of heavy metals in sediments and water of a contaminated river in Taiwan. *Ecological Indicators* **2017**, *82*, 32-42.
23. Varol, M.; Sünbül, M. R., Organochlorine pesticide, antibiotic and heavy metal residues in mussel, crayfish and fish species from a reservoir on the Euphrates River, Turkey. *Environmental Pollution* **2017**, *230*, 311-319.
24. Karunanidhi, K.; Rajendran, R.; Pandurangan, D.; Arumugam, G., First report on distribution of heavy metals and proximate analysis in marine edible puffer fishes collected from Gulf of Mannar Marine Biosphere Reserve, South India. *Toxicology Reports* **2017**, *4*, 319-327.
25. Malvandi, H., Preliminary evaluation of heavy metal contamination in the Zarrin-Gol River sediments, Iran. *Marine Pollution Bulletin* **2017**, *117* (1), 547-553.
26. Li, H.; Lin, L.; Ye, S.; Li, H.; Fan, J., Assessment of nutrient and heavy metal contamination in the seawater and sediment of Yalujiang Estuary. *Marine Pollution Bulletin* **2017**, *117* (1), 499-506.
27. Salas, P. M.; Sujatha, C. H.; Ratheesh Kumar, C. S.; Cheriyan, E., Heavy metal distribution and contamination status in the sedimentary environment of Cochin estuary. *Marine Pollution Bulletin* **2017**, *119* (2), 191-203.
28. Coclet, C.; Garnier, C.; Delpy, F.; Jamet, D.; Durrieu, G.; Le Poupon, C.; Mayer, M.; Misson, B., Trace metal contamination as a toxic and structuring factor impacting ultraphytoplankton communities in a multicontaminated Mediterranean coastal area. *Progress in Oceanography* **2017**.
29. Gu, Y.-G.; Lin, Q.; Huang, H.-H.; Wang, L.-g.; Ning, J.-J.; Du, F.-Y., Heavy metals in fish tissues/stomach contents in four marine wild commercially valuable fish species from the western continental shelf of South China Sea. *Marine Pollution Bulletin*.
30. Ruelas-Inzunza, J.; Patiño-Mejía, C.; Soto-Jiménez, M.; Barba-Quintero, G.; Spanopoulos-Hernández, M., Total mercury in canned yellowfin tuna *Thunnus albacares* marketed in northwest Mexico. *Food and Chemical Toxicology* **2011**, *49* (12), 3070-3073.
31. Baharom, Z. S.; Ishak, M. Y., Determination of Heavy Metal Accumulation in Fish Species in Galas River, Kelantan and Beranang Mining Pool, Selangor. *Procedia Environmental Sciences* **2015**, *30*, 320-325.

32. Jayaprakash, M.; Kumar, R. S.; Giridharan, L.; Sujitha, S. B.; Sarkar, S. K.; Jonathan, M. P., Bioaccumulation of metals in fish species from water and sediments in macrotidal Ennore creek, Chennai, SE coast of India: A metropolitan city effect. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2015**, *120*, 243-255.
33. Paul, D., Research on heavy metal pollution of river Ganga: A review. *Annals of Agrarian Science* **2017**, *15* (2), 278-286.
34. Yi, Y.; Tang, C.; Yi, T.; Yang, Z.; Zhang, S., Health risk assessment of heavy metals in fish and accumulation patterns in food web in the upper Yangtze River, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2017**, *145*, 295-302.
35. Burgos-Núñez, S.; Navarro-Frómata, A.; Marrugo-Negrete, J.; Enamorado-Montes, G.; Urango-Cárdenas, I., Polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in the Cispata Bay, Colombia: A marine tropical ecosystem. *Marine Pollution Bulletin* **2017**, *120* (1), 379-386.
36. Dhanakumar, S.; Solaraj, G.; Mohanraj, R., Heavy metal partitioning in sediments and bioaccumulation in commercial fish species of three major reservoirs of river Cauvery delta region, India. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2015**, *113*, 145-151.
37. Araújo, C. V. M.; Cedeño-Macias, L. A., Heavy metals in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and common dolphinfish (*Coryphaena hippurus*) landed on the Ecuadorian coast. *Science of The Total Environment* **2016**, *541*, 149-154.
38. Demirak, A.; Yilmaz, F.; Levent Tuna, A.; Ozdemir, N., Heavy metals in water, sediment and tissues of *Leuciscus cephalus* from a stream in southwestern Turkey. *Chemosphere* **2006**, *63* (9), 1451-1458.
39. Arulkumar, A.; Paramasivam, S.; Rajaram, R., Toxic heavy metals in commercially important food fishes collected from Palk Bay, Southeastern India. *Marine Pollution Bulletin* **2017**, *119* (1), 454-459.
40. Gu, Y.-G.; Lin, Q.; Huang, H.-H.; Wang, L.-g.; Ning, J.-J.; Du, F.-Y., Heavy metals in fish tissues/stomach contents in four marine wild commercially valuable fish species from the western continental shelf of South China Sea. *Marine Pollution Bulletin* **2017**, *114* (2), 1125-1129.
41. Storelli, M. M.; Barone, G.; Perrone, V. G.; Storelli, A., Risk characterization for polycyclic aromatic hydrocarbons and toxic metals associated with fish consumption. *Journal of Food Composition and Analysis* **2013**, *31* (1), 115-119.

42. ZULUAGA RODRÍGUEZ, J.; GALLEGO RÍOS, S. E.; RAMÍREZ BOTERO, C. M., Content of Hg, Cd, Pb and As in fish species: a review. *Vitae* **2015**, 22 (2), 148-149.
43. Mol, S., Determination of trace metals in canned anchovies and canned rainbow trouts. *Food and Chemical Toxicology* **2011**, 49 (2), 348-351.
44. Boivin, G.; Cournot, G., Manifestaciones óseas y articulares de las intoxicaciones metálicas y metaloideas. *EMC - Aparato Locomotor* **2002**, 35 (1), 1-9.
45. Gündoğdu, A.; Çulha, S. T.; Koçbaş, F.; Culha, M., Heavy metal accumulation in muscles and total bodies of mullus barbatus, trachurus trachurus and engraulis encrasicolus captured from the coast of sinop, black sea. **2016**.
46. Busamongkol, A.; Srinuttrakul, W.; Kewsuwan, P.; Judprasong, K., Evaluation of Toxic and Trace Metals in Thai Fish by INAA. *Energy Procedia* **2014**, 56, 80-84.
47. Rasool, A.; Xiao, T.; Farooqi, A.; Shafeeque, M.; Masood, S.; Ali, S.; Fahad, S.; Nasim, W., Arsenic and heavy metal contaminations in the tube well water of Punjab, Pakistan and risk assessment: A case study. *Ecological Engineering* **2016**, 95, 90-100.
48. Sfakianakis, D. G.; Renieri, E.; Kentouri, M.; Tsatsakis, A. M., Effect of heavy metals on fish larvae deformities: A review. *Environmental Research* **2015**, 137, 246-255.
49. Moreira, Í. P. B.; Baque, C. G. V.; Delgado, H. E. V.; Muentes, X. E. A., DETERMINACIÓN DE MERCURIO EN ENLATADOS DE ATÚN COMERCIAL DE LA CIUDAD DE MANTA, PROVINCIA DE MANABI-ECUADOR. *Alimentos Hoy* **2016**, 24 (37), 70-101.
50. El-Moselhy, K. M.; Othman, A. I.; Abd El-Azem, H.; El-Metwally, M. E. A., Bioaccumulation of heavy metals in some tissues of fish in the Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences* **2014**, 1 (2), 97-105.
51. Alamdar, A.; Eqani, S. A. M. A. S.; Hanif, N.; Ali, S. M.; Fasola, M.; Bokhari, H.; Katsoyiannis, I. A.; Shen, H., Human exposure to trace metals and arsenic via consumption of fish from river Chenab, Pakistan and associated health risks. *Chemosphere*.
52. Viñas, J.; Tudela, S., A Validated Methodology for Genetic Identification of Tuna Species (Genus Thunnus). *PLoS ONE* **2009**, 4 (10), e7606.
53. <Review of the State of word marine fishery resources 2011. FAO. FIRMS - Marine Resource fact sheets - Tuna and tuna-like species - Global.pdf>.

54. Nicklisch, S. C. T.; Bonito, L. T.; Sandin, S.; Hamdoun, A., Mercury levels of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) are associated with capture location. *Environmental Pollution* **2017**, *229*, 87-93.
55. Munschy, C.; Bodin, N.; Potier, M.; Héas-Moisan, K.; Pollono, C.; Degroote, M.; West, W.; Hollanda, S. J.; Puech, A.; Bourjea, J.; Nikolic, N., Persistent Organic Pollutants in albacore tuna (*Thunnus alalunga*) from Reunion Island (Southwest Indian Ocean) and South Africa in relation to biological and trophic characteristics. *Environmental Research* **2016**, *148*, 196-206.
56. Chen, C.-Y.; Lai, C.-C.; Chen, K.-S.; Hsu, C.-C.; Hung, C.-C.; Chen, M.-H., Total and organic mercury concentrations in the muscles of Pacific albacore (*Thunnus alalunga*) and bigeye tuna (*Thunnus obesus*). *Marine Pollution Bulletin* **2014**, *85* (2), 606-612.
57. Estess, E. E.; Klinger, D. H.; Coffey, D. M.; Gleiss, A. C.; Rowbotham, I.; Seitz, A. C.; Rodriguez, L.; Norton, A.; Block, B.; Farwell, C., Bioenergetics of captive yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Aquaculture* **2017**, *468*, 71-79.
58. Silbande, A.; Adenet, S.; Smith-Ravin, J.; Joffraud, J.-J.; Rochefort, K.; Leroi, F., Quality assessment of ice-stored tropical yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and influence of vacuum and modified atmosphere packaging. *Food Microbiology* **2016**, *60*, 62-72.
59. Endo, T.; Kimura, O.; Fujii, Y.; Haraguchi, K., Relationship between mercury, organochlorine compounds and stable isotope ratios of carbon and nitrogen in yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) taken from different regions of the Pacific and Indian Oceans. *Ecological Indicators* **2016**, *69*, 340-347.
60. Chiesa, L. M.; Labella, G. F.; Panseri, S.; Pavlovic, R.; Bonacci, S.; Arioli, F., Distribution of persistent organic pollutants (POPS) IN wild Bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) from different FAO capture zones. *Chemosphere* **2016**, *153*, 162-169.
61. Ju, Y.-R.; Chen, C.-W.; Chen, C.-F.; Chuang, X.-Y.; Dong, C.-D., Assessment of heavy metals in aquaculture fishes collected from southwest coast of Taiwan and human consumption risk. *International Biodeterioration & Biodegradation* **2017**.
62. Abraham, M. R.; Susan, T. B., Water contamination with heavy metals and trace elements from Kilembe copper mine and tailing sites in Western Uganda; implications for domestic water quality. *Chemosphere* **2017**, *169*, 281-287.

63. Castañé, P.; Topalián, M.; Cordero, R.; Salibián, A., Influencia de la especiación de los metales pesados en medio acuático como determinante de su toxicidad. *Revista de Toxicología* **2003**, 20 (1).
64. Kibria, G., Trace metals/heavy metals and its impact on environment, biodiversity and human health-A short review. Research: 2014.
65. Bernhoft, R. A., Cadmium toxicity and treatment. *The Scientific World Journal* **2013**, 2013.
66. Castro-González, M. I.; Méndez-Armenta, M., Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **2008**, 26 (3), 263-271.
67. García, P. E. P.; Cruz, M. I. A., Los efectos del cadmio en la salud. *Rev Esp Méd Quir Volumen* **2012**, 17 (3), 200.
68. Choong, G.; Liu, Y.; Templeton, D. M., Interplay of calcium and cadmium in mediating cadmium toxicity. *Chemico-Biological Interactions* **2014**, 211, 54-65.
69. Rahman, M. S.; Molla, A. H.; Saha, N.; Rahman, A., Study on heavy metals levels and its risk assessment in some edible fishes from Bangshi River, Savar, Dhaka, Bangladesh. *Food Chemistry* **2012**, 134 (4), 1847-1854.
70. Ninkov, M.; Popov Aleksandrov, A.; Mirkov, I.; Demenesku, J.; Mileusnic, D.; Jovanovic Stojanov, S.; Golic, N.; Tolinacki, M.; Zolotarevski, L.; Kataranovski, D.; Brceski, I.; Kataranovski, M., Strain differences in toxicity of oral cadmium intake in rats. *Food and Chemical Toxicology* **2016**, 96, 11-23.
71. Berntssen, M. H. G.; Maage, A.; Lundebye, A.-K., Chapter 20 - Chemical Contamination of Finfish With Organic Pollutants and Metals. In *Chemical Contaminants and Residues in Food (Second Edition)*, Woodhead Publishing: 2017; pp 517-551.
72. Kumar, P. S.; Ramakrishnan, K.; Kirupha, S. D.; Sivanesan, S., Thermodynamic and kinetic studies of cadmium adsorption from aqueous solution onto rice husk. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* **2010**, 27, 347-355.
73. Gabr, S. A.; Alghadir, A. H.; Ghoniem, G. A., Biological activities of ginger against cadmium-induced renal toxicity. *Saudi Journal of Biological Sciences* **2017**.
74. Kushwaha, A.; Hans, N.; Kumar, S.; Rani, R., A critical review on speciation, mobilization and toxicity of lead in soil-microbe-plant system and bioremediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2018**, 147 (Supplement C), 1035-1045.



75. González-Estecha, M.; Trasobares Iglesias, E.; Cano Escudero, S.; Oliván Osambela, P.; Fuentes Ferrer, M.; Fernández Pérez, C.; Martínez García, M. J.; García González, Á. L.; Gaspar Blázquez, M. J.; González Revaldería, J.; Barciela Alonso, M. C.; Herbello Hermelo, P.; Bermejo Barrera, P.; Guillén Pérez, J. J.; Miravalles González, E.; Arroyo Fernández, M., Determinación de plomo y cadmio en sangre y su relación con fuentes de exposición. Estudio PESA, 2008. *Revista del Laboratorio Clínico* **2009**, 2 (3), 115-123.
76. Rebelo, F. M.; Caldas, E. D., Arsenic, lead, mercury and cadmium: Toxicity, levels in breast milk and the risks for breastfed infants. *Environmental Research* **2016**, 151, 671-688.
77. Liang, P.; Wu, S.-C.; Zhang, J.; Cao, Y.; Yu, S.; Wong, M.-H., The effects of mariculture on heavy metal distribution in sediments and cultured fish around the Pearl River Delta region, south China. *Chemosphere* **2016**, 148, 171-177.
78. Kim, J.-H.; Kang, J.-C., The lead accumulation and hematological findings in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* exposed to the dietary lead (II) concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2015**, 115 (Supplement C), 33-39.
79. Tuzen, M.; Soylak, M., Determination of trace metals in canned fish marketed in Turkey. *Food Chemistry* **2007**, 101 (4), 1378-1382.
80. Ortega, M., Niveles de plomo y mercurio en muestras de carne de pescado importado y local. *Pediatría* **2014**, 47 (3), 51-54.
81. Chahid, A.; Hilali, M.; Benlhachimi, A.; Bouzid, T., Contents of cadmium, mercury and lead in fish from the Atlantic sea (Morocco) determined by atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* **2014**, 147 (Supplement C), 357-360.
82. Palazón Bru, I.; González-Estecha, M.; Arroyo Fernández, M., Procedimiento de validación de un método para cuantificar mercurio en sangre por espectroscopía de absorción atómica con descomposición térmica y amalgamación. *Revista del Laboratorio Clínico* **2015**, 8 (2), 92-96.
83. Mahbub, K. R.; Krishnan, K.; Naidu, R.; Andrews, S.; Megharaj, M., Mercury toxicity to terrestrial biota. *Ecological Indicators* **2017**, 74, 451-462.
84. Gonzalez-Raymat, H.; Liu, G.; Liriano, C.; Li, Y.; Yin, Y.; Shi, J.; Jiang, G.; Cai, Y., Elemental mercury: Its unique properties affect its behavior and fate in the environment. *Environmental Pollution* **2017**, 229, 69-86.

85. Obeid, P. J.; El-Khoury, B.; Burger, J.; Aouad, S.; Younis, M.; Aoun, A.; El-Nakat, J. H., Determination and assessment of total mercury levels in local, frozen and canned fish in Lebanon. *Journal of Environmental Sciences* **2011**, 23 (9), 1564-1569.
86. Bjørklund, G.; Dadar, M.; Mutter, J.; Aaseth, J., The toxicology of mercury: Current research and emerging trends. *Environmental Research* **2017**, 159, 545-554.
87. Association, A., *Aluminum: properties and physical metallurgy*. ASM International: 1984.
88. Chi, Y.; Gu, G.; Yu, H.; Chen, C., Laser surface alloying on aluminum and its alloys: A review. *Optics and Lasers in Engineering* **2018**, 100 (Supplement C), 23-37.
89. Jones, D. L.; Ryan, P. R., Aluminum Toxicity A2 - Thomas, Brian. In *Encyclopedia of Applied Plant Sciences (Second Edition)*, Murray, B. G.; Murphy, D. J., Eds. Academic Press: Oxford, 2017; pp 211-218.
90. BARRAGÁN, I. R.; DUARTE, W. R.; Barato, P.; MOCHA, P. E., Importancia del ciclo biogeoquímico del aluminio (Al) con relación con la acidez de los suelos en la producción piscícola y la salud pública; cuál sería el caso de la Orinoquia? *Orinoquia* **2007**, 11 (2), 81-94.
91. Exley, C., The toxicity of aluminium in humans. *Morphologie* **2016**, 100 (329), 51-55.
92. Nazari, A. M.; Radzinski, R.; Ghahreman, A., Review of arsenic metallurgy: Treatment of arsenical minerals and the immobilization of arsenic. *Hydrometallurgy* **2016**.
93. Li, J.; Sun, C.; Zheng, L.; Jiang, F.; Wang, S.; Zhuang, Z.; Wang, X., Determination of trace metals and analysis of arsenic species in tropical marine fishes from Spratly islands. *Marine Pollution Bulletin* **2017**, 122 (1), 464-469.
94. Leclercq, A.; Nonell, A.; Todolí Torró, J. L.; Bresson, C.; Vio, L.; Vercouter, T.; Chartier, F., Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part II. Practical considerations. *Analytica Chimica Acta* **2015**, 885, 57-91.
95. Leclercq, A.; Nonell, A.; Todolí Torró, J. L.; Bresson, C.; Vio, L.; Vercouter, T.; Chartier, F., Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part I. Theoretical considerations. *Analytica Chimica Acta* **2015**, 885, 33-56.

96. Hou, X.; Jones, B. T., Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Ltd: 2006.
97. Novaes, C. G.; Bezerra, M. A.; da Silva, E. G. P.; Santos, A. M. P. d.; Romão, I. L. d. S.; Santos Neto, J. H., A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). *Microchemical Journal* **2016**, *128*, 331-346.
98. <ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures Text and Methodology 2005.pdf>.
99. <AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botánicas, 2002.pdf>.
100. <Chemical Analysis Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry (Wiley, 2003).pdf>.
101. HERRERA, C.; TELLO, M.; IBAÑEZ, I.; VELASQUEZ, L.; MANCINI, M.; ALVAREZ, S., DIGESTION PROTEICA CON MICROONDAS Y SU APLICACIÓN EN PREPARACION DE MUESTRAS PARA ANALISIS DE HARINA DE PESCADO. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química* **2001**, *46*, 487-494.
102. Correia, F. O.; Silva, D. S.; Costa, S. S. L.; Silva, I. K. V.; da Silva, D. R.; Alves, J. d. P. H.; Garcia, C. A. B.; Maranhão, T. d. A.; Passos, E. A.; Araujo, R. G. O., Optimization of microwave digestion and inductively coupled plasma-based methods to characterize cassava, corn and wheat flours using chemometrics. *Microchemical Journal* **2017**, *135* (Supplement C), 190-198.
103. Amaral, C. D. B.; Fialho, L. L.; Camargo, F. P. R.; Pirola, C.; Nóbrega, J. A., Investigation of analyte losses using microwave-assisted sample digestion and closed vessels with venting. *Talanta* **2016**, *160* (Supplement C), 354-359.
104. Nóbrega, J. A.; Pirola, C.; Fialho, L. L.; Rota, G.; de Campos Jordão, C. E. K. M. A.; Pollo, F., Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? *Talanta* **2012**, *98* (Supplement C), 272-276.
105. Hseu, Z.-Y., Evaluating heavy metal contents in nine composts using four digestion methods. *Bioresource Technology* **2004**, *95* (1), 53-59.
106. Martin, T. D.; Brockhoff, C. A.; Creed, J. T.; Long, S. E., Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Methods for determination of metals in environmental samples. CRC Press Inc., Boca Raton* **1992**, 33-91.



## ANEXO N°1

### Concentraciones de Cd (mg/Kg) agrupadas por presentación y marca comercial

MARCA	Lecturas	Filete en aceite			Filete en agua			Trozo en aceite			Sólido en aceite			Grated en aceite		
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
A	Lectura 1	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	1	1	0.5	0.5	0.75	-	-	-
	Lectura 2	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.75	0.5	0.5	0.75	-	-	-
B	Lectura 1	0.5	1.25	0.5	-	-	-	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5	-	-	-
	Lectura 2	0.5	1	0.5	-	-	-	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5	-	-	-
C	Lectura 1	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	-	-	-
	Lectura 2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-	-	-
D	Lectura 1	-	-	-	0.5	0.5	0.75	0.5	0.75	0.75	0.75	1	0.5	0.5	0.75	0.5
	Lectura 2	-	-	-	0.5	0.5	0.75	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	0.5	0.5	0.75	0.5
E	Lectura 1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	1.25	0.5	0.5	0.5	0.5
	Lectura 2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	1.25	0.5	0.5	0.5	0.5
F	Lectura 1	0.5	0.5	0.5	-	-	-	0.5	0.5	0.5	-	-	-	1.25	0.5	0.5
	Lectura 2	0.5	0.5	0.5	-	-	-	0.5	0.5	0.5	-	-	-	1.25	0.5	0.5
G	Lectura 1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5
	Lectura 2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
H	Lectura 1	0.5	0.5	0.75	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	-	-	-
	Lectura 2	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.75	-	-	-

## ANEXO N°2

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para Cd

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Filete en aceite	7	3.875	0.553571429	0.00562169
Filete en agua	6	3.16666667	0.527777778	0.00185185
Trozo en aceite	8	4.625	0.578125	0.00815352
Sólido en aceite	7	4.04166667	0.577380952	0.0141369
Grated en aceite	4	2.375	0.59375	0.0120081

Resultados del Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para Cd

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.0149842	9	0.003746073	0.457851	0.76587766	2.7277653
Dentro de los grupos	0.2209098	27	0.008181845			1
Total	0.2358941	31				

### ANEXO N°3

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la  
marca comercial para Cd

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
A	4	2.41666667	0.60416667	0.01099537
B	3	1.625	0.54166667	0.02256944
C	4	2.08333333	0.52083333	0.0005787
D	4	2.54166667	0.63541667	0.00390625
E	5	2.83333333	0.56666667	0.01180556
F	3	1.75	0.58333333	0.02083333
G	5	2.625	0.525	0.00138889
H	4	2.20833333	0.55208333	0.00159144

Resultados del Análisis de Varianza en función de la marca  
comercial para Cd

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.04509549	7	0.00644221	0.81034707	0.58739884	2.42262853
Dentro de los grupos	0.19079861	24	0.00794994			
Total	0.2358941	31				

## ANEXO N°4

### Concentraciones de Hg (mg/Kg) agrupadas por presentación y marca comercial

MARCA	Lecturas	Filete en aceite			Filete en agua			Trozo en aceite			Sólido en aceite			Grated en aceite		
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
A	Lectura 1	0.5	0.5	0.75	0.75	0.75	0.75	0.25	0	0	0.25	0.5	0.5	-	-	-
	Lectura 2	0.5	0.25	0.75	0.75	1	1	0.25	0.25	0	0.25	0.5	0.5	-	-	-
B	Lectura 1	0.25	0.25	0.25	-	-	-	0.25	0	0.75	0.25	0.25	0.25	-	-	-
	Lectura 2	0.25	0.25	0.25	-	-	-	0.25	0	0.5	0.25	0.25	0.25	-	-	-
C	Lectura 1	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0	-	-	-
	Lectura 2	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-	-
D	Lectura 1	-	-	-	0.25	0.25	0.75	0.25	0.25	0.75	0.5	0.25	0.25	0.5	0.25	0.5
	Lectura 2	-	-	-	0.25	0.25	0.75	0.5	0.25	0.75	0.75	0	0.25	0.5	0	0.5
E	Lectura 1	0.25	0.5	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.5	0.5	0.25	0	0.25	0.25	0.5	0.25
	Lectura 2	0.5	0.25	0.25	0.25	0.5	0.5	0.25	0.25	0.75	0.5	0.25	0	0.25	0.25	0.5
F	Lectura 1	0.25	0.25	0.75	-	-	-	0.25	0.25	0.5	-	-	-	1	1	0.5
	Lectura 2	0.25	0.25	0.5	-	-	-	0.25	0.25	0.5	-	-	-	1	0.75	0.5
G	Lectura 1	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	0.75	0.5
	Lectura 2	0.5	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	1	0.75	0.5
H	Lectura 1	0.25	0.25	1	0.25	0.5	0.75	0.25	0.25	0.75	0.5	0.25	0.75	-	-	-
	Lectura 2	0.5	0.25	1	0.25	0.5	0.75	0.25	0.25	0.75	0.5	0.25	1	-	-	-



## ANEXO N°5

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para Hg

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Filete en aceite	7	2.70833333	0.38690476	0.013144841
Filete en agua	6	2.66666667	0.44444444	0.046296296
Trozo en aceite	8	2.58333333	0.32291667	0.011780754
Sólido en aceite	7	2.20833333	0.31547619	0.015542328
Grated en aceite	4	2.25	0.5625	0.058449074

Resultados del Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para Hg

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.21162988	4	0.05290747	2.159759546	0.1007134	2.72776531
Dentro de los grupos	0.661417	27	0.02449693			
Total	0.87304688	31				

**ANEXO N°6**

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la  
marca comercial para Hg

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
A	4	1.91666667	0.47916667	0.08622685
B	3	0.79166667	0.26388889	0.0005787
C	4	1.04166667	0.26041667	0.00159144
D	4	1.58333333	0.39583333	0.00289352
E	5	1.70833333	0.34166667	0.00729167
F	3	1.5	0.5	0.06423611
G	5	1.875	0.375	0.046875
H	4	2	0.5	0.00347222

Resultados del Análisis de Varianza en función de la marca  
comercial para Hg

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.2441985	7	0.0348855	1.33140517	0.27885103	2.42262853
Dentro de los grupos	0.62884838	24	0.02620202			
Total	0.87304688	31				

## ANEXO N°7

### Concentraciones de Al (mg/Kg) agrupadas por presentación y marca comercial

MARCA	Lecturas	Filete en aceite			Filete en agua			Trozo en aceite			Sólido en aceite			Grated en aceite		
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
A	Lectura 1	6.25	8	9	8.5	13	9	6.25	9.5	10.75	11.5	6.5	4	-	-	-
	Lectura 2	6.75	7.75	8.75	8.5	13	9.25	6.25	9	11.5	11.5	6.5	3.75	-	-	-
B	Lectura 1	10.5	13.5	10.25	-	-	-	6.75	9.25	6.75	12.5	11.75	8	-	-	-
	Lectura 2	10.5	13.75	10.25	-	-	-	6.75	9	7	12.25	11.75	7.5	-	-	-
C	Lectura 1	11.25	7	6.25	15.5	7.25	19.75	24.25	8.25	19.25	7	9	3.75	-	-	-
	Lectura 2	14.5	7.25	6	15.75	7.25	19.75	24.25	8.5	19	7.25	8.75	3.75	-	-	-
D	Lectura 1	-	-	-	21.75	7	7	23.75	14.25	13.5	9.5	16.75	3.75	8.75	18.75	5.5
	Lectura 2	-	-	-	21.25	6.75	7.25	23.75	14.25	13.75	9.5	16.5	3.75	8.75	19	5.5
E	Lectura 1	12.25	6	13	17.25	5	4.25	7.75	8.5	8.25	8.25	15	2.5	9	7.75	6.25
	Lectura 2	12.5	6.25	13.25	17.5	5	4.25	7.75	8.5	8	8	15	2.5	8.75	7.75	6
F	Lectura 1	3.5	8	24.75	-	-	-	4.5	8.25	12.5	-	-	-	3.75	5.75	6.75
	Lectura 2	3.5	8	24.25	-	-	-	4.5	8.25	12.75	-	-	-	3.75	5.5	6.75
G	Lectura 1	15.5	18.25	11.75	18.75	6.75	19.5	18	23.75	13.75	7	6.25	42.5	9.5	4	6.5
	Lectura 2	15.75	18.25	11.75	18.25	6.5	19.5	17.5	23.25	13.75	7.25	6.75	42.25	9.5	4	6.5
H	Lectura 1	6.75	6	12.25	18.5	12.75	9.5	13.75	11.75	6	9.5	15	4.75	-	-	-
	Lectura 2	7	6	12.25	19	13	9.25	14.25	12	6	10	15.25	4.75	-	-	-

### ANEXO N°8

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para Al

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Filete en aceite	7	74.0416667	10.577381	6.7641369
Filete en agua	6	73.6666667	12.2777778	5.69212963
Trozo en aceite	8	96.4583333	12.0572917	21.9280444
Sólido en aceite	7	71.5416667	10.2202381	16.0524967
Grated en aceite	4	30.6666667	7.6666667	5.88310185

Resultados del Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para Al

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	67.7013	4	16.9253362	1.35802627	0.2745462	2.72776531
Dentro de los grupos	336.506	27	12.4631876			
Total	404.207	31				

### ANEXO N° 9

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la  
marca comercial para Hg

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
A	4	34.125	8.53125	1.69256366
B	3	29.6666667	9.88888889	4.16030093
C	4	46.75	11.6875	24.0746528
D	4	50.0416667	12.5104167	10.3997396
E	5	43.6666667	8.73333333	1.25486111
F	3	25.8333333	8.61111111	10.990162
G	5	73.75	14.75	23.4366319
H	4	42.5416667	10.6354167	4.95876736

Resultados del Análisis de Varianza en función de la marca  
comercial para Hg

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	151.763343	7	21.6804775	2.06117523	0.08828997	2.42262853
Dentro de los grupos	252.444068	24	10.5185028			
Total	404.207411	31				

## ANEXO N°10

Concentraciones de As (mg/Kg) agrupadas por presentación y marca comercial

MARCA	Lecturas	Filete en aceite			Filete en agua			Trozo en aceite			Sólido en aceite			Grated en aceite		
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
A	Lectura 1	1.75	3.5	1.25	2.5	2	2	1.75	7.5	8.5	2.25	1.75	1.25	-	-	-
	Lectura 2	2	3.5	1.5	2.25	1.75	2.25	2.5	7.75	10.25	2	2	2	-	-	-
B	Lectura 1	1	2	2	-	-	-	3	1.5	1.75	0.75	2.25	1.5	-	-	-
	Lectura 2	1	2	2	-	-	-	2.5	1.5	2.25	0.5	2.75	1.25	-	-	-
C	Lectura 1	1.75	2.25	1.75	2.75	1.75	2.5	1.75	2	2	2.25	2.5	0.75	-	-	-
	Lectura 2	2.25	2.25	2	3.25	2	2	1.5	2.25	1.75	2.5	2.5	1.5	-	-	-
D	Lectura 1	-	-	-	1.75	1.75	1.75	3	2.75	1.75	3	8.5	2.25	1.5	8.5	1.75
	Lectura 2	-	-	-	1.5	1.5	1.75	2.5	1.75	2	2.25	7.75	1.25	1.25	7.75	1.25
E	Lectura 1	2	1.5	1.5	2.5	2.75	2.25	2.25	2.25	2.25	1.5	2.5	1.75	2.75	2.25	1.75
	Lectura 2	2.25	1.75	1.5	2.5	2.5	1.75	2.5	2	2.75	1.5	2	2	2.75	2.25	1.5
F	Lectura 1	2.5	2.75	1.5	-	-	-	2	2.25	1.5	-	-	-	1.5	1.75	1.5
	Lectura 2	2.25	2.25	1.5	-	-	-	2	2.25	1.25	-	-	-	1.75	1.75	1
G	Lectura 1	2.5	1.25	2.25	2	2.25	2	2.25	2.25	1.75	2.75	2.25	2.25	2	1.5	1.75
	Lectura 2	1.25	1.5	1.5	2.25	2	1.75	1.75	1.75	2.75	2.75	2.25	2.5	2	1.5	2
H	Lectura 1	1.75	14	1.25	1.75	5.75	1.75	2	4.5	2	2	4	0.75	-	-	-
	Lectura 2	2	13.5	1.25	1.25	5.75	1.5	2.25	4.75	2	2	3.5	1.25	-	-	-

### ANEXO N°11

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para As

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Filete en aceite	7	17.16666667	2.45238095	2.00777116
Filete en agua	6	13.54166667	2.25694444	0.18640046
Trozo en aceite	8	21.70833333	2.71354167	2.3062686
Sólido en aceite	7	16.125	2.30357143	0.76719577
Grated en aceite	4	9.208333333	2.30208333	0.90321181

Resultados del Análisis de Varianza en función de la presentación comercial para As

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1	4	0.25092489	0.18594518	0.94368348	2.72776531
Dentro de los grupos	36	27	1.34945628			
Total	37	31				

## ANEXO N°12

Resumen de los datos a considerar para el Análisis de Varianza en función de la marca comercial para As

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
A	4	12.625	3.15625	4.62890625
B	3	5.25	1.75	0.09027778
C	4	8.29166667	2.07291667	0.04557292
D	4	11.79166667	2.94791667	1.35807292
E	5	10.54166667	2.10833333	0.07864583
F	3	5.54166667	1.84722222	0.08564815
G	5	9.95833333	1.99166667	0.08541667
H	4	13.75	3.4375	2.23206019

Resultados del Análisis de Varianza en función de la marca comercial para As

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	11.6370804	7	1.66244006	1.54633968	0.1996121	2.42262853
Dentro de los grupos	25.8019387	24	1.07508078			
Total	37.4390191	31				