

Determinación de mercurio divalente en proteínas cárnicas que constituyen la dieta de los pobladores de 12 localidades en un municipio minero de la subregión del Bajo Cauca, Antioquia¹

Natalia Cadavid Muñoz², Dubán González-Álvarez³, Azucena Cabrera Jaramillo⁴,
Álvaro Arango Ruiz⁵, Alejandro Soto-Ospina⁶

Resumen

Las regiones en donde se presenta la minería aluvial de manera informal implican elevados niveles de mercurio en el entorno y, a su vez, graves afectaciones en la salud pública. El mercurio divalente se encuentra en solución acuosa en ríos y lagos, por tanto, las altas concentraciones de mercurio en los peces se deben a la cantidad de reacciones que se pueden generar en el entorno, por el contrario, para

animales terrestres se relaciona directamente en el consumo de alimentos contaminados. **Objetivo:** evaluar la contaminación por mercurio en su forma divalente (Hg^{2+}) en muestras de pescado, cerdo y pollo de la región minera del municipio El Bagre, Antioquia. **Metodología:** Se recolectaron muestras de cerdo, pollo y pescado en doce sitios rurales de El Bagre, Antioquia. La cuantificación del mercurio divalente (Hg^{2+}) se realizó a través de un

- 1 Artículo original resultado de investigación del proyecto “Análisis de riesgo de mercurio y metilmercurio en regiones de Antioquia asociadas a minería de oro” financiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología, e Innovación código 127572553554, contrato 862-2015.
- 2 Química Farmacéutica, Magíster en Química con Área de Profundización en Química Analítica y Candidata a doctora en Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Antioquia, Colombia. Correo electrónico: natalia.cadavid1@udea.edu.co / ORCID: 0000-0002-3082-8808.
- 3 Ingeniero de Alimentos y Magíster en Ingeniería en Salud y Alimentación. Miembro del Grupo de Investigación en Alimentos (GRIAL), Facultad de Ingenierías, Unilasallista Corporación Universitaria, Caldas, Antioquia, Colombia. Correo electrónico: dgonzalez74@unilasallista.edu.co / ORCID: 0000-0002-3358-2778.
- 4 Médica Veterinaria y Magíster en Epidemiología. Miembro del Grupo de Investigación en Medicina Veterinaria GIVET, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Grupo de Investigación Aplicada al Medio Ambiente – GAMA, Facultad de Ingenierías, Unilasallista Corporación Universitaria, Caldas, Antioquia, Colombia. Correo electrónico: gcabrera@unilasallista.edu.co ORCID: 0000-0003-1527-1885.
- 5 Ingeniero Químico, Magíster en Ingeniería Ambiental y Doctor en Ingeniería. Profesor Investigador Unilasallista, Director del Grupo de Investigación Aplicada al Medio Ambiente – GAMA, Facultad de Ingenierías, Unilasallista Corporación Universitaria, Caldas, Antioquia, Colombia. Correo electrónico: alarango@unilasallistadocentes.edu.co ORCID: 0000-0001-6204-850X.
- 6 Químico (Qco.) Ph.D. en Ciencias Químicas. Líder del Grupo de Investigación en Alimentos (GRIAL), Facultad de Ingenierías, Unilasallista Corporación Universitaria, Caldas, Antioquia, Colombia. Correo electrónico: pfalejandro.soto@gmail.com. ORCID: 0000-0003-2382-7038.

Autor para Correspondencia: alarango@unilasallistadocentes.edu.co
Recibido: 04/09/2022 Aceptado: 06/12/2022

*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

cromatógrafo de gases Trace 1300 acoplado a un espectrómetro de masas Thermo Fisher TSQ 8000 de triple cuadrupolo (GC-MS). **Resultados:** se encontraron diferencias en términos estadísticos en la concentración de mercurio divalente en matrices de proteína y la localidad. La proteína de cerdo no mostró resultados significativos. En cuanto a la matriz pollo se encontró la mayor concentración ($288,63 \pm 1004,3 \mu\text{g/g}$) y variabilidad (CV: 347,95%). En la matriz pescado se encontró la mayor concentración promedio en $5,037 \mu\text{g/g}$ y la menor en $0,702 \mu\text{g/g}$, es decir que

la concentración de mercurio divalente en pollo es mucho mayor en comparación con la encontrada en pescado. No obstante, el comportamiento no es generalizado en todas las localidades. **Conclusión:** en las matrices proteicas se encontraron concentraciones elevadas de mercurio divalente que se relaciona con la localidad de la muestra, pues existe la presencia de minería ilegal. Además, se evidencia un riesgo latente en el ámbito de la toxicología de los seres vivos.

Palabras clave: mercurio divalente, mercurio, proteína, minería,

Determination of divalent mercury in meat proteins that constitute the diet of the inhabitants of 12 localities in a mining municipality of the Bajo Cauca subregion, Antioquia

Abstract

It has been identified that the regions where informal alluvial mining occurs have had high levels of Mercury, thus, a serious problem for public health. In other words, Divalent Mercury has been found in aqueous solutions in rivers and lakes; therefore, high concentrations of mercury in fish have been presented due to the number of reactions that have been generated in the environment; by contrast, terrestrial animal has been directly related to the consumption of contaminated food. Then, the objective has been evaluating mercury contamination in its divalent form (Hg^{2+}) in samples of fish, pork, and chicken from the mining region of the municipality of El Bagre, Antioquia.

With this in mind, as described in this methodology has presented samples, which were taken from individual animals such as pork, chicken, and fish, from twelve rural sites in El Bagre, Antioquia. As far, quantifying divalent mercury (Hg^{2+}) was performed using a Trace 1300 gas chromatograph coupled to a Thermo Fisher TSQ 8000 triple quadrupole mass spectrometer (GC-MS). Results showed Statistical differences found in the concentration of divalent mercury in protein matrices and locality. The pork protein did not show significant results. In the case of chicken matrix; was found the highest concentration ($288.63 \pm 1004.3 \mu\text{g/g}$) and variability (CV: 347.95%). Added to that, in fish matrix, the highest average concentration was found at $5.037 \mu\text{g/g}$ and the lowest at $0.702 \mu\text{g/g}$, i.e. the concentration of chicken was higher than the fish. However, the behavior was not generalized in all locations. As a result of these findings, high concentrations of divalent mercury were found in the protein of matrices, which were

related to the location where the sample was taken; since there has been the presence of illegal mining. In addition, a latent risk was

evidenced in the field of toxicology of living beings.

Keywords: divalent mercury, mercury, protein, mining.

Determinação de mercúrio divalente em proteínas de carne que constituem a dieta dos habitantes de 12 localidades de um município mineiro na sub-região Bajo Cauca, Antioquia

Resumo

As regiões onde a mineração aluvial ocorre informalmente implica altos níveis de mercúrio no meio ambiente e, por sua vez, graves efeitos na saúde pública. O mercúrio divalente é encontrado em solução aquosa em rios e lagos, portanto, as altas concentrações de mercúrio nos peixes se devem ao número de reações que podem ser geradas no entorno, ao contrário, para os animais terrestres está diretamente relacionado com o consumo de alimentos contaminados. **Objetivo:** avaliar a contaminação por mercúrio em sua forma divalente (Hg^{2+}) em amostras de peixe, porco e frango da região mineira do município de El Bagre, Antioquia. **Metodologia:** Amostras de carne de porco, frango e peixe foram coletadas em doze áreas rurais de El Bagre, Antioquia. O mercúrio divalente (Hg^{2+}) foi quantificado usando um cromatógrafo gasoso Trace 1300

acoplado a um espectrômetro de massa triplo quadrupolo Thermo Fisher TSQ 8000 (GC-MS). **Resultados:** foram encontradas diferenças em termos estatísticos na concentração de mercúrio divalente nas matrizes proteicas e na localidade. A proteína de porco não apresentou resultados significativos. Em relação à matriz de frango, foram encontradas as maiores concentrações ($288,63 \pm 1004,3 \mu g/g$) e variabilidade (CV: 347,95%). Na matriz de peixes, a maior concentração média foi encontrada em $5,037 \mu g/g$ e a menor em $0,702 \mu g/g$, o que significa que a concentração de mercúrio divalente em frango é muito maior em relação à encontrada em peixes. No entanto, o comportamento não é generalizado em todas as localidades. **Conclusão:** foram encontradas altas concentrações de mercúrio divalente nas matrizes proteicas, o que está relacionado à localização da amostra, pois há presença de mineração ilegal. Além disso, há evidências de um risco latente no campo da toxicologia dos seres vivos.

Palavras-chave: mercúrio divalente, mercúrio, proteína, mineira.

Introducción

El mercurio es un metal líquido a temperatura ambiente Hg^0 (1), tiene una densidad de $13,534\text{g/cm}^3$ y en su aplicabilidad de ciencia básica, se usó para medir la presión atmosférica, debido a su presión hidrostática. Este elemento tiene la capacidad de cambiar de estado físico como el gaseoso, debido a su presión de vapor alta, lo que significa que puede ser inhalado por animales y el ser humano (Clayden, et al., 2013; Kim et al., 2021). Enfocándonos en animales de consumo por el ser humano e incluso en el mismo humano, no es la única manera en la que se da su ingreso a circulación, puesto que puede ser ingerido a través de alimentos, cuerpos de agua y por contacto con actividades como la minería.

El mercurio tiene dos estados de oxidación, los cuales son el Hg^{+1} y el divalente Hg^{2+} , pero debido a sus características de potencial de oxidación-reducción (redox) de (+0,85 V), ese valor positivo, favorece el estado divalente dentro del soma del ser vivo (Navarro, 2008; Zhang, 2006). Si la vía de ingreso es inhalatoria, el mercurio entra directamente a circulación y puede ser oxidado por una enzima oxidoreductasa, como algunas catalasas (CAT), pasándolo a su estado divalente y, aunque así no pueda acceder a los tejidos, sí puede ser transportado por una metalo-proteína y bioacumulado en riñones y en hígado (Maso et al., 1995). Las metalo-proteínas son aquellas proteínas que necesitan de un cofactor para su funcionalidad, este cofactor comúnmente es un metal y los metales divalentes $M(II)$, son los más frecuentes

en estos sistemas vivos (Finkelstein, 2009; Huang et al., 2021; Malmstrom y Neilands, 1963; Xiao et al., 2022).

El mercurio en los organismos tiene diferentes consecuencias, dependiendo de la forma – especie – en la que se manifieste. En la presente investigación, se toma como protagonista el mercurio divalente, el cual es considerado como el responsable de casi todos los compuestos químicos orgánicos e inorgánicos del mercurio y tiene un papel fundamental en la toxicología de este elemento a lo largo de las cadenas tróficas (Clarkson y Magos, 2006).

El mercurio divalente (Hg^{2+}) se encuentra en solución acuosa en ríos o lagos, luego que las lluvias de escorrentía lo vierten a los cuerpos de agua, las bacterias presentes en estos medios acuosos, utilizan diversas vías de conversión del mercurio inorgánico, en mercurio orgánico a partir de la metilación, produciendo metilmercurio como la forma más frecuente (CH_3Hg^+), sin olvidar que las alquilaciones se pueden seguir dando, obteniendo compuestos alquílicos o arílicos de mercurio, a partir de las enzimas metiltransferasas o por rutas como la de metilcobalamina (Vitamina B_{12}) (Hsu-Kim et al., 2013; Huang et al., 2021; Zhou et al., 2014).

Actualmente, en Antioquia, el 51,6 % de la minería aluvial aún es informal, lo que puede implicar altos niveles de contaminación por mercurio en el entorno y, en consecuencia, graves afectaciones a la salud pública (Tarra et al., 2022). Según García et al. (2015), en el 2012, se realizaron análisis de orina en habitantes de Segovia, municipio minero cercano a El Bagre y se encontraron niveles altos de mercurio, con

probabilidad de desarrollar síntomas clínicos de mercurialismo. El estudio realizado por Koplík et. al. (2014), a través del cual se extrajeron diferentes especies de mercurio de varias muestras de alimentos, concluyó que se pudo recuperar menos del 70% del mercurio total presente en carne y vísceras de animales terrestres, lo que hizo suponer a los investigadores que en este tipo de proteína se manifiesta, en mayor medida, el mercurio inorgánico divalente y no como ocurre con los peces, cuya especie predominante es el metilmercurio. Con relación a lo anterior, Cardoso et. al. (2017) concluyeron que en los peces, definitivamente, el metilmercurio tiene una acción más invasiva, agresiva y afín, que el mercurio inorgánico, por lo cual, en muchos casos, la bioacumulación del mercurio divalente en peces se desprecia. Sin embargo, tal como lo afirma Tang et. al. (2019), la toxicidad del mercurio depende, en gran medida, del entorno en el que se encuentre el animal; es así como la salinidad, el pH y el oxígeno disuelto son características propias del agua y del suelo que pueden hacer más biodisponible o no el mercurio.

Qing et. al. (2022), encontraron que las elevadas concentraciones de mercurio en peces se deben a la cantidad de reacciones que puede generar este elemento en el entorno natural, mientras que, para los animales terrestres, las concentraciones de mercurio sí se relacionan directamente con el consumo dietético de alimentos contaminados. En otras palabras, si en una zona se encuentra mercurio constante en animales de río, por ejemplo, será difícil conocer su causa directa; sin embargo, si se encuentran concentraciones en animales

terrestres, es más fácil comprobar la hipótesis de una contaminación puntual y directa en el área. En este sentido, si el ganado de una zona resulta afectado por mercurio, probablemente sea porque el suelo donde estuvo tenía ciertas concentraciones del elemento, o los individuos se contaminaron por ingesta de agua o alimentos. De esta misma forma, puede ocurrir contaminación toxicológica en la población expuesta, no solo por el consumo de carne, sino por la leche y, en el caso de las gallinas, los huevos podrían ser también un foco de biomagnificación (Qing et. al, 2022).

El presente estudio, por tanto, tiene como objetivo evaluar la contaminación por mercurio en su forma divalente (Hg^{2+}) en muestras de pescado, cerdo y pollo de la región minera del municipio El Bagre, Antioquia. Los estudios en el tema son incipientes, y es necesario tener un acercamiento de la exposición a otras formas químicas del mercurio en los pobladores, además de evaluarse alimentos de mayor consumo local en el área de estudio.

Metodología

Área de estudio

Las muestras fueron recolectadas en doce sitios rurales del municipio de El Bagre, Antioquia, localizado entre las coordenadas geográficas longitud $74^{\circ} 48' 0''$ O y latitud $7^{\circ} 34' 59''$ N (Figura 1). El municipio de acuerdo con el censo nacional del 2018, habitan 54.685 personas, de los cuales el 64% residen en el casco urbano y el 36% en las zonas rurales. El Bagre hace parte de la

subregión del Bajo Cauca en el departamento de Antioquia, Colombia. Cuenta con una extensión de tierra de 1580,24 km² y gran parte del territorio es destinado para la explotación de oro por títulos mineros formalizados y actividad minera informal.

Diseño experimental y tamaño de la observación

El estudio fue contemplado en un diseño cuantitativo de tipo experimental y muestreo probabilístico aleatorio simple para la

selección de las 12 localidades. El tamaño de muestra fue de 384 matrices, recolectadas en componentes de 30 muestras en cada una de las 12 localidades de observación y estas a su vez distribuyéndose en 6 matrices de muestras de cerdo y 12 muestras de pescado y pollo, respectivamente. El tamaño de la muestra fue estimado con un nivel de confianza del 95 %, potencia estadística del 80 %, frecuencia anticipada del 50 %, precisión absoluta del 5 % y efecto del diseño de 1 para muestras aleatorias.

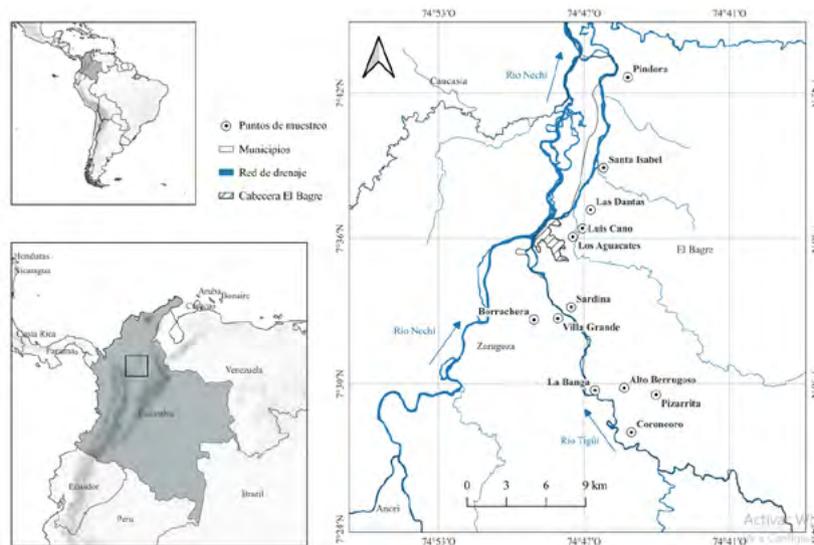


Figura 1. Puntos de muestreo en las localidades del municipio minero El Bagre, Antioquia

Fuente: Elaboración propia.

Tratamiento de las matrices proteicas

Se tomó las partes comestibles del cerdo, pollo y pescado. La cantidad de muestra fue entre 50 a 200 gramos. Las muestras fueron dispuestas en bolsas ziploc herméticas y estériles, rotuladas y conservada en

congelación hasta ser enviadas al Laboratorio de Trazabilidad, Unilasallista Corporación Universitaria, en Caldas, Antioquia. Luego se procedió a su homogeneización (músculo + piel) en una licuadora de alimentos de alta velocidad (Black Decker®); los tejidos se almacenaron en tubos cónicos en

refrigeración a $(-4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2)$. hasta el análisis de cada muestra.

Cuantificación del mercurio divalente (Hg^{2+})

Reactivos y soluciones

Se utilizó cloruro de metilmercurio al 95 % (m/m) (Dr Ehrenstorfer), cloruro de mercurio (II) al 95,5% (Cl_2Hg), solución estándar certificado de mercurio 1000mg/L y cloruro de propilmercurio como estándar interno (EI) adquiridos de la marca Merck; ácido clorhídrico al 37% (m/m) (HCl) y el ácido acético glacial (CH_3COOH) (Merck); trihidrato de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) (Panreac); el ácido nítrico (HNO_3) al 65% (m/m), el hidróxido de potasio (KOH), el metanol (MeOH), el tetrafenilborato de sodio ($\text{Na}[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]$) (TPB) y el heptano se adquirieron de Merck; $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$ acetato de cobre (II) monohidratado al 98% (m/m) ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2\cdot\text{H}_2\text{O}$) (AcCu) del proveedor Alfa Aesar, material de referencia certificado, CRM 1946 (Lake Superior Fish Tissue) – (NIST). Para la preparación de todas las soluciones acuosas se utilizó agua ultrapura (resistividad de $18\text{ M}\Omega\text{ cm}^{-1}$), purificada en el laboratorio.

Se prepararon las siguientes soluciones: una solución al 25 % (m/v) de hidróxido potásico metanólico disolviendo hidróxido potásico en metanol, una solución al 1 % (m/v) de TPB en agua purificada. Se preparó una solución de acetato de cobre 40 mM disolviendo una cantidad apropiada de la sal en agua purificada. Se preparó tampón de acetato de sodio (250 mM) disolviendo una cantidad adecuada de acetato de sodio en

agua, cuyo pH se ajustó a 4,5 mediante goteo de ácido acético. Para preparar las soluciones madre de cloruro de metilmercurio, cloruro de mercurio y cloruro de propilmercurio se disolvió en metanol la cantidad apropiada de cada sal. De cada una de las soluciones madre se hicieron diluciones hasta alcanzar las concentraciones de trabajo.

Método de extracción

Aproximadamente 2,5 g de muestra se pesaron exactamente en un tubo de centrífuga de 50 mL al que se agregaron 10,0 mL de solución de $\text{KOH}/\text{CH}_3\text{OH}$ al 25 % (m/v) y 14 μL de solución de cloruro de propilmercurio (Estándar Interno). La mezcla se agitó 15 min en un vórtex a 3000 rpm y posteriormente fue llevada a un baño de ultrasónido por 15 min a 25 Hz y una frecuencia del 99 % a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se realizaron ocho ciclos de sonicación, hasta que la muestra se disolvió por completo.

La mezcla se ajustó para que tuviera un pH de 7,0 con ácido acético. Luego, se almacenó a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 min. Posteriormente se agregaron a la mezcla 1,0 mL de una solución al 1 % (m/v) de TPB, 10,0 mL de solución tampón acetato pH 4,5; se aforó con solución de acetato de cobre (aproximadamente 10 mL) y finalmente se tapó el tubo y se agitó vigorosamente durante 1 min, luego la mezcla fue centrifugada a 5000 rpm, por 15 min, a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pasado este tiempo, se tomaron 4,0 mL del sobrenadante y fueron depositados en un tubo de centrífuga de 15 mL al que se agregaron 2,0 mL de hexano; 1,0 mL de solución de cobre; 0,5 mL de una solución al 1 % (m/v) de TPB, esta mezcla fue sometida a agitación manual durante 1 min, seguido

de centrifugación a 5000 rpm durante 15 min, a 20 °C. A continuación, se tomó el sobrenadante y se llevó a un vial de 1 mL para ser inyectado en el equipo. El procedimiento se utilizó para el blanco y las muestras de pescado, pollo y cerdo.

Método de detección

La cuantificación de Hg^{2+} se realizó utilizando el cromatógrafo de gases Trace 1300 acoplado a un espectrómetro de masas Thermo Fisher TSQ 8000 de triple cuadrupolo (GC-MS). El volumen de inyección fue controlado por la jeringa del muestreador automático, que fue controlado por una computadora que ejecuta el software ChemStation (Thermo Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). Se utilizó una curva de calibración externa para la cuantificación del analito. La separación cromatográfica de Hg^{2+} se logró utilizando una columna capilar Thermo no polar HP-5MS (30 m \times 0,25 mm de diámetro interior, 0,25 μ m de espesor de película) (5 % de fenilmetilsiloxano, 95 % de dimetilpolisiloxano) y helio (pureza >99,999 %) a un caudal constante de 1 mL min^{-1} . Las temperaturas de la interfaz GC-MS y de la fuente de iones se establecieron en 270 °C y 220 °C, respectivamente. Se utilizó un programa de gradiente de temperatura; manteniendo a 80 °C durante 0,5 min seguido de un aumento a 15 °C min^{-1} hasta llegar a 270 °C y permanecer a esta temperatura durante 1 min. Utilizando el modo de barrido completo y la ionización de electrones, se registró un espectro de masas que oscilaba entre 50 y 450 m/z (a 70 eV). Al usar el modo de monitoreo de iones seleccionados (SIM), se monitorearon un objetivo y un ion calificador, manteniendo

un tiempo de permanencia de 0,2 s para cada ion. Los iones controlados para Hg^{2+} fueron m/z 279 y 256 (controlado entre los minutos 6,80 y 8,50). El tiempo de retardo del disolvente se fijó en 3 min. La inyección de muestra (1 μ L) se realizó en modo splitless a temperatura de 270 °C y la cuantificación del analito se basó en el área del pico.

Validación del método

Los parámetros de la verificación para el mercurio divalente fueron, límite de cuantificación (LOQ), selectividad, exactitud (sesgo/precisión), intervalo de trabajo (linealidad), identidad, incertidumbre y robustez.

Análisis estadístico

El sistema de datos Xcalibur se utilizó para el análisis de datos. Las concentraciones se expresaron como media \pm 2 desviación estándar (DE). El análisis de varianza de una vía se realizó en Microsoft Excel 365, considerando $p < 0,05$. El análisis de la información para las concentraciones de mercurio divalente con respecto a la localidad y la matriz proteína (Cerdo, Pescado y Pollo), se consideró en dos fases, la primera se basó en el análisis descriptivo de la variable respuesta (concentración de mercurio divalente) con respecto a cada uno de los factores de contraste (localidad y proteína), en función de los diferentes niveles que componen cada factor. Los estadísticos descriptivos que hicieron parte del análisis fueron la media, la mediana, la desviación estándar, la varianza y el coeficiente de variación. La segunda fase comprendió un análisis inferencial

comparativo no paramétrico de Kruskal-Wallis, debido al comportamiento altamente variable de la respuesta por la presencia de datos atípicos, y al desbalance que se tiene en el número de observaciones que se obtuvieron en cada nivel de los factores analizados. Finalmente, se llevaron a cabo pruebas post hoc no paramétricas como el test de rangos de Wilcoxon.

Resultados

Los resultados para la matriz cerdo no mostraron ningún comportamiento dado que todos los valores fueron inferiores al límite de cuantificación en todas las localidades (< 0,037 µg/g). Las mayores concentraciones promedio de mercurio divalente se encontró en el pollo (288,63±1004,3 µg/g), lo que indica que, con respecto al pescado (1,87±0,932 µg/g), existe una diferencia de concentración de 154 veces, aproximadamente. De igual

forma, se observó que la mayor variabilidad se presenta en el pollo (CV: 347,95%), lo cual podría atribuirse a las marcadas diferencias que exhiben las localidades con respecto a la concentración de mercurio divalente (Hg²⁺) en esta matriz; por ejemplo, en promedio, la mayor concentración de Hg²⁺ se encuentra en la localidad de Santa Isabel (1767,3 µg/g), mientras que Pizarrita no reportó concentraciones cuantificables en esta matriz y Coroncoro registró un valor de 0,028 µg/g. Lo anterior indudablemente establece la presencia de concentraciones atípicas en la matriz, las cuales se registraron precisamente en la localidad de Santa Isabel, donde se encontraron concentraciones de hasta 6930,96 µg/g. La tabla 1 muestra los estadísticos descriptivos de tendencia central y dispersión para la concentración de mercurio divalente medido en pescado y pollo para cada una de las localidades de estudio.

Tabla 1. Análisis descriptivo de la concentración de mercurio divalente por proteína y localidad.

Localidad	Pescado				Pollo			
	\bar{x}	Me	S	CV (%)	\bar{x}	Me	S	CV (%)
Alto Berrugoso	5,04	0,92	8,01	159,02	36,86	37,35	20,09	54,52
Villa Grande	0,70	0,92	0,42	60,34	987,22	941,35	578,74	58,62
Santa Isabel	0,94	0,93	0,02	1,95	1767,30	112,68	3030,61	171,48
Borrachera	4,73	0,94	6,88	145,51	219,51	210,36	204,69	93,25
Sardina	2,61	0,96	3,35	128,53	96,65	74,49	91,13	94,28
Luis Cano	0,93	0,93	0,006	0,69	100,94	103,76	68,01	67,38
Los Aguacates	2,49	0,95	2,81	112,55	177,23	142,53	166,11	93,72
La Bonga	0,93	0,93	0,02	2,01	68,19	0,04	121,77	178,58
Pindora	0,92	0,93	0,02	1,77	5,02	0,04	10,69	212,87
Pizarrita	0,92	0,93	0,01	1,39	-	-	-	-

Localidad	Pescado				Pollo			
	\bar{x}	Me	S	CV (%)	\bar{x}	Me	S	CV (%)
Las Dantas	0,93	0,93	0,005	0,58	4,59	0,04	10,63	231,75
Coroncoro	0,93	0,93	0,005	0,49	0,03	0,04	0,02	60,30
Total	1,87	0,93	3,54	188,88	288,63	25,41	1004,30	347,95

\bar{x} : Media aritmética, Me: Mediana, S: desviación estándar, CV (%): Coeficiente de variación

Fuente: Elaboración propia.

Para el caso del pescado, se presentó un coeficiente de variación alto, las concentraciones presentaron alta variabilidad, sin embargo, un nivel de concentración significativamente distinto al establecido en la proteína del pollo. En este caso, se evidenció la mayor concentración promedio de Hg^{2+} en la localidad de Alto Berrugoso (5,037 $\mu g/g$) y la menor concentración promedio en Villa Grande (0,702 $\mu g/g$). Las Figuras 2 y 3 muestran los gráficos de dispersión para la concentración

de mercurio divalente en pescado y pollo, respectivamente; en ellas se puede observar la diferencia de escala manejada para cada matriz de proteína, evidenciando que la concentración en pollo es mucho mayor que en pescado. Sin embargo, el comportamiento no es generalizado en todas las localidades, puesto que algunas muestran bajas concentraciones promedio tanto en pescado como en pollo (Pindora, Pizarrita, Las Dantas y Coroncoro).

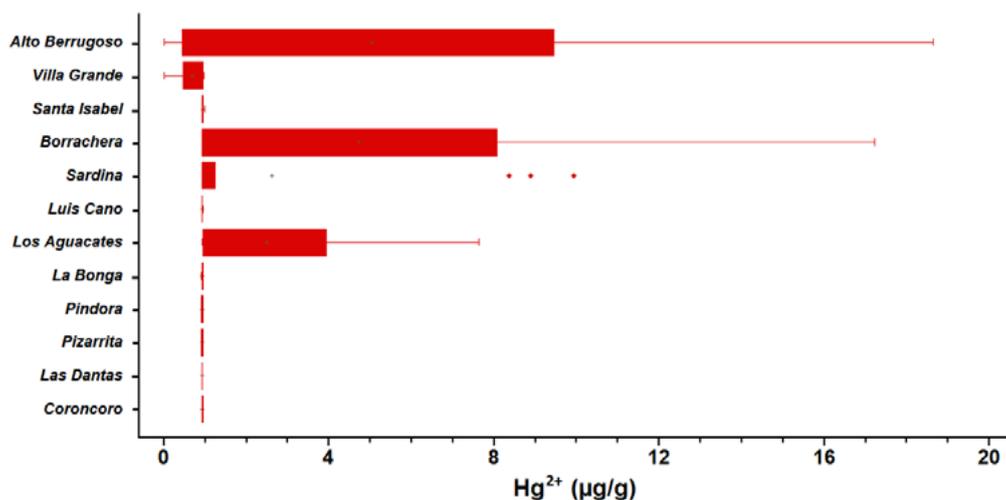


Figura 2. Concentración de mercurio divalente (Hg^{2+}) en pescado para cada localidad

Fuente: Elaboración propia.

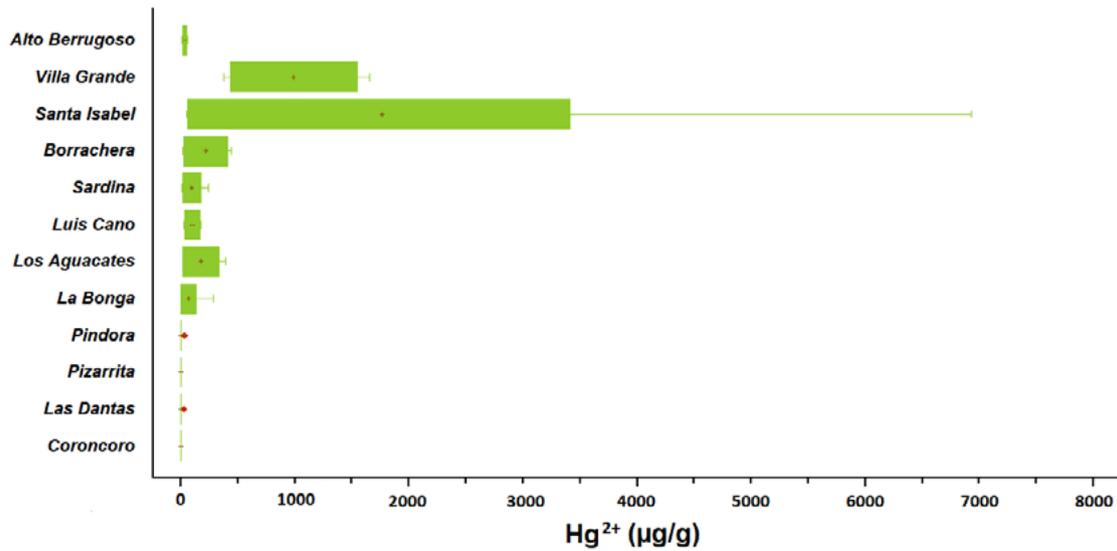


Figura 3. Concentración de mercurio divalente (Hg^{2+}) en pollo para cada localidad

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo con los resultados obtenidos, el análisis inferencial comprende, únicamente, dos niveles en la matriz proteína (pescado y pollo), mientras que para el factor localidad, se consideró la totalidad evaluada (12). Las concentraciones de mercurio divalente fueron diferentes estadísticamente con respecto al tipo de proteína y a la localidad (valor $p < 0,0001$ para ambas, respectivamente). Para el caso del tipo de proteína, el análisis descriptivo permitió intuir una mayor concentración en el pollo que en el pescado, lo cual se pudo corroborar

con el análisis inferencial, en el cual la prueba post hoc corroboró este comportamiento; por lo tanto, se puede concluir que la proteína que mayor concentración de Hg^{2+} presentó es el pollo, mientras que el pescado presenta un valor medio de $1,847 \mu g/g$ y en el cerdo no fue detectada. En lo que respecta a las localidades de observación, Pindora, Pizarrita, Las Dantas y Coroncoro presentaron las menores concentraciones de Hg^{2+} , estadísticamente significativas, respecto a Villa Grande, Santa Isabel, Borrachera, Sardina, Luis Cano y Los Aguacates (tabla 2).

Tabla 2. Diferencias post hoc de rangos de Wilcoxon de la concentración de mercurio divalente entre las localidades.

Localidad	Alto Berrugoso	Villa Grande	Santa Isabel	Borrachera	Sardina	Luis Cano	Los Aguacates	La Bonga	Pindora	Pizarrita	Las Dantas
Villa Grande	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Santa Isabel	1,000	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Borrachera	1,000	1,000	1,000	-	-	-	-	-	-	-	-
Sardina	1,000	1,000	1,000	1,000	-	-	-	-	-	-	-
Luis Cano	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-	-	-	-	-	-
Los Aguacates	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	-	-	-	-	-
La Bonga	0,445	0,152	0,058	0,02255	0,02572	0,841	0,00431	-	-	-	-
Pindora	0,056	0,056	0,00057	0,00106	0,00031	0,02346	0,00010	1,000	-	-	-
Pizarrita	0,00912	0,00709	0,00008	0,00004	0,00001	0,00076	0,00000	1,000	1,000	-	-
Las Dantas	0,068	0,03204	0,00002	0,00015	0,00006	0,01016	0,00001	1,000	1,000	1,000	-
Coroncoro	0,00653	0,00695	0,00001	0,00002	0,00000	0,00257	0,00000	0,852	1,000	1,000	1,000

Valores en color azul, estadísticamente significativos con un IC95% valor $p < 0,005$.

Fuente: Elaboración propia.

Discusión

La toxicidad del mercurio es bien conocida e incluye principalmente daños neurológicos, inmunológicos, hematológicos y renales, que dependen de la dosis, la forma química y la vía de exposición (Carocci et al., 2016; Nabi, 2014; Vázquez et al., 2014). La mayoría de las personas están expuestas al mercurio por vía oral, por lo que se considera que el tracto gastrointestinal es el punto de entrada de este elemento tóxico al torrente sanguíneo, afectando su distribución y acumulación en los órganos diana (Vázquez et al., 2014). Los estudios *in vivo* han encontrado que el mercurio inorgánico solo se absorbe del 2 al 38 %, mientras que la absorción de metilmercurio es mucho mayor, más del 80%

(EFSA (European Food Safety Authority), 2012). El estudio de las formas individuales de las especies de metilmercurio en matrices alimentarias es muy relevante debido a que, como se ha demostrado previamente en otros estudios las diferentes especies mercuriales presentan efectos tóxicos diversos. Por ejemplo, se ha encontrado que el mercurio divalente (Hg^{2+}) incrementa la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conlleva a un mayor estrés oxidativo que altera los mecanismos de muerte celular y la mortalidad en peces (Yole et al., 2007; Zhang et al., 2016).

Por lo general, se ha establecido que la mayor proporción de mercurio en proteínas animales, como el pescado y el pollo se

encuentra en forma de metilmercurio. En un estudio realizado en pollos de engorde se encontró que el metilmercurio presenta una mayor biodisponibilidad (20,7 %) comparada con el mercurio divalente (1,3 %); a pesar de esta baja biodisponibilidad, se han observado que el Hg^{2+} puede bioacumularse en los riñones, el hígado y en el músculo, siendo este último el que mayor distribución presenta (72 %) (Cabañero et al., 2005).

De acuerdo a los resultados obtenidos en el promedio para muestras de pollo y pescado, se puede observar que las concentraciones Hg^{2+} en pollo son 154 veces mayores a las encontradas en pescado (Ver tabla 1), esto probablemente puede deberse al tipo de alimentación que este ingiriendo los pollos y a que su desarrollo se dio en campo abierto, dado que al encontrarse libres picotean el suelo en busca de animales invertebrados, como gusanos y lombrices, y durante este proceso pueden ingerir plantas y restos de tierra que pueden tener altas concentraciones de mercurio inorgánico y otros contaminantes; lo que conlleva a que se presente bioacumulación de este tóxico en los pollos o gallinas. En este sentido Overmeire y otros (2006) realizaron un estudio donde evaluaron la concentración de diferentes tóxicos entre ellos mercurio en huevos de gallinas orgánicas criadas al aire libre, concluyendo que presentaban altos niveles de contaminantes y que podrían presentar un riesgo para la salud pública. Recientemente, Holt (2021) hace un llamado a replantear el requisito de la crianza de gallinas ponedoras de huevos orgánicos a campo abierto, debido a que las gallinas tienden a presentar una mayor mortalidad

y a enfermarse con más frecuencia, además de estar expuestas a metales pesados como el mercurio, comparado con gallinas criadas en condiciones de confinamiento, lo que se traduce en una mayor acumulación de tóxicos tanto en huevos como partes comestibles de la aves de corral. Por su parte, Kin y colaboradores (2019) observaron que la acumulación de Hg^{2+} en pechuga e hígado en pollos de engorde era dosis-dependiente, por lo cual a una mayor ingesta de mercurio inorgánico mayor bioacumulación se va a dar en órganos y tejidos.

Además se sabe que el mercurio divalente $Hg^{2+}_{(ac)}$ interactúa muy bien con el azufre, ya que en su forma mineral se encuentra en el cinabrio de la forma $HgS_{(s)}$ (Oji, 1998), por lo que, al encontrar una proteína que tenga aminoácidos como la cisteína libre, podría interactuar con su grupo funcional tiol (-SH) y así distribuirse, favoreciendo la acumulación del mercurio en forma divalente o sobre expresando el transportador para detoxificar en membrana, tardando 60 días o más dentro del cuerpo (Lee et al., 2011; Singh & Kumar, 2020). Realizando un rastreo dentro de las células para saber cuáles son las proteínas o péptidos, se encontró que las metalotioneínas (MT) y el tripéptido de glutatión con su grupo funcional cisteína (GSH) pueden interactuar con esta forma de mercurio (Wang et al., 2014). Además, una bacteria gran positiva *Lysinibacillus sphaericus*, aislada de los suelos y que tiene una maquinaria enzimática, la cual detoxifica el mercurio de su arquitectura celular mediada por acción de la enzima Mercurio reductasa (MerA), la cual es una oxidorreductasa que toma el mercurio

divalente $Hg^{2+}_{(ac)}$ y lo reduce a $Hg^0_{(l)}$ (Vega-Páez et al., 2019), y al tener una presión de vapor alta, en fase gaseosa, permite atravesar

fácilmente las membranas y ser excretada de la célula (Singh y Kumar, 2020).

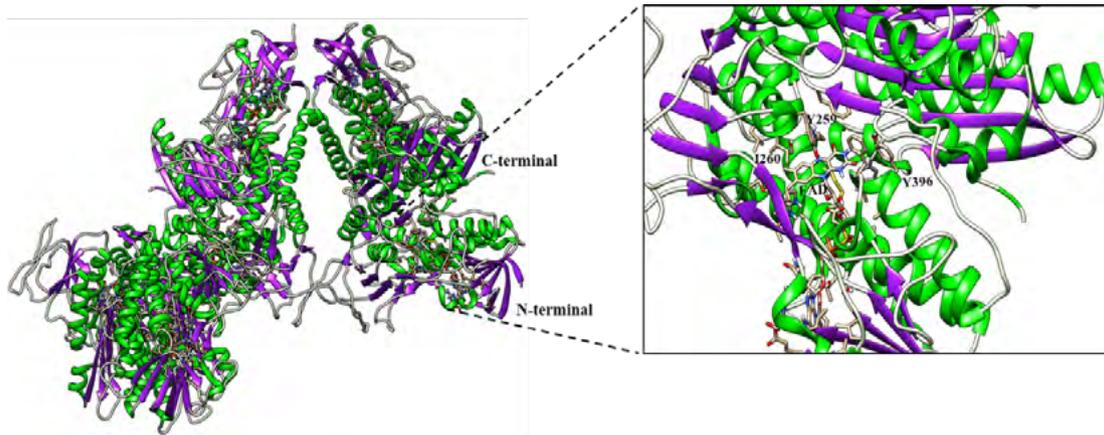


Figura 4. Estructura mercurio reductasa de la bacteria *Lysinibacillus sphaericus* con ID: 5X1Y (Bafana et al., 2017). Esta enzima fue resultado experimentalmente por la técnica de difracción de rayos X a una resolución de 3,48Å (Bafana et al., 2017).

Fuente: Elaboración propia.

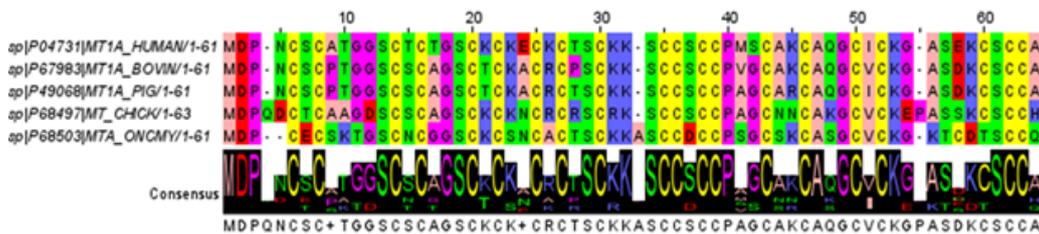
En el entendimiento del efecto del mercurio y en la orientación de los sistemas celulares para proponer el modelo del mercurio, la coenzima Flavin Adenin Dinucleótido (FAD) tiene un papel fundamental en la actividad redox, ya que a partir de las especies generadas en su oxidación FAD^+ o su reducción $FADH_2$, se mantiene el equilibrio electrónico a través del flujo de electrones (e^-), los cuales van a fluir para reducir al mercurio divalente y detoxificar las células (Kumar et al., 2017).

En los vertebrados existen unos complejos proteicos que tiene como principal funcionalidad, enlazar metales pesados que puedan generar daños a nivel celular, mediados por mecanismos de

inflamación, radicales libres, oligomerización de proteínas y neurodegeneración motora o cognitiva (Park y Zheng, 2012; Rice et al., 2014). Esta familia de proteínas son las metalotioneínas (MT), que se encuentran en casi todos los animales, ya que es una proteína altamente conservada y que tiene un tamaño superior a 60 aminoácidos, localizada en el citoplasma celular y que enlaza al zinc como cofactor para facilitar los mecanismos de transcripción, en donde intervienen los dedos de Zinc (UniProt, 2010; Wang et al., 2014). Esta familia de proteínas MT tiene 4 isoformas, denominadas MT1, MT2, MT3 y MT4, las cuales tienen una alta cantidad de cisteínas dentro de su estructura primaria, usando al grupo funcional tiol ($-SH$)

con el azufre como un donador de su par de electrones, coordinando así los diferentes metales (Krężel & Maret, 2021). En base a lo anterior, al realizar una comparación a partir de la composición aminoacídica de las MT, seleccionando la isoforma que se tiene de esta proteína, para las especies homólogas del presente estudio, se usó la secuencia primaria de la metalotioneína

MT1A, modelando su interacción con las especies *Homo sapiens* (Humano), *Bos Taurus* (Bovino), *Sus scrofa* (Cerdo), *Gallus gallus* (Gallo) y *Oncorhynchus mykiss* (Trucha) (Apweiler et al., 2014; Consortium, 2012); con el objetivo de ver que tan conservada es esta proteína desde los dominios de enlace a metales pesados y la cantidad de cisteínas en su estructura (figura 5).



Alifáticos/Hidrofóbicos Alanina (A), Isoleucina (I), Leucina (L), Metionina (M), Valina (V)
Aromáticos Fenilalanina (F), Triptófano (W), Tirosina (Y)
Conformación especial (Torsiones) Glicina (G), Prolina (P)
Tioles (-SH) Cisteína (C)
Hidrofílicos Asparagina (N), Glutamina (Q), Serina (S), Treonina (T)
Cargados Aniónicos Aspartato (D), Glutamato (E)
Cargados Catiónicos Histidina (H), Lisina (K)

Figura 5. Alineamiento de la secuencia primaria de las proteínas MT1A en color Zappo.

Fuente: Elaboración propia.

Como se puede observar en la Figura 5, esta proteína es muy conservada entre las especies de consumo evaluadas (pollo, pescado y cerdo) y los aminoácidos cisteína que se encuentran en amarillo, según el

código de colores en Zappo, generado por los alineamientos de las secuencias primarias de las especies comparadas con el software de Jalview, en donde se puede observar a partir del Logomat (Letras consenso), que

las cisteínas presentan mayor tamaño, esto debido a que se conservan como regiones importantes entre las especies, las cuales interactuarían con el mercurio inorgánico (Waterhouse et al., 2009). Según los resultados del análisis en las secuencias primarias, estos van en relación con las bioacumulaciones encontradas en los alimentos proteicos, principalmente pollo y pescado, ya que, al estar en contacto por inhalación o ingestión, si las cantidades de mercurio aumentan, estas proteínas podrían sobre-expresarse, lo que favorecería la

retención de este metal en el interior celular, ya que las metalotioneínas se encuentran en el periplasma celular. En la Figura 6, se presenta la imagen de MT1A como metaloproteína de ratón (*Mus musculus*), resuelto por resonancia magnética nuclear (NMR) de sólidos para 50 conformeros; la cual se encuentra enlazando un metal pesado que puede ser posiblemente el mercurio divalente (Hg^{2+}), lugar que podría ocupar en la formación de los compuestos organometálicos.

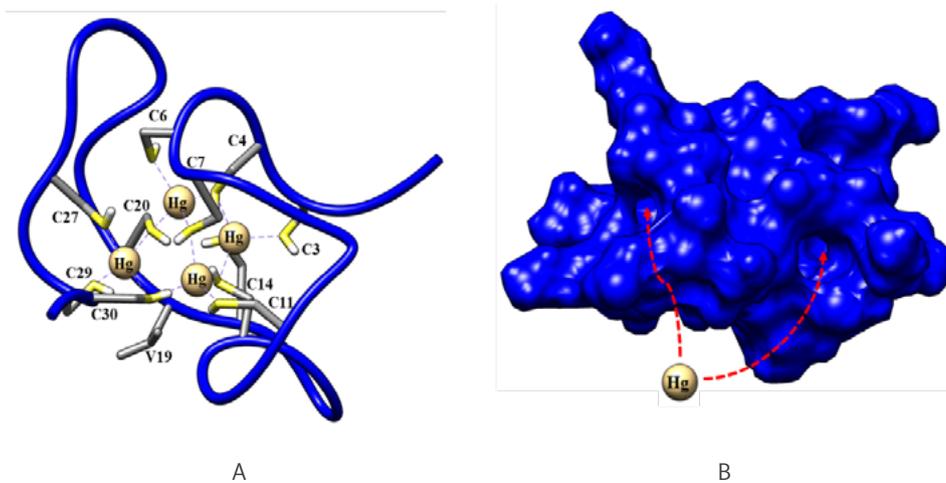


Figura 6. Estructura de la metalotioneína MT1 de ratón *Mus musculus* con ID:1DFS (Zangger et al., 2008): A) Representación en cintas de MT1 como posible mecanismo de interacción con el mercurio divalente; B) Representación en superficie de MT1 de ratón.

Fuente: Elaboración propia.

Se puede observar el papel de las cisteínas en la coordinación del metal, como se muestra en la Figura 6A, en donde se favorece la interacción con el mercurio divalente, lo que podría inducir la bioacumulación a través de la interacción del metal en las diversas matrices proteicas estudiadas y lo

que podría explicar las altas concentraciones promedio de Hg^{2+} encontradas en el pollo ($288,63 \pm 1004,3 \mu g/g$). De igual forma, como se muestra en la Figura 6B, se pueden observar los bolsillos que presenta esta proteína, por donde puede difundir el metal e interactuar con las cisteínas de la

cadena lateral de los aminoácidos en su estructura, lo que se puede relacionar con el aumento de valores de bioacumulación, debido a la alta exposición por ingesta, contacto o inhalación. Además, se observó que hay unas concentraciones menores en el pescado, posiblemente a que la mayor parte del mercurio en pescados y productos de pescadería está en forma de metilmercurio (EFSA (European Food Safety Authority), 2012).

Conclusiones

Las matrices proteicas de pollo y pescado evidencian concentraciones de mercurio divalente relacionándose con la ubicación de los asentamientos de minería ilegal y, a su vez, presencia de mercurio en el entorno. Por consiguiente, estos resultados son el reflejo de la presencia de mercurio en el medio en especial de las matrices proteicas que son parte de la cadena alimenticia, lo que podría sugerir un riesgo latente en la toxicología de los seres vivos y las interacciones del mercurio en el medio ambiente, especialmente en suelos y cuerpos de agua.

Agradecimientos y financiación

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia, Tecnología, e Innovación por su financiación al proyecto “Análisis de riesgo de mercurio y metilmercurio en regiones de Antioquia asociadas a minería de oro” código 127572553554, contrato 862-2015, convocatoria 7252015 para proyectos de investigación en temáticas priorizadas en salud, 2015.

Declaración de disponibilidad de datos

Datos disponibles previa solicitud a los autores.

Declaración de Ética

Los autores confirman que se han cumplido las políticas éticas de la revista, tal como se indica en la página de directrices para autores de la revista.

Referencias

- Apweiler, R., Bateman, A., Martin, M. J., O'Donovan, C., Magrane, M., Alam-Faruque, Y., Alpi, E., Antunes, R., Arganiska, J., Casanova, E. B., Bely, B., Bingley, M., Bonilla, C., Britto, R., Bursteinas, B., Chan, W. M., Chavali, G., Cibrian-Uhalte, E., Da Silva, A., ... Zhang, J. (2014). Activities at the Universal Protein Resource (UniProt). *Nucleic Acids Research*, 42(D1), 191–198. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1140>
- Bafana, A., Khan, F. & Suguna, K. (2017). Structural and functional characterization of mercuric reductase from *Lysinibacillus sphaericus* strain G1. *BioMetals*, 30(5), 809–819. <https://doi.org/10.1007/s10534-017-0050-x>
- Bourdineaud, J.P., Gonzalez, M., Rovezzi, M., Glatzel, P., Nagy K.L., & Manceau, A. (2019). Divalent Mercury in Dissolved Organic Matter Is Bioavailable to Fish and Accumulates as Dithiolate and Tetrathiolate

- Complexes. *Environmental Science & Technology*, (53), 4880-4891. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06579>
- Cardoso, O., Puga, S., Brandão, F., Canário, J., O'Driscoll, N.J., Santos, M.A., Pacheco, M., & Pereira, P. (2017). Oxidative stress profiles in brain point out a higher susceptibility of fish to waterborne divalent mercury compared to dietary organic mercury. *Marine Pollution Bulletin*, (122), 110-121. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.029>
- Cabañero, A. I., Madrid, Y., y Cámara, C. (2005). Effect of animal feed enriched with Se and clays on Hg bioaccumulation in chickens: In vivo experimental study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 2125-2132. <https://doi.org/10.1021/jf048267v>
- Carocci, A., Catalano, A., Lauria, G., Sinicropi, M. S., y Genchi, G. (2016). A review on mercury toxicity in food. En *Food Toxicology* (pp. 315-325). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315371443-17>
- Clarkson, T. W., y Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical Reviews in Toxicology*, 36(8), 609-662. <https://doi.org/10.1080/10408440600845619>
- Clayden, Meredith; Kidd, Karen; Wyn, Brianna; Kirk, Jane; Muir, Derek; O'Driscoll, N. (2013). Mercury Biomagnification through food webs is affected by physical and chemical characteristics of lakes. *Materials Research Society Symposium-Proceedings*, 47, 12047-12053. <https://doi.org/10.1557/proc-639-g11.59>
- Consortium, T. U. (2012). Reorganizing the protein space at the Universal Protein Resource (UniProt). *Nucleic Acids Research*, 40(2), D71-5. <https://doi.org/10.1093/nar/gks1068>
- Dórea, J. (2021). Neurodevelopment and exposure to neurotoxic metal(loid)s in environments polluted by mining, metal scrapping and smelters, and e-waste recycling in low and middle-income countries. *Environmental Research*, (197). <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111124>
- EFSA (European Food Safety Authority). (2012). Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal*, 10(12). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2985>
- Felix, C., Pereira Junior, J.B., da Silva Junior, J.B., Cruz, A.S., Dantas, K., & Ferreira, S. (2022). Determination and human health risk assessment of mercury in fish samples. *Talanta*, (247). <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123557>
- Finkelstein, J. (2009). Metalloproteins. *Nature*, 460(7257), 7257.
- García, O., Veiga, M. M., Cordy, P., Suescún, O. E., Molina, J. M., y Roeser, M. (2015). Artisanal gold mining in Antioquia, Colombia: A successful case of mercury reduction. *Journal of Cleaner*

- Production, 90, 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.11.032>
- Holt, P. S. (2021). Centennial Review: A revisiting of hen welfare and egg safety consequences of mandatory outdoor access for organic egg production. *En Poultry Science* (Vol. 100, Issue 12). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101436>
- Hsu-Kim, H., Kucharzyk, K. H., Zhang, T., y Deshusses, M. A. (2013). Mechanisms regulating mercury bioavailability for methylating microorganisms in the aquatic environment: A critical review. *Environmental Science and Technology*, 47(6), 2441–2456. <https://doi.org/10.1021/es304370g>
- Huang, X., Wu, X., Tang, X., Zhang, Z., Ma, J., Zhang, J., y Liu, H. (2021). Distribution characteristics and risk of heavy metals and microbial community composition around the Wanshan mercury mine in Southwest China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112897. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112897>
- Kim, J. H., Lee, H. K., Park, G. H., Choi, H. S., Ji, S. Y., y Kil, D. Y. (2019). Determination of the Toxic Level of Dietary Mercury and Prediction of Mercury Intake and Tissue Mercury Concentrations in Broiler Chickens Using Feather Mercury Concentrations. *Journal of Applied Poultry Research*, 28(4), 1240–1247. <https://doi.org/10.3382/japr/pfz090>
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J. & Bolton, E. E. (2021). PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D1388–D1395. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971>
- Kreżel, A. & Maret, W. (2021). The Bioinorganic Chemistry of Mammalian Metallothioneins. *Chemical Reviews*, 121(23), 14594–14648. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00371>
- Koplík, R., Klimešová, I., Mališová, K., y Mestek, O. (2014). Determination of Mercury Species in Foodstuffs using LC-ICP-MS: the Applicability and Limitations of the Method. *Czech Journal of Food Sciences*, (32), 249–259.
- Kumar, B., Smita, K. & Cumbal Flores, L. (2017). Plant mediated detoxification of mercury and lead. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S2335–S2342. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.08.010>
- Lee, T. G., Eom, Y., Lee, C. H. & Song, K. S. (2011). Stabilization and Solidification of Elemental Mercury for Safe Disposal and/or Long-Term Storage. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 61(10), 1057–1062. <https://doi.org/10.1080/10473289.2011.608615>
- Malmstrom, B. & Neilands, J. (1963). METALLOPROTEINS. *Annual Review of Biochemistry*, 33, 331–354.
- Maso, Ralph; Reinfelder, J.R; Morel, F. (1995). Bioaccumulation of Mercury and Methylmercury. *Water, Air, and Soil Pollution*, 80, 915–921.

- Nabi, S. (2014). Mercury as a Source of Reactive Oxygen Species. En *Toxic Effects of Mercury* (pp. 95–99). Springer India. https://doi.org/10.1007/978-81-322-1922-4_12
- Navarro, A. (2008). Review of characteristics of mercury speciation and mobility from areas of mercury mining in semi-arid environments. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 7(4 SPEC. ISS.), 287–306. <https://doi.org/10.1007/s11157-008-9139-6>
- Oji, L. N. (1998). Mercury Disposal via Sulfur Reactions. *Journal of Environmental Engineering*, 124(10), 945–952. [https://doi.org/10.1061/\(asce\)0733-9372\(1998\)124:10\(945\)](https://doi.org/10.1061/(asce)0733-9372(1998)124:10(945))
- Parang, H. & Esmailbeigi, M. (2022). Total mercury concentration in the muscle of four mostly consumed fish and associated human health risks for fishermen and non-fishermen families in the Anzali Wetland, Southern Caspian Sea. *Regional Studies in Marine Science*, (52). <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2022.102270>
- Park, J. D. & Zheng, W. (2012). Human exposure and health effects of inorganic and elemental mercury. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 45(6), 344–352. <https://doi.org/10.3961/jpmph.2012.45.6.344>
- Qing, Y., Li, Y., Yang, J., Li, S., Gu, K., Bao, Y., Zhan, Y., He, K., Wang, X., & Li, Y. (2022). Risk assessment of mercury through dietary exposure in China. *Environmental Pollution*, (312). <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120026>
- Rice, K. M., Walker, E. M., Wu, M., Gillette, C. & Blough, E. R. (2014). Environmental mercury and its toxic effects. *Journal of Preventive Medicine and Public Health*, 47(2), 74–83. <https://doi.org/10.3961/jpmph.2014.47.2.74>
- Singh, S. & Kumar, V. (2020). Mercury detoxification by absorption, mercuric ion reductase, and exopolysaccharides: a comprehensive study. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(22), 27181–27201. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04974-w>
- Tang, Y., Liu Y., Zhang, T., Li, J., Wang, X., Zhang, W., Zeng, G., Liu, S., & Guan, L. (2019). Acute Toxicity of Divalent Mercury Ion to *Anguilla japonica* from Seawater and Freshwater Aquaculture and Its Effects on Tissue Structure. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. <https://doi.org/10.3390/ijerph16111965>
- UniProt. (2010). The Universal Protein Resource. 2010(November 2007), 190–195. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl929>
- Vega-Páez, J. D., Rivas, R. E. & Dussán-Garzón, J. (2019). High efficiency mercury sorption by dead biomass of *Lysinibacillus sphaericus*-new insights into the treatment of contaminated water. *Materials*, 12(8), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ma12081296>
- Tarra, J. A., Restrepo, O. J., y Veiga, M. M. (2022). Coexistence between conventional

- alluvial mining and artisanal mining to deal with problems associated with informality in the lower Nechí River Basin-Colombia. *Resources Policy*, 78. <https://doi.org/10.1016/j.resourpol.2022.102821>
- van Overmeire, I., Pussemier, L., Hanot, V., de Temmerman, L., Hoenig, M., y Goeyens, L. (2006). Chemical contamination of free-range eggs from Belgium. *Food Additives and Contaminants*, 23(11), 1109–1122. <https://doi.org/10.1080/02652030600699320>
- Vázquez, M., Vélez, D., y Devesa, V. (2014). In vitro evaluation of inorganic mercury and methylmercury effects on the intestinal epithelium permeability. *Food and Chemical Toxicology*, 74, 349–359. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.10.022>
- Wang, W. C., Mao, H., Ma, D. D. & Yang, W. X. (2014). Characteristics, functions, and applications of metallothionein in aquatic vertebrates. *Frontiers in Marine Science*, 1(AUG), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmars.2014.00034>
- Waterhouse, A. M., Procter, J. B., Martin, D. M. A., Clamp, M. & Barton, G. J. (2009). Jalview Version 2—A multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics*, 25(9), 1189–1191. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp033>
- Xiao, Y., Zhang, G., Guo, J., Zhang, Z., Wang, H., Wang, Y., Wang, Z., Yuan, H. & Cui, D. (2022). Pollution Characteristics and Risk Assessments of Mercury in Jiutai, a County Region Thriving on Coal Mining in Northeastern China. *Sustainability*, 14(16). <https://doi.org/10.3390/su141610366>
- Yole, M., Wickstrom, M., y Blakley, B. (2007). Cell death and cytotoxic effects in YAC-1 lymphoma cells following exposure to various forms of mercury. *Toxicology*, 231(1), 40–57. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.11.062>
- Zangger, K., ÖZ, G., Armitage, I. M. & Otvos, J. D. (2008). Three-dimensional solution structure of mouse [Cd7]-metallothionein-I by homonuclear and heteronuclear NMR spectroscopy. *Protein Science*, 8(12), 2630–2638. <https://doi.org/10.1110/ps.8.12.2630>
- Zhang, H. (2006). Photochemical redox reactions of mercury. *Structure and Bonding*, 120(December 2005), 37–79. https://doi.org/10.1007/430_015
- Zhang, Q. F., Li, Y. W., Liu, Z. H., y Chen, Q. L. (2016). Reproductive toxicity of inorganic mercury exposure in adult zebrafish: Histological damage, oxidative stress, and alterations of sex hormone and gene expression in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Aquatic Toxicology*, 177, 417–424. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.06.018>
- Zhou, J., Riccardi, D., Beste, A., Smith, J. C., y Parks, J. M. (2014). Mercury methylation by HgcA: Theory supports carbanion transfer to Hg(II). *Inorganic Chemistry*, 53(2), 772–777. <https://doi.org/10.1021/ic401992y>