

METALES PESADOS EN YOGURES VEGANOS. EVALUACIÓN DEL RIESGO TÓXICO

TRABAJO DE FIN DE GRADO

GRADO: Farmacia

ÁREA DE CONOCIMIENTO: Toxicología

AUTORA: Mónica Barroso Fariña

TUTOR: Ángel José Gutiérrez Fernández

24 de junio de 2019



Índice

1. Abstract/ Resumen.....	3
2. Introducción	4
3. Objetivos	5
4. Material y métodos	5
4.1 Muestreo.....	5
4.2 Tratamiento y análisis de las muestras	5
4.3 Análisis estadístico	6
5. Resultados y discusión	6
5.1 Resultados por marcas comerciales.....	6
5.2 Resultados por tipo de yogur	17
5.2.1 Resultados por tipo y marca.....	23
5.3. Comparación entre yogures veganos y yogures convencionales	36
5.4 Contribución IDR de metales debida al consumo de yogur	38
5.5. Contribución PTWI y TDI de metales debida al consumo de yogur	39
6. Conclusiones.....	40
7. Bibliografía	42

1. Abstract/ Resumen

The concentration of twenty macro and trace elements (Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sr, V y Zn) were quantified by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) in sixty samples of vegan yogurt. Mean concentrations in mg/kg wet weight were: 0.993 (Al), 0.598 (B), 0.251 (Ba), 521.954 (Ca), 0.005 (Cd), 0.003 (Co), 0.053 (Cr), 0.902 (Cu), 3.227 (Fe), 764.014 (K), 0.181 (Li), 103.147 (Mg), 1.754 (Mn), 0.126 (Mo), 289.729 (Na), 0.020 (Pb), 0.152 (Ni), 0.425 (Sr), 0.015 (V) and 2.088 (Zn). On the one hand, daily consumption of yogurt in Canarian vegan population (42.1 g/adult/day) contributes to the dietary intake of macroelements and trace elements, mainly Ca and Mn. On the other hand, the levels of metals detected did not reveal any toxicological risk for consumers.

Se cuantificó el contenido de veinte metales (Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sr, V y Zn) en sesenta muestras de yogures veganos, mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES). Las concentraciones medias en mg/kg de peso húmedo fueron: 0.993 (Al), 0.598 (B), 0.251 (Ba), 521.954 (Ca), 0.005 (Cd), 0.003 (Co), 0.053 (Cr), 0.902 (Cu), 3.227 (Fe), 764.014 (K), 0.181 (Li), 103.147 (Mg), 1.754 (Mn), 0.126 (Mo), 289.729 (Na), 0.020 (Pb), 0.152 (Ni), 0.425 (Sr), 0.015 (V) and 2.088 (Zn). Por un lado, el consumo diario de yogur en la población vegana en Canarias (42.1 g/día) contribuye a la ingesta recomendada de macroelementos y elementos traza, principalmente de Ca y Mn. Por otro lado, los metales tóxicos presentes en los yogures no suponen un riesgo toxicológico para la salud de los consumidores.

2. Introducción

El veganismo es un modo de alimentación que se caracteriza por la exclusión de productos de origen animal¹. No obstante, a menudo los productos animales se excluyen también de otros aspectos de la vida cotidiana, como de los cosméticos, ropa o calzado; hablamos por tanto de un estilo de vida más que de una práctica alimentaria². Esta forma de alimentación puede estar promovida por supuestos beneficios sobre la salud, como la reducción del colesterol LDL, presión sanguínea, diabetes tipo II y cáncer^{3,4}.

Actualmente, existe un aumento en la prevalencia de individuos que adoptan una dieta vegana. De hecho, el aumento de la población vegetariana y vegana en las últimas décadas ha contribuido a la introducción de productos y marcas “veganos” en los supermercados¹.

Del mismo modo, ha habido un creciente interés en la fermentación de la soja por diferentes métodos^{5,6}. La soja fermentada y sus productos aumentan las propiedades culinarias de esta especie leguminosa y por ello, ha atraído la atención de los fabricantes de alimentos^{5,6,7}. Un ejemplo es la aparición de los yogures veganos.

Debido a la importancia de los minerales y oligoelementos presentes en los yogures, se han realizado varios estudios para determinar sus niveles⁸. Además, en las últimas décadas ha aumentado la conciencia sobre la seguridad de los alimentos en relación a los riesgos asociados con la contaminación por metales traza⁹. Los niveles de metales traza en los vegetales son crecientes y podrían llegar a afectar a la salud humana^{10,11}. Esto se debe a que Al, Cd y Pb son metales tóxicos que pueden inducir daños en múltiples órganos, incluso a una baja exposición. Como tales, están clasificados como carcinógenos humanos según la USEPA¹². Además, la ingesta de estos metales supone un riesgo para la salud debido a que, una vez penetran en el cuerpo humano, los mecanismos fisiológicos para su excreción son mínimos y su vida media puede alcanzar los 10-30 años⁹.

Por otro lado, la ingesta de yogures veganos también aporta macroelementos y elementos traza que son esenciales para el organismo; algunos ejemplos son el Ca, Cu y Fe, metales imprescindibles que forman parte de las enzimas⁸.

Para cuantificarlos se pueden emplear distintos métodos, como la espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito (GF-AAS)^{13,14}, la espectroscopía de absorción atómica de llama (FAAS)^{15,16}, o la espectrometría de fluorescencia de rayos X (XRF)^{17,18}. Entre las técnicas disponibles, la espectrometría de emisión óptica de plasma por acoplamiento inductivo (ICP-OES) posee límites de detección relativamente bajos y capacidad para hacer determinaciones simultáneas y precisas, en tiempos cortos, sobre grandes rangos de concentraciones^{8,19}.

El análisis del contenido de metales en los alimentos permite evaluar su calidad nutricional y estimar su contribución a las diferentes ingestas diarias recomendadas (IDRs) de metales. Además, al cuantificar los metales tóxicos y su aporte a las ingestas diarias admisibles (IDAs) de los mismos, también se realiza la evaluación de los riesgos asociados con el consumo⁸. En definitiva, con el estudio del contenido metálico en los yogures veganos obtenemos

información tanto desde el punto de vista de su seguridad alimentaria como de su valor nutricional.

3. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es analizar el contenido de 20 metales (Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sr, V y Zn) en yogures veganos, tanto naturales como saborizados, de tres marcas comerciales distintas.

Además, con los resultados de concentración obtenidos se establecerá el grado de contribución de estos yogures a la ingesta diaria recomendada (IDR) de metales esenciales establecida por la FESNAD (Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética).

Por último, se determinará el aporte a la ingesta semanal tolerable provisional (PTWI) y la Benchmark Dosis Level (BMDL) de los metales pesados tóxicos por el consumo de yogures veganos.

4. Material y métodos

4.1 Muestreo

Se compraron 60 muestras de yogures veganos entre diciembre de 2018 y abril de 2019 en diferentes supermercados de la isla. Se utilizaron 3 marcas comerciales distintas (Sojasun, Hacendado y Provamel) y 2 tipos de yogur en cada una de ellas: natural y de sabores. De cada marca se emplearon 20 yogures, divididos en 10 naturales y 10 de sabores.

Una vez compradas, las muestras se almacenaron a 4 °C hasta el momento de su procesamiento.

4.2 Tratamiento y análisis de las muestras

Se pesaron 20 gramos de cada muestra en crisoles de porcelana. Posteriormente, se desecaron durante 24 horas a 70 °C en una estufa. A continuación, se introdujeron en un horno mufla con la finalidad de incinerarlas y eliminar toda la materia orgánica; para ello se elevó progresivamente la temperatura hasta 450 °C \pm 25 °C y se mantuvo dicha temperatura durante 24 horas. Pasado este tiempo, las cenizas resultantes de la pirolisis fueron de color gris negruzco, indicativo de restos de materia orgánica. Para terminar de digerirla, se añadió HNO₃ al 65 % a las muestras y se desecaron en placa calefactora. Finalmente se introdujeron las muestras nuevamente en el horno a 450 °C \pm 25 °C durante 24 horas más, tiempo tras el cual las cenizas resultantes fueron de color blanco. Dichas cenizas se disolvieron y enrasaron con HNO₃ al 1,5 %, hasta un volumen final de 25 mL.

La determinación de los metales en las muestras se llevó a cabo mediante ICP-OES. El plasma de acoplamiento inductivo (ICP) es una fuente de ionización que junto a un espectrofotómetro de emisión óptico (OES) constituye el equipo ICP-OES²⁰. Los resultados, obtenidos en mg/L, se calcularon en mg/kg teniendo en cuenta el peso de la muestra y su dilución. Finalmente se llevó a cabo el análisis estadístico.

4.3 Análisis estadístico

Para determinar si las muestras seguían una distribución normal, se empleó la prueba de Shapiro-Wilk²¹, mientras que la homogeneidad de las varianzas se evaluó mediante el estadístico de Levene²². Cuando las muestras no siguieron una distribución normal, se aplicaron las pruebas no paramétricas, que permiten la discriminación de muestras individuales significativamente diferentes²³. Concretamente, se empleó la prueba U de Mann-Whitney para analizar las diferencias entre los yogures naturales y de sabor y la prueba de Kruskal-Wallis en el caso de las diferencias entre marcas comerciales. Por otro lado, para las muestras que siguieron una distribución normal se emplearon pruebas paramétricas; T-medias en el caso de analizar dos variables y ANOVA cuando fueron tres o más.

Las muestras se agruparon para su análisis en función de las diferentes concentraciones de metales entre marcas, entre tipos de yogur (con sabor y naturales) y finalmente se analizaron las diferentes concentraciones en los tipos de yogur de cada marca.

5. Resultados y discusión

Se estudiaron las concentraciones de cuatro macroelementos (Ca, K, Mg y Na), trece microelementos y elementos traza (B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, V, Sr y Zn) y tres metales tóxicos (Al, Cd y Pb) en yogures veganos.

5.1 Resultados por marcas comerciales

Al analizar los yogures por marcas, se concluyó que no seguían una distribución normal, por lo que se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. El resultado mostró diferencias significativas entre las concentraciones de todos los macroelementos, microelementos y elementos traza. Estos resultados confirman que la composición mineral en el yogur puede variar según el fabricante (marca comercial)²⁴.

Por otro lado, para las concentraciones de metales tóxicos Al y Pb, el estudio estadístico determinó que no existían diferencias en cuanto al contenido de estos metales por marca comercial. La tabla 1 muestra las concentraciones medias y las desviaciones estándar de cada metal en función de la marca (Sojasun, Hacendado y Provamel).

Tabla 1. Concentración media \pm SD en cada marca comercial (mg/ kg de peso húmedo).

Metal	Marca		
	Sojasun (n=20)	Hacendado (n=20)	Provamel (n=20)
Macroelementos			
Ca	849,156 \pm 184,869 ^a	588,195 \pm 177,249 ^a	109,180 \pm 9,753 ^a
K	476,015 \pm 87,841 ^a	986,320 \pm 93,559 ^a	830,605 \pm 131,804 ^a
Mg	84,791 \pm 14,231 ^a	89,437 \pm 31,077 ^a	137,779 \pm 13,481 ^a
Na	296,150 \pm 40,053 ^a	196,020 \pm 27,001 ^a	382,695 \pm 42,249 ^a
Microelementos y elementos traza			
B	0,225 \pm 0,045 ^a	0,758 \pm 0,352 ^a	0,301 \pm 0,105 ^a
Ba	0,189 \pm 0,024 ^a	0,254 \pm 0,098 ^a	0,313 \pm 0,144 ^a
Co	<0,001 ^a	0,004 \pm 0,004 ^a	0,004 \pm 0,001 ^a
Cr	0,072 \pm 0,009 ^a	0,057 \pm 0,020 ^a	0,028 \pm 0,013 ^a
Cu	0,622 \pm 0,067 ^a	1,000 \pm 0,149 ^a	1,097 \pm 0,196 ^a
Fe	3,178 \pm 0,415 ^a	3,306 \pm 0,325 ^a	3,204 \pm 0,341 ^a
Li	0,205 \pm 0,136 ^a	0,128 \pm 0,104 ^a	0,213 \pm 0,204 ^a
Mn	1,827 \pm 0,375 ^a	1,498 \pm 0,123 ^a	1,938 \pm 0,322 ^a
Mo	0,037 \pm 0,007 ^a	0,138 \pm 0,086 ^a	0,205 \pm 0,040 ^a
Ni	0,079 \pm 0,012 ^a	0,168 \pm 0,037 ^a	0,213 \pm 0,021 ^a
Sr	0,443 \pm 0,108 ^a	0,542 \pm ,397 ^a	0,278 \pm 0,124 ^a
V	0,004 \pm 0,008 ^a	0,007 \pm 0,015 ^a	0,033 \pm 0,004 ^a
Zn	1,474 \pm 0,063 ^a	1,966 \pm 0,153 ^a	2,864 \pm 0,287 ^a
Tóxicos			
Al	0,755 \pm 0,291	1,233 \pm 0,775	0,983 \pm 0,947
Cd	0,005 \pm 0,001 ^a	0,006 \pm 0,003 ^a	0,003 \pm 0,001 ^a
Pb	0,019 \pm 0,004	0,024 \pm 0,009	0,018 \pm 0,005

^aDiferencias significativas ($p < 0,05$)

El Ca es el macroelemento más abundante de la marca Sojasun, mientras que en Hacendado y Provamel, el metal más abundante es el K. En las tres marcas comerciales, el elemento traza con mayor concentración es el Fe y el menos abundante el Co, que en el caso de Sojasun, su concentración está por debajo del límite de cuantificación. En cuanto a metales tóxicos, las concentraciones contenidas en orden decreciente son Al >Pb >Cd.

Los resultados estadísticos mostraron que no hay diferencias significativas entre las marcas Sojasun y Hacendado pero sí con respecto a Provamel, en las concentraciones de Cr, Mg, Sr y V (Figuras 1-4).

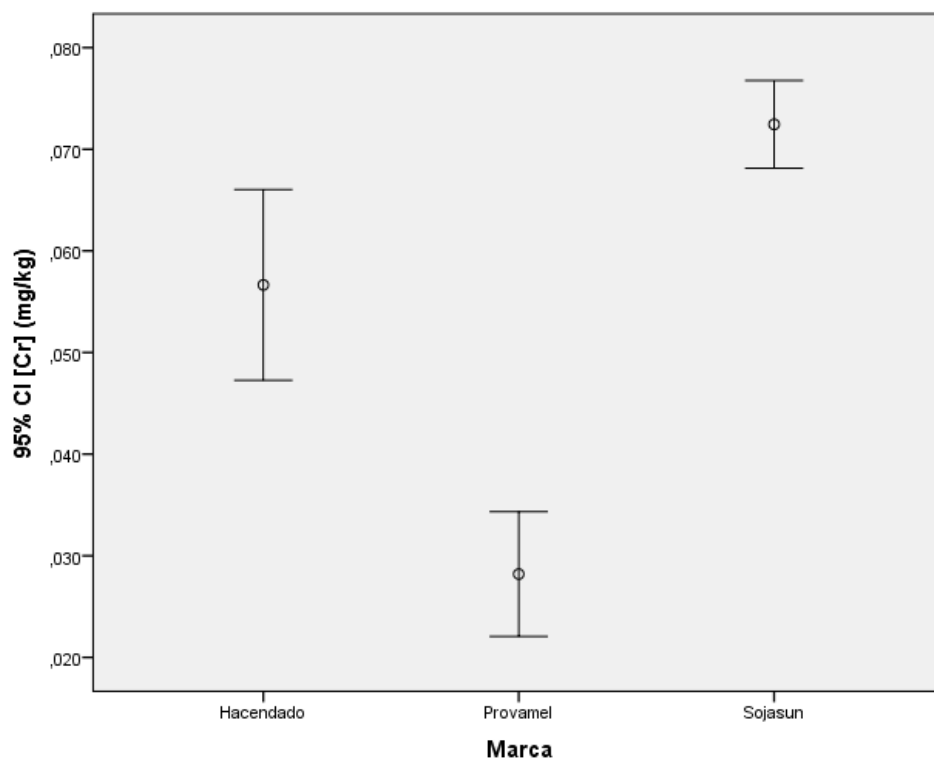


Figura 1. Concentración de Cr (mg/Kg)

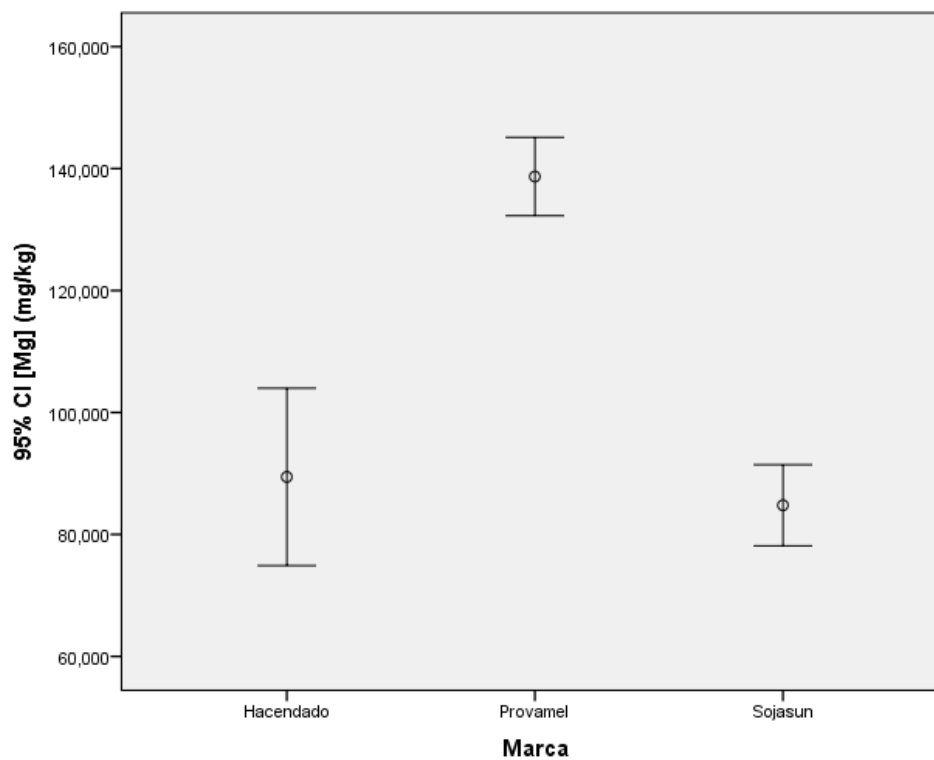


Figura 2. Concentración de Mg (mg/Kg)

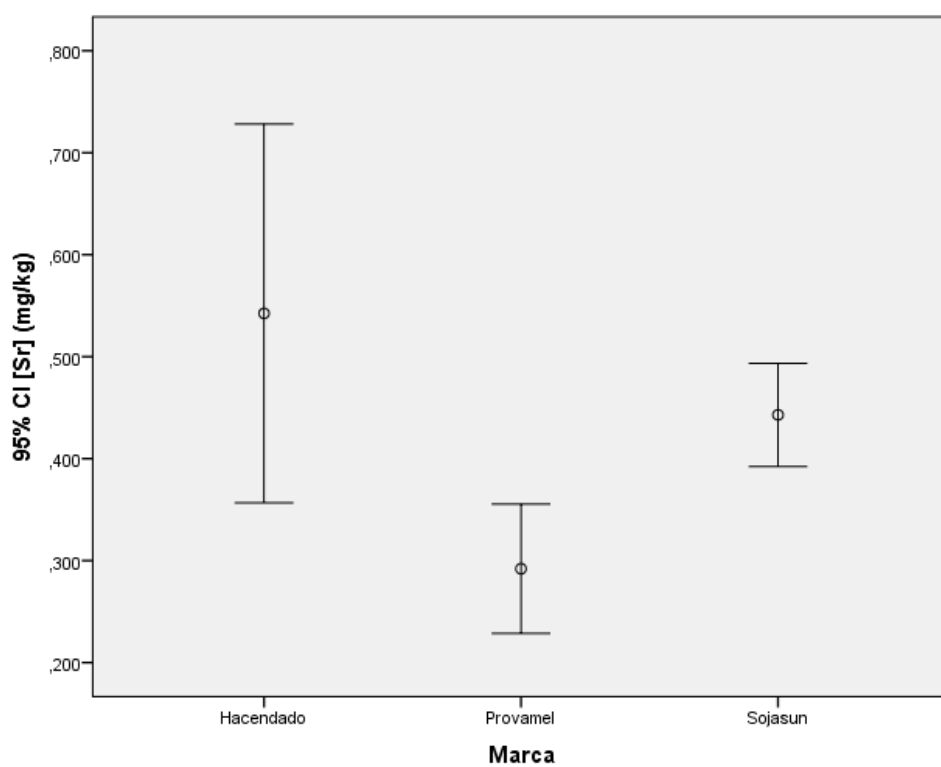


Figura 3. Concentración de Sr (mg/Kg)

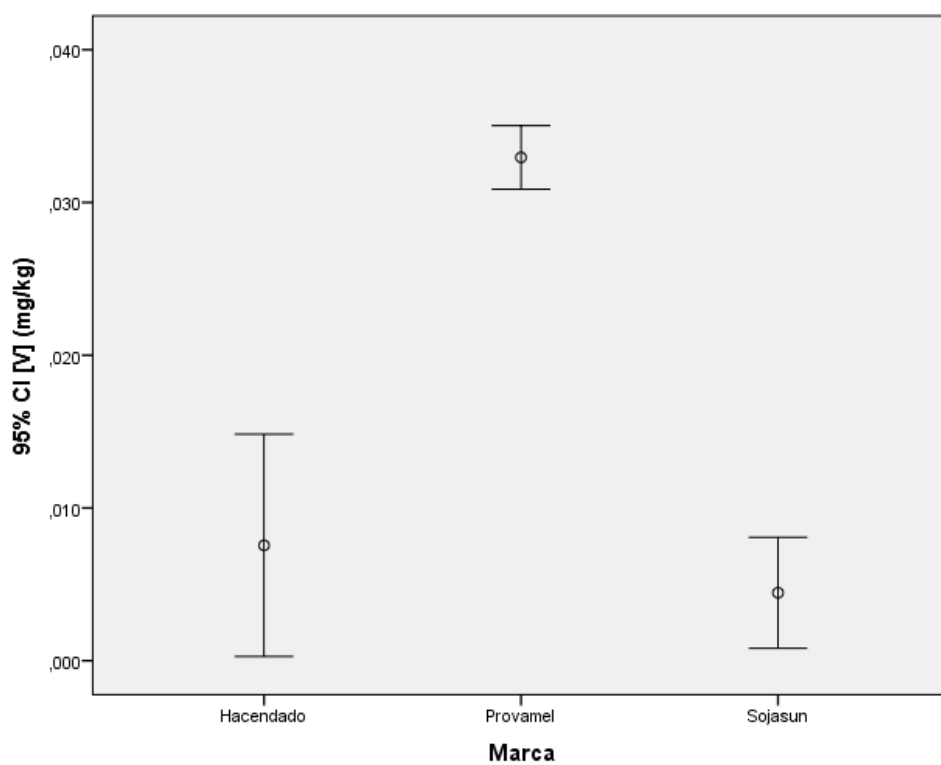


Figura 4. Concentración de V (mg/Kg)

Por otro lado, no existen diferencias significativas en las concentraciones de Li y Mn entre las marcas Sojasun y Provamel, pero su concentración en Hacendado es diferente con respecto a las otras dos, siendo menores sus concentraciones (Figuras 5 y 6). Además, las concentraciones de Co y Cu son diferentes en la marca Sojasun con respecto a las otras dos (Figuras 7 y 8).

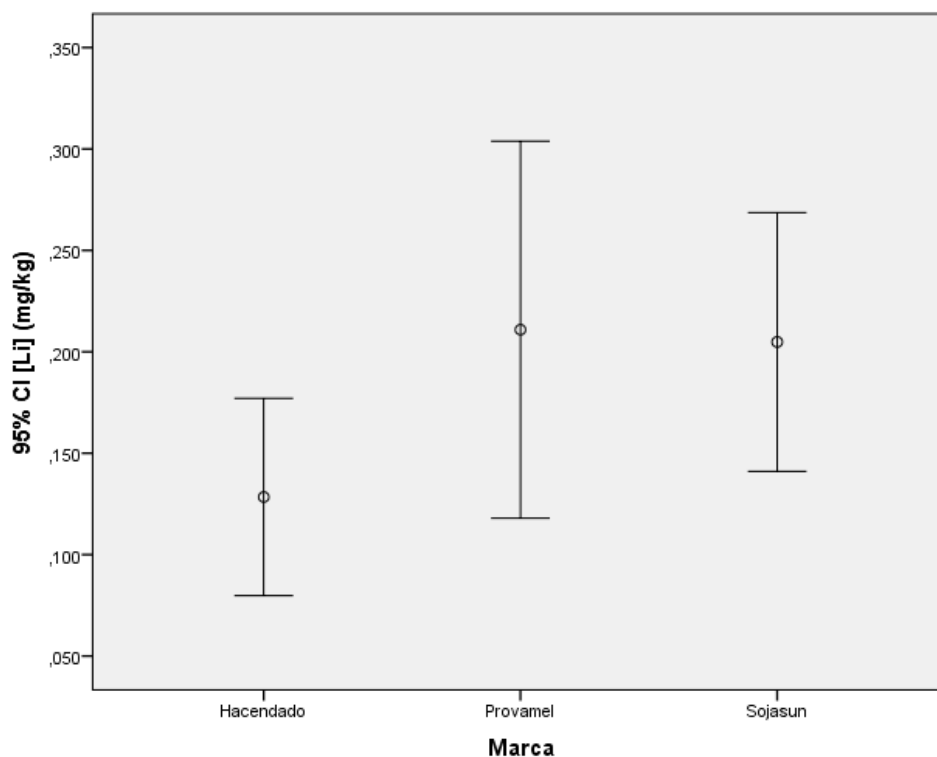


Figura 5. Concentración de Li (mg/Kg)

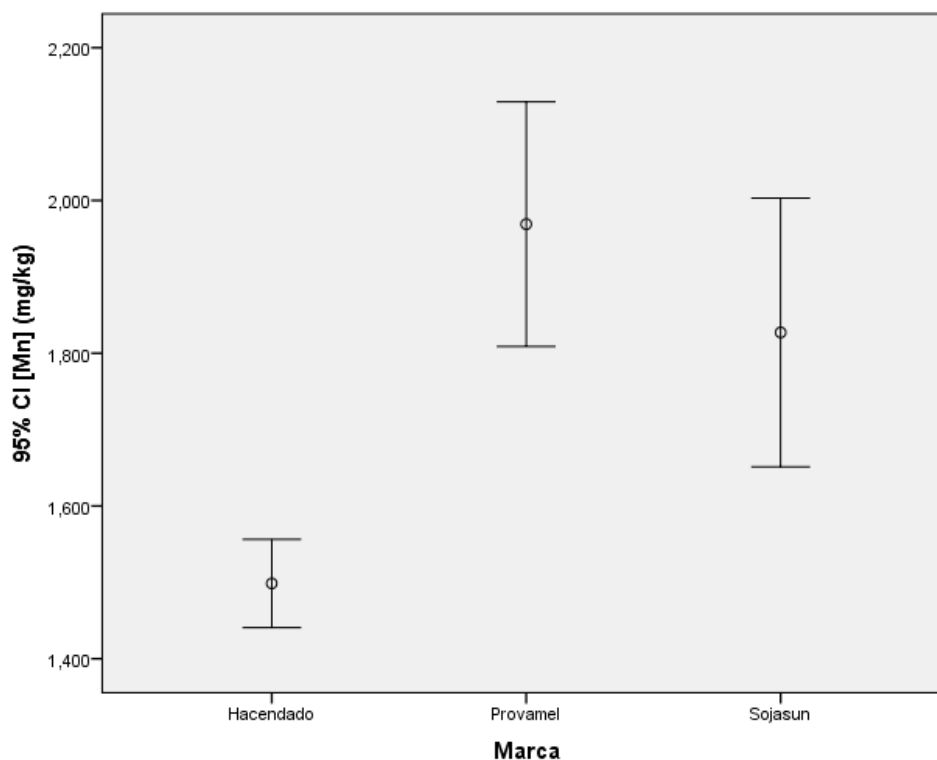


Figura 6. Concentración de Mn (mg/Kg)

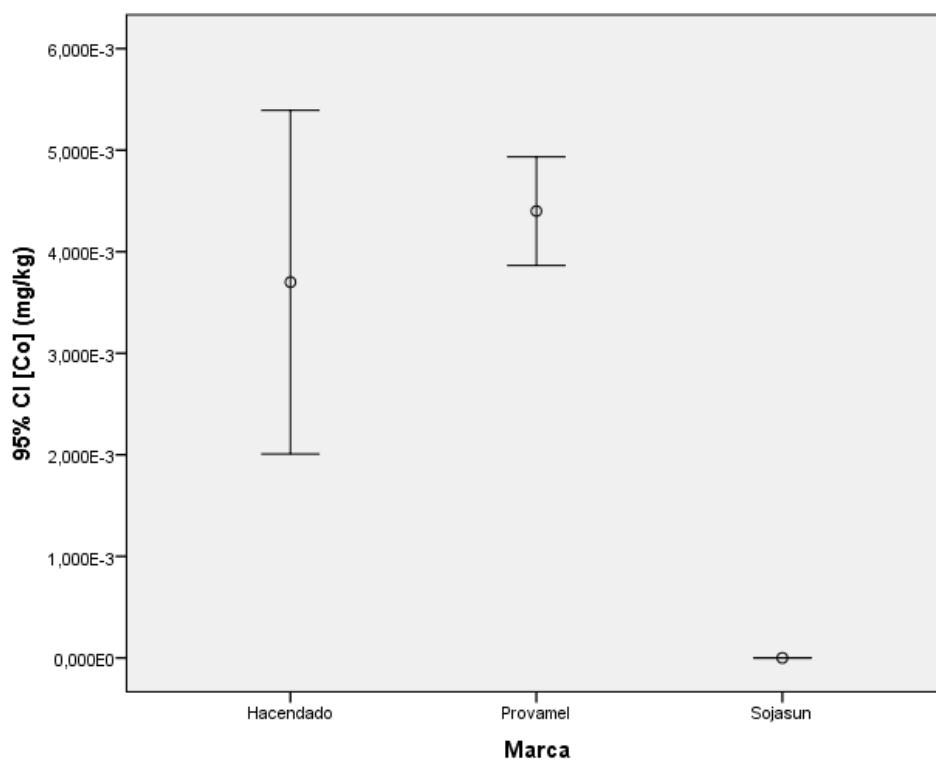


Figura 7. Concentración de Co (mg/Kg)

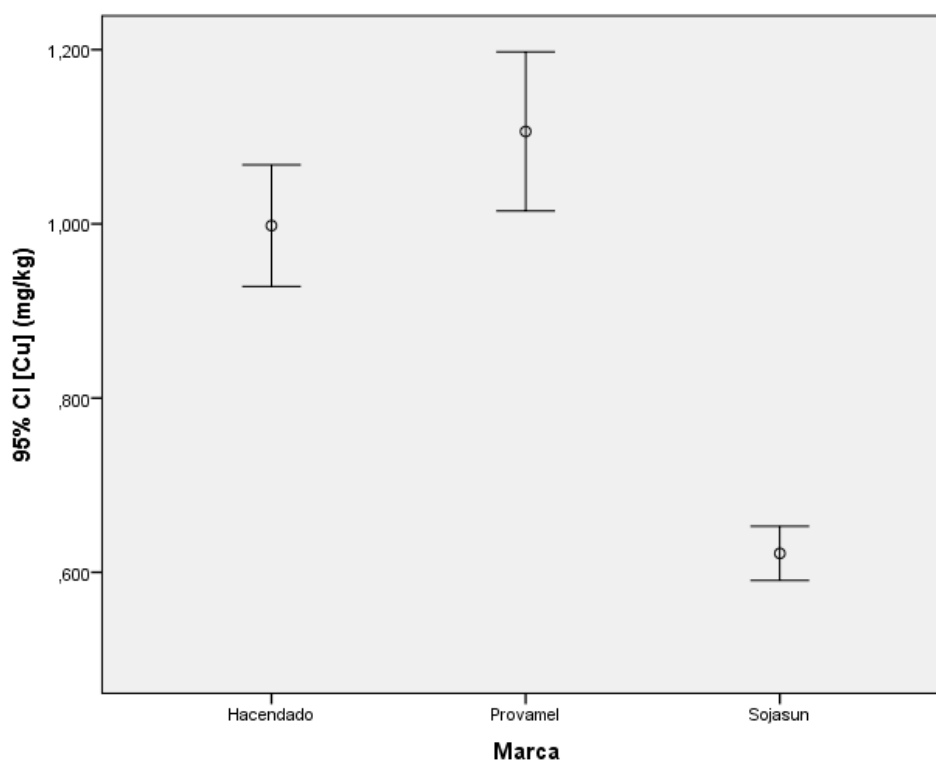


Figura 8. Concentración de Cu (mg/Kg)

El Cd es un metal clasificado como carcinógeno en humanos de acuerdo con la IARC (International Agency for Research on Cancer)²⁵. Respecto a este metal, se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la marca Hacendado y el resto, siendo Hacendado la marca que presenta mayor concentración (Figura 9).

Finalmente, las concentraciones de elementos traza B, Ba, K, Mo, Na, Ni y Zn son significativamente diferentes en los tres tipos de marcas comerciales y el Ca también, siendo menos abundante en los yogures de Provamel (Figuras 10-17).

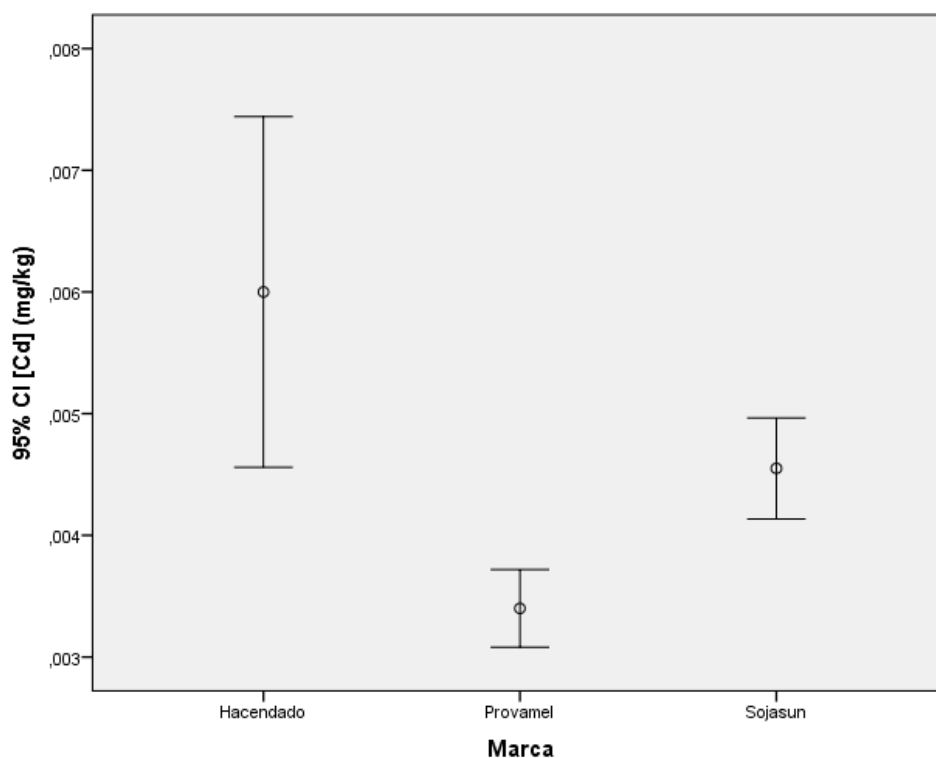


Figura 9. Concentración de Cd (mg/Kg)

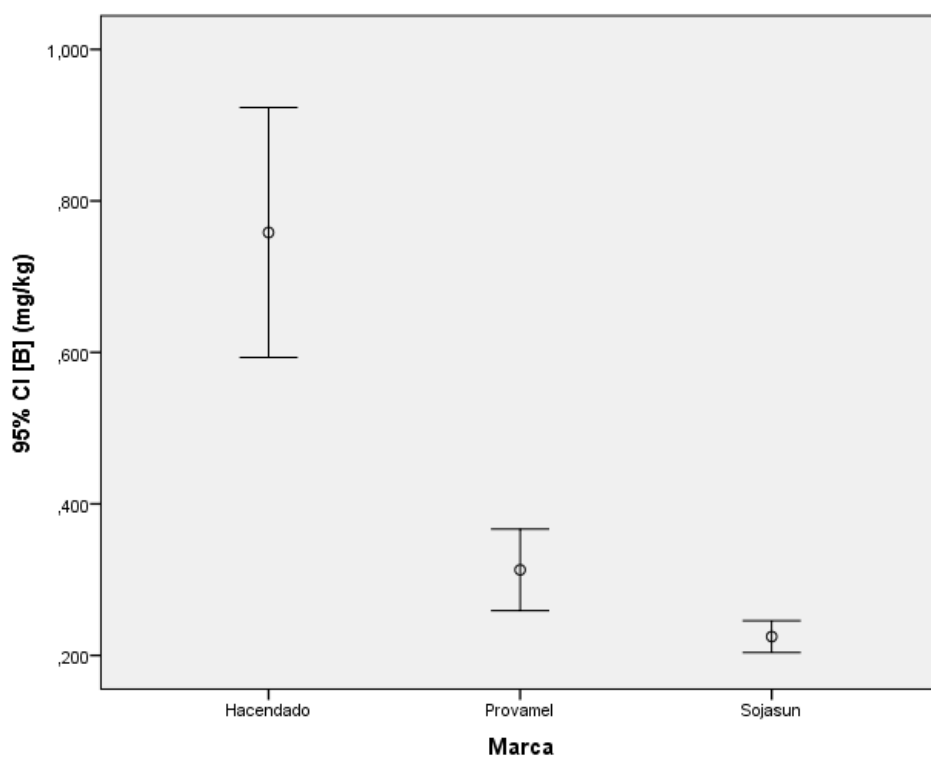


Figura 10. Concentración de B (mg/Kg)

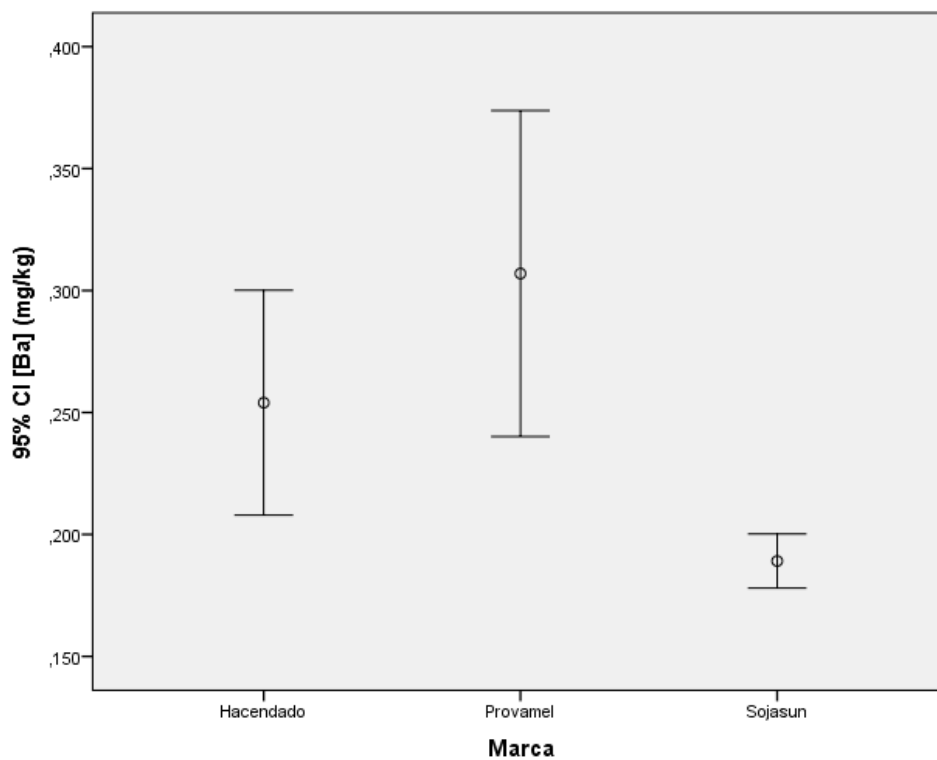


Figura 11. Concentración de Ba (mg/Kg)

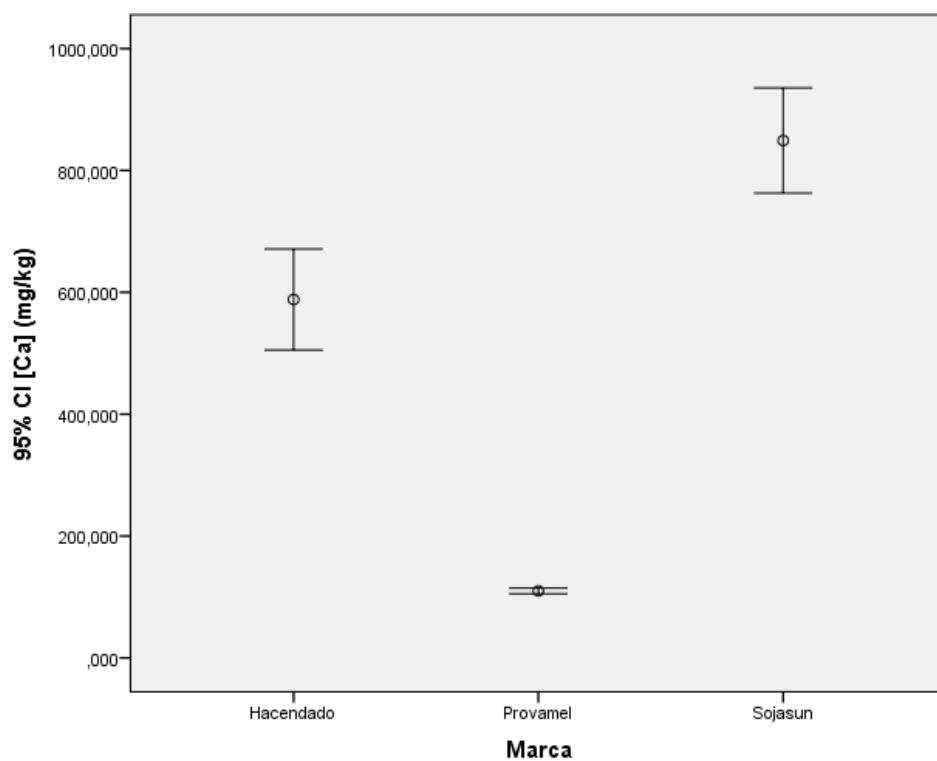


Figura 12. Concentración de Ca (mg/Kg)

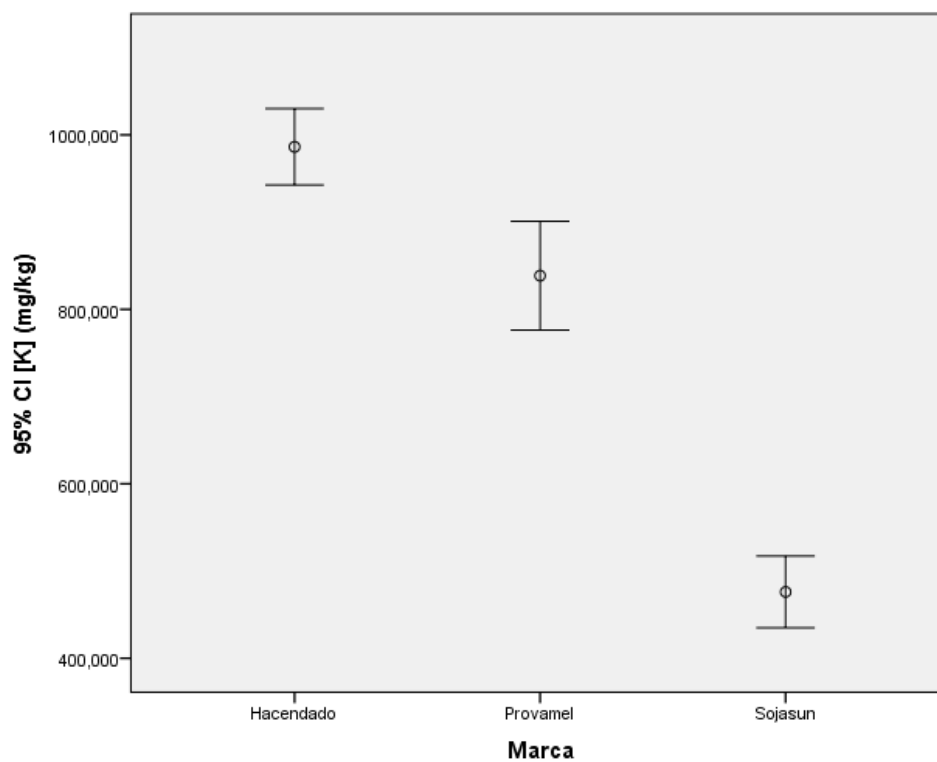


Figura 13. Concentración de K (mg/Kg)

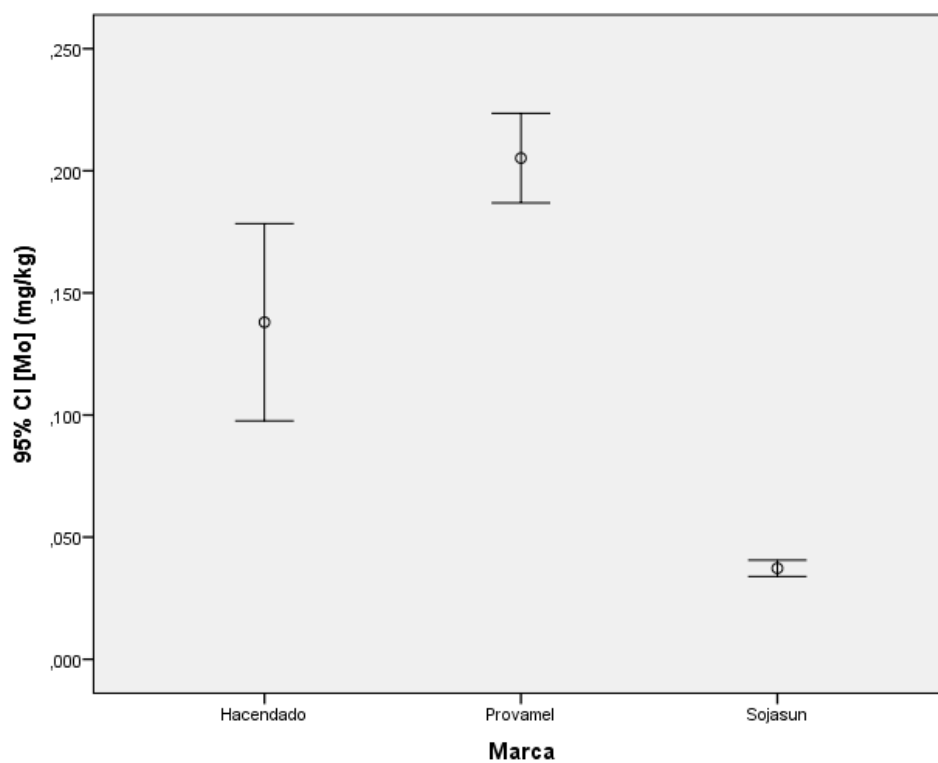


Figura 14. Concentración de Mo (mg/Kg)

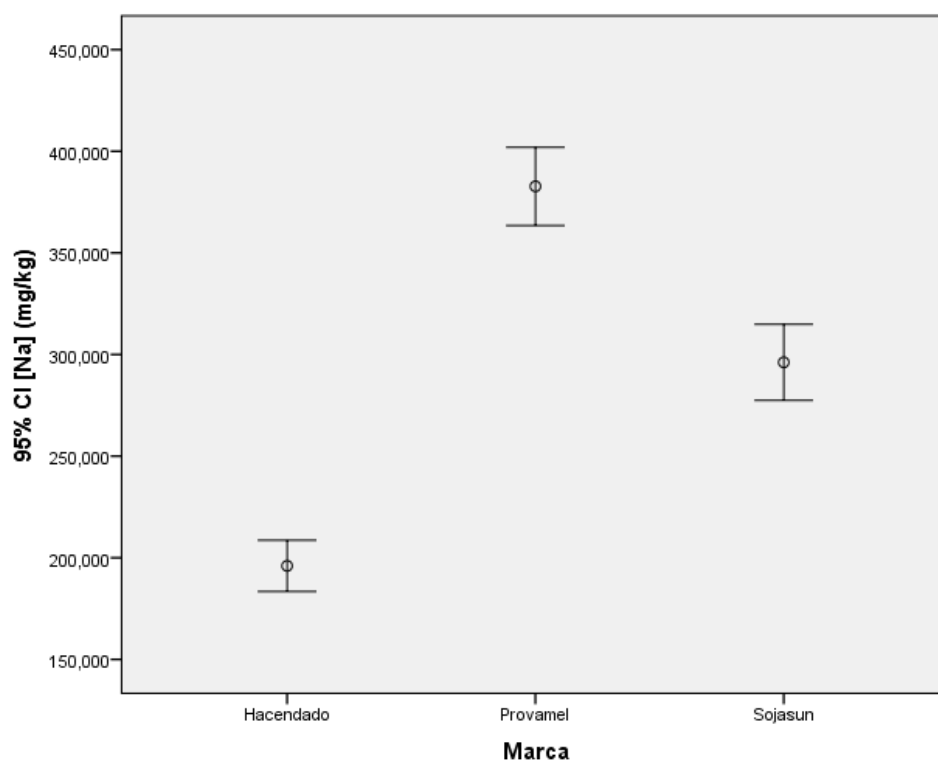


Figura 15. Concentración de Na (mg/Kg)

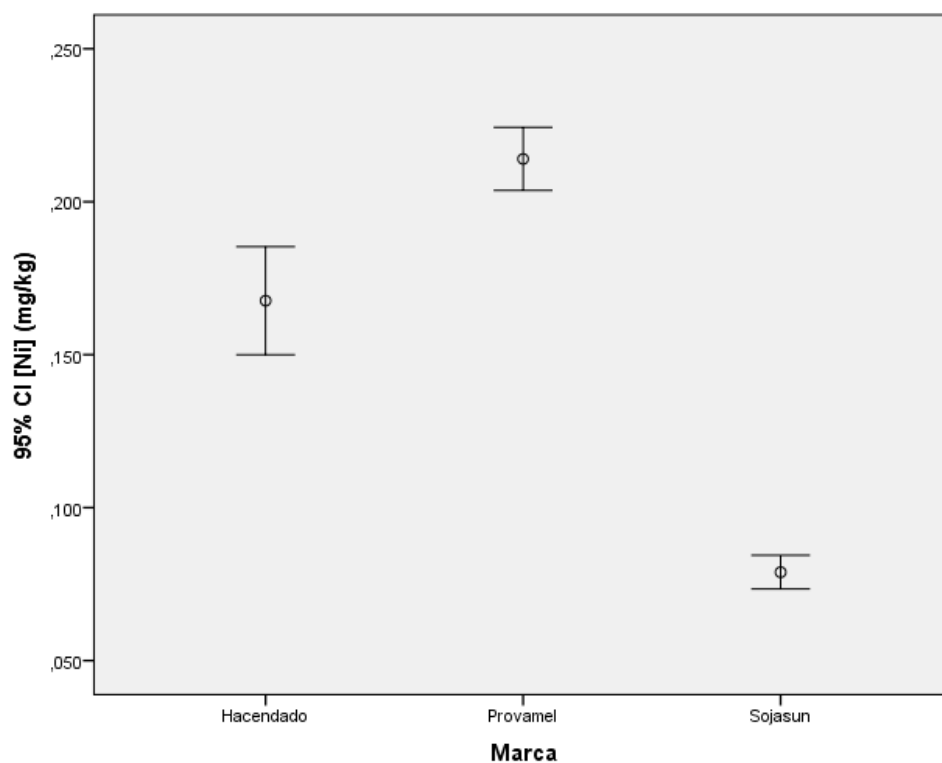


Figura 16. Concentración de Ni (mg/Kg)

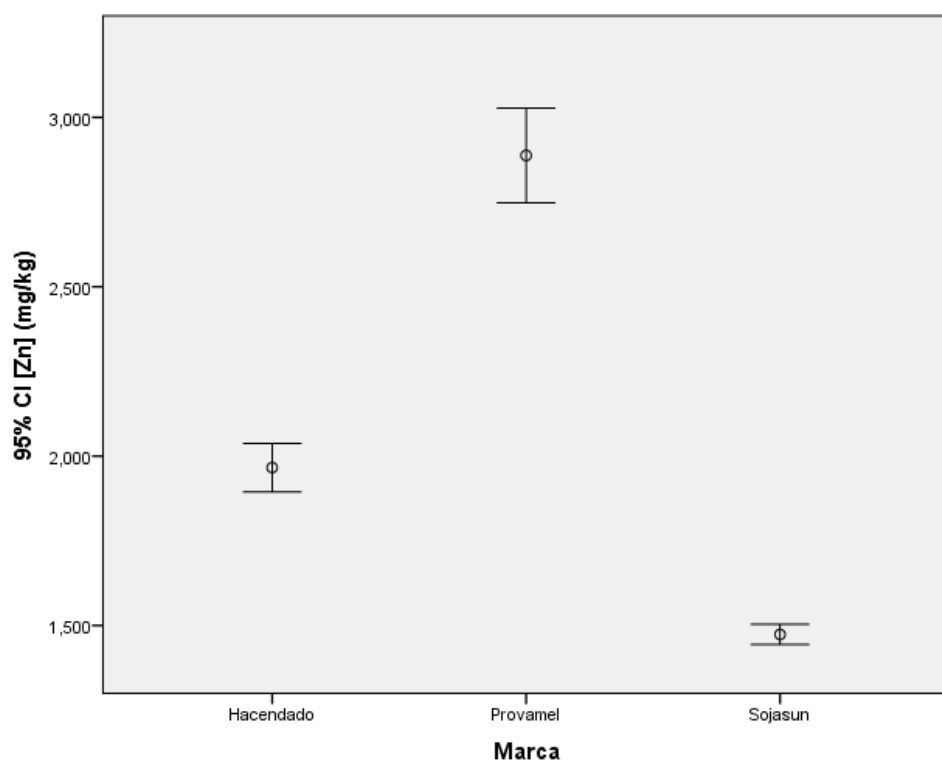


Figura 17. Concentración de Zn (mg/Kg)

Las diferentes concentraciones dependen también de la absorción inicial de metales en la soja empleada en su elaboración, que a su vez depende de la composición del suelo, interacciones con la materia orgánica e interacciones entre elementos²⁶.

5.2 Resultados por tipo de yogur

En ambos tipos de yogur, la concentración más alta de macroelementos es la de K, seguida de Ca >Na >Mg. En cuanto a su concentración metálica, el yogur vegano natural presenta mayores concentraciones, en orden decreciente, de Ca, Na, Mg, Fe, Zn, Cu, B Li, Cr, Cd, mientras que los yogures veganos con sabores contienen mayor cantidad de K, Mn, Al, Sr, Ba, Ni, Mo, Pb, V y Co.

La tabla 2 representa las concentraciones medias y las desviaciones estándar de cada metal en función del tipo de yogur.

Tabla 2. Concentración media \pm SD en cada tipo de yogur (mg/ kg de peso húmedo).

Metal	Tipo de yogur	
	Natural (n=30)	Con sabor (n=30)
Macroelementos		
Ca	548,130 \pm 380,852	495,778 \pm 296,853
K	715,387 \pm 228,508 ^a	812,641 \pm 246,646 ^a
Mg	104,012 \pm 27,664	102,828 \pm 36,123
Na	310,313 \pm 84,646	269,145 \pm 81,139
Microelementos y elementos traza		
B	0,655 \pm 0,139	0,541 \pm 0,407
Ba	0,236 \pm 0,123 ^a	0,266 \pm 0,097 ^a
Co	0,002 \pm 0,002 ^a	0,004 \pm 0,003 ^a
Cr	0,060 \pm 0,026 ^a	0,046 \pm 0,019 ^a
Cu	0,917 \pm 0,249	0,886 \pm 0,257
Fe	3,374 \pm 0,317 ^a	3,080 \pm 0,347 ^a
Li	0,214 \pm 0,193	0,148 \pm 0,095
Mn	1,622 \pm 0,182 ^a	1,886 \pm 0,419 ^a
Mo	0,101 \pm 0,086	0,150 \pm 0,085
Ni	0,149 \pm 0,061	0,154 \pm 0,064
Sr	0,380 \pm 0,136	0,469 \pm 0,355
V	0,013 \pm 0,015	0,016 \pm 0,018
Zn	2,128 \pm 0,613	2,048 \pm 0,606
Tóxicos		
Al	0,837 \pm 0,788 ^a	1,149 \pm 0,654 ^a
Cd	0,006 \pm 0,003 ^a	0,003 \pm 0,001 ^a
Pb	0,018 \pm 0,006 ^a	0,022 \pm 0,008 ^a

^a Diferencias significativas ($p < 0,05$)

El único metal que siguió una distribución normal fue el Cu. Al realizar la prueba T-medias, se comprobó que no existen diferencias significativas en la concentración de este metal entre los yogures naturales y con sabor. Para el resto de metales, la prueba U de Mann Whitney reveló que hay diferencias significativas entre los yogures naturales y de sabores en las concentraciones de Al, Ba, Cd, Co, Cr, Fe, K, Mn y Pb (Figuras 18-26).

Los metales tóxicos difieren significativamente unos de otros según el tipo de yogur, encontrando mayores concentraciones de Cd en el yogur natural, mientras que las concentraciones de Al y Pb son mayores en los yogures de sabor. El contenido de plomo es importante, ya que este metal, además de dañar el riñón y el sistema nervioso, puede interferir en el metabolismo del calcio y en la absorción de hierro y zinc. El aluminio también antagoniza los niveles de calcio (PTH), pudiendo disminuir la absorción de calcio y de hierro²⁷.

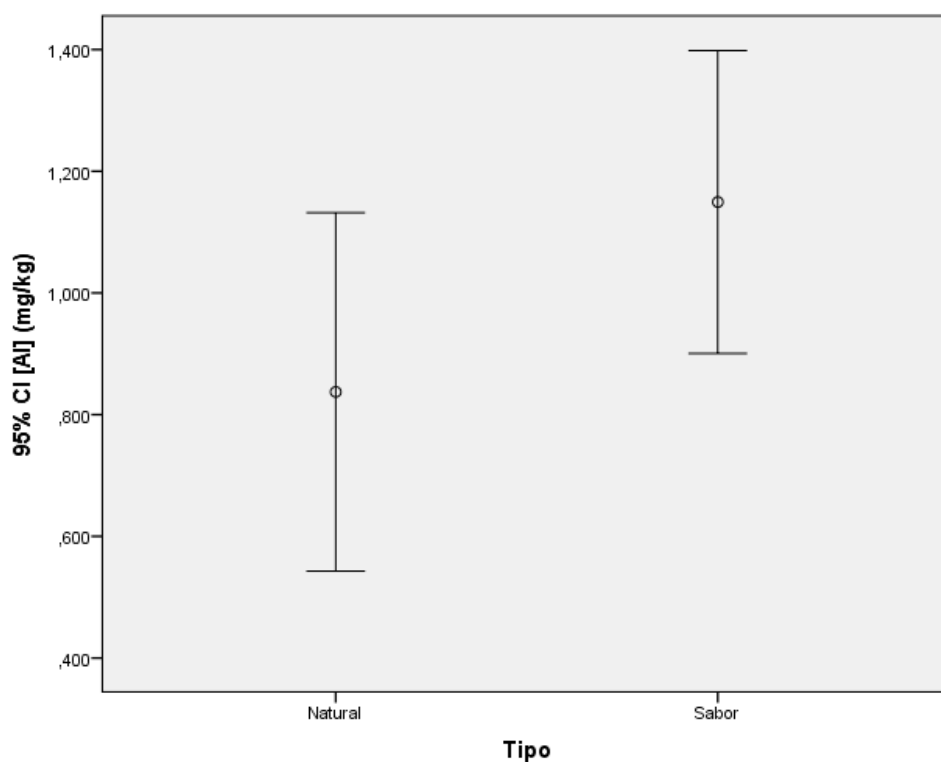


Figura 18. Concentración de Al (mg/Kg)

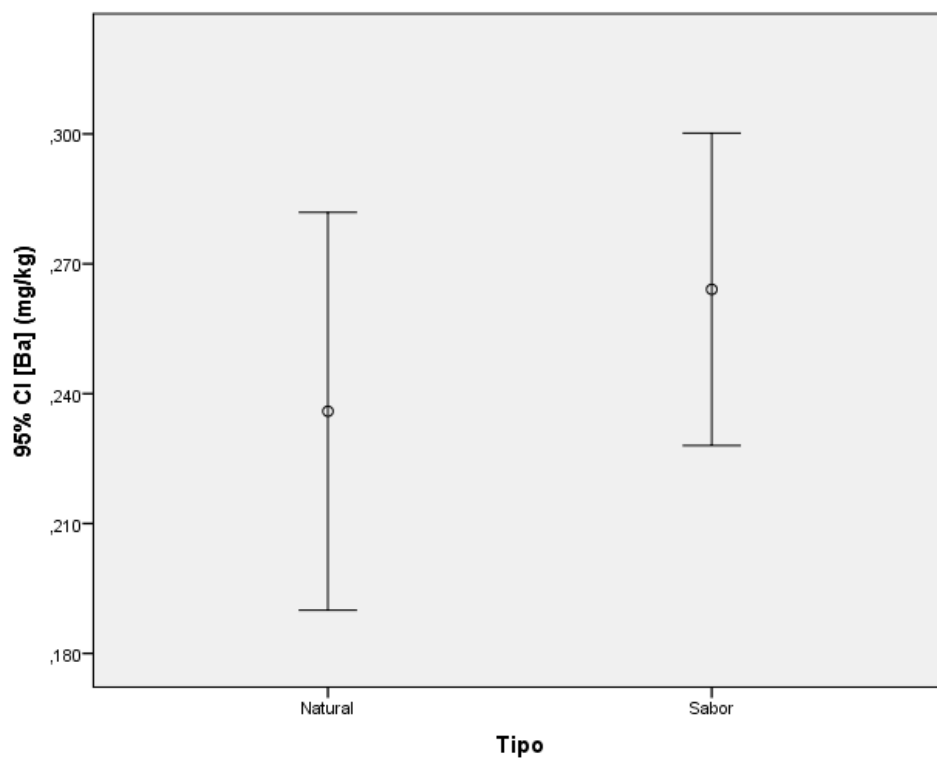


Figura 19. Concentración de Ba (mg/Kg)

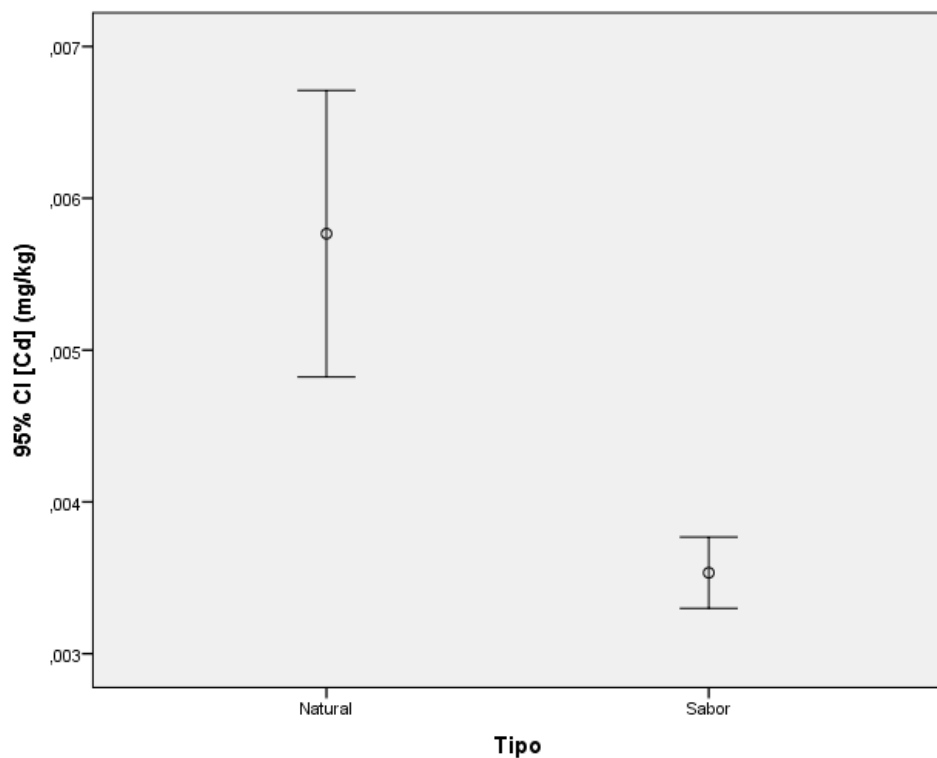


Figura 20. Concentración de Cd (mg/Kg)

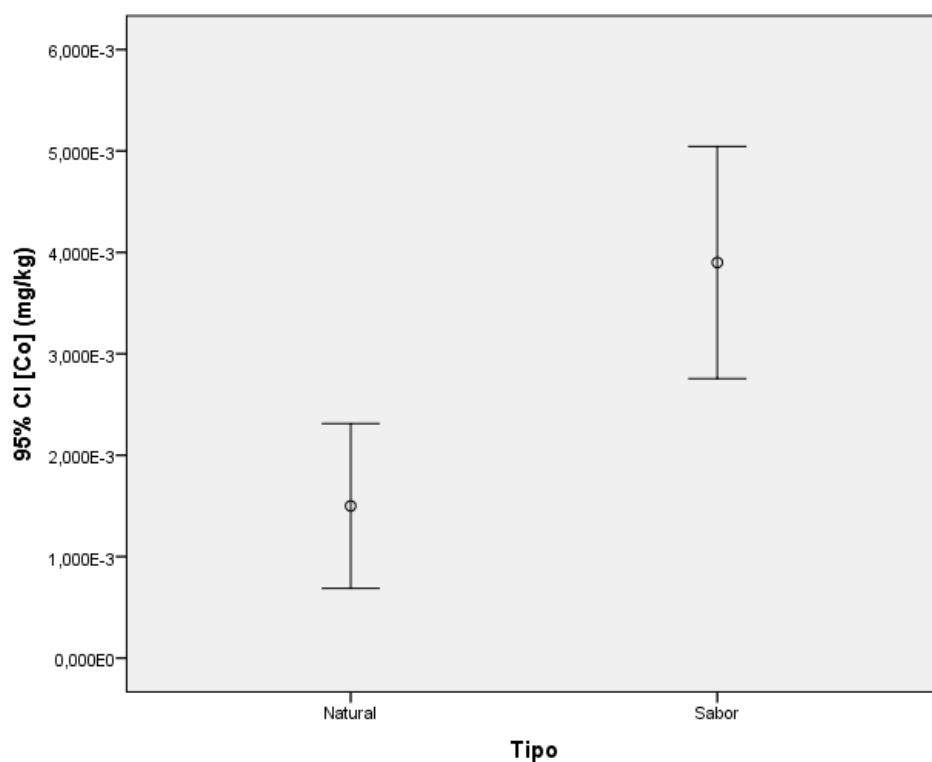


Figura 21. Concentración de Co (mg/Kg)

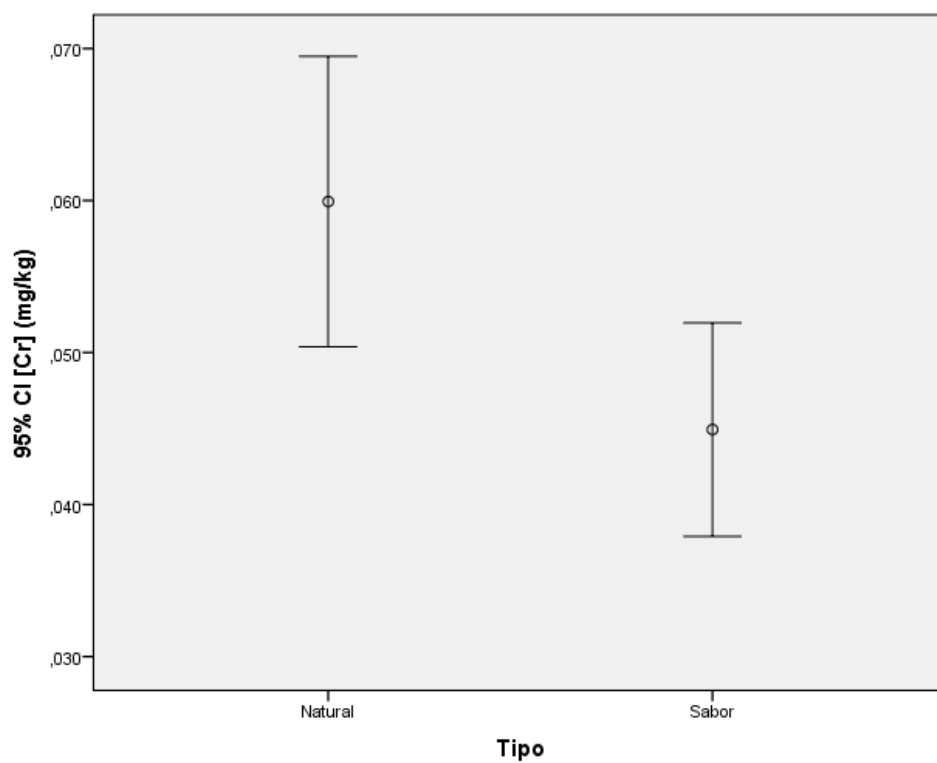


Figura 22. Concentración de Cr (mg/Kg)

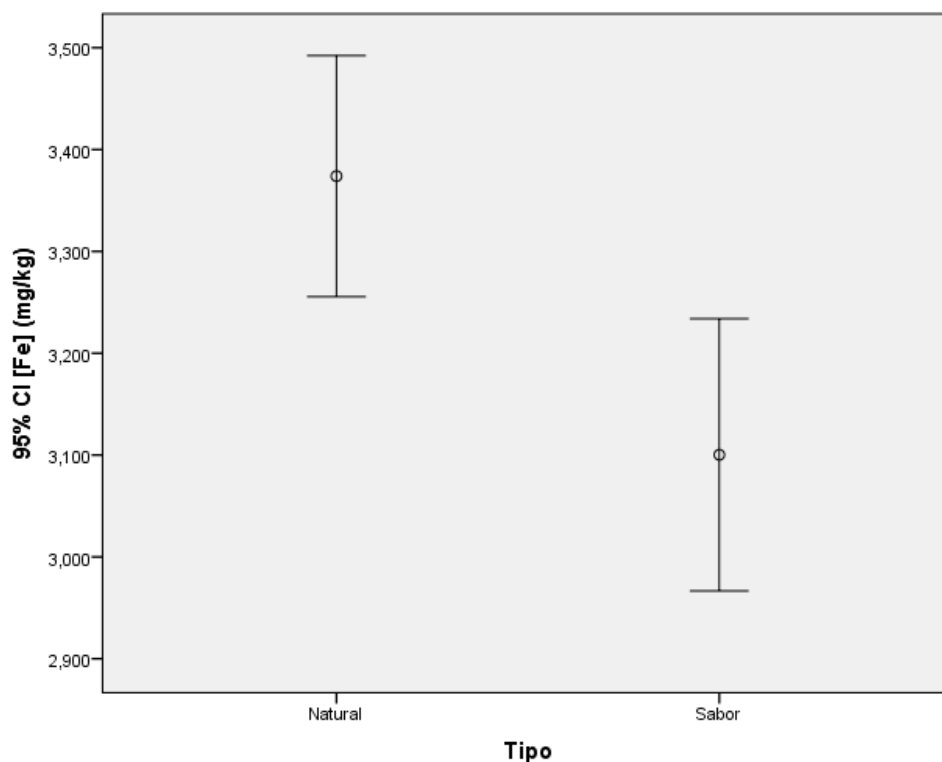


Figura 23. Concentración de Fe (mg/Kg)

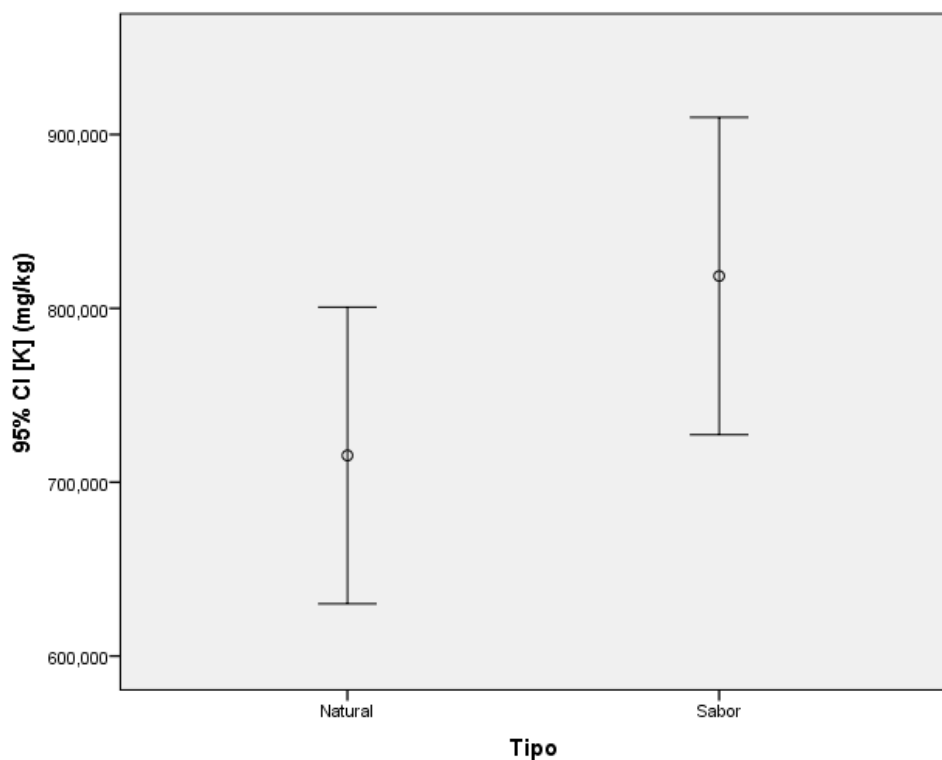


Figura 24. Concentración de K (mg/Kg)

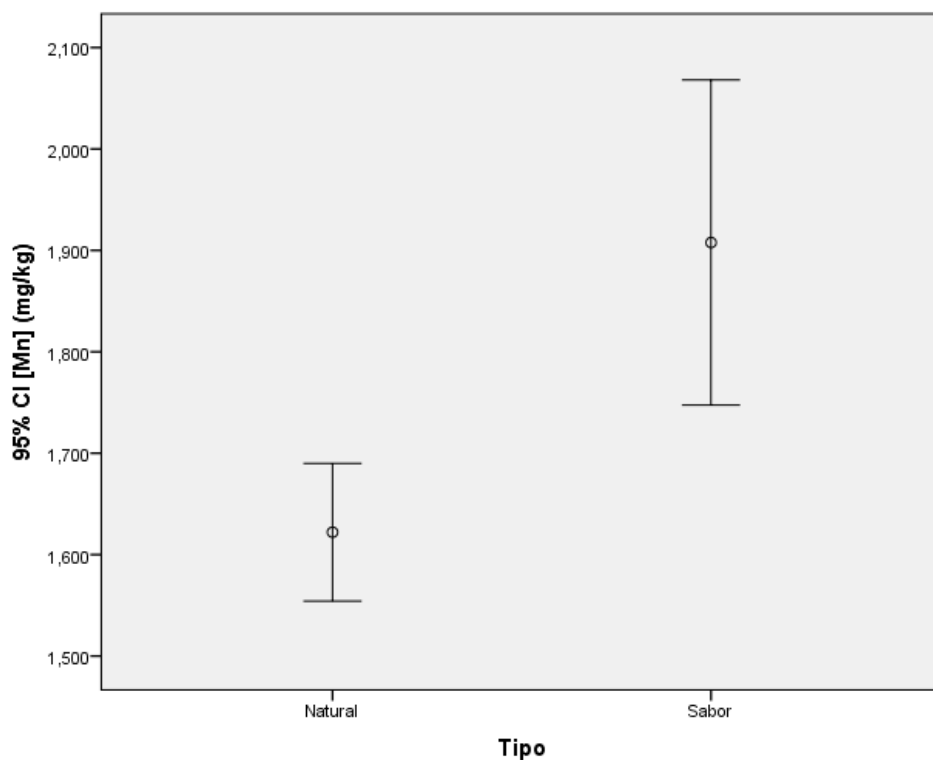


Figura 24. Concentración de Mn (mg/Kg)

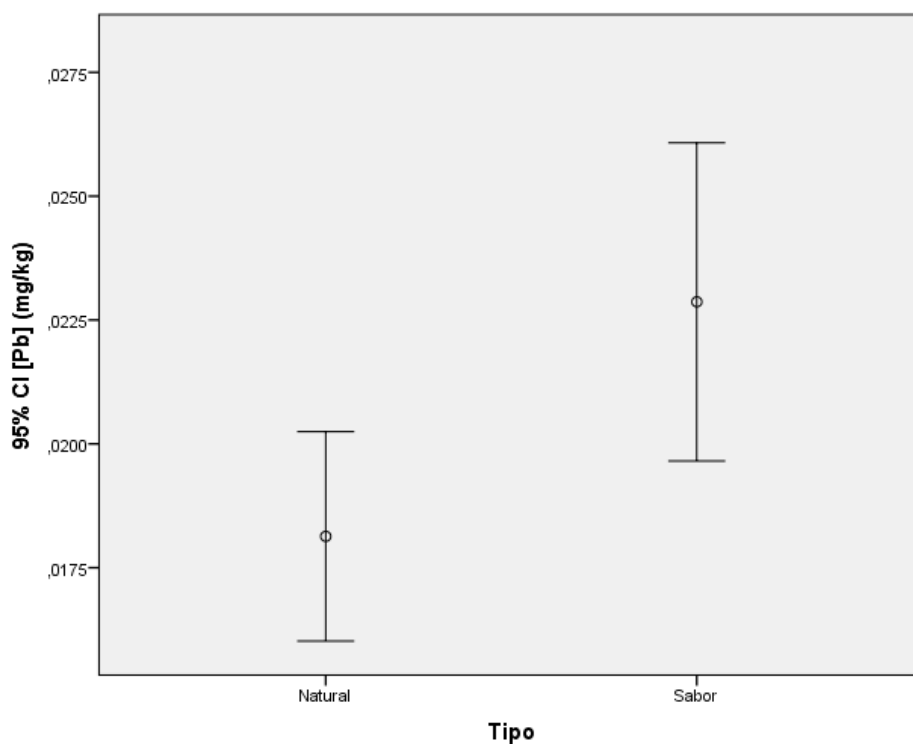


Figura 25. Concentración de Pb (mg/Kg)

5.2.1 Resultados por tipo y marca

En las tablas 3, 4 y 5 se presentan las distintas concentraciones que contienen los yogures naturales y con sabor en cada marca comercial.

En la marca Sojasun no se aprecian diferencias significativas en la mayoría de las concentraciones, a excepción de las concentraciones de Ca, Mg, Mn, Na, Ni, Sr, V y Zn, entre las cuales sí existen diferencias estadísticamente significativas (Figuras 26-33).

Tabla 3. Concentración media \pm SD en cada tipo de yogur de Sojasun (mg/ kg de peso húmedo).

Sojasun		
Metal	Tipo de yogur	
	Natural (n=10)	Con sabor (n=10)
Macroelementos		
Ca	1013,162 \pm 108,054 ^a	685,150 \pm 26,485 ^a
K	432,100 \pm 102,593	519,930 \pm 38,450
Mg	96,663 \pm 9,971 ^a	72,920 \pm 3,862 ^a
Na	323,980 \pm 33,318 ^a	268,320 \pm 23,570 ^a
Microelementos y elementos traza		
B	0,244 \pm 0,056	0,206 \pm 0,018
Ba	0,179 \pm 0,025	0,199 \pm 0,018
Co	<0,001	<0,001
Cr	0,077 \pm 0,011	0,068 \pm 0,005
Cu	0,628 \pm 0,054	0,616 \pm 0,079
Fe	3,484 \pm 0,379	2,872 \pm 0,106
Li	0,240 \pm 0,164	0,170 \pm 0,098
Mn	1,488 \pm 0,122 ^a	2,166 \pm 0,165 ^a
Mo	0,035 \pm 0,005	0,039 \pm 0,008
Ni	0,070 \pm 0,008 ^a	0,088 \pm 0,006 ^a
Sr	0,475 \pm 0,127 ^a	0,411 \pm 0,078 ^a
V	0,009 \pm 0,009 ^a	<0,001 ^a
Zn	1,504 \pm 0,066 ^a	1,443 \pm 0,047 ^a
Tóxicos		
Al	0,725 \pm 0,293	0,785 \pm 0,300
Cd	0,005 \pm 0,001	<0,001
Pb	0,018 \pm 0,005	0,019 \pm 0,004

^a Diferencias significativas ($p < 0,05$)

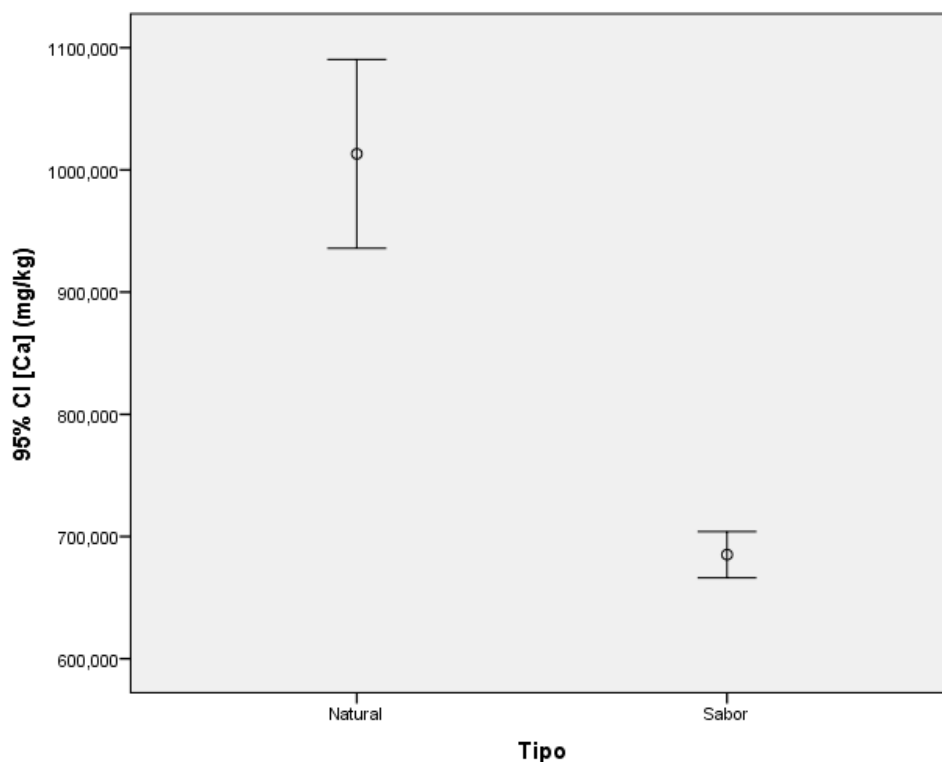


Figura 26. Concentración de Ca (mg/Kg)

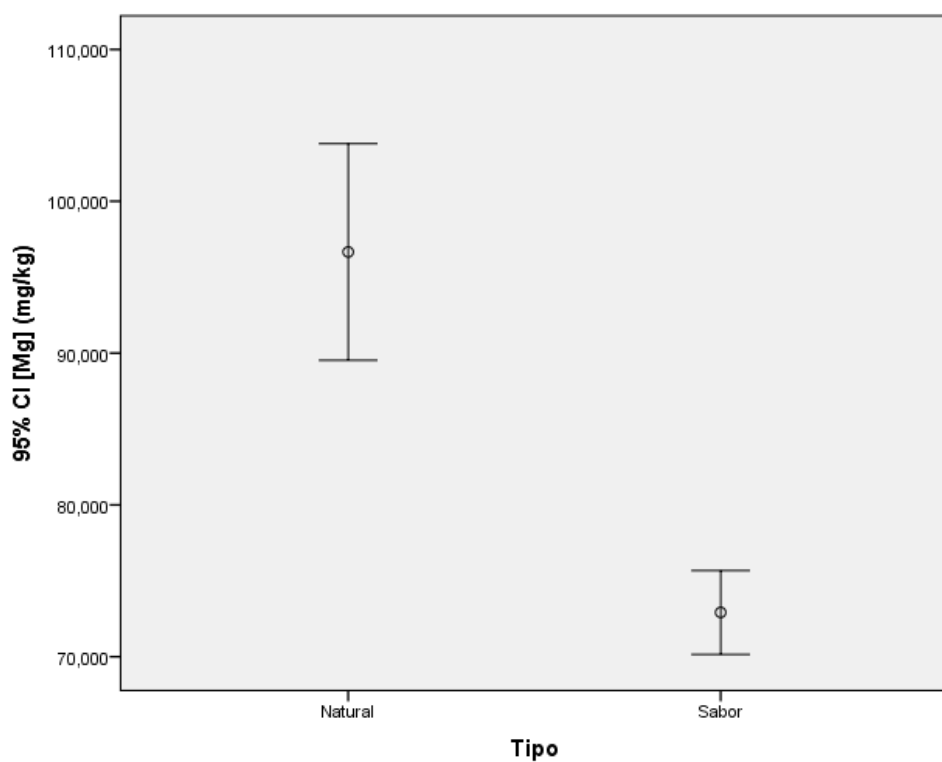


Figura 27. Concentración de Mg (mg/Kg)

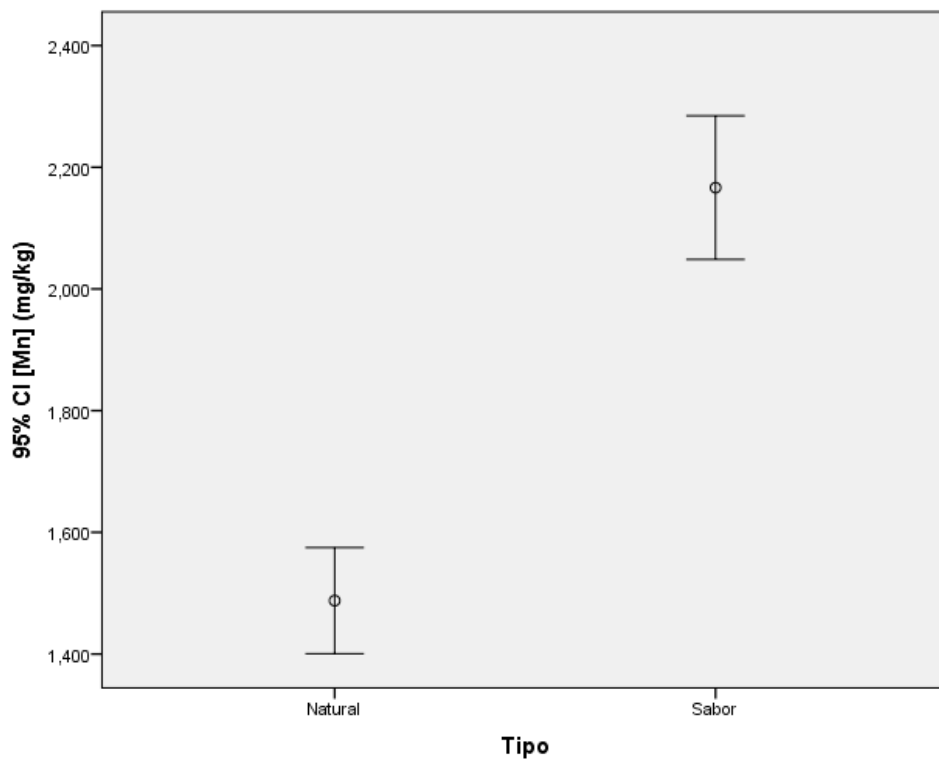


Figura 28. Concentración de Mn (mg/Kg)

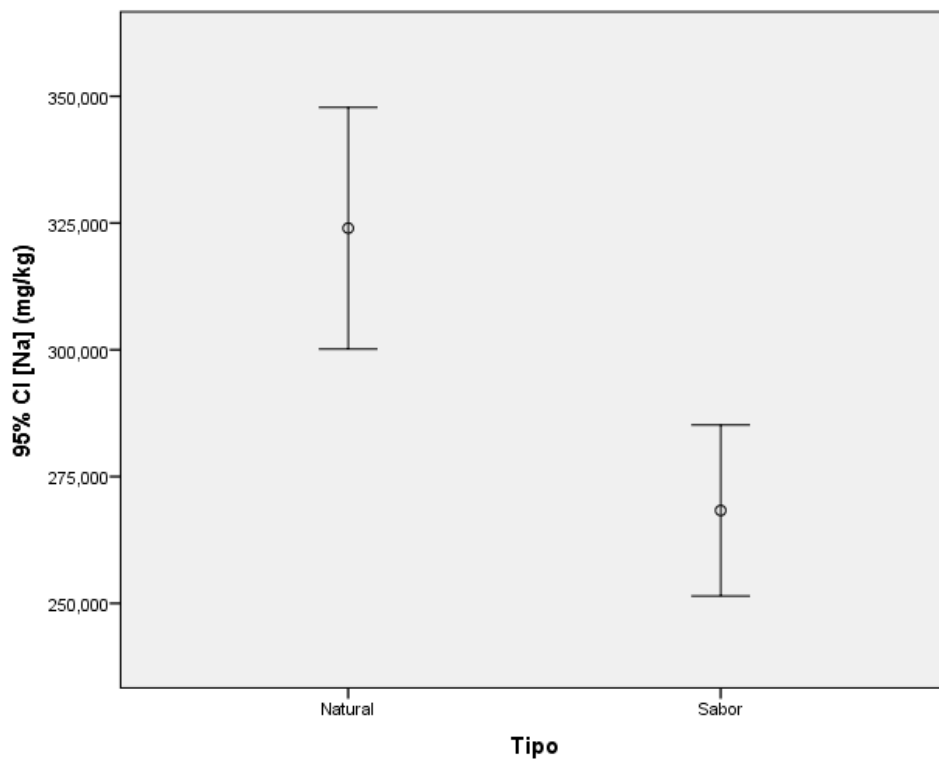


Figura 29. Concentración de Na (mg/Kg)

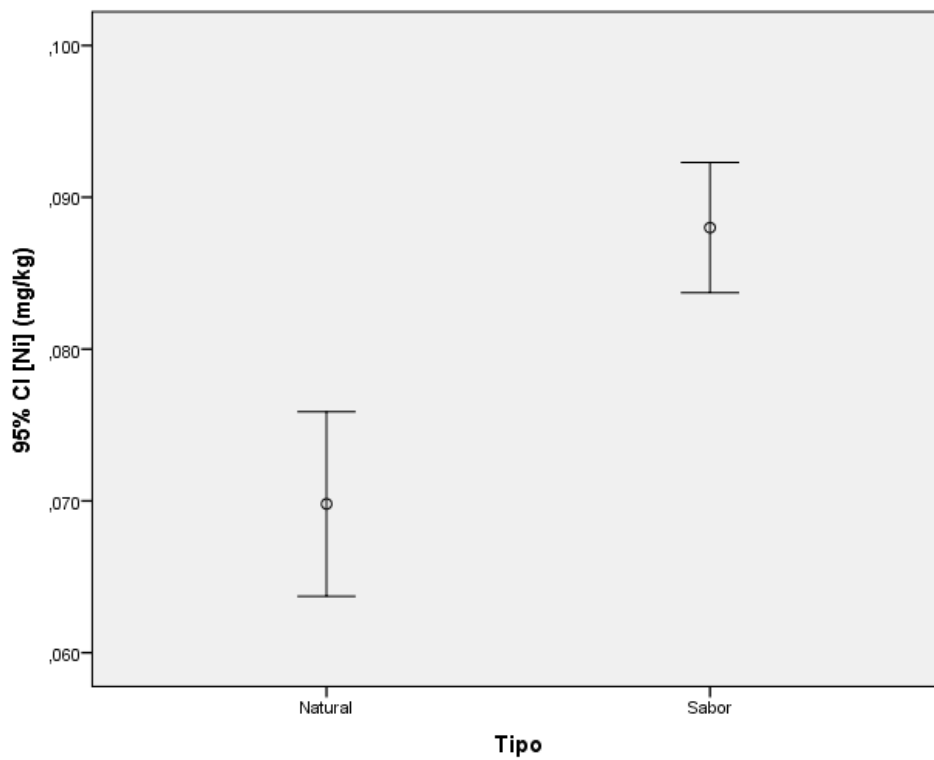


Figura 30. Concentración de Ni (mg/Kg)

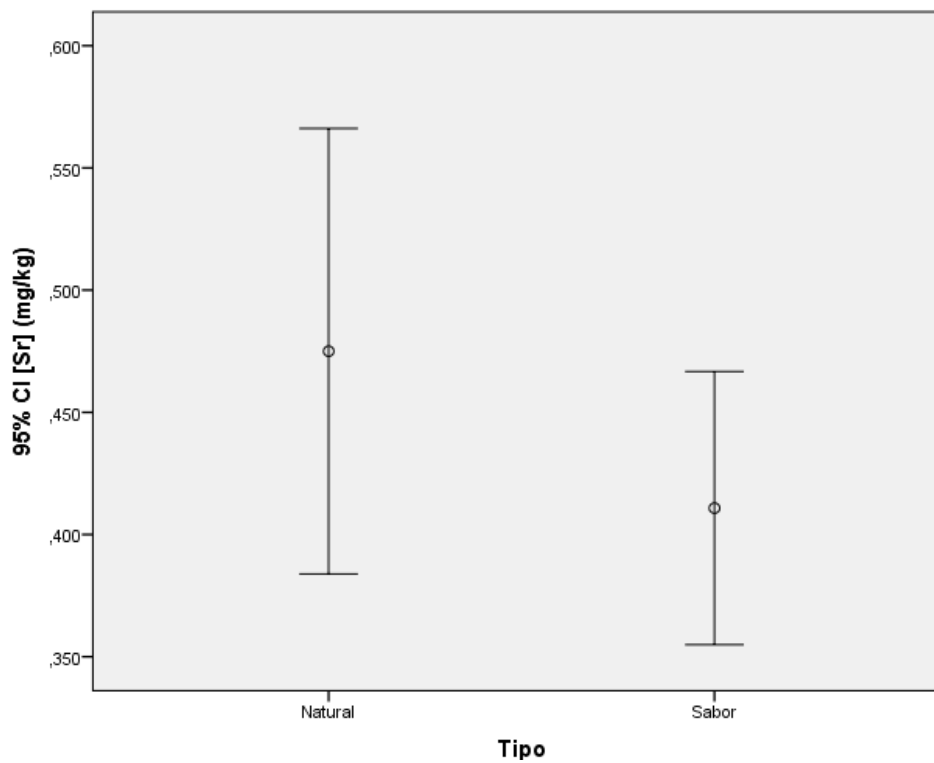


Figura 31. Concentración de Sr (mg/Kg)

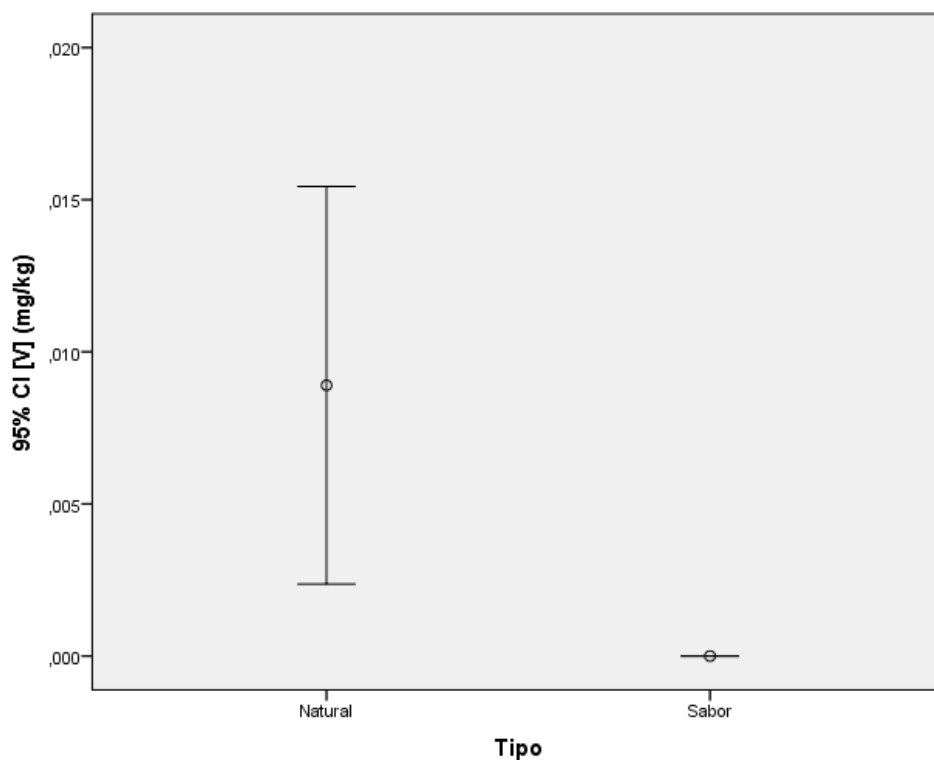


Figura 32. Concentración de V (mg/Kg)

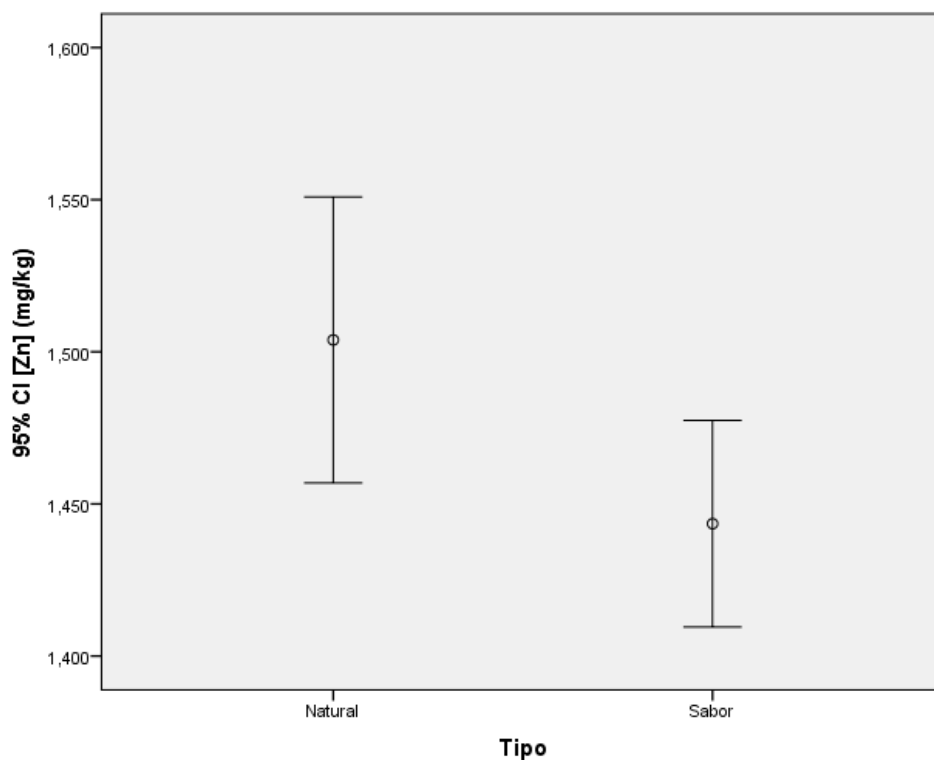


Figura 33. Concentración de Zn (mg/Kg)

En el caso de la marca Hacendado, los metales B y Cr presentan concentraciones significativamente distintas en ambos tipos de yogur (Figuras 34 y 35).

Tabla 4. Concentración media \pm SD en cada tipo de yogur de Hacendado (mg/kg peso húmedo).

Hacendado		
Metal	Tipo de yogur	
	Natural (n=10)	Con sabor (n=10)
Macroelementos		
Ca	522,050 \pm 22,189	654,340 \pm 236,876
K	903,330 \pm 34,031 ^a	1069,310 \pm 44,900 ^a
Mg	77,053 \pm 2,855	101,821 \pm 41,109
Na	209,610 \pm 12,787	182,430 \pm 31,068
Microelementos y elementos traza		
B	0,446 \pm 0,159 ^a	1,071 \pm 0,142 ^a
Ba	0,174 \pm 0,029 ^a	0,334 \pm 0,074 ^a
Co	<0,001 ^a	0,007 \pm 0,001 ^a
Cr	0,076 \pm 0,005 ^a	0,038 \pm 0,003 ^a
Cu	0,957 \pm 0,098	1,038 \pm 0,183
Fe	3,448 \pm 0,119	3,165 \pm 0,406
Li	0,100 \pm 0,080	0,156 \pm 0,121
Mn	1,559 \pm 0,044	1,438 \pm 0,149
Mo	0,054 \pm 0,001 ^a	0,222 \pm 0,009 ^a
Ni	0,171 \pm 0,009 ^a	0,165 \pm 0,054 ^a
Sr	0,351 \pm 0,023 ^a	0,734 \pm 0,500 ^a
V	<0,001	0,015 \pm 0,020
Zn	1,986 \pm 0,112	1,946 \pm 0,190
Tóxicos		
Al	0,690 \pm 0,495 ^a	1,776 \pm 0,607 ^a
Cd	ND	ND
Pb	0,018 \pm 0,005 ^a	0,031 \pm 0,008 ^a

^a Diferencias significativas ($p < 0,05$)

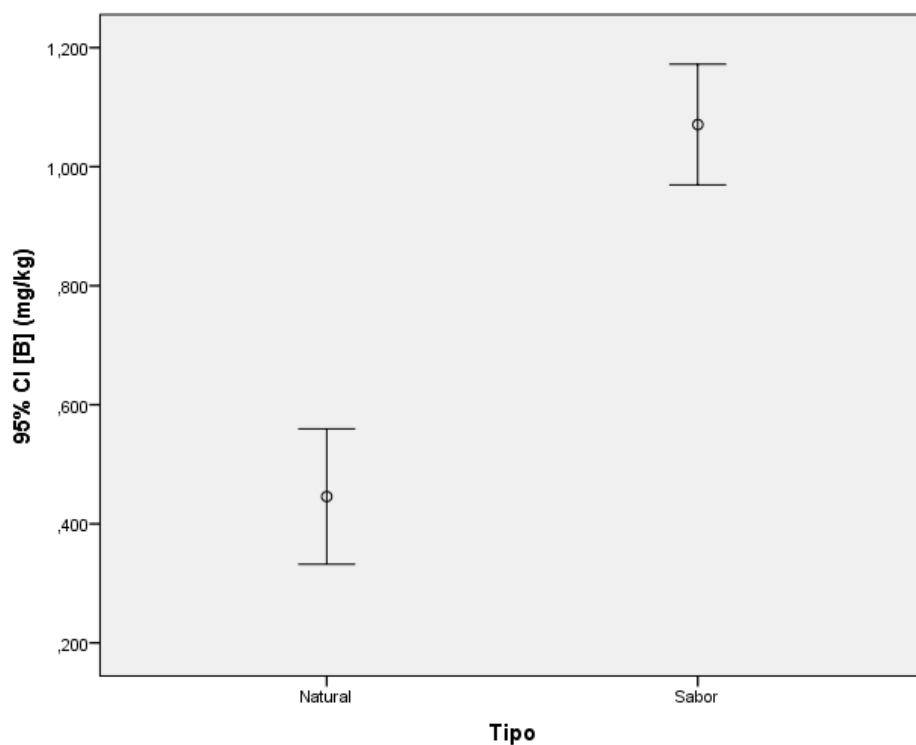


Figura 34. Concentración de B (mg/Kg)

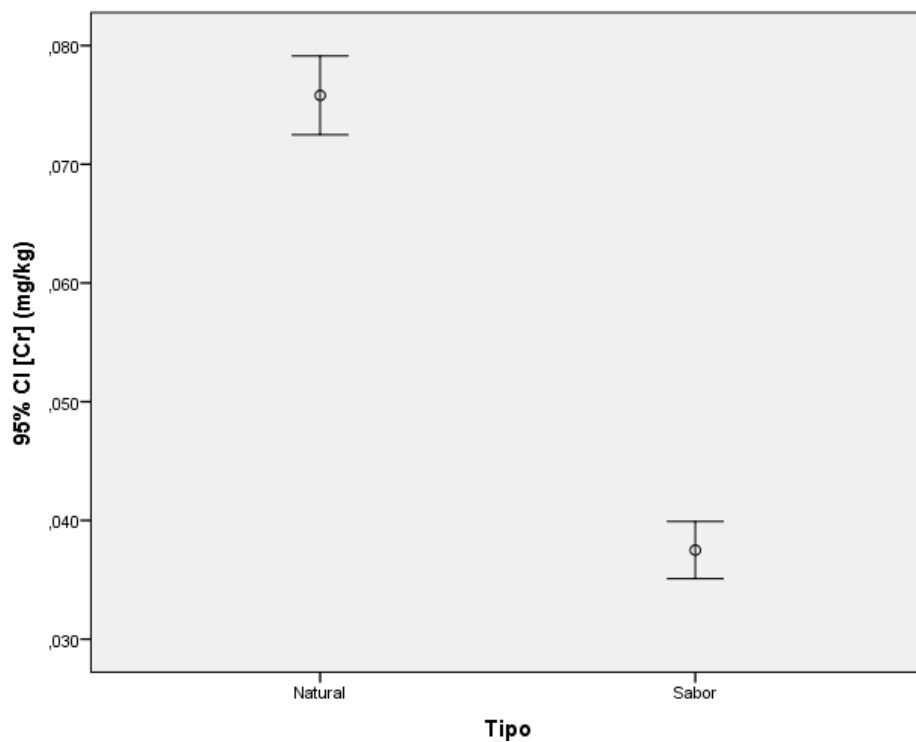


Figura 35. Concentración de Cr (mg/Kg)

El resto de metales no siguieron una distribución normal y la prueba U de Mann Whitney reveló diferencias entre ambos tipos de yogur en las concentraciones de Al, Ba, Cd, Co, K, Mo, Ni, Pb y Sr (Figuras 36-44).

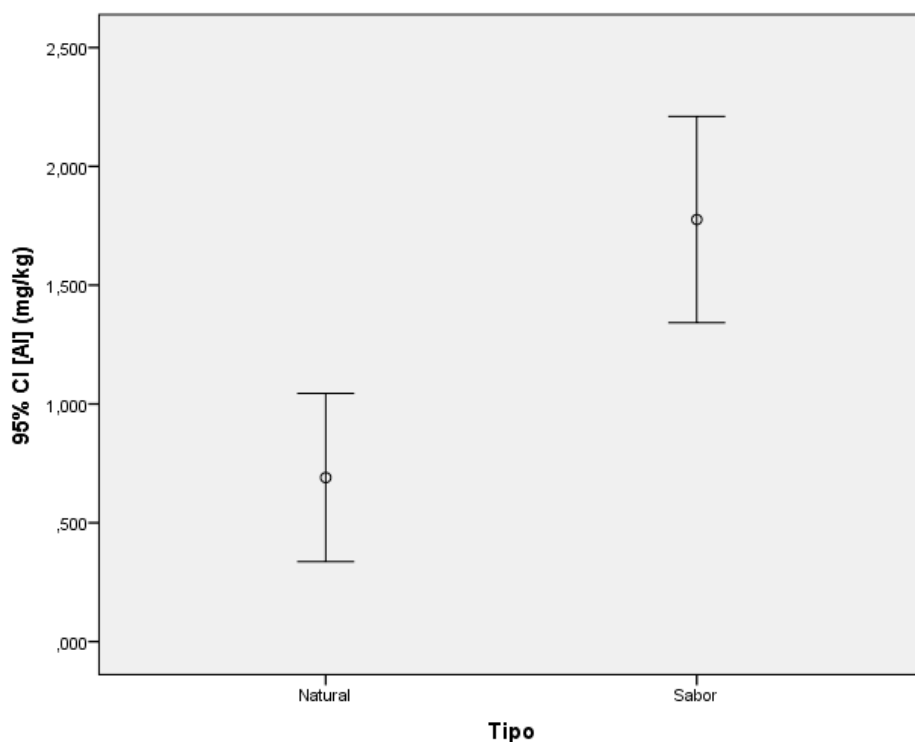


Figura 36. Concentración de Al (mg/Kg)

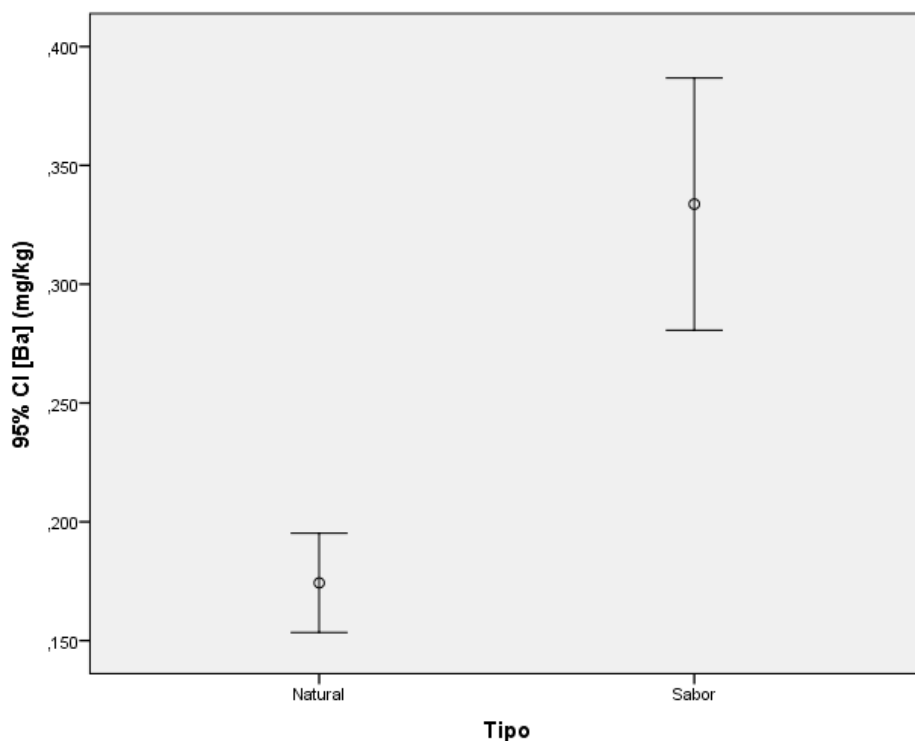


Figura 37. Concentración de Ba (mg/Kg)

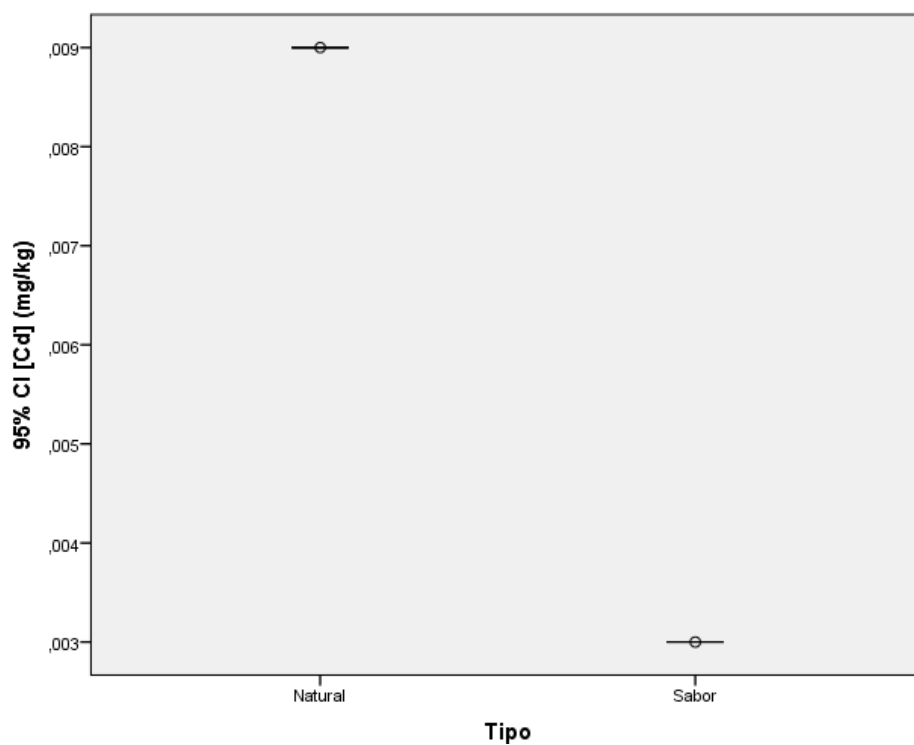


Figura 38. Concentración de Cd (mg/Kg)

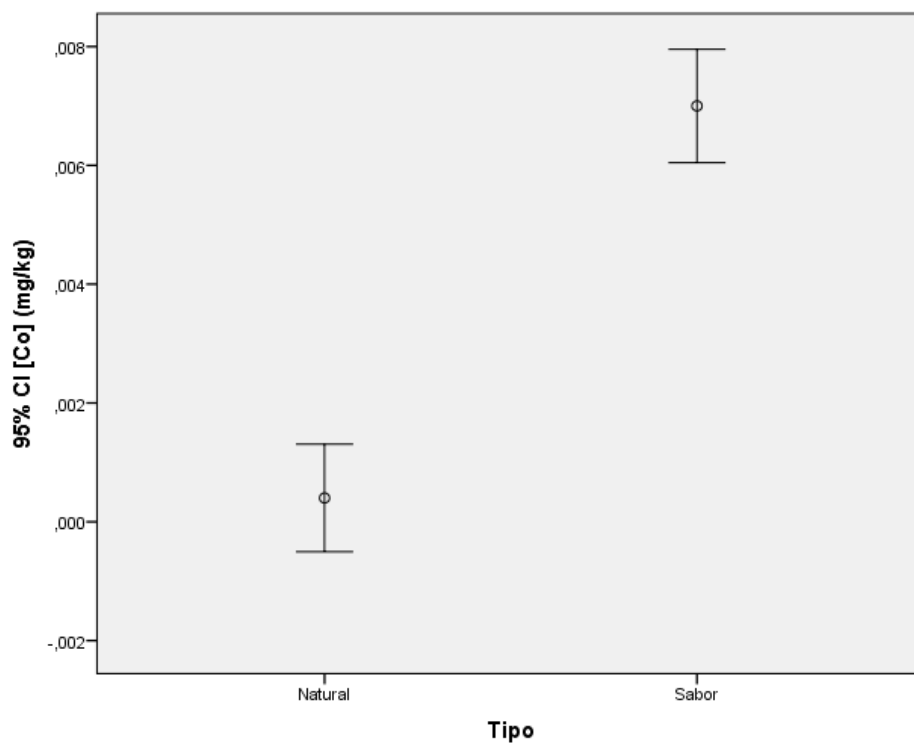


Figura 39. Concentración de Co (mg/Kg)

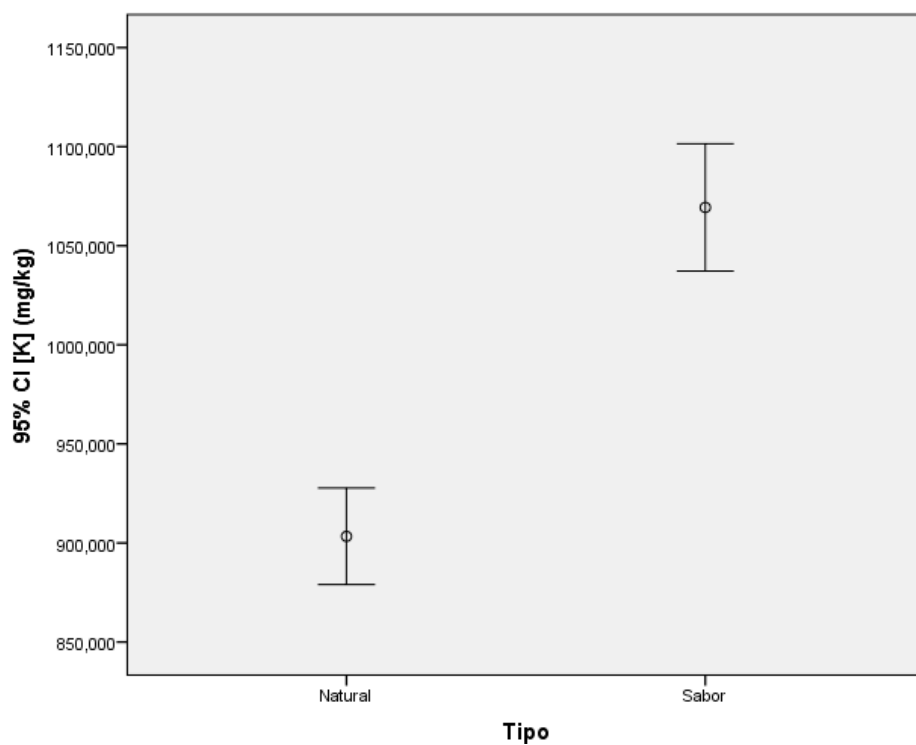


Figura 40. Concentración de K (mg/Kg)

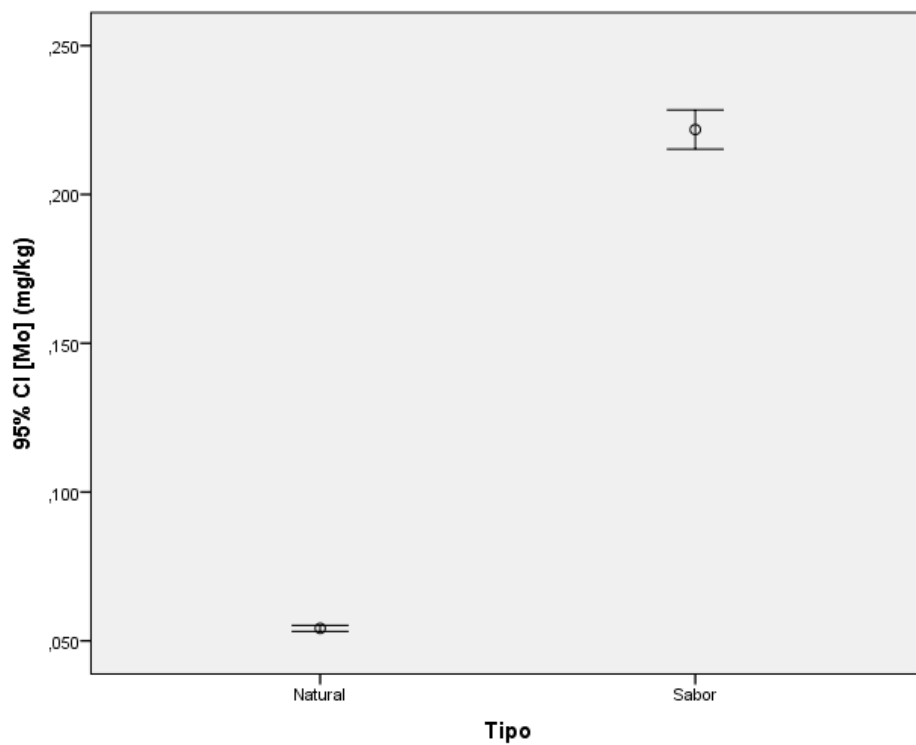


Figura 41. Concentración de Mo (mg/Kg)

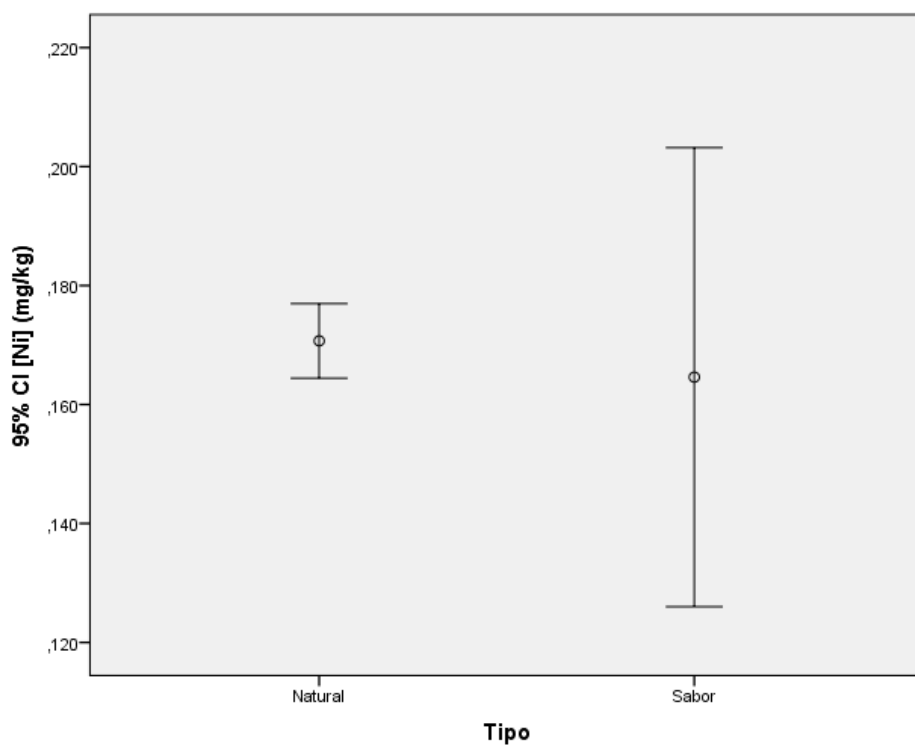


Figura 42. Concentración de Ni (mg/Kg)

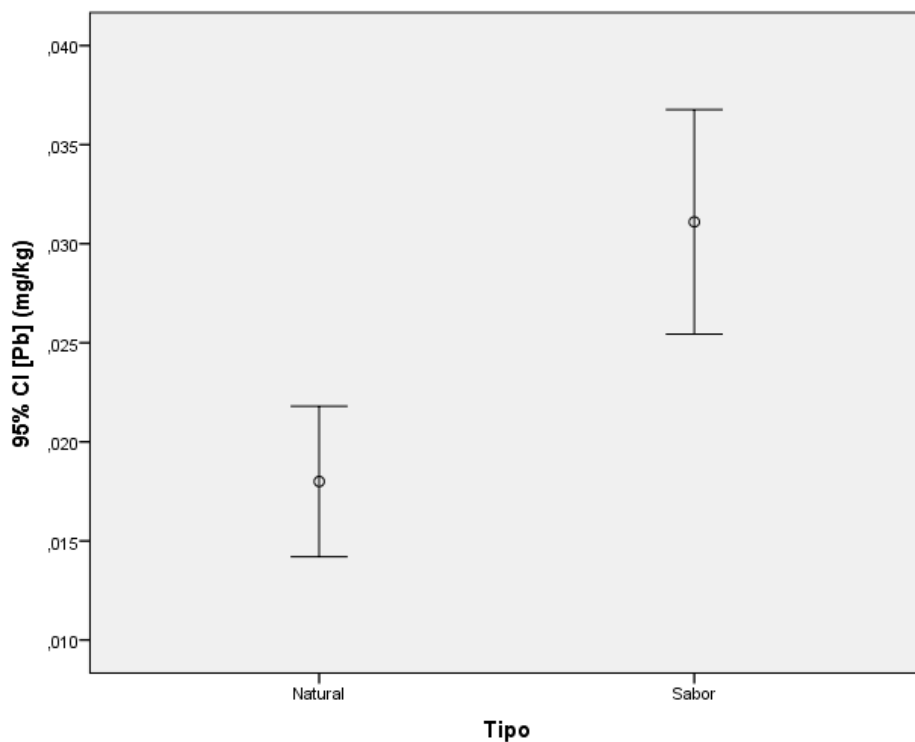


Figura 43. Concentración de Pb (mg/Kg)

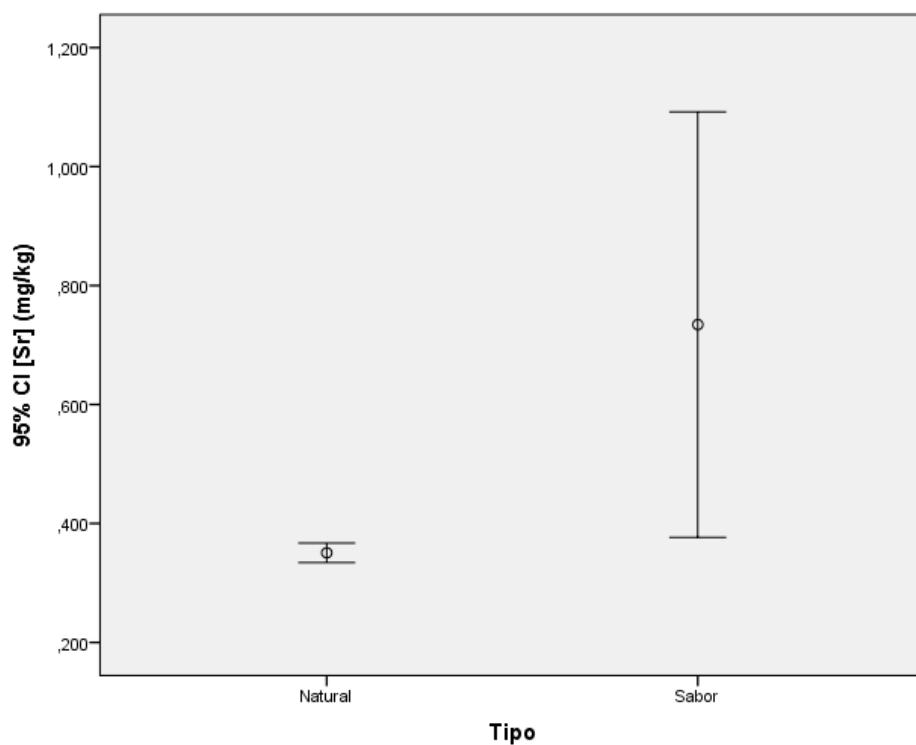


Figura 44. Concentración de Sr (mg/Kg)

Finalmente, los metales que presentan concentraciones significativamente distintas entre ambos tipos de yogur en la marca Provamel son Li, Mo y Na (Figuras 45-47).

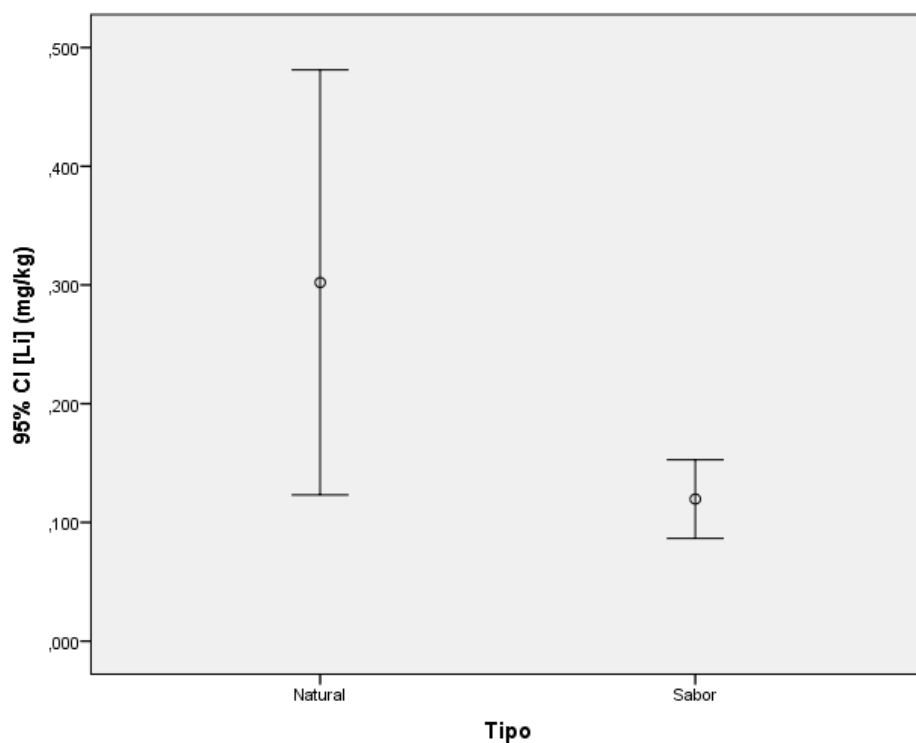


Figura 45. Concentración de Li (mg/Kg)

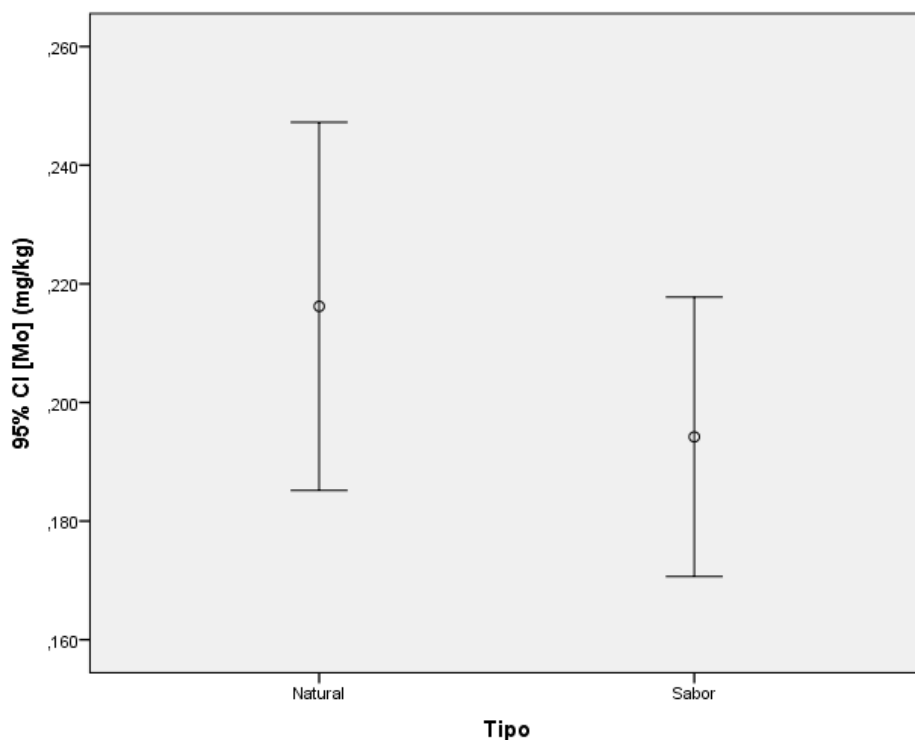


Figura 46. Concentración de Mo (mg/Kg)

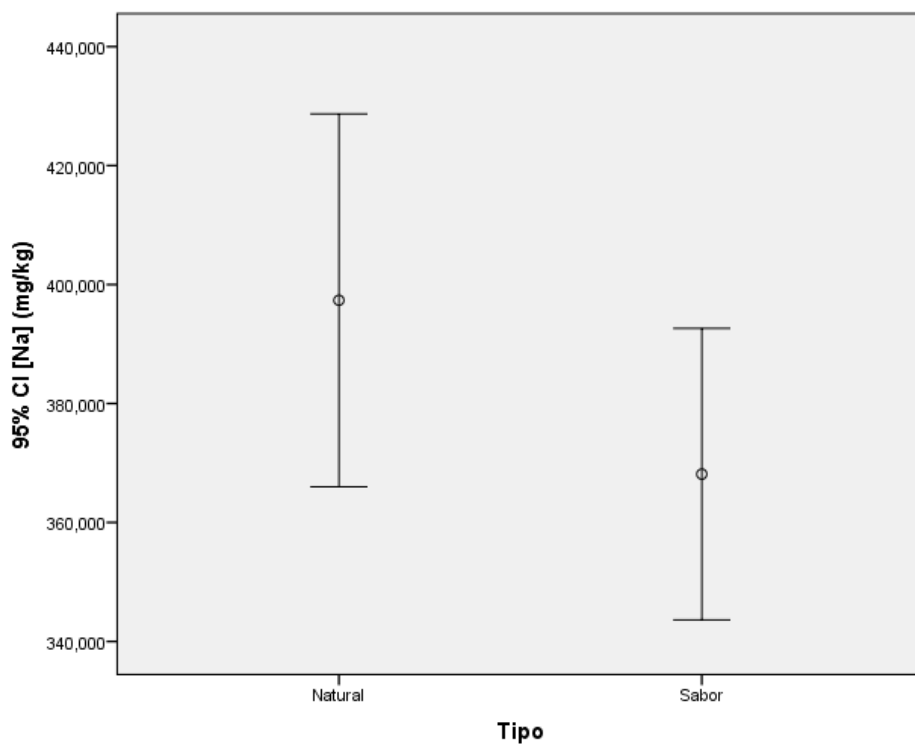


Figura 47. Concentración de Na (mg/Kg)

Tabla 5. Concentración media \pm SD en cada tipo de yogur de Provamel (mg/kg peso húmedo).

Provamel		
Metal	Tipo de yogur	
	Natural (n=10)	Con sabor (n=10)
Macroelementos		
Ca	109,177 \pm 9,118	110,706 \pm 11,413
K	810,730 \pm 134,359	866,510 \pm 132,950
Mg	138,320 \pm 13,526	139,080 \pm 14,699
Na	397,350 \pm 43,828 ^a	368,130 \pm 34,274 ^a
Elementos traza		
B	0,279 \pm 0,089	0,346 \pm 0,132
Ba	0,354 \pm 0,154	0,259 \pm 0,119
Co	0,004 \pm 0,002	0,004 \pm 0,000
Cr	0,027 \pm 0,013	0,029 \pm 0,014
Cu	1,167 \pm 0,153	1,045 \pm 0,221
Fe	3,190 \pm 0,329	3,264 \pm 0,380
Li	0,302 \pm 0,250 ^a	0,120 \pm 0,046 ^a
Mn	1,819 \pm 0,148	2,118 \pm 0,419
Mo	0,216 \pm 0,043 ^a	0,194 \pm 0,033 ^a
Ni	0,209 \pm 0,015	0,219 \pm 0,027
Sr	0,313 \pm 0,164	0,271 \pm 0,103
V	0,032 \pm 0,004	0,034 \pm 0,005
Zn	2,893 \pm 0,300	2,883 \pm 0,313
Tóxicos		
Al	1,096 \pm 1,250	1,093 \pm 0,870
Cd	0,003 \pm 0,000	0,004 \pm 0,001
Pb	0,018 \pm 0,007	0,019 \pm 0,007

^a Diferencias significativas ($p < 0,05$)

5.3. Comparación entre yogures veganos y yogures convencionales

La tabla 6 compara las concentraciones de metales obtenidas en este trabajo con los resultados de yogures convencionales estudiados por Luis et al. (2015).

Las concentraciones de macroelementos (Ca, K, Mg y Na) son mayores en los yogures elaborados a base de lácteos, mientras que los microelementos y elementos traza son mucho más abundantes en los yogures veganos, a excepción de Ba, Li y Zn, que presentan mayor concentración en los convencionales, así como las concentraciones de Co y V, que son similares en ambos casos.

Tabla 6. Comparación de concentraciones entre yogures lácteos y veganos (mg/kg \pm SD).

Metal	Yogures veganos		Yogures tradicionales Luis et al. (2015) ⁶	
	Natural	Sabores	Natural	Sabores
Macroelementos				
Ca	548 \pm 381	496 \pm 297	1080 \pm 110	952 \pm 70
K	715 \pm 228	813 \pm 245	1135 \pm 111	1067 \pm 61
Mg	104 \pm 28	103 \pm 36	121 \pm 18	109 \pm 20
Na	310 \pm 85	269 \pm 81	462 \pm 59	447 \pm 54
Microelementos y elementos traza				
B	0,66 \pm 0,14	0,541 \pm 0,407	0,08 \pm 0,05	0,05 \pm 0,02
Ba	0,24 \pm 0,12	0,266 \pm 0,097	0,53 \pm 0,38	0,28 \pm 0,19
Co	0,002 \pm 0,002	0,004 \pm 0,003	0,002 \pm 0,001	0,002 \pm 0,001
Cr	0,06 \pm 0,03	0,05 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01
Cu	0,92 \pm 0,25	0,89 \pm 0,26	0,29 \pm 0,08	0,25 \pm 0,07
Fe	3,37 \pm 0,32	3,08 \pm 0,35	0,31 \pm 0,08	0,34 \pm 0,19
Li	0,21 \pm 0,19	0,15 \pm 0,09	0,49 \pm 0,26	0,55 \pm 0,30
Mn	1,62 \pm 0,18	1,89 \pm 0,42	0,02 \pm 0,004	0,02 \pm 0,01
Mo	0,10 \pm 0,09	0,15 \pm 0,08	0,04 \pm 0,01	0,03 \pm 0,01
Ni	0,15 \pm 0,06	0,15 \pm 0,06	0,01 \pm 0,003	0,01 \pm 0,004
Sr	0,38 \pm 0,14	0,45 \pm 0,35	<0,003	<0,003
V	0,01 \pm 0,01	0,02 \pm 0,02	0,02 \pm 0,01	0,02 \pm 0,01
Zn	2,13 \pm 0,61	2,05 \pm 0,61	3,10 \pm 0,85	2,47 \pm 0,21
Tóxicos				
Al	0,84 \pm 0,79	1,149 \pm 0,654	0,72 \pm 0,57	0,45 \pm 0,27
Cd	0,006 \pm 0,003	0,003 \pm 0,001	<0,001	<0,001
Pb	0,018 \pm 0,006	0,022 \pm 0,008	0,003 \pm 0,003	0,001 \pm 0,001

Al comparar concentraciones entre los tipos de yogures convencionales, vemos que los naturales son los que mayor concentración de elementos traza contienen, a excepción del Fe y Li, que son más abundantes en los de sabor. En cambio, al hacer la misma comparación entre los yogures veganos, vemos que estos dos metales (Fe y Li) se encuentran en mayor concentración en los yogures naturales.

En general, el elemento traza más abundante en los yogures veganos es el Fe, mientras que en los preparados a partir de lácteos, es el Zn.

Parece ser que, debido a una dieta rica en granos y legumbres, los vegetarianos y veganos consumen cantidades de hierro similares a los omnívoros^{28,29}. Sin embargo, aunque las cantidades sean elevadas, la principal fuente de hierro en la dieta vegana se encuentra en forma no hemo, que es menos biodisponible que el hierro hemo que se encuentra en los productos animales. Por ello, se recomienda que la ingesta de hierro para vegetarianos y veganos aumenten en un 80%, de modo que los hombres alcancen una ingesta recomendada de 14 mg/día y las mujeres 33 mg/día (en comparación con la IDR de 8 mg/día y 18 mg/día en omnívoros), debido a los problemas de biodisponibilidad³⁰.

El zinc es un componente enzimático involucrado en los procesos metabólicos relacionados con la estabilización del ADN y la expresión génica; también es importante en el crecimiento celular, la reparación y el metabolismo de las proteínas³¹. Al igual que el hierro, el zinc está ampliamente disponible en alimentos de origen vegetal, pero tampoco se absorbe fácilmente³⁰. No obstante, el cuerpo parece adaptarse a menores ingestas de zinc, reduciendo las pérdidas y aumentando la absorción para mantener el equilibrio^{32,33}. Sin embargo, la OIM sugiere que los veganos consuman hasta un 50% más de zinc que los no veganos debido a su escasa biodisponibilidad³⁰. Se recomienda aumentar la ingesta hasta 16.5 mg/día de zinc (hombres) y hasta 12 mg/día (mujeres), en comparación con la dosis diaria recomendada de 11 y 8 mg/día, respectivamente, en omnívoros³⁴.

Por último, cabe destacar que las concentraciones de metales tóxicos (Al, Cd y Pb) son mayores en los yogures veganos que en los convencionales. Este hecho puede deberse a que las concentraciones de metales en diferentes alimentos, como la soja, dependen de la composición del suelo, el balance de nutrientes y la permisibilidad de los metales, la capacidad de absorción y la selectividad de las especies³⁵. Asimismo, muchos estudios han demostrado que los vegetales son capaces de acumular niveles relativamente altos de metales tóxicos de la tierra³⁶.

En el caso del plomo, la UE ha establecido límites máximos en determinados alimentos en el Reglamento 2015/1005. En el caso del yogur vegano, el nivel máximo de Pb en su materia prima, la soja, se establece en 0,20 mg/Kg³⁷. En los yogures veganos naturales, el contenido medio de Pb en las muestras es 0,018 mg/kg, mientras que en los de sabores los valores rondan los 0,022 mg/kg, encontrándose en ambos casos muy por debajo del límite máximo permitido.

5.4 Contribución IDR de metales debida al consumo de yogur

La Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD) estableció en 2010 las ingestas dietéticas de referencia (IDR) para la población adulta española³⁸ (Tabla 7).

Tabla 7. IDR de metales esenciales para la población adulta española según la FESNAD.

Metal	IDR (mg/día)	
	Mujeres	Hombres
Macroelementos		
Ca	900-1000	900-1000
K	3100	3100
Mg	300	350
Na	1500	1500
Microelementos y elementos traza		
Cr	25	35
Cu	1,1	1,1
Fe	18	9
Mn	1,8	2,3
Mo	45	45
Zn	7	9,5

Para evaluar la contribución de la ingesta a las IDR, tenemos en cuenta el consumo medio diario de yogur en la población de Canarias establecido por la Encuesta de Nutrición de Canarias (ENCA, 2000)³⁹. Asumiendo que la ingesta de yogures veganos es la misma que la de yogures convencionales pero en población vegana, el consumo medio en adultos es de 42,1 g yogur/día. Para determinar la ingesta de cada elemento, multiplicamos la concentración del metal en el yogur por el consumo medio de este alimento⁴⁰. La tabla 8 muestra la ingesta diaria de elementos esenciales derivada del consumo de yogur y su contribución a las IDRs.

Tabla 8. Ingesta (mg/día) de metales según el consumo y su contribución a la IDR (%).

Metal	Consumo ENCA			Consumo de 1 yogur (125 g)/día		
	Ingesta (mg/día)	Contribución IDR (%)		Ingesta (mg/día)	Contribución IDR (%)	
		Mujeres	Hombres		Mujeres	Hombres
Macroelementos						
Ca	21,974	2,313	2,313	65,244	6,868	6,868
K	32,165	1,038	1,038	95,502	3,081	3,081
Mg	4,354	1,451	1,244	12,928	4,309	3,694
Na	12,198	0,813	0,813	36,216	2,414	2,414
Microelementos						
Cr	0,002	0,009	0,006	0,006	0,026	0,019
Cu	0,038	3,450	3,450	0,113	10,244	10,244
Fe	0,136	0,755	1,510	0,403	2,241	4,482
Mn	0,074	4,102	3,211	0,219	12,181	9,533
Mo	0,005	0,012	0,012	0,016	0,035	0,035
Zn	0,088	1,256	0,925	0,261	3,729	2,747

El macroelemento que más contribuye a la ingesta diaria es el Ca (2,3 % según ENCA y 6,9 % consumiendo un yogur al día), seguido del Mg, K y Na. En cuanto a elementos traza, el que mayor aportación tiene sobre la IDR es el Mn en mujeres y el Cu en hombres. Por el contrario, la contribución de yogures veganos a la ingesta diaria recomendada de Mo y Cr es muy baja.

5.5. Contribución PTWI y TDI de metales debida al consumo de yogur

La EFSA estableció en 2011 la ingesta semanal provisional tolerable (PTWI) de Al en 1 mg/Kg peso corporal/semana⁴¹. Es decir, que un adulto de 70 Kg tendría que ingerir 70 mg Al a la semana para alcanzar los niveles tóxicos. Teniendo en cuenta el consumo de yogur según la ENCA, un adulto ingiere aproximadamente 0,293 mg Al/semana (ISE o ingesta semanal estimada). En caso de consumir 1 yogur diario, los niveles de Al ingeridos en una semana serían 0,869 mg, lo cual quiere decir que los niveles de Al ingeridos con el consumo de yogures veganos están muy por debajo del límite tóxico de este metal. Para que exista riesgo, el margen de seguridad (MOS = ISE/PTWI) debe ser >1. Teniendo en cuenta este dato, un adulto de 70 kg debe consumir más de 70 yogures veganos a la semana para que haya riesgo toxicológico.

Para el Cd, la PTWI establecida que garantiza la protección de los consumidores es 2,5 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ peso corporal/semana⁴². En este caso, el límite en un adulto de 70 kg sería 175 μg Cd/semana. Igual que en el caso del Al, los niveles ingeridos de este metal con el consumo de los yogures veganos no excedería el umbral de toxicidad. Los resultados se representan en la tabla 9. Para que exista riesgo toxicológico en el caso del Cd, el adulto tendría que consumir alrededor de 39 yogures veganos a la semana.

Tabla 9. Ingesta (mg/día) de metales y contribución a la PTWI (%) debido al consumo de yogur

Metal	Consumo ENCA (294,7 g/semana)		Consumo de 1 yogur (875 g/semana)	
	Ingesta	Contribución PTWI (%)	Ingesta	Contribución PTWI (%)
Tóxicos				
Al	0,293 mg/semana	0,418	0,869 mg/semana	1,241
Cd	1,326 μg /semana	0,758	3,938 μg /semana	2,250

Finalmente, en el caso del Pb, la dosis de referencia actual para la aparición de efectos negativos en la salud es 0,63 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal/día (dosis de Benchmark o BMDL)⁴³. Teniendo en cuenta el margen de seguridad MOS, un adulto promedio tendría que ingerir 44,1 μg Pb/día, equivalentes a 17 yogures veganos a la semana para la aparición de efectos adversos. La tabla 10 muestra la contribución de Pb a la dosis Benchmark debida al consumo.

Tabla 10. Ingesta (mg/día) de Pb y su contribución a la BMDL (%) debido al consumo de yogur.

Metal	Consumo ENCA (42,1 g/día)		Consumo de 1 yogur (125 g/día)	
	Ingesta	Contribución BMDL (%)	Ingesta	Contribución BMDL (%)
Tóxicos				
Pb	0,842 μg /día	1,909	2,500 μg /día	5,669

6. Conclusiones

1. Existen diferencias significativas entre las distintas marcas comerciales en las concentraciones de todos los macroelementos, microelementos y elementos traza. En cuanto a metales tóxicos, la concentración más alta en las tres marcas es la de Al, seguida de Pb y Cd.
2. En ambos tipos de yogur (natural y de sabores), la concentración más alta es la de K, seguida de Ca >Na >Mg. Hay diferencias significativas entre los yogures naturales y de sabores en las concentraciones de Al, Ba, Cd, Co, Cr, Fe, K, Mn y Pb. Los metales tóxicos difieren significativamente unos de otros, encontrando mayores concentraciones de Cd en el yogur natural, mientras que las concentraciones de Al y Pb son mayores en los yogures de sabor.
3. Las concentraciones de macroelementos son mayores en los yogures convencionales, mientras que la mayoría de microelementos y elementos traza son más abundantes en los yogures veganos. Asimismo, las concentraciones de metales tóxicos son mayores en los yogures veganos que en los convencionales.

4. En cuanto a las IDRs, Ca, Mn y Cu son el macroelemento y los elementos traza, respectivamente, que más contribuyen a la ingesta diaria recomendada de metales (2,3 %, 4,1 % y 3,5 %).
5. La concentración de Pb en los yogures veganos, se encuentra en todos los casos muy por debajo de la concentración máxima permitida según el Reglamento 2015/1005. No existiendo para el resto de los metales estudiados niveles máximos fijados.
6. Los niveles de Al, Cd y Pb ingeridos con el consumo habitual de yogures veganos están muy por debajo de los niveles que podrían causar toxicidad.

7. Bibliografía

1. Mathieu S, Dorard G. Vegetarianism and veganism lifestyle: Motivation and psychological dimensions associated with selective diet. *Presse Med.* 2016; 45(9): 726–33.
2. Kong A, Stang J. Vegetarian eating patterns. In: Stang J, Story M, editors. *Guidelines for adolescent nutrition services.* Minneapolis: Center for Leadership, Education and Training in Maternal and Child Nutrition, Division of Epidemiology and Community Health, School of Public Health, University of Minnesota; 2005: 209–15.
3. Appleby PN, Key TJ. The long-term health of vegetarians and vegans. *Proc Nutr Soc.* 2016; 75: 287–93.
4. Marsh K, Zeuschner C, Saunders A. Health implications of a vegetarian diet: a review. *Am J Life Med.* 2012; 6: 250–67.
5. Cho KM, Lee JH, Yun HD, Ahn BY, Kim H, Seo WT. Changes in phytochemical constituents (isoflavones, flavanols, and phenolic acids) during cheonggukjang soybeans fermentation using potential probiotics *Bacillus subtilis* CS90. *J Food Comp Anal.* 2011; 24: 402-10.
6. Shukla S, Park J, Kim DH, Hong SY, Lee JS, Kim M. Total phenolic content, antioxidant, tyrosinase and α -glucosidase inhibitory activities of water soluble extracts of noble starter culture Doenjang, a Korean fermented soybean sauce variety. *Food Control.* 2016; 59: 854-61.
7. Izumi T, Piskula M, Osawa S, Obata A, Tobe K, Saito M, et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans. *J Nutr.* 2000; 130: 1695-9.
8. Luis G, Rubio C, Revert C, Espinosa A, Gonzalez-Weller D, Gutierrez A.J, Hardisson A. Dietary intake of metals from yogurts analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). *J. Food Compos. Anal.* 2015; 39: 48-54.
9. Gomiero T. Food quality assessment in organic vs. conventional agricultural produce: findings and issues. *Appl. Soil Ecol.* 2018; 123: 714-728.
10. Arora M, Kiran B, Rani S, Rani A, Kaur B, Mittal N. Heavy metal accumulation in vegetables irrigated with water from different sources. *Food Chem.* 2008; 111: 811-815.
11. Pan X.D, Wu P.G, Jiang X.G. Levels and potential health risk of heavy metals in marketed vegetables in Zhejiang, China. *Sci. Rep.* 2016; 6: 203-217.
12. Hadayat N, De Oliveira LM, Da Silva E, Han L, Hussain M, Liu X, et al. Assessment of trace metals in five most-consumed vegetables in the US: Conventional vs. organic. *Environ. Pollut.* 2018; 243(Pt A): 292–300.
13. Ayar A, Sert D, Akin N. The trace metal levels in milk and dairy products consumed in middle Anatolia-Turkey. *Environ Monit Assess.* 2009; 152: 1–12.

14. Bilandzic N, Dokic M, Sedak M, Solomun B, Varenina I, Knezevic Z, Benic M. Trace element levels in raw milk from northern and southern regions of Croatia. *Food Chem.* 2011; 127: 63-66.
15. Kaya G, Akdeniz I, Yaman M. Determination of Cu, Mn, and Pb in yogurt samples by flame atomic absorption spectrometry using dry, wet, and microwave ashing methods. *At. Spectrosc.* 2008; 29: 99–106.
16. Navarro-Alarcón M, Cabrera C, Ruíz M.D, Olalla M, Artacho R, Giménez R, Quintana V, Bergillos T. Levels of Se, Zn, Mg and Ca in commercial goat and cow milk fermented products: relationship with their composition and probiotic starter culture. *Food Chem.* 2011; 129: 1126–1131.
17. Avegliano R.P, Maihara V.A, da Silva F.F. A Brazilian total diet study: evaluation of essential elements. *J. Food Compos. Anal.* 2011; 24: 1009–1016.
18. Rinaldoni A.N, Campderrós M.E, Pérez Padilla A, Perino, E, Fernández J.E. Analytic determinations of minerals content by XRF, ICP and EEA in ultrafiltered milk and yogurt. *Lat. Am. Appl. Res.* 2009; 39: 113–118.
19. Tarakci Z, Dag B. Mineral and heavy metal by inductively coupled plasma optical emission spectrometer in traditional Turkish yogurts. *Int. J. Phys. Sci.* 2013; 8: 963–966.
20. Laboratorio de técnicas instrumentales UVA [Sede web]. Valladolid: LTI; 2016 [Consultado 18 abril 2019]. Disponible en: <http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/espectroscopa-de-plasma-icp-oes>
21. Xu P, Huang S, Zhue R, Han X, Zhou H. Phenotypic polymorphism of CYP2A6 activity in a Chinese population. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 2002; 58: 333–337.
22. Pan G. Confidence intervals for comparing two scale parameters based on Levene's statistics. *J. Nonparametric. Stat.* 2002; 4: 459–476.
23. Choy E.H.S, Scott D.L, Kingsley G.H, Thomas A, Murphy A.G, Staimos N, Panayi G.S. Control of rheumatoid arthritis by oral tolerance. *Arthritis. Rheum.* 2001; 44: 1993–1997.
24. Olugbuyiro J.A.O, Oseh J.E. Physico-chemical and sensory evaluation of market yogurt in Nigeria. *Pak. J. Nutr.* 2011; 10: 914–918.
25. IARC (International Agency for Research on Cancer). Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risks Hum.* 1993; 58: 1–415.
26. Souza M.L.S, Vitti G.C, Trevizam A.R. Heavy metal toxicity in rice and soybean plants cultivated in contaminated soil. *Ceres.* 2014; 61: 248-254.
27. Rossi V, Ronchi A, Pigatto P.D, Barbaro M, Bolengo I, Guzzi G. Vegan diet and the risk of exposure to major toxic metals. *Toxicol. Lett.* 2016; 258S: S62-S324.
28. Craig WJ. Health effects of vegan diets. *Am J Clin Nutr.* 2009; 89(5):1627S–33S.

29. Davey GK, Spencer EA, Appleby PN, Allen NE, Knox KH, Key TJ. EPIC–Oxford: lifestyle characteristics and nutrient intakes in a cohort of 33 883 meat- eaters and 31 546 non meat-eaters in the UK. *Public Health Nutr.* 2003; 6(3):259–68.
30. Hunt J. Moving toward a plant- based diet: are iron and zinc at risk? *Nutr Rev.* 2002; 60(5): 127–34.
31. Institute of Medicine (US) Panel on Micronutrients. *Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc.* Washington (DC): National Academies Press (US); 2001.
32. Marsh K, Zeuschner C, Saunders A. Health implications of a vegetarian diet: a review. *Am J Life Med.* 2012; 6: 250–67.
33. Ball MJ, Ackland ML. Zinc intake and status in Australian vegetarians. *Br J Nutr.* 2000; 83(1): 27–33.
34. Fuhrman J, Ferreri DM. Fueling the vegetarian (vegan) athlete. *Curr Sports Med Rep.* 2010; 9(4): 233–41.
35. Ahmad JU, Goni MA. Heavy metal contamination in water, soil, and vegetables of the industrial areas in Dhaka, Bangladesh. *Environ Monit Assess.* 2010; 166:347–357.
36. Nawab J, Farooqi S, Xiaoping W, Khan S, Khan A. Levels, dietary intake, and health risk of potentially toxic metals in vegetables, fruits, and cereal crops in Pakistan. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018; 25: 5558–71.
37. Reglamento (UE) nº 2015/1005 de la comisión de 25 de junio de 2015, sobre el contenido máximo de plomo en determinados productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea.* 2015; L161/9: 1-5.
38. FESNAD (Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética). *Ingestas dietéticas de referencia (IDR) para la población española.* *Actividad dietética.* 2010; 14: 196–197.
39. ENCA, 2000. *Canary Nutrition Survey. Consumers and Health Counseling.* Canary Health Service, Canary Islands, Spain.
40. Avegliano R.P, Maihara V.A, da Silva F.F. A Brazilian total diet study: evaluation of essential elements. *Journal of Food Composition and Analysis.* 2011; 24: 1009–1016.
41. EFSA (European Food Safety Authority). Statement on the evaluation of a new study related to the bioavailability of aluminium in food. *EFSA Journal.* 2011; 9: 2157.
42. EFSA (European Food Safety Authority). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal.* 2012; 10(1): 2551.
43. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific opinion on lead in food. *EFSA Journal.* 2010; 8: 1570.