
Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

ISABELLA ALEJANDRA BARICOT VARAS
TUTOR: ÁNGEL J. GUTIÉRREZ FERNÁNDEZ
COTUTOR: SAMUEL ALEJANDRO VEGA
ÁREA: TOXICOLOGÍA
CURSO: 2023-2024

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Índice

1. RESUMEN	2
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. OBJETIVOS	8
5. MATERIALES Y MÉTODOS	8
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
7. CONCLUSIONES	37
8. BIBLIOGRAFÍA:.....	38

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

1. RESUMEN

Los metales pesados pueden ser tóxicos o esenciales. El Hg, Pb y Cd son tóxicos, mientras que metales como el Cu y el Zn esenciales. En cuanto a la toxicidad de metales, junto a estos tres se añade el Al. La exposición a los metales tóxicos a través de productos alimentarios procesados como los yogures enriquecidos en proteínas es de interés. El objetivo principal es evaluar el riesgo y el valor nutricional que supondría una ingesta de 360g a la semana de yogur enriquecido en proteínas a través de 3 marcas, analizándose un total de 60 muestras de dos sabores (natural y vainilla). Se encontró la mayor concentración en la marca C (1,574 mg/kg) para el Li, elemento potencialmente tóxico, traducándose en unos porcentajes de contribución respecto al RfD (reference dose o dosis de referencia) de 54,8% para un adulto de 73,8 kg de peso corporal. De acuerdo con los resultados obtenidos este es el único metal que podría implicar un riesgo a través del consumo planteado, sin embargo, si es necesario realizar un estudio toxicológico del riesgo que supone la exposición al Li en base a la dieta total y no únicamente a un producto alimenticio concreto. Nutricionalmente, no hay aportes significativos de los elementos con valor nutricional, siendo los macroelementos como el Ca los de mayor aporte (1737,6- 3335,9- 3030,8 mg/kg según sea la marca A, B, y C) suponiendo entorno a un 18-20% de contribución al AR (average requirement o requerimiento medio) a partir de las marcas C y B.

2. ABSTRACT

Heavy metals can be toxic or essential. Hg, Pb, and Cd are toxic, while metals like Cu and Zn are essential. Regarding metal toxicity, Al is also included alongside these three. The exposure to toxic metals through processed food products such as protein-enriched yogurts is of interest. The main objective is to assess the risk and nutritional value of consuming 360g per week of protein-enriched yogurt from three brands, with a total of 60 samples of two flavors (natural and vanilla) were tested. Toxicologically, the highest concentration was found in brand C (1.574 mg/kg) for Li, a potentially toxic element, translating to contribution percentages of 54.8% relative to the RfD (reference dose) for an adult weighing 73.8 kg. According to the results obtained, this is the only metal that could pose a risk through the proposed consumption; however, a toxicological study based on the total diet is necessary. Nutritionally, there are no significant contributions from elements with nutritional value, with macroelements like Ca providing the highest contribution (1737.6- 3335.9- 3030.8 mg/kg for brands A, B, and C respectively), contributing around 18-20% to the AR (average requirement) from brands C and B.

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

3. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la difusión de la importancia de una alimentación y estilo de vida saludables ha aumentado considerablemente, el objetivo no es solo cumplir las necesidades nutricionales básicas, sino optimizar la salud del individuo, contribuyendo a un mayor bienestar, longevidad y rendimiento físico.

La industria alimentaria de acuerdo a este contexto ha creado productos que facilitan una alimentación saludable en un estilo de vida acelerado, como los yogures de proteínas, valorados por su aporte proteico y mineral beneficioso para deportistas, personas activas y mayores.

De acuerdo al Real Decreto 179/2003 del 14 de febrero «se entiende por “yogur” o “yoghourt” el producto de leche coagulada obtenida por fermentación láctica mediante la acción de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* a partir de leche pasteurizada, leche concentrada pasteurizada, leche total o parcialmente desnatada pasteurizada, leche concentrada pasteurizada total o parcialmente desnatada, con o sin adición de nata pasteurizada, leche en polvo entera, semidesnatada o desnatada, suero en polvo, proteínas de leche y/u otros productos procedentes del fraccionamiento de la leche. Los microorganismos productores de la fermentación láctica deben ser viables y estar presentes en el producto terminado en cantidad mínima de 1 por 10^7 colonias por gramo o mililitro». Y se entiende por “yogur pasteurizado después de la fermentación” el producto obtenido a partir del “yogur” que, como consecuencia de la aplicación de un tratamiento por el calor posterior a la fermentación equivalente a una pasteurización, ha perdido la viabilidad de las bacterias lácticas específicas y cumple todos los requisitos establecidos para el yogur en la norma, salvo las excepciones indicadas. Al que también se le puede añadir otras adiciones facultativas como aromas, edulcorantes, entre otros (1).

En cuanto a la valoración nutricional del yogur, su composición nutricional es muy parecida a la de la leche, variando principalmente en la transformación de lactosa a ácido láctico, aspecto interesante para los intolerantes a este glúcido, y en el estado de las proteínas caseínas, quienes tras la fermentación cambian su conformación al hidrolizarse, siendo más fáciles de digerir. Se ha evidenciado que representa una fuente de proteínas de alto valor biológico, con un aporte entorno al 18-30% de las ingestas recomendadas de calcio y fósforo a la población general (2). En cuanto a los demás micronutrientes, presenta entre un 2-10% respecto a las ingestas recomendadas de selenio, potasio, magnesio, y folatos (Tabla 1).

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Tabla 1. Composición nutricional de algunos micronutrientes del yogur entero natural (2). Las ingestas de referencia/día para hombres y mujeres están establecidas para mayores de 18 años con una actividad física moderada (3).

	Por ración (125g)	% que presenta de las recomendaciones/día en hombres	% que presenta de las IR/día en mujeres	Ingestas de Referencia (IR) /día hombres	Ingestas Referencia (IR)/día mujeres
Calcio (mg)	178	17,8	17,8	1000	1000
Hierro (mg)	0,1	1,0	0,6	10	18
Yodo(ug)	4,6	3,3	4,2	140	110
Magnesio (mg)	17,9	5,1	5,4	350	330
Zinc (mg)	0,7	4,7	4,7	15	15
Sodio (mg)	100	5,0	5,0	2000	2000
Potasio (mg)	350	10,0	10,0	3500	3500
Fósforo (mg)	213	30,4	30,4	700	700
Selenio (ug)	2,5	3,6	4,5	70	55
Folatos (ug)	4,6	1,2	1,2	400	400

En líneas generales el yogur es recomendado para la población en todas sus etapas de desarrollo desde los 8 meses de vida (4). Siendo el yogur de proteínas de mayor relevancia en el sector de la población donde interesa una mayor ingesta de proteínas o su uso como un modo de complementar dicha ingesta (5–7).

Las proteínas constituyen un macronutriente que, en promedio, aporta por cada 4 gramos 1 kcal a nivel energético. A nivel nutricional, son esenciales para la formación y recuperación muscular, ósea, y para un sinnúmero de funciones metabólicas y bioquímicas, puesto que son piezas fundamentales para el aprovechamiento, almacenamiento, y distribución correcta de nutrientes.

En el ámbito deportivo, una nutrición correcta y personalizada es esencial para un óptimo rendimiento en todas las fases de entrenamiento y competición donde se suelen alternar períodos de ganancia muscular, pérdida de grasa y mantenimiento (7,8). Durante estos períodos, se suele aumentar el aporte de proteínas, lo cual puede ser un desafío diario para los deportistas, la industria alimentaria partiendo de este contexto ha desarrollado productos para facilitar esta ingesta de un modo palatable asegurando la seguridad alimentaria, ya que los alimentos pueden ser contaminados por sustancias químicas como metales pesados, físicos como plásticos, y biológicos como alérgenos y procesos de manufacturación (figura 1). Las autoridades establecen límites para estos contaminantes, garantizando que los productos sean seguros para el consumidor (9,10).

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

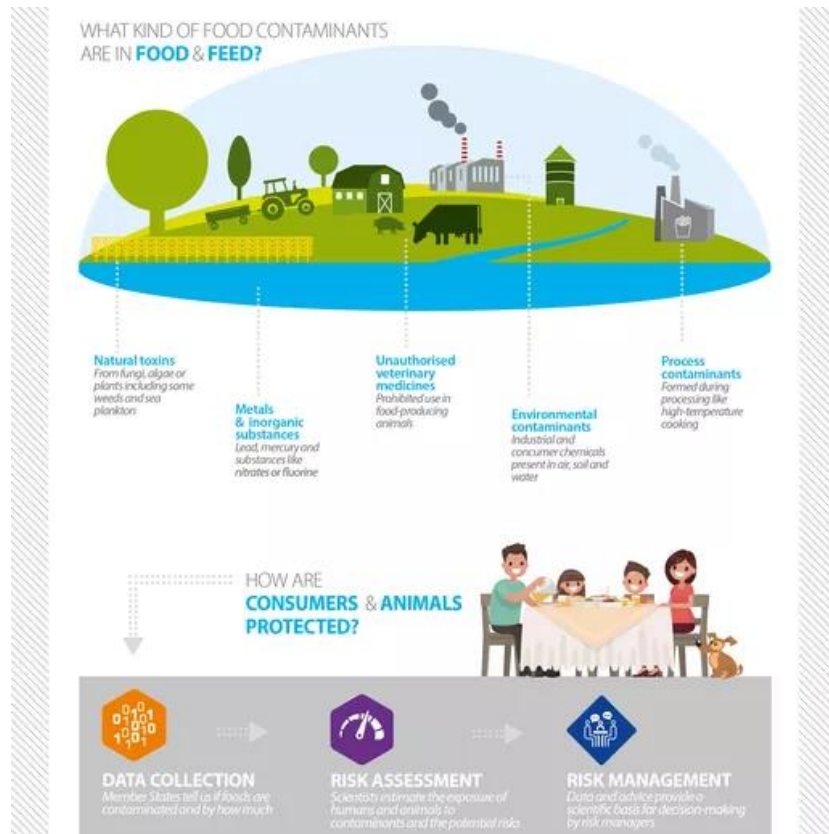


Figura 1. Diversos contaminantes pueden afectar la cadena alimentaria, incluyendo toxinas naturales, metales, y contaminantes ambientales. La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) gestiona los posibles riesgos y protege a consumidores y animales mediante evaluaciones y recolección de datos (11).

Se entiende por metales pesados aquellos cuyo peso es $>4,5 \text{ g/cm}^3$, o que tienen un número atómico mayor a 20, excluyendo generalmente a los alcalinos y alcalinotérreos. Los metales pesados pueden ser tóxicos o esenciales. El mercurio, plomo y cadmio son tóxicos, con niveles de ingesta o exposición admisible establecidos. Mientras tanto, oligoelementos como el cobre y el zinc son esenciales, presentando recomendaciones dietéticas al ser hormetinas. Al enfocarse en la toxicidad de metales, se encuentra como metales tóxicos los tres anteriores mencionados incluyéndose el aluminio, siendo la ingesta alimentaria la principal vía de exposición para la población general (10,12–16).

El mercurio, un metal tóxico, se presenta en formas orgánicas e inorgánicas, cada una con diferentes vías de absorción y toxicidad.

El mercurio orgánico, como el metilmercurio, se acumula en la cadena alimentaria, afectando órganos como el cerebro y el corazón, y atraviesa la barrera hematoencefálica y la placenta. El mercurio inorgánico, presente en formas elementales y sales, se acumula en el riñón, causando necrosis tubular a altas dosis (mayores a $2\text{-}5 \text{ mg/kg p.c}$ al día) en ratones y ratas (15) y, aunque puede transformarse en formas orgánicas, su

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

vida media es corta debido a su rápida oxidación (15). Ambas formas de mercurio generan estrés oxidativo y alteraciones celulares, representando un riesgo para la salud.

La absorción gastrointestinal del mercurio orgánico es alta (80%) comparada con la del mercurio inorgánico (2%) ya que se recicla en el sistema enterohepático y puede ser desmetilado por la microbiota intestinal (15,17).

Otro metal tóxico es el plomo, quien se encuentra en formas inorgánicas en el ambiente y se absorbe principalmente a través de la alimentación, especialmente a través de cereales, y el agua. Su acumulación es mayor en niños que en adultos y se deposita en tejidos blandos y óseos con el tiempo, con una vida media de 30 días a 10-30 años en hueso y sangre, y se excreta principalmente por orina y heces (14).

En cuanto a su toxicidad, el plomo afecta principalmente al sistema nervioso central en niños y al cardiovascular y renal en adultos. En estudios con animales, se observan efectos crónicos, con una LD₅₀ (dosis letal al 50%) oral mayor a 2000 mg/kg p.c (14).

La exposición crónica a bajas dosis de plomo causa alteraciones en el comportamiento y aprendizaje en individuos en desarrollo de mayor a menor magnitud según el nivel de desarrollo en el que se encuentren. La intoxicación crónica de plomo a nivel renal se relaciona con inclusiones intranucleares en células tubulares renales (14).

Su mecanismo de acción al igual que el mercurio implica la unión a grupos tioles, sustitución de calcio y zinc, y aumento de radicales libres y daño mitocondrial, afectando múltiples vías de señalización celular, incluyendo los sistemas dopaminérgicos y colinérgicos, y la regulación de proteínas como la hiperactivación de distintas isoformas de la proteína C quinasa (14).

El cadmio se encuentra tanto de forma natural en el ambiente, producto de emisiones volcánicas, como consecuencia de procesos antropogénicos, sus niveles han aumentado en suelos, agua y organismos vivos debido a actividades humanas como la incineración de residuos, el uso de fertilizantes y la liberación de aguas residuales. Es importante destacar que los hongos actúan como grandes acumuladores naturales de cadmio al absorberlo del suelo, contribuyendo así a su presencia en la cadena trófica. Se estima que la exposición a través de la alimentación alcanza aproximadamente el 90% en la población no fumadora (12).

Aunque la absorción por ingesta oral de cadmio en humanos es baja, en torno al 3-5%, es fácilmente retenido a nivel renal y hepático, con una larga vida media de 10-30 años. En términos de toxicidad, el cadmio comparte con el plomo y el mercurio una afinidad por los grupos tioles, lo que resulta en numerosas alteraciones. Su efecto más destacado es sobre el riñón, donde causa una disminución de la tasa de filtrado glomerular, lo que eventualmente puede llevar a fallo renal (12).

Además, la Agencia Internacional de Investigación para el Cáncer lo ha clasificado como un carcinógeno humano perteneciente al grupo 1(12).

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

El aluminio, metal de baja densidad y conductor eléctrico, se usa como conservante en envases alimentarios. La exposición principal es a través de alimentos procesados, con mayor concentración en productos como té y cacao. Se distribuye por todos los tejidos, destacando su acumulación en el tejido óseo, donde puede persistir durante largos periodos antes de ser eliminado, principalmente a través de la orina. Estudios sugieren efectos genotóxicos y neurotóxicos, especialmente en pacientes con diálisis. Aunque se han observado efectos adversos, los riesgos asociados con la exposición alimentaria no se consideran altos (13).

En el mundo deportivo, una intoxicación por metales tóxicos puede llevar a una disminución de la capacidad física y rendimiento, ya que afecta negativamente a la salud cardiovascular (18), al metabolismo energético por las alteraciones causadas al unirse a diversos cofactores o coenzimas, a la correcta recuperación y rehabilitación, junto con alteraciones de niveles de hormonas esenciales para el rendimiento deportivo como la testosterona y el cortisol, hormonas que modifican la composición corporal, el anabolismo muscular, y la resistencia al estrés (19).

Actualmente el análisis de mercurio se realiza a partir de la técnica de espectrofotometría por absorción atómica de vapor frío, esta se fundamenta en la excitación a longitudes de onda específicas de los electrones externos de los elementos. Cuando los átomos en estado fundamental encuentran radiación que pueden emitir, absorben parte de ella, pasando al estado excitado, este fenómeno se conoce como Espectroscopía de Absorción Atómica (EAA). En la EAA, se utilizan lámparas específicas según el elemento a determinar, como las lámparas de cátodo hueco (LCH) y las lámparas de descarga sin electrodos (EDL). En las LCH, un gas inerte se ioniza entre el ánodo y el cátodo, excitando átomos del elemento de interés para su emisión. En este caso puntual, se emplea la técnica por vapor frío, ya que al nebulizarse la muestra en un vapor frío se evita la volatilización completa del mercurio en la muestra y lámparas de cátodo hueco, ya que proporcionan mayor selectividad y selección del elemento (20,21).

Por otro lado, se suelen emplear para analizar el contenido de otros metales como: tóxicos (Al, Pb y Cd), macroelementos (Ca, Na, Mg y K), y microelementos y elementos traza (B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Sr, V y Zn) la espectrometría de Emisión Atómica con Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES).

Esta es una técnica de análisis que puede detectar y medir la mayoría de los elementos de la tabla periódica, excluyendo algunos como C, N, O, H, F, gases nobles y ciertas tierras raras, en concentraciones que van desde % hasta ppb ($\mu\text{g/L}$). Las muestras en forma líquida se nebulizan en un aerosol y se excitan con un plasma de argón. Las emisiones de los átomos excitados se capturan mediante un sistema óptico y se obtienen espectros de emisión para los elementos seleccionados. Esta técnica es versátil y se utiliza para analizar diversos tipos de muestras, como catalizadores, alimentos, aguas, geológicas, biológicas y clínicas, presenta una elevada sensibilidad, precisión, exactitud y bajos límites de detección (22–24).

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Es por todo este contexto que la importancia de la valoración nutricional y toxicológica que tendría una ingesta habitual de yogures proteicos en la población deportista queda justificada.

4. OBJETIVOS

- Determinar la concentración de metales tóxicos, macroelementos, y microelementos en yogures enriquecidos en proteínas destinados a deportistas.
- Valorar la exposición dietética de diferentes metales tóxicos (Al, Pb, Hg y Cd), macroelementos (Ca, Na, Mg y K), y microelementos y elementos traza (B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Sr, V y Zn) por el consumo de 360 g de yogures proteicos en una dieta destinada a un deportista.
- Realizar la evaluación del riesgo por la presencia de metales debido al consumo de yogures proteicos.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Muestreo

Un total de 60 yogures enriquecidos en proteínas fueron analizados entre enero y marzo de 2024. Comprados en distintos supermercados de la isla de Tenerife (Islas Canarias, España), siendo 3 marcas distintas (A, B, C), y de dos sabores: natural y de vainilla. Así, 20 yogures de cada marca, siendo solo 20 de vainilla, y los restantes naturales. Tras el transporte al laboratorio, todas las muestras de yogures fueron almacenadas a 4°C hasta su procesamiento.

5.2 Tratamiento de muestra

- *Análisis de mercurio (Hg)*

Un gramo de cada muestra de yogur homogeneizado fue pesado en su respectivo tubo reactor en una báscula de precisión analítica Mettler Toledo, PB153-S. Se añadió 4 mL de ácido nítrico al 65% (Honeywell Fluka, Alemania) y 2 mL de peróxido de hidrógeno al 30% (Honeywell Fluka, Alemania). Tras ello, se taparon y sometieron las muestras al proceso de microdigestión (Multiwave GO, Anton Para GO, Austria), el cual consistió en dos fases:

- i. Aumento de temperatura durante 10 minutos, hasta 70°C, sostenida por 5 minutos.
- ii. Aumento de temperatura durante 20 minutos, hasta 180°C, temperatura mantenida por 10 minutos (Figura 2)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

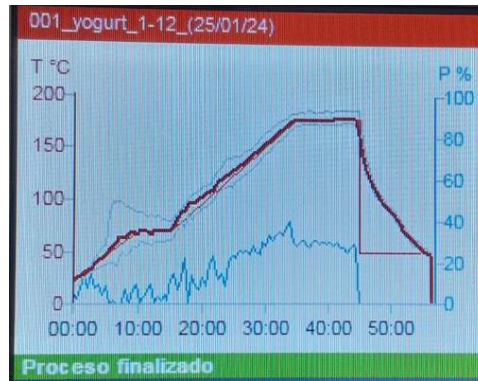


Figura 2. Rampa de temperatura del proceso de digestión (elaboración propia)

Finalmente, una vez los tubos enfriados, su contenido se pasó a matraces aforados hasta alcanzar un volumen de 10 mL con agua mili-Q.

- *Análisis del resto de elementos:*

Diez gramos de cada muestra de yogur homogeneizado fueron pesados en cápsulas de porcelana en una pesa (Mettler Toledo, PB153-S), siendo este el peso húmedo. Las muestras fueron desecadas por 24h a 80°C en estufa (P Selecta). Tras ello, pasaron a introducirse a horno mufla (L 15/12/P320 Bremen), donde se sometieron a un proceso de pirólisis al alcanzar gradualmente una temperatura de 450°C, temperatura sostenida por 48h. El resultado fueron unas cenizas grises, por lo que para favorecer la digestión de la materia orgánica remanente se les añadió ácido nítrico al 65% en placa calefactora a una temperatura cercana a 50°C por 5 minutos, tras su evaporación, las muestras fueron sometidas nuevamente a reincineración en horno a 450°C por 24h. Las cenizas blancas resultantes fueron pesadas y disueltas en una disolución de ácido nítrico al 1,5% en matraces de 25 mL, introducidos en botes estériles de recogida de muestras.

Antes del tratamiento de las muestras todas las cápsulas de porcelana fueron previamente descontaminadas en el horno Mufla (L 15/12/P320 Bremen) a 800 °C.

5.3 Técnicas instrumentales

- *Análisis de Hg*

Tras el proceso de digestión, el volumen de los matraces se trasladó a tubos volumétricos para llevar a cabo el análisis de mercurio de cada una de las muestras mediante espectrofotometría por absorción atómica de vapor frío (AS-800, Perkin Elmer, USA) (CV-AAS) con un sistema de inyección de flujo (FIMS-400, Perkin Elmer, USA), presentando el método 253,7 nm de longitud de onda y 0,10 mg/kg de límite de cuantificación (LOQ).

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

- *Análisis del resto de elementos*

Los minerales presentes en las muestras fueron determinados por ICP-OES usando un espectrómetro de Emisión Óptica acoplado Inductivamente (ICP-OES) modelo ICAP 6300 Duo Thermo Scientific (Qaltham, MA, USA), con un muestreador automático (CETAX modelo ASX-520, USA). Las condiciones instrumentales del espectrómetro son: potencia aproximada RF 1150 W, flujo de gas (flujo del gas del nebulizador y del gas auxiliar) de 0,5 L/min, inyección de muestras a la bomba de flujo de 50 rpm, tiempo de estabilización de 0 segundos.

Se analizaron los metales tóxicos (Al, Pb y Cd), macroelementos (Ca, Na, Mg y K), y microelementos y elementos traza (B, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Sr, V y Zn).

- *Análisis estadístico*

Para examinar posibles discrepancias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre marcas, sabores, y entre las marcas del mismo sabor ha sido empleado el software SPSS 29.0.1.0. Se utilizó un conjunto de pruebas para verificar la normalidad de los datos analizados (Kolmogorov-Smirnov, Shapiro-Wilk, y el estadístico de Levene). Tras aplicarse dichas pruebas se comprueba que los datos obtenidos para las comparativas entre marcas y entre sabores no siguen una distribución normal, por ello, se aplicaron pruebas no paramétricas de variable independiente como el test de Kruskal-Wallis y el test de Mann-Whitney. En la comparativa entre marcas del mismo sabor se encontró normalidad para los elementos Zn, Mg, y K, por lo que para dichos resultados se aplicó la prueba paramétrica del test ANOVA.

- *Preparación de la dieta de referencia*

Dieta de un deportista en período de ganancia muscular de 24 años de 73,8 kg y 1,79 m de altura, situación en la que debe aumentar intensidad entrenamiento y aumentar ingesta proteica para manteniendo el peso generar un aumento de kg masa magra. Para ello, se empleó el software Excel para la elaboración de la dieta por gramaje empleando para el cálculo del gasto energético total la fórmula planteada por la OMS en 1985. Para la elaboración del menú se empleó la base de datos FoodData Central del departamento de agricultura de Estados Unidos (2).

- *Cálculos para la evaluación nutricional y del riesgo toxicológico*

La ingesta diaria estimada del individuo tal como vemos en la ecuación 1 se calcula en base a la concentración del tóxico de interés (C) que presenta el alimento y la ingesta del mismo que se está evaluando, expresado dicho consumo como mg/día.

$$IDE = C \cdot Ingesta$$

Ecuación 1. Cálculo IDE (Ingesta Diaria Estimada)

Para aquellos elementos como el plomo que no presenten valores de referencia calcularemos su margen de exposición (MOE) de acuerdo a la ecuación 2.

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

$$MOE = \frac{BMDL}{Exposición}$$

Ecuación 2. Cálculo MOE

BMDL es el *lower confidence limit of the benchmark dose* es decir, el extremo inferior del rango en el que pueden empezar a ocurrir efectos adversos ante una determinada dosis del potencial tóxico. Un MOE superior a 10 implica una exposición segura que con total seguridad no hay riesgo, mientras que cuanto más cerca este al 1 casi con total seguridad no habrá riesgo, tal es el caso cuando se acogen interpretaciones en base a 100/10000, sin embargo, en cuanto al análisis del Pb se refiere, la interpretación empleada será en base a 1:10 (14).

Para la caracterización (C) tanto del valor nutricional como del riesgo emplearemos la ecuación 3 cuando tengamos valores de referencia (VR) para el elemento.

$$C(\%) = \frac{(IDE \cdot 100)}{VR}$$

Ecuación 3. Cálculo caracterización del valor nutricional y del riesgo

Siendo que un C mayor o igual a 25% indica que dicha ingesta implica un aporte significativo nutricional o toxicológico del elemento evaluado.

A continuación, a lo largo de las tablas 2-7 se muestran los distintos valores de referencia nutricionales y toxicológicos que han sido empleados para la caracterización nutricional y de riesgo.

Tabla 2. Valores de referencia usados para la valoración nutricional junto al organismo del cual han sido obtenidos para la posterior evaluación nutricional. Tenemos así el AR (average requeriment o requerimiento medio); AI (adequate intake o ingesta adecuada); PRI (population reference intake o ingesta de referencia de la población)

Nutriente	Población	Edad	Género	AR mg/d	Organismo
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Hombre	9,3	EFSA (25)
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Mujer	7,6	EFSA (25)
Fe	Adultos	≥ 18 años	Hombre	6	EFSA (25)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Fe	Adultos	≥ 18 años	Mujer	7	EFSA(25)
Ca	Adultos	18-24 años	Ambos géneros	860	EFSA (25)

Nutriente	Población	Edad	Género	AI (mg/d)	Organismo
Mo	Adultos	≥ 18 años	Ambos géneros	0,065	EFSA (25)
Mn	Adultos	≥ 18 años	Ambos géneros	3	EFSA(25)
Cu	Adultos	≥ 18 años	Hombre	1,6	EFSA(25)
Cu	Adultos	≥ 18 años	Mujer	1,3	EFSA(25)

Nutriente	Población	Edad	Género	PRI (mg/d)	Organismo
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Hombre	11,70	EFSA (25)
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Mujer	9,30	EFSA (25)
Fe	Adultos	≥ 18 años	Mujer	16	EFSA (25)
Fe	Adultos	≥ 18 años	Hombre	11	EFSA (25)
Ca	Adultos	18-24 años	Ambos géneros	1000	EFSA (25)

Tabla 3. Valores de referencia empleados para la posterior evaluación del riesgo toxicológico de distintos elementos como el plomo, quien no presenta valores de referencia por lo que se calcula el MOE (margen de exposición) de acuerdo a sus 3 tipos de efectos tóxicos (cardiovascular,

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

nefrotóxico, y neurotoxicidad del desarrollo) expresados como BMDL (benchmark dose lower confidence limit o límite de dosis inferior de confianza)

Elemento	Efectos	BMDL (mg/Kg p.c/d)	Organismo
Pb	Cardiovascular BMDL	0,0015	EFSA (14)
Pb	Nefrotóxico BMDL	0,00063	EFSA (14)
Pb	Neurotoxicidad en el desarrollo BMDL	0,0005	EFSA (14)

Tabla 4. Valores de referencia empleados para la posterior caracterización del riesgo toxicológico (%C) de los elementos que presenten como valor de referencia el TDI (tolerable daily intake o ingesta diaria tolerada) junto a los organismos correspondientes a los mismos

Elemento	TDI (mg/kg p.c/d)	Organismo
Ni	0,0028	EFSA (26)
Cr	0,3	EFSA (16)
Co	0,0014	AESAN (27)
Sr	0,13	OMS (28)
Ba	0,2	SCHER (29)

Tabla 5. Valores de referencia empleados para la posterior caracterización del riesgo toxicológico (%C) de los elementos que presenten como valor de referencia el TWI (tolerable weekly intake o ingesta semanal tolerada) junto a los organismos correspondientes a los mismos

Elemento	TWI (mg/kg p.c/semana)	Organismo
Al	1	EFSA (13)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Cd	0,0025	EFSA (12)
Hg total	0,004	EFSA (15)

Tabla 6. Valores de referencia empleados para la posterior evaluación del riesgo toxicológico (%C) de los elementos que presenten como valor de referencia el UL (tolerable upper intake level o ingesta máxima tolerada) junto a los organismos correspondientes a los mismos

Elemento	UL (mg/ kg p.c/d)	Organismo
B	0,16	EFSA (29)

Tabla 7. Valores de referencia empleados para la posterior evaluación del riesgo toxicológico (%C) de los elementos que presenten como valor de referencia el RfD (reference dose o dosis de referencia) junto a los organismos correspondientes a los mismos

Elemento	RfD (mg/kg p.c/d)	Organismo
V	0,007	EPA (29)
Li	0,002	EPA (29)

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Planificación dietética

La distribución de macronutrientes de acuerdo con el gasto energético total (GET) calculado a partir de las ecuaciones propuestas por la OMS se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Distribución de los macronutrientes en la dieta planteada. HC: hidratos de carbono; PROT: proteínas; LIP: lípidos.

GET (kcal):	3360	Peso nutrientes	% Nutrientes
HC:	1680,0619 kcal	420,02 g	50%
PROT:	672,02476 kcal	168,01 g	20%

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

LIP:	1008,0371 kcal	112,00 g	30%
-------------	----------------	----------	-----

En la tabla 9 se muestra la calibración del menú propuesto, siendo aceptado un margen de error de un 10% para las cuantificaciones propuestas respecto al ideal propuesto en la tabla 8.

Tabla 9. Calibración Menú de una semana para un deportista de 24 años de 73,8 kg y 1,79 m de altura. PROT: proteínas; Prot V: proteína vegetal; Prot A: proteína animal; HC: hidratos de carbono. HC. C: hidratos de carbono complejos; HC. S: hidratos de carbono simples; AGS: ácidos grasos saturados; AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGP: ácidos grasos polinsaturados; COLEST: colesterol

	Kcal	PROT (g)			HC (g)			FIBRA (g)	Lípidos (g)			COLEST mg	SODIO mg	
		Prot. Total	Prot. V	Prot. A	HC total	HC. C	HC. S		AGS	AGM	AGP			
TOTAL:	3363,10	159,54	91,72	67,82	382,71	272,33	103,48	62,56	112,24	25,36	51,24	25,6	350,65	2884,05

En la tabla 10 se muestra el menú propuesto en base a los platos y luego con las respectivas cantidades.

Tabla 10. Menú propuesto para período de ganancia muscular de acuerdo a la calibración planteada en tabla 8 y 9. En primera instancia se muestra el menú y en segunda las cantidades. Siendo AOVE aceite de oliva extra virgen.

Día	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
Desayuno	Revoltillo con tortas de maíz. Cuenco con granola y manzana	Tostadas de tomate y Omelette Cuenco con avena y moras	Bocadillo de jamón serrano y tomate	Huevos fritos con tortas de arroz y aguacate.	Bocadillo de queso de cabra con aceite de oliva.	Tortitas de avena con fruta	L i b r e
Media Mañana	Pulguita de aguacate y queso	Batido de proteínas	Cuenco de chía con arándanos y mantequilla de maní	Cuenco de porridge con plátano y mantequilla de almendras	Batido de proteínas	Pulguita con queso de cabra	
Almuerzo	Lentejas Noodles de arroz con pavo desmenuzado	Dorada con menestra de verduras.	Pechuga de pollo con vegetales y champiñones estilo WOK y pasta	Pavo con champiñones y arroz.	Bistec con puré de papas.	Garbanzos con yuca	

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Merienda	Yogur enriquecido en proteínas con almendras Tortitas de arroz. Plátano	Yogur griego plátano y mantequilla de maní	Yogur enriquecido en proteínas con anacardos Tortitas de arroz con chocolate negro	Yogur griego con fresas. Batido de proteínas	Yogur enriquecido en proteínas con almendras Galletas digestive Mandarina	Yogur griego con puñado frutos secos.
Cena	Salchichas vegetales con ensalada y papas Yogur	Huevos duros con ensalada y arroz.	Papas horneadas con merluza y ensalada	Tortilla de papas con ensalada	Lentejas y Tortitas de arroz con queso de cabra de untar	Arroz con caballa y calabacines horneados tipo <i>chips</i> .

Día	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo	
Desayuno	2 huevos 4 tortitas de maíz 10 mL AOVE 30 g de granola 60 mL leche 100 g de manzana	40 g pan 60 g tomate 2 huevos 10 mL AOVE 30 g avena 60 mL leche 100 g frutos rojos	20 g jamón serrano 60 g tomate 60 g pan	2 huevos 4 tortas de arroz 15 g aguacate	60 g pan 20 g queso de cabra 10 mL AOVE	30 g avena 1 huevo 150 g fruta a elección 10 g mantequilla maní		
Media Mañana	60 g pan multicereales 30 g aguacate 20 g queso de cabra	30 g complemento alimenticio a base de proteínas 200 mL leche	10 g chía hidratada 100 g frutos rojos 10 g mantequilla maní 125 mL yogur	30 g avena Hidratada con 60 mL leche 100 g plátano 10 g mantequilla almendra	30 g complemento alimenticio a base de proteínas 200 mL leche	60 g de pan multicereal 20 g queso de cabra		
Almuerzo	40 g lentejas 150 g pavo 60 g Noodles de arroz	150 g Dorada 30 g judías verdes planas 15 g zanahoria 100 g batatas	150 g Pechuga de pollo 30 g pimiento verde 30 g cebolla 30 g champiñones 60 g pasta integral 15 mL salsa de soja	150 g Pavo 30 g champiñones 90 g arroz	125 g Bistec de ternera 150 g papas	90 g Garbanzos 100 g yuca		
Merienda	140 g Yogur enriquecido en proteínas 30 g almendras 4 tortitas de arroz 100 g Plátano	125 g Yogur griego 100 g plátano 10 g mantequilla de maní	100 g Yogur enriquecido en proteínas 30 g anacardos 4 tortitas de arroz con chocolate negro	125 g Yogur griego 100 g fresas 30 g complemento alimenticio a base de proteínas	120 g Yogur enriquecido en proteínas 30 g almendras 40 g Galletas digestive 100 g Mandarina	125 g Yogur griego 30 g frutos secos a elegir		

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Cena	100 g Salchichas vegetales 60 g repollo 30 g zanahoria 150 g papas	2 huevos 60 g canónigos 15 g aceitunas 60 g de arroz	150 g merluza 100 g papas	2 huevos 150 g papa 150 g ensalada	60 g lentejas 30 g pimiento rojo 30 g cebolla 4 Tortitas de arroz 25 g queso de cabra de untar	120 g caballa 15 g guisantes 60 g arroz 60 g calabacín
	125 mL Yogurt					

6.2 Concentraciones encontradas

El contenido de 21 metales fue determinado en 60 muestras de yogures enriquecidos en proteínas. Los resultados expresados en mg/kg se encuentran en la tabla 11 de acuerdo a la comparación entre marcas (A, B, y C).

Tabla 11. Resultados del estadístico descriptivo del análisis de 21 metales (mg/kg) en yogures ricos en proteínas de acuerdo a las marcas (A, B, y C).

	MARCA A			
	Media	D.S	Máximo	Mínimo
Al	2,803	2,908	10,337	0,525
Mo	0,034	0,002	0,037	0,029
Zn	4,779	0,381	5,359	3,869
Cd	0,001	0,004	0,020	0,000
Pb	0,005	0,008	0,027	0,000
Ni	0,022	0,015	0,077	0,010
Co	0,000	0,000	0,000	0,000
Fe	1,446	0,624	2,905	0,704
B	0,174	0,100	0,414	0,000
Mn	0,108	0,048	0,226	0,065
Cr	0,032	0,006	0,047	0,022
V	0,001	0,003	0,012	0,000
Ca	1737,651	136,042	1952,781	1403,283
Cu	0,376	0,078	0,484	0,224
Mg	243,492	20,871	285,677	195,469
Sr	0,311	0,145	0,873	0,231
Ba	0,194	0,111	0,543	0,079
Li	1,377	1,073	3,110	0,105
K	1685,534	211,682	2057,547	1228,301
Na	616,542	90,073	770,761	498,635
Hg	0,000	0,000	0,000	0,000

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

	MARCA B				MARCA C			
	Media	D.S	Máximo	Mínimo	Media	D.S	Máximo	Mínimo
Al	2,788	4,107	19,077	0,290	2,900	2,669	10,813	0,631
Mo	0,420	0,007	0,051	0,027	0,032	0,006	0,042	0,019
Zn	11,915	2,269	17,001	6,925	8,183	1,357	11,401	5,726
Cd	0,001	0,004	0,015	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Pb	0,004	0,006	0,020	0,000	0,001	0,004	0,012	0,000
Ni	0,016	0,009	0,035	0,000	0,013	0,006	0,025	0,000
Co	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Fe	1,038	0,537	2,767	0,577	1,554	0,763	3,857	0,782
B	0,196	0,122	0,474	0,000	0,189	0,088	0,454	0,085
Mn	0,128	0,088	0,437	0,050	0,100	0,080	0,419	0,049
Cr	0,049	0,032	0,172	0,017	0,069	0,068	0,278	0,020
V	0,001	0,006	0,025	0,000	0,001	0,003	0,012	0,000
Ca	3335,997	418,903	3956,541	2158,483	3030,897	378,737	3594,045	2410,220
Cu	0,398	0,096	0,606	0,239	0,291	0,082	0,543	0,194
Mg	310,437	47,027	393,277	190,163	334,121	45,896	397,318	262,053
Sr	0,708	0,128	1,044	0,426	0,692	0,107	0,909	0,550
Ba	0,309	0,133	0,740	0,134	0,303	0,258	1,299	0,112
Li	0,997	0,676	2,597	0,276	1,574	0,825	3,199	0,279
K	1670,854	350,596	2213,686	850,645	1893,259	265,229	2328,006	1478,018
Na	1016,309	212,502	1559,501	621,406	982,500	139,733	1280,599	778,651
Hg	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Los elementos analizados pueden ser divididos en dos grupos: macroelementos (K, Ca, Mg, y Na) y microelementos o elementos traza. Estos últimos, se dividen en tres subgrupos de acuerdo con el valor nutricional adjudicado por el Comité de Expertos de la Organización Mundial de la Salud sobre Elementos Traza en la Nutrición Humana (30): elementos esenciales (Zn, Fe, Cu, Mo y Cr); elementos probablemente esenciales (Mn, Ni, Co, B y V); y elementos potencialmente tóxicos, aunque algunos pueden tener a dosis bajas funciones esenciales (Pb, Cd, Hg, Al, Li, Sr, y Ba).

Teniendo en cuenta esta división, en el caso de los macroelementos $Ca > K > Na > Mg$, resaltando tal y como podría esperarse de un producto lácteo el Ca, con una media de 1737,6- 3335,9- 3030,8 mg/kg según sea la marca A, B, y C. Seguidamente destaca el K, con una media de 1685,5- 1670,8- 1893,2 mg/kg. Les sigue el Na y el Mg, con una media de 616,5- 1016,3- 982,5 y 243,4- 310,4- 334,1 mg/kg.

Dentro de los microelementos esenciales tenemos por orden de concentración $Zn > Fe > Cu > Mo > Cr$. El Zn es el elemento mayoritario con una media de 4,79- 11,9- 8,18 mg/kg para las marcas A, B, y C, seguido del Fe, siendo los minoritarios el Mo y Cr con unas concentraciones medias que oscilan entre los 0,420 y 0,032 mg/kg según sea la marca.

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

El B, es un microelemento probablemente esencial por los efectos positivos que ha mostrado sobre el metabolismo y utilización de otros nutrientes como el Ca (31). Este, dentro de su grupo es el mayoritario (B > Mn > Ni > V > Cr) con unas concentraciones medias de 0,17- 0,196- 0,189 mg/kg según sea la marca A, B y C. Siendo el siguiente mayoritario en este grupo el Mn, oligoelemento que colabora a decenas de enzimas implicadas con el sistema inmune, digestivo, energético y del crecimiento (32), y como minoritario el Cr, del cual no se detectaron concentraciones cuantificables.

Dentro de los metales potencialmente tóxicos, se localiza que se encuentran de acuerdo a sus concentraciones: Al > Li > Sr > Ba > Pb > Cd > Hg.

Las concentraciones medias del Al son 2,80- 2,78- 2,9 mg/kg, y del Li son 1,37- 0,99- 1,57 mg/kg de acuerdo a las marcas A, B y C (figuras 3 y 4), dichas concentraciones posteriormente en la evaluación toxicológica serán comentadas.

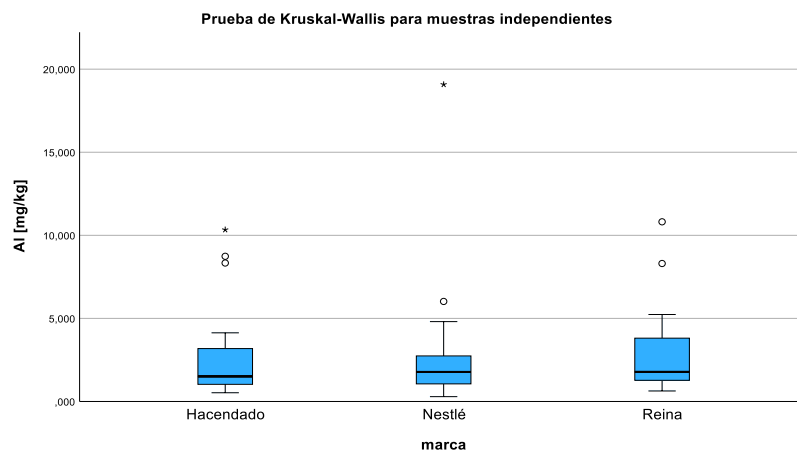


Figura 3. Concentraciones (mg/kg) del Al de acuerdo para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

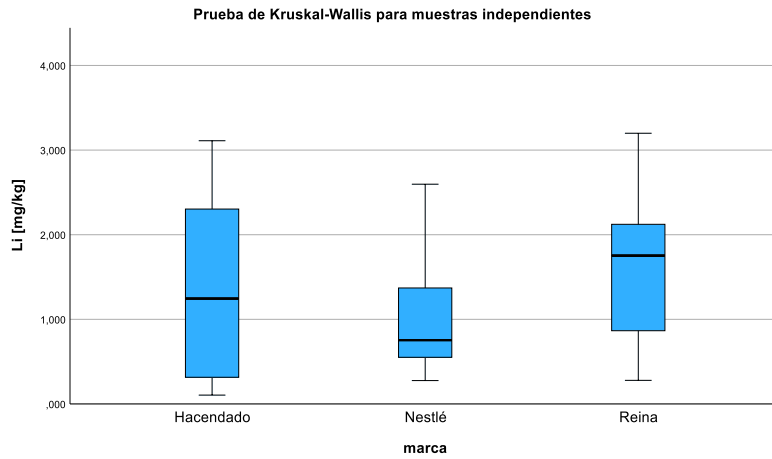


Figura 4. Concentraciones (mg/kg) del Li de acuerdo para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

Siendo el minoritario el Pb con concentraciones medias que oscilan entre 0,005- 0,004- 0,001 mg/kg para las marcas A, B, y C junto con el Cd con concentraciones medias de 0,001 para la marca A y B y de 0 mg/kg para la marca C (figuras 5 y 6) y, por último, el Hg, con concentraciones por debajo del límite de detección.

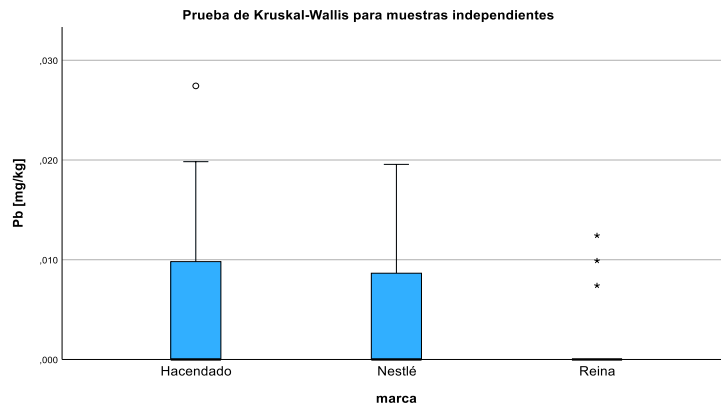


Figura 5. Concentraciones (mg/kg) del Pb de acuerdo para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

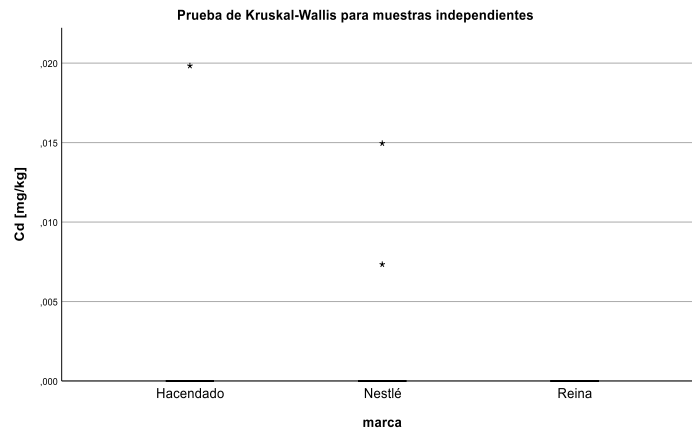


Figura 6. Concentraciones (mg/kg) del Cd de acuerdo para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

En cuanto al análisis estadístico, se evidencia diferencias significativas en los elementos Mo, Zn, Fe, Cr, Ca, Cu, Mg, Sr, Ba, y Na entre las distintas marcas.

Siendo que entre los elementos mencionados se localiza la marca A como la de menor concentración de manera general, exceptuando casos como el hierro, donde la marca B es la de menor concentración (figura 7), y el cobre, siendo la marca C la que posee menor valor en este caso (figura 8). En el resto de los elementos, las marcas B y C son las de mayor concentración tal como se puede ver en las figuras 9-11.

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

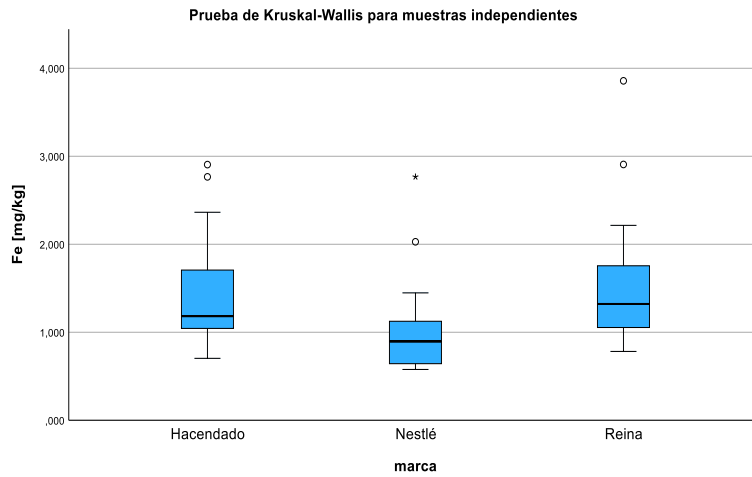


Figura 7. Concentraciones (mg/kg) del Fe de acuerdo para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

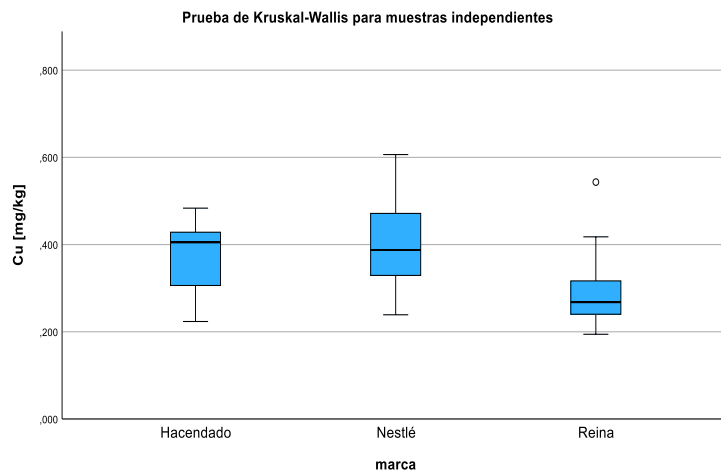


Figura 8. Concentraciones (mg/kg) del Cu para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

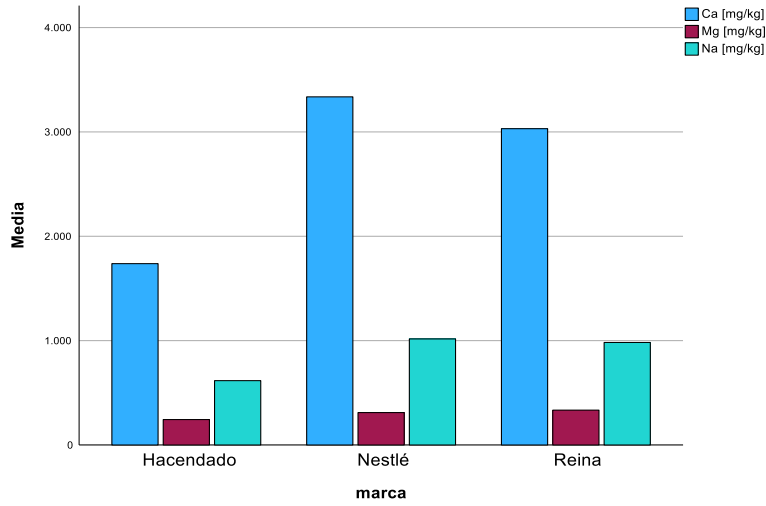


Figura 9. Concentraciones medias (mg/kg) del Ca, Na, y Mg para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

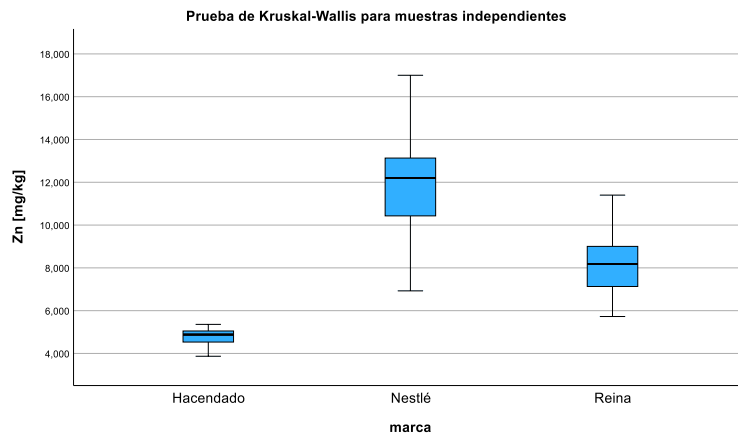


Figura 10. Concentraciones (mg/kg) del Zn para las marcas A (hacendado), B (Nestlé), y C (reina)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

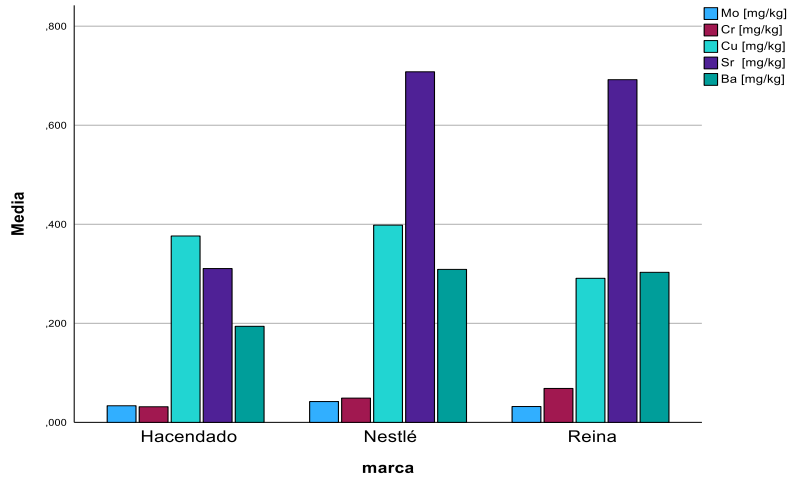


Figura 11. Concentraciones medias (mg/kg) para los elementos Mo, Cr, Cu, Sr, Ba para las marcas A (hacendado), B (Nestlé) y C (reina)

Los resultados en mg/kg de acuerdo a la comparativa sabor natural o vainilla se visualizan en la tabla 12.

Tabla 12. Resultados del estadístico descriptivo del análisis de 21 metales (mg/kg) en yogures ricos en proteínas de acuerdo a los sabores natural y vainilla

	NATURAL				VAINILLA			
	Media	D.S	Máximo	Mínimo	Media	D.S	Máximo	Mínimo
Al	2,851	2,756	10,813	0,525	2,788	4,107	19,077	0,290
Mo	0,033	0,004	0,042	0,019	0,042	0,007	0,051	0,027
Zn	6,481	1,984	11,401	3,869	11,915	2,269	17,001	6,925
Cd	0,001	0,003	0,020	0,000	0,001	0,004	0,015	0,000
Pb	0,003	0,006	0,027	0,000	0,004	0,006	0,020	0,000
Ni	0,017	0,012	0,077	0,000	0,016	0,009	0,035	0,000
Co	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Fe	1,500	0,690	3,857	0,704	1,038	0,537	2,767	0,577
B	0,182	0,093	0,454	0,000	0,196	0,122	0,474	0,000
Mn	0,104	0,065	0,419	0,049	0,128	0,088	0,437	0,050
Cr	0,050	0,051	0,278	0,020	0,049	0,032	0,172	0,017
V	0,001	0,003	0,012	0,000	0,001	0,006	0,025	0,000
Ca	2384,274	712,560	3594,045	1403,283	3335,997	418,903	3956,541	2158,483
Cu	0,334	0,090	0,543	0,194	0,398	0,096	0,606	0,239
Mg	288,806	57,831	397,318	195,469	310,437	47,027	393,277	190,163
Sr	0,501	0,231	0,909	0,231	0,708	0,128	1,044	0,426
Ba	0,248	0,204	1,299	0,079	0,309	0,133	0,740	0,134
Li	1,476	0,950	3,199	0,105	0,997	0,676	2,597	0,276

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

K	1789,397	259,163	2328,006	1228,301	1670,854	350,596	2213,686	850,645
Na	799,521	218,643	1280,599	498,635	1016,309	212,502	1559,501	621,406
Hg	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

Al comparar los resultados entre sabores (vainilla y natural) se encuentran diferencias significativas entre los mismos elementos que entre marcas excluyendo al cromo y al magnesio, siendo de manera general y mayoritaria el de vainilla quien presenta mayores concentraciones tal como se puede ver en las figuras 12-14.

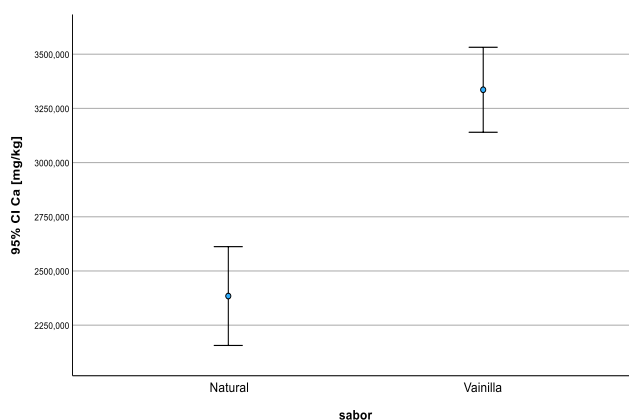


Figura 12. Concentraciones en mg/kg del Ca de acuerdo a los sabores natural y vainilla

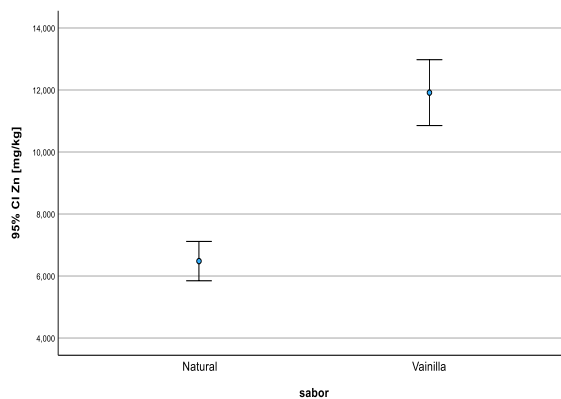


Figura 13. Concentraciones en mg/kg del Zn de acuerdo a los sabores natural y vainilla

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

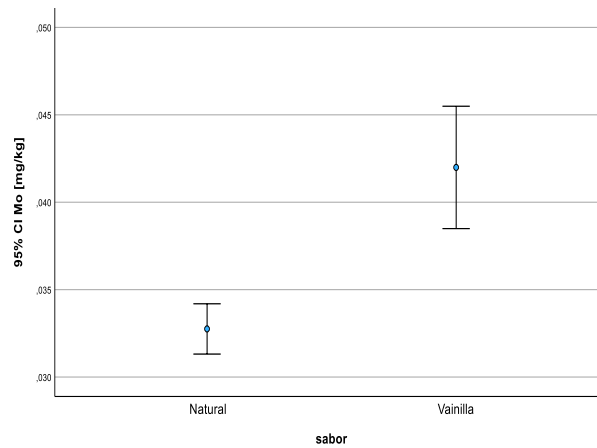


Figura 14. Concentraciones en mg/kg del Mo de acuerdo a los sabores natural y vainilla

Siendo el sabor natural de mayor concentración para el hierro únicamente (figura 15).

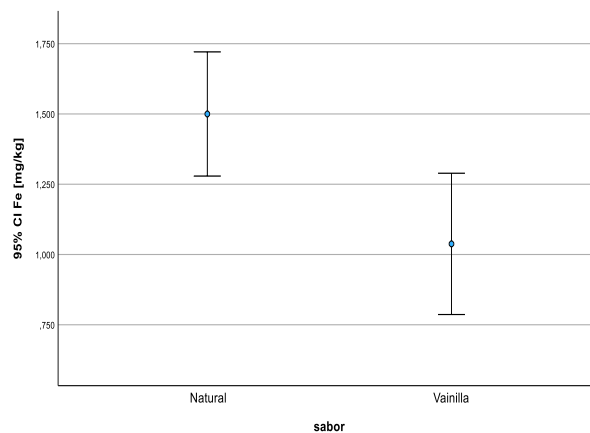


Figura 15. Concentraciones en mg/kg del Fe de acuerdo a los sabores natural y vainilla

En la tabla 13 se pueden localizar las concentraciones en mg/kg de los distintos elementos de acuerdo con las marcas (A y C) de sabor natural. En este caso, diferencias significativas fueron encontradas en el Ca, Cu, Sr, Ba, Na, Zn, Mg, y como elemento distinto y añadido el K.

Tabla 13. Resultados del estadístico descriptivo del análisis de 21 metales (mg/kg) en yogures ricos en proteínas de acuerdo al sabor natural presente solo en las marcas A y C

	MARCA A				MARCA C			
	Media	D.S	Máximo	Mínimo	Media	D.S	Máximo	Mínimo
Al	2,803	2,908	10,337	0,525	2,900	2,669	10,813	0,631
Mo	0,034	0,002	0,037	0,029	0,032	0,006	0,042	0,019

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Zn	4,779	0,381	5,359	3,869	8,183	1,357	11,401	5,726
Cd	0,001	0,004	0,020	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Pb	0,005	0,008	0,027	0,000	0,001	0,004	0,012	0,000
Ni	0,022	0,015	0,077	0,010	0,013	0,006	0,025	0,000
Co	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Fe	1,446	0,624	2,905	0,704	1,554	0,763	3,857	0,782
B	0,174	0,100	0,414	0,000	0,189	0,088	0,454	0,085
Mn	0,108	0,048	0,226	0,065	0,100	0,080	0,419	0,049
Cr	0,032	0,006	0,047	0,022	0,069	0,068	0,278	0,020
V	0,001	0,003	0,012	0,000	0,001	0,003	0,012	0,000
Ca	1737,651	136,042	1952,781	1403,283	3030,897	378,737	3594,045	2410,220
Cu	0,376	0,078	0,484	0,224	0,291	0,082	0,543	0,194
Mg	243,492	20,871	285,677	195,469	334,121	45,896	397,318	262,053
Sr	0,311	0,145	0,873	0,231	0,692	0,107	0,909	0,550
Ba	0,194	0,111	0,543	0,079	0,303	0,258	1,299	0,112
Li	1,377	1,073	3,110	0,105	1,574	0,825	3,199	0,279
K	1685,534	211,682	2057,547	1228,301	1893,259	265,229	2328,006	1478,018
Na	616,542	90,073	770,761	498,635	982,500	139,733	1280,599	778,651
Hg	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

La marca C en esta clasificación presenta mayor concentración de manera mayoritaria para los elementos mencionados como se puede ejemplificar en las figuras 16-18.

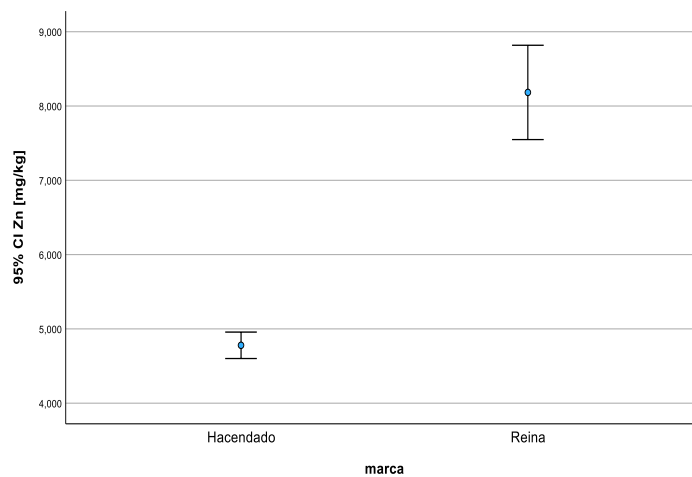


Figura 16. Concentraciones en mg/kg del Zn de acuerdo a las marcas A (hacendado) y C (reina)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

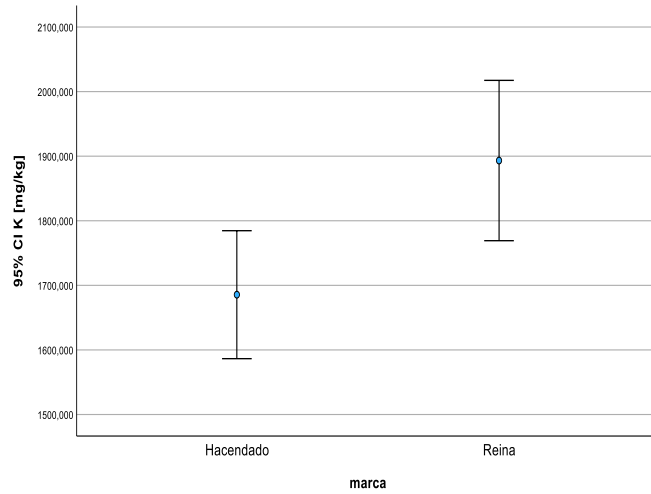


Figura 17. Concentraciones en mg/kg del K de acuerdo a las marcas A (hacendado) y C (reina)

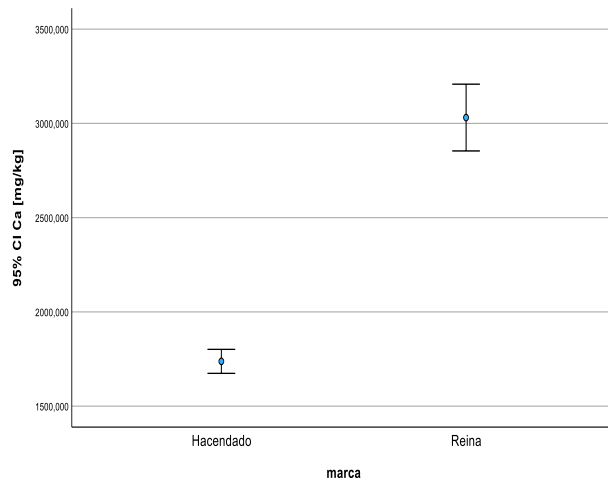


Figura 18. Concentraciones en mg/kg del Ca de acuerdo a las marcas A (hacendado) y C (reina)

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Siendo la marca A mayoritaria para el Cu (figura 19).

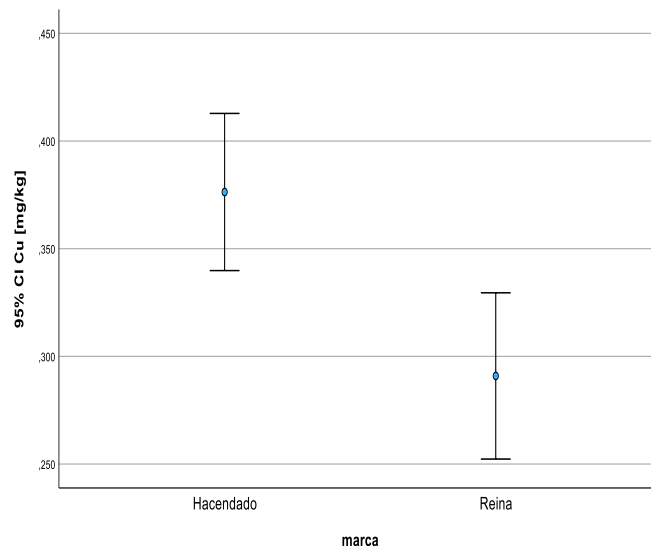


Figura 19. Concentraciones en mg/kg del Cu de acuerdo a las marcas A (hacendado) y C (reina)

Es por ello que podemos observar diferencias significativas entre los mismos elementos durante las distintas categorías, exceptuando la exclusión del cromo y del magnesio entre sabores, y la menor lista de elementos con diferencias significativas de la comparativa entre marcas del mismo sabor junto a la inclusión del potasio.

6.3 Discusión

Se ha evidenciado que, en relación con otros autores, los productos lácteos enriquecidos en proteínas presentan mayores niveles de elementos comparados con los no enriquecidos (33–36).

Nutricionalmente, un yogur estándar contiene aproximadamente 455 (Na), 1101 (K), 1018 (Ca), y 115,1 mg/kg (Mg) (34), mientras que un yogur enriquecido presenta 616-1016 (Na), 1670-1893 (K), 1737-3335 (Ca), y 243-334 mg/kg (Mg). Los complementos alimenticios de proteínas de suero lácteo en polvo contienen mayores concentraciones: 4689 (K), 3811,27 (Ca) y 809 mg/kg (Mg) (33).

Estas diferencias se pueden relacionar al uso de aditivos como estabilizantes que contengan Mg y Na, junto con que algunos elementos como el Mg y el Ca pueden ser retenidos a través de los procesos tecnológicos de ultra y microfiltración junto a las proteínas lácteas, con lo que un aumento del contenido proteico es un aumento de estos minerales.

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Al igual que los elementos de valor nutricional, algunos de los potencialmente tóxicos también aumentan proporcionalmente con la concentración de proteínas en el producto (yogur, yogur enriquecido y proteína en polvo de suero lácteo).

Los yogures enriquecidos frente a los estándar muestran incrementos en Al (de 0,59 a 2,9 mg/kg) y Li (de 0,52 a 1,57 mg/kg) (33). Las proteínas en polvo tienen concentraciones aún mayores de Al (7,19-8 mg/kg) (34,35), probablemente debido al mayor procesamiento y manufacturación requeridos (33).

En este estudio el Li ha sido el único aporte toxicológico relevante al superar el 25% de sus valores de referencia al presentar concentraciones medias de 1,37- 0,99- 1,574 mg/kg para las marcas A, B, y C.

Este oligoelemento afecta numerosas rutas metabólicas y funciones orgánicas a dosis terapéuticas y tóxicas. Tiene un efecto positivo en el control farmacológico de desórdenes maníaco-depresivos, pero su función exacta es desconocida, presentando un estrecho margen terapéutico. Dosis tóxicas pueden causar daños en la tiroides y alteraciones en la sensación de hambre, peso, entre otras, y en animales, su déficit se asocia con alteraciones del comportamiento y reproductivas, y mayor mortalidad (36,37). La toxicidad crónica en animales experimentales ha sido reportada a través de dosis terapéuticas bajas de 250 mg/d, esta, es equivalente a 650 mg de Li/kg de dieta. No se ha encontrado toxicidad a través de la dieta, siendo lo usual aportes de 0,1 mg/d y menor a un 0,1% de la dosis potencial tóxica (30). Otros autores sugieren establecer una Ingesta Dietética Recomendada (RDA, por sus siglas en inglés) provisional de 1 mg/d de litio, basándose en estudios experimentales y observacionales en humanos que muestran que bajos niveles de ingesta de litio se asocian con un aumento de suicidios y conductas violentas (36). Otros autores que han analizado elementos en otros productos alimenticios también han encontrado valores similares a los declarados en este estudio, tal es el caso del análisis por ICP-OES de complementos alimenticios de proteínas de suero lácteo en polvo, obteniéndose una media de 3,68 mg/kg de Li (35). Del mismo modo, en el análisis de chocolate negro por ICP-OES se encontró una concentración media de Li de 1,5 mg/kg (38).

Al mismo tiempo, se declara que la ingesta diaria de Li en el adulto americano esta entre 650-3100 ug/d (36), con lo que, en conjunto los resultados encontrados no serían preocupantes sino apoyarían la declaración de incrementar los valores de referencia de Li, junto con la necesidad de realizar un estudio toxicológico que englobe la ingesta de Li a través de la dieta total.

En definitiva, los yogures enriquecidos implican una ventaja dietética al implicar un mayor consumo de proteínas y elementos con valor nutricional.

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

6.4 Evaluación de la exposición

Se ha evaluado la exposición a distintos elementos considerando un consumo de 360 g semanal de yogures enriquecidos en proteínas en la dieta de referencia explicada en el apartado 6.1, para lo que se han establecido las siguientes IDE (ingesta diaria estimada de un individuo) presentadas en la tabla 14.

Tabla 14. Ingesta diaria estimada de un individuo (IDE) ante un consumo de 360 g de yogures enriquecidos en proteínas de distintas marcas (A,B, C) para distintos elementos.

	Marca A	Marca B	Marca C	Total general
Promedio de IDE Al (mg/d)	0,144	0,143	0,149	0,146
Promedio de IDE B (mg/d)	0,010	0,011	0,010	0,010
Promedio de IDE Co (mg/d)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Promedio de IDE Ni (mg/d)	0,001	0,001	0,001	0,001
Promedio de IDE Pb (mg/d)	0,001	0,001	0,001	0,001
Promedio de IDE Cd (mg/d)	0,001	0,001	#¡DIV/0!	0,001
Promedio de IDE Zn (mg/d)	0,246	0,613	0,421	0,426
Promedio de IDE V (mg/d)	0,001	0,001	0,001	0,001
Promedio de IDE Mo (mg/d)	0,002	0,002	0,002	0,002
Promedio de IDE Fe (mg/d)	0,074	0,053	0,080	0,069
Promedio de IDE Mn (mg/d)	0,006	0,007	0,005	0,006
Promedio de IDE Cr (mg/d)	0,002	0,003	0,004	0,003
Promedio de IDE Ca (mg/d)	89,365	171,566	155,875	138,935
Promedio de IDE Cu (mg/d)	0,019	0,020	0,015	0,018
Promedio de IDE Mg (mg/d)	12,522	15,965	17,183	15,224
Promedio de IDE Sr (mg/d)	0,016	0,036	0,036	0,029

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Promedio de IDE Ba (mg/d)	0,010	0,016	0,016	0,014
Promedio de IDE Li (mg/d)	0,071	0,051	0,081	0,068
Promedio de IDE K (mg/d)	86,685	85,930	97,368	89,994
Promedio de IDE Na (mg/d)	31,708	52,267	50,529	44,835
Promedio de IDE Hg (mg/d)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

6.5 Evaluación de la exposición nutricional

Se ha realizado una caracterización del valor nutricional para evaluar el aporte de elementos con valor nutricional a través de una ingesta semanal de 360 g de los yogures mencionados.

Dentro de los elementos analizados con valor nutricional (macroelementos, microelementos esenciales y potencialmente esenciales) únicamente el Ca se acerca a implicar un aporte significativo del VR pautado (tabla 15) ya que presenta un %C de 10,39- 19,94- 18,12% según sea la marca A, B, y C, siendo únicamente las marcas B y C las más próximas al 25% del VR. Las tablas 15-17 expresan los %C de los distintos elementos según los VR empleados.

Tabla 15. Caracterización del valor nutricional (%C) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) de los nutrientes que presenten como valor de referencia el AR (average requirement o requerimiento medio). Para el zinc, se ha establecido una ingesta de fitatos de 600 mg/d de acuerdo a la dieta propuesta

Nutriente	Población	Edad	Género	AR mg/d	%C MARCA A	%C MARCA B	%C MARCA C
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Hombre	9,3	2,643	6,589	4,525
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Mujer	7,6	3,234	8,063	5,537
Fe	Adultos	≥ 18 años	Hombre	6	1,239	0,890	1,332
Fe	Adultos	≥ 18 años	Mujer	7	1,062	0,762	1,142

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Ca	Adultos	18-24 años	Ambos géneros	860	10,391	19,949	18,125
-----------	---------	------------	---------------	-----	--------	--------	--------

Tabla 16. Caracterización del valor nutricional (%C) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) de los nutrientes que presenten como valor de referencia el AI (adequate intake o ingesta adecuada)

Nutriente	Población	Edad	Género	AI (mg/d)	%C MARCA A	%C MARCA B	%C MARCA C
Mo	Adultos	≥ 18 años	Ambos géneros	0,065	2,653	3,322	2,530
Mn	Adultos	≥ 18 años	Ambos géneros	3	0,185	0,219	0,171
Cu	Adultos	≥ 18 años	Hombre	1,6	1,210	1,280	0,935
Cu	Adultos	≥ 18 años	Mujer	1,3	1,489	1,576	1,151
Mg	Adultos	≥ 18 años	Hombre	350	3,578	4,562	4,910
Mg	Adultos	≥ 18 años	Mujer	300	4,174	5,322	5,728
K	Adultos	≥ 18 años	Ambos géneros	3500	2,477	2,455	2,782
Na	Adultos	≥ 18 años	Ambos géneros	2000	1,585	2,613	2,526

Tabla 17. Caracterización del valor nutricional (%C) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) de los nutrientes que presenten como valor de referencia el PRI (The population reference intake o ingesta de la población de referencia)

Nutriente	Población	Edad	Género	PRI (mg/d)	%C MARCA A	%C MARCA B	%C MARCA C
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Hombre	11,70	2,101	5,237	3,597
Zn	Adultos (LPI 600 mg/d)	≥ 18 años	Mujer	9,30	2,643	6,589	4,525

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Fe	Adultos	≥ 18 años	Mujer	16	0,465	0,334	0,500
Fe	Adultos	≥ 18 años	Hombre	11	0,676	0,485	0,727
Ca	Adultos	18-24 años	Ambos géneros	1000	8,936	17,157	15,587

Es por ello que a nivel nutricional, entre marcas es la B la que presenta un perfil más completo de elementos pese a estos aportes no ser significativos para el individuo.

6.6 Evaluación del riesgo toxicológico

La caracterización del riesgo toxicológico se ha realizado para evaluar la exposición a los siguientes elementos potencialmente tóxicos (Pb, Cd, Al, Li, Sr, y Ba) junto con aquellos aceptados como esenciales sin tener asignados un valor de referencia (VR) nutricional (Ni, B, V y Cr) ante un consumo semanal de 360 g de los yogures mencionados.

El Pb, al no presentar VR se ha empleado el cálculo del MOE según sus tres efectos tóxicos (a nivel cardiovascular, nefrototoxicidad, y neurotoxicidad en el desarrollo) tal como se puede visualizar en la tabla 18. Siendo que dicho margen de exposición para la ingesta de yogures planteada para las 3 marcas y 3 efectos tóxicos es totalmente segura al obtenerse un MOE > 10.

Tabla 18. Determinación del MOE (margen de exposición) del Pb de acuerdo a sus 3 tipos de efectos tóxicos (cardiovascular, nefrotóxico, y neurotoxicidad del desarrollo) expresados como BMDL (benchmark dose lower confidence limit o límite de dosis inferior de confianza) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) para el sujeto de estudio de 73,8 kg

Elemento	Efectos	BMDL (mg/Kg p.c/d)	MOE Marca A	MOE Marca B	MOE Marca C
Pb	Cardiovascular BMDL	0,0015	156,239	168,652	217,186
Pb	Nefrotóxico BMDL	0,00063	65,620	70,834	91,218

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Pb	Neurotoxicidad en el desarrollo BMDL	0,0005	52,080	56,217	72,395
-----------	--------------------------------------	--------	--------	--------	--------

Dentro de los elementos potencialmente tóxicos restantes se observa de acuerdo a su porcentaje de contribución (%C) a los VR que Li> Cd> Al> Sr> Ba.

El Li se encuentra en un 47,9- 34,7- 54,85% que se corresponden con concentraciones medias de 1,37- 0,99- 1,57 mg/kg para las marcas A, B, y C, siendo este el único aporte toxicológico relevante al superar el 25% de sus valores de referencia.

En cuanto a los elementos probablemente esenciales, pero sin presentar valores de referencia nutricional se ha encontrado que Ni> V> B> Cr, siendo los aportes a los VR todos menor a un 1%.

A continuación, se exponen en las tablas 19-22 los %C calculados para los distintos elementos junto a sus VR empleados.

Tabla 19. Caracterización del riesgo toxicológico (%C) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) de los elementos que presenten como valor de referencia el TDI (tolerable daily intake o ingesta diaria tolerada) para el sujeto de estudio de 73,8 kg

Elemento	TDI (mg/kg p.c/d)	%C MARCA A	%C MARCA B	%C MARCA C
Ni	0,0028	0,54	0,42	0,36
Cr	0,3	0,01	0,01	0,02
Co	0,0014	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Sr	0,13	0,17	0,38	0,37
Ba	0,2	0,07	0,11	0,11

Tabla 20. Caracterización del riesgo toxicológico (%C) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) de los elementos que presenten como valor de referencia el TWI (tolerable weekly intake o ingesta semanal tolerada) para el sujeto de estudio de 73,8 kg

Elemento	TWI (mg/kg p.c/semana)	%C MARCA A	%C MARCA B	%C MARCA C
Al	1	1,367	1,360	1,414
Cd	0,0025	3,870	2,174	<LOQ

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

Hg total	0,004	<LOQ	<LOQ	<LOQ
-----------------	-------	------	------	------

Tabla 21. Caracterización del riesgo toxicológico (%C) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) de los elementos que presenten como valor de referencia el UL (tolerable upper intake level o ingesta máxima tolerada) para el sujeto de estudio de 73,8 kg

Elemento	UL (mg/ kg p.c/d)	%C MARCA A	%C MARCA B	%C MARCA C
B	0,16	0,084	0,090	0,082

Tabla 22. Caracterización del riesgo toxicológico (%C) de acuerdo a las distintas marcas (A, B, y C) de los elementos que presenten como valor de referencia el RfD (reference dose o dosis de referencia) para el sujeto de estudio de 73,8 kg

Elemento	RfD (mg/kg p.c/d)	%C MARCA A	%C MARCA B	%C MARCA C
V	0,007	0,123	0,248	0,123
Li	0,002	47,985	34,723	54,855

Al comparar entre marcas y %C/MOE, solo se sitúan el Pb y el Cd con diferencias de contribución de acuerdo a la marca, siendo la marca C quien implica un menor aporte.

En definitiva, ninguna de las marcas conlleva riesgos toxicológicos para la salud del individuo, debido a que la exposición a los metales tóxicos Al, Pb, Cd, y Hg no implica un riesgo a la salud del consumidor, existiendo para el Li un %C relevante a su valor de referencia toxicológico, se es necesario remarcar que este ha sido un estudio considerando solo la exposición que supondría la ingesta de un producto de la dieta, no la dieta en su totalidad.

7. CONCLUSIONES

- El contenido de 21 metales en 60 muestras de yogures enriquecidos en proteínas ha sido analizado. Dentro de los macroelementos resalta el Ca con una media de 1737,6- 3335,9- 3030,8 mg/kg según sea la marca A, B, y C. En cuanto a los microelementos esenciales, el Zn es el mayoritario con una media de 4,79-11,9-8,18 mg/kg, siendo que dentro de los metales potencialmente tóxicos el Al es el mayoritario con 2,80-2,78-2,9 mg/kg.
- La evaluación del valor nutricional a través de un consumo de 360 g de yogures proteicos arroja que únicamente el Ca se acerca a implicar un aporte significativo del VR al presentar un %C de 10,39-19,94-18,12 para las marcas A, B y C. Por lo que nutricionalmente, no se presentan aportes significativos.
- La evaluación del riesgo toxicológico a partir de la ingesta propuesta a elementos potencialmente tóxicos (Pb, Cd, Al, Li, Sr, Ba) junto con aquellos esenciales sin tener un VR nutricional (Ni, B, V, Cr) evidencia que únicamente el Li supone una contribución significativa a su VR toxicológico (47,9-34,7-54,85%) correspondiéndose con concentraciones medias de 1,37-0,99-1,574 mg/kg para las marcas A, B y C.
- Toxicológicamente no se presentan riesgos al consumidor, poniéndose en evidencia la necesidad de un estudio toxicológico a partir de la dieta total frente al Li.
- En cuanto a diferencias entre los yogures, las marcas B y C fueron las de mayor concentración para los macro y microelementos de mayor valor nutricional. El sabor vainilla frente al natural presenta mayor proporción de los mismos, siendo que, dentro de los naturales, fue el A el de menor aporte en mayoría.

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

8. BIBLIOGRAFÍA:

1. Gobierno de España. BOE 2003-3273 Real Decreto 179/2003 del 14 de febrero. 179/2003 España: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2003/02/14/179>; Feb 18, 2003 p. 6448–50.
2. U.S Department of Agriculture. FoodData Central [Internet]. [cited 2024 Mar 1]. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/>
3. EFSA. Valores dietéticos de referencia para la UE [Internet]. [cited 2024 Apr 30]. Available from: <https://multimedia.efsa.europa.eu/drvs/index.htm>
4. Moreno Aznar LA, CRP, OARM, DMJJ, BE, BJ, BSS, IAI, LSAM, MM, RRE, SPAM, BN, SS. Scientific evidence about the role of yogurt and other fermented milks in the healthy diet for the Spanish population. *Nutr Hosp* [Internet]. 2013 Nov [cited 2024 Jun 15]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24506386/>
5. El-Abadi NH, Dao MC, Meydani SN. Yogurt: role in healthy and active aging¹²³⁴. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2014;99(5):1263S-1270S. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002916523050815>
6. Wang H, Livingston KA, Fox CS, Meigs JB, Jacques PF. Yogurt consumption is associated with better diet quality and metabolic profile in American men and women. *Nutrition Research* [Internet]. 2013;33(1):18–26. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531712002485>
7. Phillips SM, Loon LJC Van. Dietary protein for athletes: From requirements to optimum adaptation. *J Sports Sci* [Internet]. 2011;29(sup1):S29–S38. Available from: <https://doi.org/10.1080/02640414.2011.619204>
8. Phillips SM. Dietary protein requirements and adaptive advantages in athletes. *British Journal of Nutrition* [Internet]. 2012/08/01. 2012;108(S2):S158–67. Available from: <https://www.cambridge.org/core/product/07A4F888A7FE5205E2D3D12CFD12B8AD>
9. Järup L. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull* [Internet]. 2003 Dec 1;68(1):167–82. Available from: <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>
10. EFSA. Metals as contaminants in food [Internet]. [cited 2024 Apr 5]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/metals-contaminants-food>
11. EFSA. Contaminants in the food chain [Internet]. 2017 [cited 2024 Apr 5]. Available from: <https://www.efsa.europa.eu/en/discover/infographics/contaminants-food-chain>

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

12. Authority EFS. Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal* [Internet]. 2012;10(1):2551. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2012.2551>
13. (EFSA) EFSA. Safety of aluminium from dietary intake - Scientific Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Food Contact Materials (AFC). *EFSA Journal* [Internet]. 2008;6(7):754. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2008.754>
14. on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) EP. Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA Journal* [Internet]. 2010;8(4):1570. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2010.1570>
15. on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) EP. Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal* [Internet]. 2012;10(12):2985. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2012.2985>
16. EFSA. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of chromium in food and drinking water. *EFSA Journal* [Internet]. 2014 Mar 1 [cited 2024 May 22];12(3). Available from: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3595>
17. Committee ES. Statement on the benefits of fish/seafood consumption compared to the risks of methylmercury in fish/seafood. *EFSA Journal* [Internet]. 2015;13(1):3982. Available from: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2015.3982>
18. König A, Bouzan C, Cohen JT, Connor WE, Kris-Etherton PM, Gray GM, et al. A Quantitative Analysis of Fish Consumption and Coronary Heart Disease Mortality. *Am J Prev Med* [Internet]. 2005;29(4):335–46. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749379705002515>
19. Álvarez AM, González Suárez RM, Marrero Falcón MA. Papel de la testosterona y el cortisol en el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Cubana de Endocrinología*. 2010;21:80–90.
20. Departamento de Toxicología ML y P de la U de G. Determinación de Metales por absorción atómica - Generador de Hidruros [Internet]. [cited 2024 Apr 13]. Available from: <https://www.ugr.es/~fgil/proyecto/hidruros/fundamento.html>
21. Farant JP, Brissette D, Moncion L, Bigras L, Chartrand A. Improved Cold-Vapor Atomic Absorption Technique for the Microdetermination of Total and Inorganic Mercury in Biological Samples. *J Anal Toxicol* [Internet]. 1981 Jan 1;5(1):47–51. Available from: <https://doi.org/10.1093/jat/5.1.47>

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

22. Ward Robert E. and Legako JF. Traditional Methods for Mineral Analysis. In: Nielsen SS, editor. Food Analysis [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2017. p. 371–86. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_21
23. De Catálisis I, Petroleoquímica Y, De F, Técnica LA, Aplicaciones Y. ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA ICP-OES.
24. Planeta K, Kubala-Kukus A, Drozd A, Matusiak K, Setkowicz Z, Chwiej J. The assessment of the usability of selected instrumental techniques for the elemental analysis of biomedical samples. Sci Rep [Internet]. 2021;11(1):3704. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82179-3>
25. EFSA. Dietary reference values (DRVs) Finder [Internet]. 2019 [cited 2024 May 21]. Available from: <https://multimedia.efsa.europa.eu/drvs/index.htm>
26. EFSA. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of nickel in food and drinking water. EFSA Journal [Internet]. 2015 Feb 1 [cited 2024 May 22];13(2). Available from: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4002>
27. AESAN. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a criterios de estimación de concentraciones para la discusión de propuestas de límites de migración de determinados metales pesados y otros elementos de objetos de cerámica destinados a entrar en contacto con los alimentos. Revista del comité científico de la AESAN nº 16 [Internet]. 2012 [cited 2024 May 22];16:11–20. Available from: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/web/publicaciones/aecosan_comite_cientifico.htm
28. OMS. Strontium and Strontium Compounds [Internet]. 2010 [cited 2024 May 22]. Available from: [https://books.google.es/books?hl=en&lr=&id=K1E0DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP3&dq=%5BWHO%5D+World+Health+Organization.+2010.+Concise+international+chemical+assessment+document+77%E2%80%93+Strontium+and+strontium+compounds.+Geneva+\(Switzerland\):+WHO.&ots=OqHx4sY5Xk&sig=F5xCBxD70MO0xC7yBoDsD5Jhevg&redir_esc=y#v=onepage&q=%5BWHO%5D%20World%20Health%20Organization.%202010.%20Concise%20international%20chemical%20assessment%20document%2077%E2%80%93%20Strontium%20and%20strontium%20compounds.%20Geneva%20\(Switzerland\)%3A%20WHO.&f=false](https://books.google.es/books?hl=en&lr=&id=K1E0DgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP3&dq=%5BWHO%5D+World+Health+Organization.+2010.+Concise+international+chemical+assessment+document+77%E2%80%93+Strontium+and+strontium+compounds.+Geneva+(Switzerland):+WHO.&ots=OqHx4sY5Xk&sig=F5xCBxD70MO0xC7yBoDsD5Jhevg&redir_esc=y#v=onepage&q=%5BWHO%5D%20World%20Health%20Organization.%202010.%20Concise%20international%20chemical%20assessment%20document%2077%E2%80%93%20Strontium%20and%20strontium%20compounds.%20Geneva%20(Switzerland)%3A%20WHO.&f=false)
29. EFSA. Risk assessment of rare earth elements, antimony, barium, boron, lithium, tellurium, thallium and vanadium in teas [Internet]. 2022 [cited 2024 May 22]. Available from: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.e200410>
30. OMS. Trace elements in human nutrition and health [Internet]. 1996 [cited 2024 May 31]. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9241561734>

Determinación de metales pesados en yogures proteicos: evaluación nutricional y toxicológica

31. Nielsen FH. The justification for providing dietary guidance for the nutritional intake of boron. *Biol Trace Elem Res* [Internet]. 1998;66(1):319–30. Available from: <https://doi.org/10.1007/BF02783145>
32. Peggy L. Carver. Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic [Internet]. Carver PL, editor. De Gruyter; 2019. Available from: <https://doi.org/10.1515/9783110527872>
33. Luis G, Rubio C, Revert C, Espinosa A, González-Weller D, Gutiérrez AJ, et al. Dietary intake of metals from yogurts analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). *Journal of Food Composition and Analysis* [Internet]. 2015;39:48–54. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157515000022>
34. Guefai FZ, Martínez-Rodríguez A, Grindlay G, Mora J, Gras L. Elemental bioavailability in whey protein supplements. *Journal of Food Composition and Analysis* [Internet]. 2022;112:104696. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157522003143>
35. González-Weller D, Paz-Montelongo S, Bethencourt-Barbuzano E, Niebla-Canelo D, Alejandro-Vega S, Gutiérrez ÁJ, et al. Proteins and Minerals in Whey Protein Supplements. *Foods* [Internet]. 2023;12(11). Available from: <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/11/2238>
36. Schrauzer GN. Lithium: Occurrence, Dietary Intakes, Nutritional Essentiality. *J Am Coll Nutr* [Internet]. 2002 Feb 1;21(1):14–21. Available from: <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719188>
37. J L Wang YTJ. Studies on lithium in the environment and its effects on the central nervous system. *Revista China de Medicina Preventiva* [Internet]. 2022 [cited 2024 May 31]; Available from: 10.3760/cma.j.cn112150-20210916-00898
38. Mrmošanin JM, Pavlović AN, Krstić JN, Mitić SS, Tošić SB, Stojković MB, et al. Multielemental quantification in dark chocolate by ICP OES. *Journal of Food Composition and Analysis* [Internet]. 2018;67:163–71. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157518300085>