

Determinación del contenido de Al, Cd y Pb en muestras comerciales de *Arthrospira platensis*



Trabajo de Fin de Grado

Alumno: Marcel Dominik, Jakubiec

Tutora: M^a del Carmen Rubio Armendariz

ULL Universidad de La Laguna

Facultad de Farmacia

Curso 2018/2019

ÍNDICE

Abstract/Resumen	2
1. Introducción	3
2. Objetivos	4
3. Material y Métodos	4
4. Resultados	6
5. Conclusiones	15
Bibliografía	16

ABSTRACT

Spirulina is a multicellular cyanobacteria that has been consolidated as a dietary supplement. Although the components of nutritional interest (proteins, polyunsaturated fatty acids, macro and micronutrients) have been studied, there are no studies on toxic metals.

This study determines and toxicologically evaluates Al, Cd and Pb concentrations in 24 samples from 7 different brands marketed in Spain using ICP-OES.

The highest average levels of Al(39,899 mg/Kg) and Cd(51,989 µg/Kg) were obtained for the brand 6 and Pb(145,559 µg/Kg) for brand 2.

Considering the posology guidelines, the average intakes have been estimated and their contributions to Tolerable Weekly Intake (TWI).

The greatest contribution has been observed for Al(2,04%) followed by Cd(1,05%). The intake of Pb from Spirulina represent 1,05% of the intake associated with nephrotoxicity and 0,44% of the intake associated with cardiovascular effects.

Spirulina consumption does not pose a risk to the consumer as far as exposure to toxic metals concerned, but the presence of toxic metals in Spirulina preparations should be regulated to ensure their quality and safety, thus contributing to the recommendation to minimize the exposure to toxic metals from different dietary sources.

RESUMEN

La Spirulina es una cianobacteria multicelular que se ha consolidado como complemento alimenticio. Si bien los componentes de interés nutricional (proteínas, ácidos grasos poliinsaturados, macro y micronutrientes) han sido estudiados, no hay estudios sobre metales tóxicos.

Este estudio determina y evalúa toxicológicamente las concentraciones de Al, Cd y Pb en 24 muestras de 7 marcas comercializadas en España mediante ICP-OES.

Los niveles medios más altos de Al(39,899 mg/Kg) y Cd(51,989 µg/Kg) se obtuvieron para la marca 6 y de Pb(145,559 µg/Kg) para la marca 2.

Considerando las pautas posológicas, se han estimado las ingestas medias y sus contribuciones a las ingestas semanales tolerables (IST).

La mayor contribución se ha observado para el Al(2,04%) seguida del Cd(1,05%). La ingesta de Pb a partir de Spirulina supone un 1,05% de la ingesta asociada a nefrotoxicidad y un 0,44% de la ingesta asociada con efectos cardiovasculares.

El consumo de Spirulina no supone un riesgo para el consumidor en lo que a exposición a metales tóxicos se refiere, pero la presencia de metales tóxicos en preparados de Spirulina debería ser regulada para velar por su calidad y seguridad, contribuyendo así a la recomendación de minimizar la exposición a metales tóxicos desde distintas fuentes dietéticas.

1. INTRODUCCIÓN

La Spirulina (*Arthrospira platensis*) es una cianobacteria filamentosa y multicelular englobada dentro de las algas azules¹ que en los últimos años ha alcanzado una gran popularidad, llegando a ser apodada como “súper alga” o “súper alimento”, gracias a su alto valor nutricional, lo que ha hecho que se haya ido incorporando al mercado en distintas formas comerciales de complementos alimenticios.

En cuanto a su composición y valor nutricional, destaca su alto porcentaje protéico (55 % - 70 % del peso seco). Es rica en aminoácidos tanto esenciales como no esenciales con un contenidos superiores de estos en comparación con otras fuentes protéicas de origen vegetal. Contiene un elevado porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados como el ácido gamma linolénico, el EPA (ácido eicosapentanoico), el DHA (ácido docosahexanoico) o el ácido araquidónico. Es rica en vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6, B9 y B12) al igual que en vitamina C, D y E. También contiene distintos pigmentos fotosintéticos como puede ser la clorofila, xantofila o los beta carotenos, entre otros. En cuanto a minerales, posee una gran variedad de ellos (K, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, P, Se, Na o Zn) con funciones tanto fisiológicas como nutricionales en el organismo¹.

Estos componentes atribuyen a la Spirulina efectos beneficiosos para la salud como pueden ser efectos hipolipemiente como hipoglucemiante², propiedades anti-oxidantes³, antivirales⁴, antianémicas⁵, incluso es capaz de ayudar a mitigar la fatiga y favorece a la recuperación física tras el ejercicio⁶, entre otras cosas.

En cuanto a su consumo, la Spirulina se puede encontrar en el mercado tanto en comprimidos, cápsulas como en polvo y las pautas recomendadas varían desde 1,2 a 5 g/día dependiendo de la marca, siempre y cuando se use como complemento alimenticio y acompañada de una dieta equilibrada y saludable.

El objetivo de este trabajo será analizar el contenido de tres metales de interés toxicológico (Al, Cd, y Pb) en la *Arthrospira Platensis* dada la inexistencia de estudios previos de carácter similar.

Existen varias maneras de definir a un metal pesado, una de ella hace referencia a los metales de densidad comprendida entre 4 g/cm³ hasta 7 g/cm³. No todos los metales de densidad alta son tóxicos en concentraciones normales, no obstante son conocidos por representar serios problemas toxicológicos y medioambientales como puede ser el caso de Al, Cd o el Pb⁷.

El Al es un metal tóxico que carece de función fisiológica. Está clasificado como agente cancerígeno en humanos según la IARC (International Agency for Research on Cancer)⁸. Tiende a acumularse en órganos como cerebro, huesos, hígado y riñón. Es conocida su neurotoxicidad, y se le ha relacionado con el desarrollo del Alzheimer. La EFSA (European Food Safety Authority) estima que la exposición diaria media de la población europea está entre los 28,6 y 214 µg /Kg de peso corporal mientras que la IST (Ingesta Semanal Tolerable) está establecida en 1 mg/Kg de peso corporal⁹.

El Cd es un metal pesado que carece de función fisiológica. Se suele encontrar en el medio ambiente asociado a Zn, Cu o Pb. Está clasificado como agente cancerígeno en humanos según la IARC⁸ y es capaz de causar daños que desencadenen una disfunción tanto renal como hepática. La EFSA estima que la exposición media de la población europea al Cd oscila entre 1,9 y 3 µg /Kg de peso corporal semanalmente¹⁰ y ha establecido una IST de Cd de 2,5 µg /Kg de peso corporal^{10,11}.

El Pb es un contaminante medioambiental donde su forma inorgánica es la más común, esta está catalogada como probable agente cancerígeno en humanos según la IARC⁸. En el humano produce efectos tóxicos a nivel cerebral, renal, cardiovascular y pudiendo llegar a ser teratogénico en embarazadas. La EFSA estima que la exposición media de la población europea al Pb está entre los 0,68 µg/Kg de peso corporal al día¹². Actualmente no existe una IST definida para dicho metal¹³, sabiendo esto la EFSA opta por evaluar la ingesta dietética en base a la toxicidad organoespecífica, por ello, basándose en el BMDL (*Benchmark dose lower confidence limit*) se establece una ingesta diaria a partir de la cual el Pb empieza a presentar toxicidad. Para un adulto, se considera que el Pb desencadena **nefrotoxicidad** tras un consumo diario correspondiente a 0,63 µg/Kg peso corporal al igual que puede producir **efectos a nivel cardiovascular** tras un consumo diario de 1,50 µg/Kg peso corporal¹⁴.

2. OBJETIVOS

Determinar el contenido de tres metales pesados (Al, Cd y Pb) en distintas presentaciones comerciales de Spirulina, estimar y evaluar toxicológicamente las ingestas dietéticas en base a los distintos escenarios de consumo y a su vez estimar y evaluar la contribución de esta exposición dietética a las ingestas recomendadas de estos metales tóxicos.

3. MATERIAL Y METODOS

Se adquirieron un total de 7 marcas distintas de *Arthrospira platensis* en tres presentaciones (comprimidos, cápsulas o polvo) comercializadas en España. Se analizaron un total de 24 muestras, 3 repeticiones por cada marca comercializada a excepción de la Marca 1 donde se realizaron 6 repeticiones, pero de distintos recipientes.

3.1 PROCEDIMIENTO ANALITICO

Las muestras fueron pesadas en una balanza de precisión en cápsulas de porcelana, previamente esterilizadas en un horno mufla a 800°C durante 3 horas, hasta obtener cantidades comprendidas entre 4,5 y 5 g (peso húmedo) para luego ser sometidas a desecación en estufa a 80°C durante 24 horas. En el caso de los comprimidos, primero se pesaban y pulverizaban con ayuda de un mortero para obtener así su peso húmedo. En el caso de las cápsulas, estas se pesaban directamente y se ponían en la estufa para su desecación.

Pasado este tiempo, las muestras se sacaban del horno y, una vez alcanzaran temperatura ambiente, se volvían a pesar (peso seco).

Obtenidos estos valores, bajo una campana extractora y con ayuda de una pipeta Pasteur, se añadían unas gotas de ácido nítrico al 65% mientras la cápsula estaba sobre una placa calefactora a 130°C para favorecer así la evaporación del ácido nítrico. Una vez evaporado, se introducían las muestras a un horno mufla y se programaba durante 48 horas a 450°C con el objetivo de incinerarlas. Pasado este tiempo las muestras se dejaban enfriar, se les volvía a añadir ácido nítrico al 65% y se dejaba evaporar en la placa calefactora a 130°C para introducir las de nuevo en el horno mufla durante 24 horas más a 450°C.

Tras este tiempo, se dejaba enfriar las muestras para acto seguido diluir las cenizas obtenidas con ácido nítrico al 1,5% en un matraz aforado, tras previo filtrado, hasta enrasar a 25 mL. Por último, se introducían las muestras en botes estériles, correctamente marcados e identificados para su posterior análisis.

Durante el proceso se procuró que las muestras tuvieran el menor contacto posible con materiales metálicos para evitar su contaminación.

Las muestras se analizaron en un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) para la obtención de la concentración de los metales. Esta es una técnica multielemento que permite el análisis simultáneo de gran número de elementos y que está basada en la medición de la radiación de la línea espectral emitida por átomos excitados en un plasma de Argón generado por calentamiento inductivo con un campo electromagnético de alta frecuencia.

Equipo utilizado: ICP-OES Thermo Scientific iCAP 6000 series spectrometer (Waltham, MA, USA).

Condiciones instrumentales: Valor de Radio-Frecuencia aproximado de 1,2 kW; flujo de gas (Flujo nebulizador; flujo auxiliar), 0,5 L/min; velocidad de bombeo, 50 rpm; tiempo de estabilización de 0 s.

El procedimiento analítico viene representado en el **esquema 1**.



Esquema 1. Representación del procedimiento analítico de las muestras

Los límites de detección y cuantificación instrumentales se estimaron basándonos en la respuesta instrumental del equipo y vienen expresados en la **tabla 1**.

Tabla 1. Límites de detección (LD) y límites de cuantificación (LQ)		
Metal y longitud de onda	Límite de detección (LD) (mg/L)	Límite de cuantificación (LQ) (mg/L)
Al (167,0 nm)	0,004	0,012
Cd (226,5 nm)	0,0003	0,001
Pb (220,3 nm)	0,0003	0,001

3.2 ANALISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis estadístico con el objetivo de comprobar si los datos seguían una distribución normal usando el test de Kolmogorov-Smirnov. Se comprobó que no había normalidad en los datos y se realizaron a su vez dos tests no paramétricos, el test de Kruskal-Wallis para ver si existían diferencias significativas entre las concentraciones de los distintos metales en cada marca analizada; y el test U de Mann-Whitney para ver si existían diferencias entre los metales dependiendo del tipo de presentación y si existía alguna correlación entre ellos.

4. RESULTADOS

Tras el análisis de las muestras, se obtuvieron los resultados de las concentraciones de los distintos metales de interés y se decidió dividirlos en dos grupos, **presentaciones sólidas** englobando comprimidos y cápsulas (Tabla 2) y **presentaciones en polvo** (Tabla 3).

TABLA 2. CONCENTRACIONES DE LOS DISTINTOS METALES PARA LAS PRESENTACIONES SÓLIDAS JUNTO A LA MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR (SD)				
MARCA COMERCIAL		Al (mg/Kg)	Cd (µg/Kg)	Pb (µg/Kg)
Marca 1	Muestra 1	3,766	10,853	65,118
	Muestra 2	4,050	10,727	75,091
	Muestra 3	3,404	5,352	74,930
	Muestra 4	6,251	10,686	74,802
	Muestra 5	4,744	5,325	69,223
	Muestra 6	4,049	10,711	80,334
	Media ± SD	4,377 ± 1,018	8,942 ± 2,792	73,250 ± 5,313
Marca 2	Muestra 1	20,855	35,692	147,869
	Muestra 2	20,606	35,439	146,821
	Muestra 3	21,805	35,497	141,988
	Media ± SD	21,088±0,633	35,543 ± 0,133	145,559 ± 3,137
Marca 3	Muestra 1	16,635	31,387	36,619
	Muestra 2	15,922	31,632	36,904
	Muestra 3	15,466	31,243	41,658
	Media ± SD	16,007±0,589	31,421 ± 0,197	38,394 ± 2,831
Marca 4	Muestra 1	6,662	10,018	70,126
	Muestra 2	10,691	19,984	134,892
	Muestra 3	9,764	15,021	125,175
	Media ± SD	9,039±2,11	15,008 ± 4,983	110,065 ± 34,927

TABLA 3. CONCENTRACIONES DE LOS DISTINTOS METALES PARA LAS PRESENTACIONES EN POLVO JUNTO A LA MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR (SD)				
MARCA COMERCIAL		Al (mg/Kg)	Cd (µg/Kg)	Pb (µg/Kg)
Marca 5	Muestra 1	29,263	40,363	75,681
	Muestra 2	28,063	35,268	75,574
	Muestra 3	27,234	35,304	70,607
	Media ± SD	28,187 ± 1,020	36,978 ± 2,932	73,954 ± 2,899
Marca 6	Muestra 1	40,896	55,265	100,482
	Muestra 2	37,830	45,335	80,596
	Muestra 3	40,970	55,365	90,598
	Media ± SD	39,899 ± 1,792	51,989 ± 5,762	90,559 ± 9,943
Marca 7	Muestra 1	14,489	21,075	57,956
	Muestra 2	18,869	26,134	78,403
	Muestra 3	15,017	20,929	57,555
	Media ± SD	16,125 ± 2,391	22,713 ± 2,964	64,638 ± 11,933

4.1 ANÁLISIS DE RESULTADOS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico utilizado para ver las diferencias existentes entre las distintas marcas en relación a la concentración de Al, Cd y Pb, por medio de un test de Kruskal-Wallis, demostró que:

4.1.1 ALUMINIO

En la **Figura 1** se aprecian diferencias significativas en las concentraciones de Al con respecto a las distintas marcas pudiendo diferenciar entre varios grupos, las marcas 6 y 5 son las que mayores concentraciones muestran, seguidas de las marcas 2,3,7 y 4 mientras que la marca 1 es la que menor concentración de Al tiene.

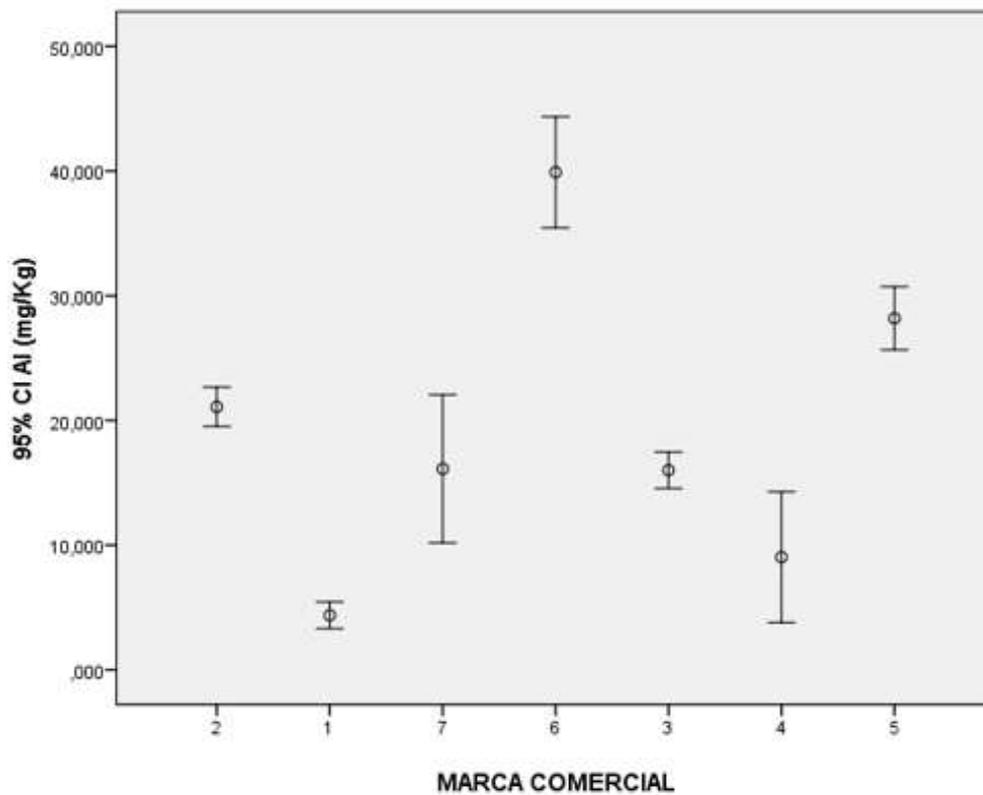


Figura 1. Concentración media de Al en las distintas marcas analizadas.

4.1.2 CADMIO

Se observan diferencias significativas en las concentraciones de Cd entre las distintas marcas, siendo la marca 6 la que mayor concentración posee seguida de la marca 5, el resto de marcas abarcan concentraciones cercanas entre ellas a excepción de la marca 1 que tiene la concentración más baja de Al, como podemos ver representado en la **Figura 2**.

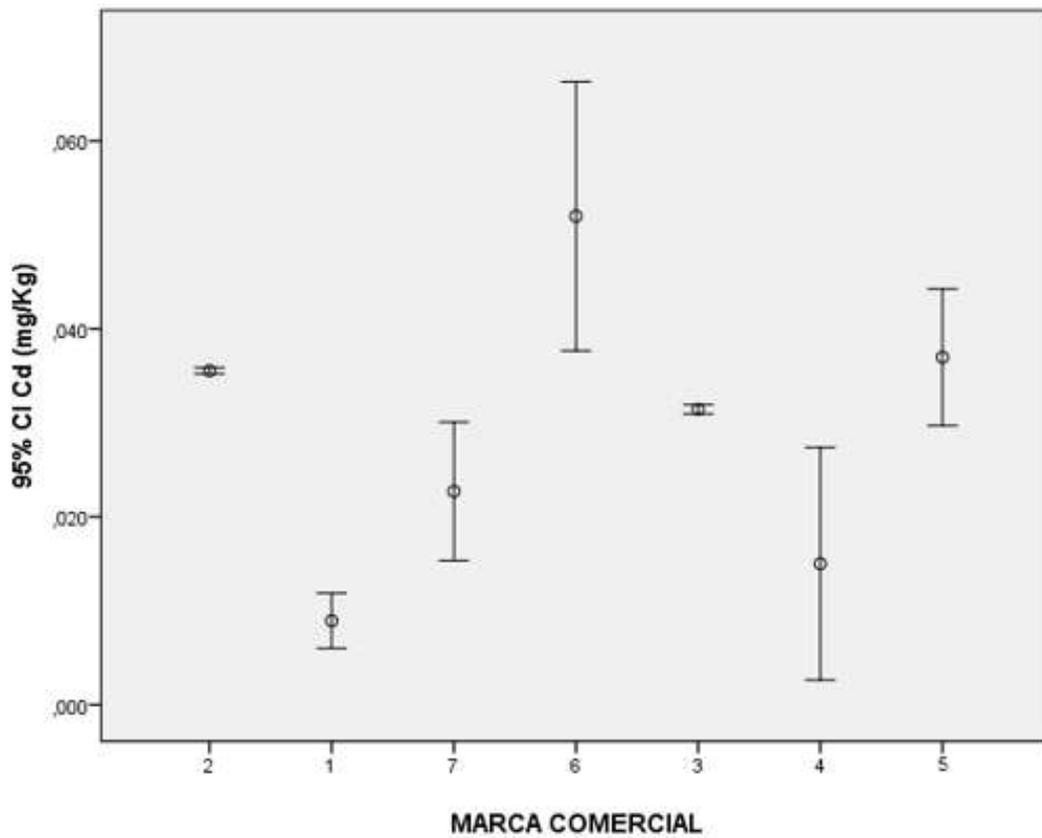


Figura 2. Concentración media de Cd en las distintas marcas analizadas.

4.1.3 PLOMO

Como se observa en la **Figura 3**, las concentraciones entre las distintas marcas no varían demasiado unas de otras, diferenciando que la marca 2 contiene la mayor concentración de todas las marcas analizadas.

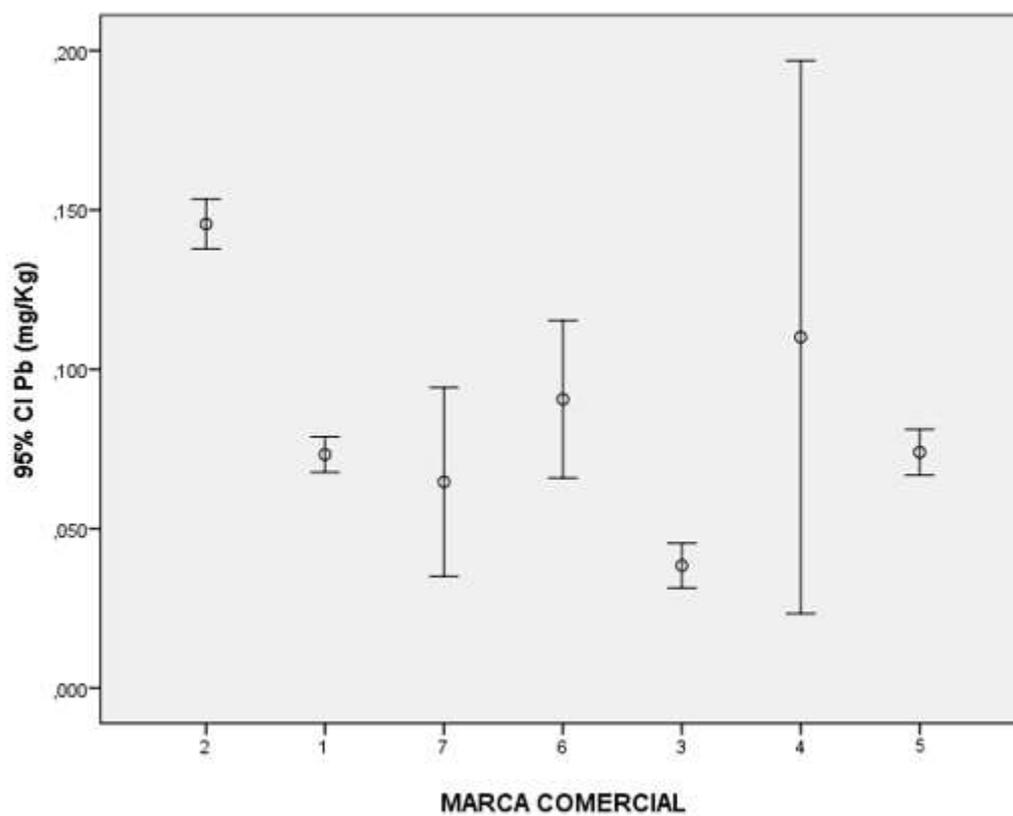


Figura 3. Concentración media de Pb en las distintas marcas analizadas.

Viendo los resultados obtenidos se decidió hacer un estudio de correlación entre los metales analizados por medio del test U de Mann-Whitney que dio como resultado la existencia de una correlación positiva entre el Al y el Cd, como se muestra en la **Figura 4**.

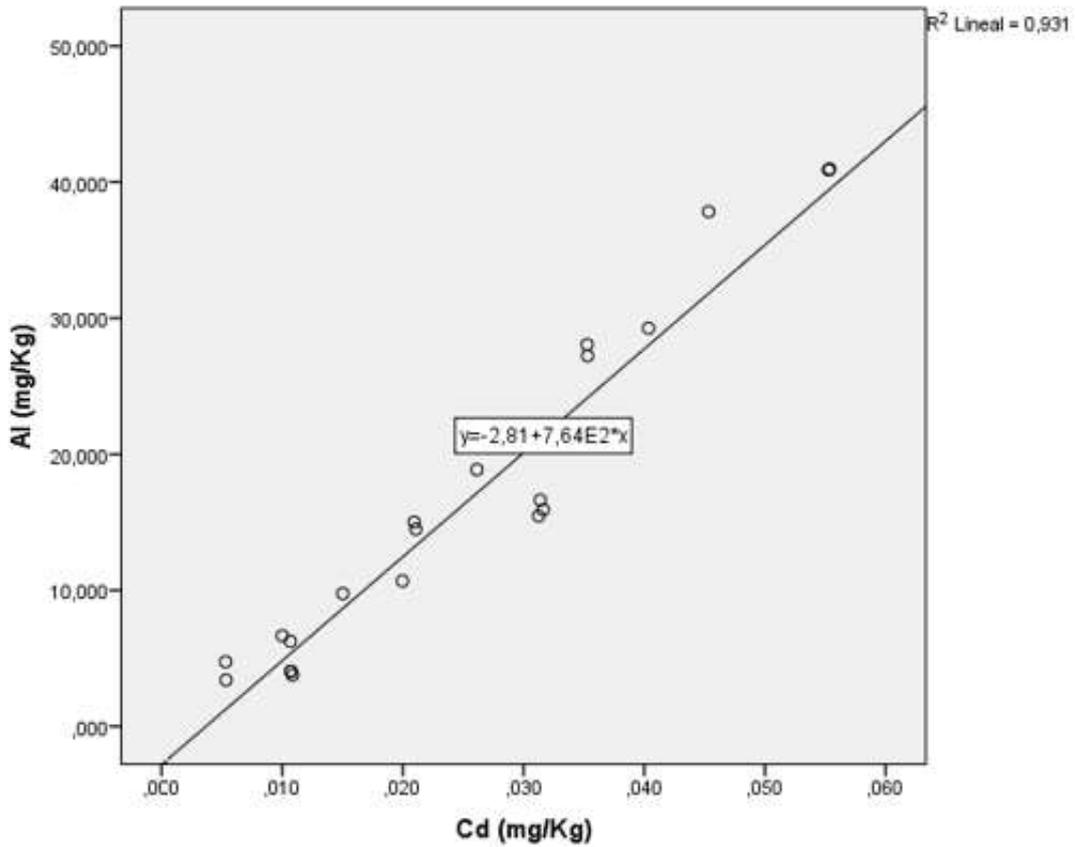


Figura 4. Gráfico de correlación entre las concentraciones de Al y Cd.

Se quiso ver también si existían diferencias entre las concentraciones de los distintos metales en relación a su presentación. Se realizó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney donde dio como resultado la existencia de diferencia entre las concentraciones de Al y Cd entre ambas presentaciones siendo mayoritarias en las presentaciones en polvo, como podemos ver en la **Figura 5** y **Figura 6**.

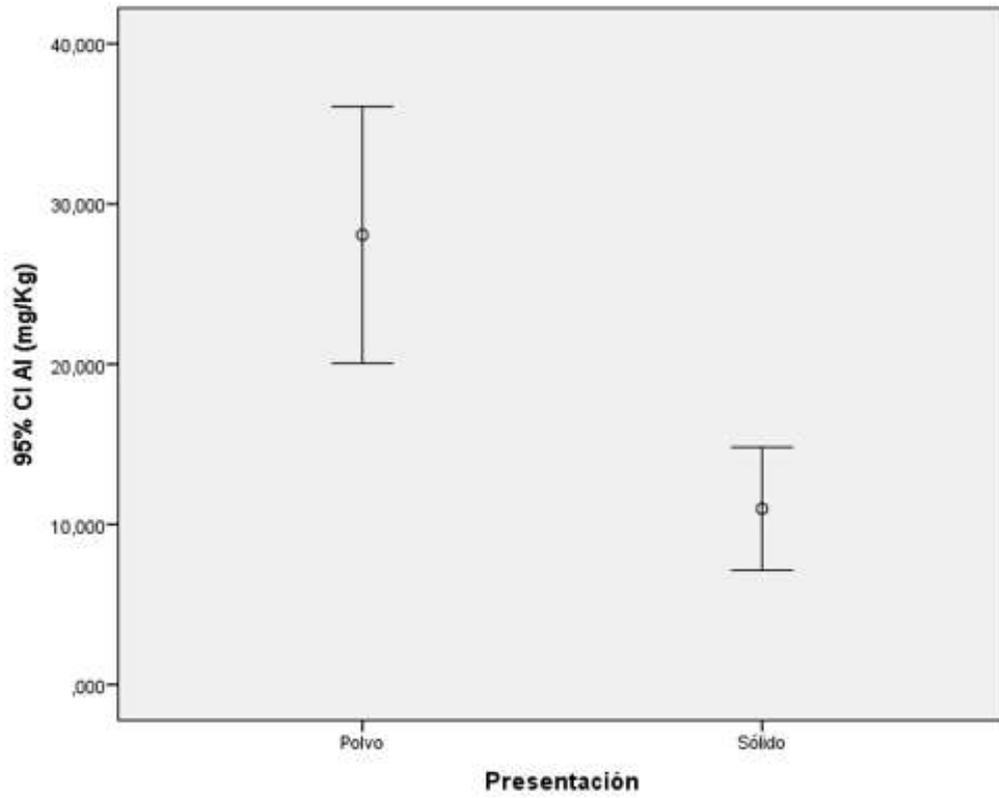


Figura 5. Concentraciones de Al entre las distintas presentaciones

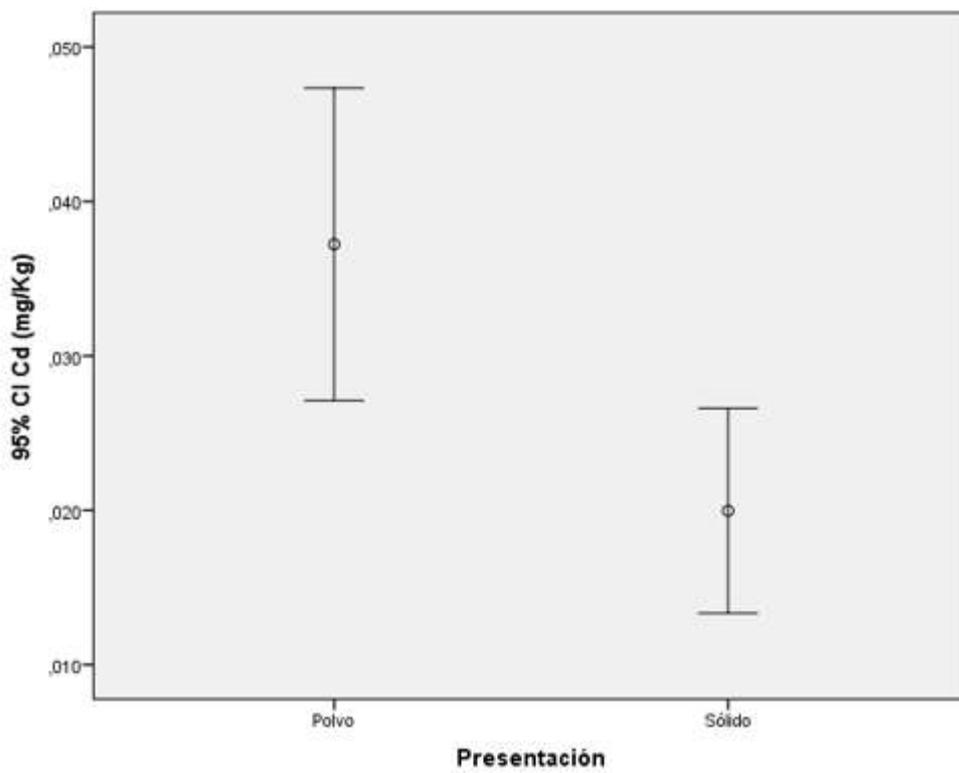


Figura 6. Concentraciones de Cd entre las distintas presentaciones

4.2 CÁLCULO DE INGESTA EN BASE A LA PAUTA O DOSIS RECOMENDADA

Las Ingestas Semanales Tolerables (IST) de los metales tomando como peso promedio de un adulto el valor de **68,48 Kg** ⁽¹⁵⁾ se muestra en la **tabla 4**:

Tabla 4. IST en relación al peso de un adulto promedio		
METAL	IST	IST EN ADULTO PROMEDIO
Al	1 (mg/Kg p.c.) ⁽⁹⁾	68,48 mg
Cd	2,5 (µg/Kg p.c.) ⁽¹¹⁾	171,2 µg

Dado que no hay establecida una IST para el Pb y que la EFSA establece, en base a la BMDL de Pb y la ingesta semanal del Pb para producir nefrotoxicidad y toxicidad cardiovascular, los límites de referencia que usaremos se muestran en la **tabla 5**.

Tabla 5. Toxicidad del Pb en relación a su exposición dietética				
TOXICIDAD	BMDL B-PB (µg/L)	Exposición dietética diaria a Pb		Exposición dietética semanal al Pb (µg)
		(µg/Kg P.C)	(µg)	
Nefrotoxicidad	15	0,63	43,142	301,997
Cardiovascular	36	1,5	102,72	719,04

La ingesta semanal de cada uno de los metales conforme a las cantidades semanales recomendadas en cada envase fue estimada en base a las pautas posológicas recogidas en los distintos envases y marcas. Se estimó también la contribución (%) para la IST de Al y Cd y la ingesta correspondiente a la aparición de efectos nefrotóxicos (ISNT-Pb) o cardiovasculares (ISCV-Pb) en el caso del Pb.

Los resultados obtenidos vienen expresados en la **tabla 6** y **tabla 7**.

TABLA 6. INGESTA SEMANAL EN BASE A LAS PAUTAS/DOSIS RECOMENDADAS/INDICADAS EN LOS ENVASES DE LAS PRESENTACIONES SÓLIDAS									
Marca	Nº Comprimidos	Comprimidos (g)	Ingesta Al (mg)	(%) IST Al	Ingesta Cd (µg)	(%) IST Cd	Ingesta Pb (µg)	(%) ISNT- Pb*	(%) ISCV-Pb**
1	28	12,6	0,055	0,08	0,113	0,07	0,923	0,306	0,128
	56	25,2	0,110	0,16	0,225	0,13	1,846	0,611	0,257
2***	21	8,4	0,177	0,26	0,299	0,17	1,223	0,405	0,170
	42	16,8	0,354	0,52	0,597	0,35	2,445	0,810	0,340
3	21	8,4	0,134	0,20	0,264	0,15	0,323	0,107	0,045
	42	16,8	0,269	0,39	0,528	0,31	0,645	0,214	0,090
4	21	8,4	0,076	0,11	0,126	0,07	0,925	0,306	0,129
	42	16,8	0,152	0,22	0,252	0,15	1,849	0,612	0,257

* Porcentaje calculado en relación a la ingesta semanal de Pb correspondiente con la dosis que puede producir nefrotoxicidad

** Porcentaje calculado en relación a la ingesta semanal de Pb correspondiente con la dosis que puede producir toxicidad cardiovascular

*** Presentación de la marca en cápsulas

TABLA 7. INGESTA SEMANAL EN BASE A LAS PAUTAS/DOSIS RECOMENDADAS/INDICADAS EN LOS ENVASES DE LAS PRESENTACIONES EN POLVO									
Marca	Nº Cucharadas	Cucharadas (g)	Ingesta Al (mg)	(%) IST Al	Ingesta Cd (µg)	(%) IST Cd	Ingesta Pb (µg)	(%) ISNT-Pb*	(%) ISCV-Pb**
5	7	17,5	0,493	0,72	0,647	0,38	1,294	0,429	0,180
	14	35	0,987	1,44	1,294	0,76	2,588	0,857	0,360
6	7	17,5	0,698	1,02	0,910	0,53	1,585	0,525	0,220
	14	35	1,396	2,04	1,820	1,06	3,170	1,050	0,441
7	7	17,5	0,282	0,41	0,397	0,23	1,131	0,375	0,157
	14	35	0,564	0,82	0,795	0,46	2,262	0,749	0,315

* Porcentaje calculado en relación a la ingesta semanal de Pb correspondiente con la dosis que puede producir nefrotoxicidad

** Porcentaje calculado en relación a la ingesta semanal de Pb correspondiente con la dosis que puede producir toxicidad cardiovascular

5.0 CONCLUSIONES

1. El 100% de las muestras presentan concentraciones de Al, Cd y Pb por encima de los niveles de LQ y LD.
2. El metal más abundante es el Al, seguido del Cd y el Pb
3. La marca 6 muestra las concentraciones más elevadas de Al y Cd mientras que la marca 2 posee las concentraciones más elevadas de Pb.
4. Se observa una correlación entre las concentraciones de Al y Cd, de tal manera que en aquellas marcas donde aparece elevado el Al también lo está el Cd.
5. Las presentaciones en polvo contienen niveles más elevados tanto de Al como de Cd en comparación a las presentaciones sólidas.
6. Para el Al, la contribución a la IST apenas sobrepasa el 2% para la toma máxima recomendada como se observa en el caso de la marca 6.
7. Para el Cd, la mayor contribución a la IST es del 1,06% observada para la toma máxima recomendada de la marca 6.
8. Para el Pb, los porcentajes de contribución de las distintas dosis de Spirulina a las ingestas relacionadas con nefrotoxicidad y efectos cardiovasculares son bajos, la mayoría, a excepción de la marca 6 para la dosis que puede producir nefrotoxicidad, están por debajo del 1%.
9. Se concluye que el consumo de Spirulina no supone riesgo para la salud del consumidor en lo que a exposición dietética de metales se refiere pero la presencia de metales tóxicos en preparados de Spirulina debería ser regulada para velar por su calidad y seguridad, contribuyendo así a la recomendación de minimizar la exposición a metales tóxicos desde sus distintas fuentes dietéticas.
10. El consumo de complementos alimenticios de Spirulina en las dosis recomendadas no supone un riesgo para el consumidor en lo que a exposición dietética de metales se refiere pero la presencia de metales tóxicos en preparados de Spirulina debería ser regulada para velar por su calidad y seguridad, contribuyendo así a la recomendación de minimizar la exposición a metales tóxicos desde sus distintas fuentes dietéticas.

BIBLIOGRAFÍA:

- (1) Habib M, Parvin M, Hungtinton T, Hasan M. A review on the culture, production and use of Spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2008.
- (2) Huang H, Liao D, Pu R, Cui Y. Quantifying the effects of spirulina supplementation on plasma lipid and glucose concentrations, body weight, and blood pressure. *Diabetes Metab Syndr Obes* [Internet]. 2018 [Citado 28 abril 2019]; volumen 11: p 729-742. Disponible en: <https://www.dovepress.com/quantifying-the-effects-of-spirulina-supplementation-on-plasma-lipid-a-peer-reviewed-article-DMSO>
- (3) Nasirian F, Dadkhah M, Moradi-kor N, Obeidavi Z. Effects of Spirulina platensis microalgae on antioxidant and anti-inflammatory factors in diabetic rats. *Diabetes Metab Syndr Obes* [Internet]. 2018 [Citado 28 abril 2019]; Volumen 11: p 375-380. Disponible en: <https://www.dovepress.com/effects-of-spirulina-platensis-microalgae-on-antioxidant-and-anti-infl-peer-reviewed-fulltext-article-DMSO>
- (4) Chen Y, Chang G, Kuo S, Huang S, Lo Y et al. Well-tolerated Spirulina extract inhibits influenza virus replication and reduces virus-induced mortality. *Sci. rep. (Nat. Publ. Group)* [Internet]. 2016 [Citado 28 abril 2019]; 6(1). Disponible en: <https://www.nature.com/articles/srep24253>
- (5) Selmi C, Leung P, Fischer L, German B, Yang C, Kenny T et al. The effects of Spirulina on anemia and immune function in senior citizens. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2011 [Citado 28 Abril 2019]; 8(3): p 248-254. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/cmi201076>
- (6) Kalafati M, Jamurtas A, Nikolaidis M, Paschalis V, Theodorou A, Sakellariou G et al. Ergogenic and Antioxidant Effects of Spirulina Supplementation in Humans. *Med Sci Sports Exerc* [Internet]. 2010 [Citado 28 abril 2019]; 42(1): p.142-151. Disponible en: https://journals.lww.com/acsm-msse/fulltext/2010/01000/Ergogenic_and_Antioxidant_Effects_of_Spirulina.19.aspx
- (7) Metales pesados- Ministerio para la Transición Ecológica [Página web]. Miteco.gob.es. 2016 [citado 5 mayo 2019]. Disponible en: https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/atmosfera-y-calidad-del-aire/emisiones/prob-amb/metales_pesados.aspx
- (8) IARC-International Agency for Research on Cancer. List of Classifications, volumes 1-123. *Monographs.iarc.fr*. 2019 [citado 6 junio 2019]. Disponible en: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications-volumes/>
- (9) Hardisson A, Revert C, González-Weller D, Gutiérrez A, Paz S y Rubio C. Aluminium Exposure Through the Diet. *Food Sci Nutr* [Internet]. 2018 [Citado 28 abril 2019]; 3(2): p 1. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/318429696_Aluminium_Exposure_Through_the_Diet
- (10) Aecosan- Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición [Página Web]. Aecosan.mssi.gob.es. 2018 [actualizado 20 marzo 2018; citado 5 mayo 2019]. Ficha técnica de Cadmio. Disponible en: http://www.aecosan.mssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/Ficha_web_cadmio.pdf

(11) Aecosan- Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición [Página Web]. Aecosan.msssi.gob.es. 2018 [actualizado 20 marzo 2018; citado 5 mayo 2019]. Cadmio.

Disponible en:

http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/cadmio.htm

(12) Aecosan- Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición [Página Web]. Aecosan.msssi.gob.es. 2015 [actualizado 20 marzo 2018; citado 5 mayo 2019]. Ficha técnica del Plomo. Disponible en:

http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/gestion_riesgos/Plomo_ficha_tecnica.pdf

(13) Aecosan- Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición [Página Web]. Aecosan.msssi.gob.es. 2018 [actualizado 20 marzo 2018; citado 5 mayo 2019]. Plomo.

Disponible en:

http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/plomo.htm

(14) EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on Lead in Food. EFSA Journal [Internet]. 2013[citado 7 junio 2019];8(4):p.101. Disponible en:

<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1570>

(15) Aecosan-Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Modelo de dieta española para la determinación de la exposición del consumidor a sustancias químicas [Página Web]. Madrid: Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición; 2006 [citado 6 junio 2019]. Disponible en:

http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/para_consumidor/modelo_dieta_espanola.pdf