

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) relativo a la evaluación del riesgo asociado a la posible presencia de arsénico en algas destinadas al consumo humano

Miembros del Comité Científico

Andreu Palou Oliver, Juan José Badiola Díez, Arturo Anadón Navarro, Albert Bosch Navarro, Juan Francisco Cacho Palomar, Ana María Cameán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Lucas Domínguez Rodríguez, Rosaura Farré Rovira, Manuela Juárez Iglesias, Francisco Martín Bermudo, Manuel Martín Esteban, Albert Más Barón, Teresa Ortega Hernández-Agero, Andrés Otero Carballeira, Perfecto Paseiro Losada, Daniel Ramón Vidal, Elías Rodríguez Ferri, M^a Carmen Vidal Carou, Gonzalo Zurera Cosano

Secretario

Jesús Campos Amado

Número de referencia: AESAN-2009-10

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 13 de mayo de 2009

Grupo de Trabajo

Rosaura Farré Rovira (Coordinadora)
Juan Francisco Cacho Palomar
Ana María Cameán Fernández
Albert Más Barón
Pilar Delgado Cobos (AESAN)

Resumen

La globalización ha contribuido a la introducción de nuevos alimentos en la dieta de los españoles, entre éstos las algas, capaces de acumular elementos tóxicos entre los que se encuentra el arsénico (As). Por ello se considera necesario disponer de información sobre los contenidos de As en las algas que pueden considerarse seguros.

El As es un metaloide con cuatro estados de oxidación lo que da origen a una gran variedad de compuestos con características físicas y químicas bien distintas. También difieren en sus propiedades biológicas y toxicológicas, dependiendo no sólo de su estado de valencia sino también de sus formas, inorgánicas u orgánicas. Estas últimas poseen el potencial tóxico más bajo, por lo que los efectos adversos para la salud vendrán determinados fundamentalmente por la fracción inorgánica del As presente, siendo la toxicidad del As(III) mayor que la del As(V).

La especie química influye en la absorción, distribución, metabolismo y excreción del As. Las formas metiladas de As (MMA y DMA) mayoritarias en muchas algas se consideran menos tóxicas, se fijan menos a los tejidos y se eliminan más rápidamente que las no metiladas. Los compuestos organoarsenicales se metabolizan en menor grado y se excretan rápidamente.

En relación con la toxicidad del As, la sintomatología de la intoxicación aguda tras exposición por vía oral incluye: diarrea, dolores gastrointestinales tipo cólico, anorexia, pérdida de peso, vómitos graves, calambres musculares, alteraciones cardíacas, alteraciones del sistema nervioso central, aumento de la irritabilidad, exantema y pérdida de pelo. En adultos se observan efectos de este tipo tras ingerir 3 mg diarios de As durante unas semanas. La exposición crónica origina lesiones en la piel (dilatación de capilares cutáneos), hipo e hiperpigmentación (enfermedad del pie negro-*Blackfoot*), alteraciones vasooclusivas y gangrenosas. También neuropatías periféricas, encefalopatía, alteración

del metabolismo del grupo hemo, hepatomegalia, depresión de la médula ósea, diabetes y deterioro de la función renal (necrosis). La presencia de As en el agua de bebida se ha asociado a efectos adversos sobre la reproducción. La Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) clasifica al As inorgánico en el grupo I (cancerígeno humano).

La FAO/OMS y el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios (JEFCA) establecen la Ingesta Semanal Tolerable Provisional (PTWI) para As inorgánico en 0,015 mg/kg peso corporal.

La principal fuente de As para la población no expuesta laboralmente la constituyen el agua y los alimentos. La legislación española establece un contenido máximo de As en aguas de 10 µg/l. Las ingestas dietéticas de As estimadas en España oscilan entre los 225 y 345 µg/día, y al igual que en otros países el principal contribuyente son los pescados y mariscos, aunque la mayor parte del As se encuentra presente en las formas de menor toxicidad, de modo que en alimentos de origen marino analizados en España, la arsenobetaina (AsB) es el compuesto orgánico encontrado con mayor frecuencia, seguido de los ácidos dimetilarsínico (DMA) y monometilarsónico (MMA).

Los contenidos de As total e inorgánico, en algas comercializadas y analizadas en España se encuentran comprendidos entre 2,3 y 141 mg/kg peso seco, y entre 0,15 y 88 mg/kg peso seco, respectivamente. Destaca por su elevado contenido en As total (115 a 141 mg/kg peso seco) y As inorgánico (83 a 88 mg/kg peso seco) el alga parda *Hizikia fusiformis* (Harv.) Okam. (hijiki), que se caracteriza por acumular As inorgánico. En el caso de las algas fucus o fuco (*Fucus vesiculosus* L.), kombu (*Laminaria* spp), wakame (*Undaria pinnatifida* (Har.) Sur.), arame (*Eisenia bicyclis* (Kjellm.) Stech.) y nori (nombre aplicado a varias especies de algas, principalmente pertenecientes a los géneros *Porphyra*, *Monostroma* y *Enteromorpha*), las concentraciones de As inorgánico son muy inferiores, del orden de 0,15-0,57 mg/kg peso seco.

Los elevados contenidos de As de algunas algas obligan a evaluar el riesgo que supone su ingesta, para ello se requiere conocer el consumo de algas y el contenido de As. Puesto que el primero se desconoce, se considera una ingesta diaria de 3 g de algas, estimándose así que *Hizikia fusiformis*, el alga con mayores contenidos de As, puede proporcionar 250 µg de As inorgánico al día, aporte un 67% superior a la ingesta diaria tolerable (150 µg As/día, para un adulto de 70 kg de peso). Y supone multiplicar por siete la ingesta diaria de As inorgánico de un consumidor español.

Una ingesta repetida de hijiki proporcionaría As inorgánico que al sumarse al procedente de otras fuentes (agua y otros alimentos), llevaría a una superación de los intervalos de seguridad admisibles para el riesgo de toxicidad crónica, por lo que se recomienda evitar su consumo y escoger otras variedades alternativas.

Palabras clave

Algas, arsénico, alimentos, evaluación, hijiki, riesgo, toxicidad.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) related to the risk assessment associated to the possible presence of arsenic in algae intended to human consumption.

Abstract

Globalisation contributed to the introduction of novel foods into the Spanish diet, among the seaweed, able to accumulate toxic elements and among them arsenic (As). It is considered necessary to obtain information on the As contents in seaweeds that can be considered safe.

Arsenic is a metalloid with four oxidation states, that give rise to a high variety of compounds having different physical and chemical characteristics. The As species differ also in their biological and toxicological properties, depending not only of the valence state, but also of the inorganic and organic forms. The latter have the lowest toxic potential, being therefore the adverse effects determined mainly by the inorganic As fraction, being As (III) toxicity higher than those of As(V).

Arsenic specie affects the absorption, distribution, metabolism and excretion. As methylated forms (MMA and DMA), the main forms present in many seaweeds are considered of a lower toxicity, the binding to tissues is lower and the elimination quicker than those of non-methylated species. Organoarsenical compounds are metabolised in a lower extent and rapidly excreted.

Regarding As toxicity, symptomatology of acute intoxication via oral exposition include: diarrhoea, gastrointestinal colic type pains, anorexia, weight lose, severe vomiting, muscular cramps, heart disorders, central nervous system disorders, irritability increase, exanthem and hair lose. These symptoms are observed in adults after a 3 mg As intake per day during several weeks. Chronic exposure causes skin lesions, hipo and hiperpigmentation (blackfoot disease), vaso-occlusive and gangrenous disorders, peripheral neuropaties, encephalopathy, alteration of hemo group metabolism, hepahomegalia, bone marrow depression, diabetes and impairment of renal function (necrosis). The presence of As in drinking water have been associated to adverse effects on reproductivity. The International Agency for Research of Cancer (IARC) has classified inorganic As in group I (human carcinogen). The FAO/WHO and the Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) have established a Provisional Tolerable Weekly Intake (PTWI) for inorganic As in 0.015 mg/kg body weight.

Water and food are the main As source for the non occupationally exposed population. The maximum As level in drinking water according to the Spanish law is 10 µg/l. In Spain the estimated As dietary intakes range from 225 to 345 µg/day, and in a similar way than in other countries the main contributors are fish and seafood, though the As species are of low toxicity, so in foods from sea analysed in Spain, arsenobetain (AsB) is the most frequently detected organic compound, followed by dimethylarsinic (DMA) and monomethylarsonic acids (MMA).

Total and inorganic As contents in seaweed commercialised and analysed in Spain range from 2.3 and 141 mg/dry weigh, and between 0.15 and 88 mg/kg, dry weight, respectively. The brown seaweed *Hizikia fusiformis* (hijiki) stands out due to their high contents in total As (115 to 141 mg/kg dry weight) and inorganic As (83 to 88 mg/kg dry weight). With regard to fucus, kombu, wakame, arame and nori inorganic As contents are much lower ranging from 0.15-0.57 mg/kg dry weight.

The high As contents of some seaweed types make necessary the assessment of the risk related to their intake. To do it requires to know seaweed consumption and their As contents. Taking into account that the first is unknown, if a daily intake of 3 g of seaweeds is assumed, *Hizikia fusiformis* the seaweed having the highest As contents can provide 250 µg inorganic As per day, amount a 67%

higher than the PTWI (150 µg As/day, for an adult of a 70 kg weight). This means to multiply by seven the daily inorganic As intake of a mean Spanish consumer.

A repeated intake of hijiki would provide inorganic As that added to the As coming from other sources (water and other foods) would lead to surpass the admissible safety intakes for the risk of chronic toxicity, being therefore advisable to avoid its consumption with the choice of alternative varieties.

Key words

Seaweed, arsenic, food, risk evaluation, hijiki, toxicity.

Introducción

En los últimos años la innovación tecnológica y la globalización han favorecido la introducción en España de alimentos nuevos. Entre ellos se incluyen las algas comestibles y productos derivados. Si bien no se dispone de datos de consumo, se piensa que entre los seguidores de dietas vegetarianas y/o macrobióticas, podrían existir pequeños grupos de grandes consumidores.

En relación con el consumo de algas se debería tener en cuenta la capacidad de éstas para acumular elementos tóxicos entre los que se encuentra el arsénico (As), existiendo numerosos estudios que muestran los elevados contenidos de As en algas (Almela et al., 2002) (Rose et al., 2007).

En la actualidad no existe normativa comunitaria alguna que fije contenidos máximos para As y con una finalidad de protección al consumidor, sería necesario disponer de información sobre los contenidos de As en algas que podrían considerarse seguros.

Identificación del peligro

El arsénico, de símbolo As, es un elemento del grupo VA de la Tabla Periódica de los Elementos de acuerdo a la clasificación de la *International Union Pure Applied Chemistry* (IUPAC).

El As, como metaloide, posee tanto propiedades metálicas como no metálicas y se asemeja en muchas características al fósforo lo que explica el por qué de su toxicidad. Funciona con cuatro valencias (-3, 0, +3 y +5) y puede estar en forma catiónica y aniónica. Hasta el momento se han encontrado en la naturaleza más de 25 compuestos naturales diferentes de As, por lo que su química, biología y toxicología son muy complejas. También la industria armamentística especializada en guerra química ha sintetizado diversas moléculas arsenicales parte de las cuales han pasado al ambiente.

Desde el punto de vista biológico y toxicológico los compuestos de As se clasifican en tres grupos: los compuestos inorgánicos de As, entre los cuales destacan como derivados del As(III), trióxido de arsénico, tricloruro de arsénico y arsenito sódico, y como derivados del As(V), el pentóxido de arsénico, ácido arsénico y arseniatos. Un segundo grupo constituido por compuestos orgánicos del As, como el ácido arsanílico, las formas metiladas tales como el ácido monometilarsónico (MMA), el ácido dimetilarsínico (DMA), trimetilarsina óxido (TMAO), así como arsenobetaina (AsB), arsenocolina (AsC) y los arsenoazúcares. Y un tercer grupo formado por el gas arsina o arseniuro de hidrógeno, el cual por su volatilidad y carácter reductor fuerte no se encuentra en los alimentos y no se considerará en esta discusión.

Esta gran cantidad de compuestos y su diferente toxicidad, hace que los trabajos de especiación sean de gran importancia (Sayago et al., 2006). Los compuestos y especies arsenicales más comunes son:

| | |
|---|-----------------------------------|
| As_2O_3 | Trióxido de arsénico |
| $\text{O}=\text{As}(\text{OH})_2$ | Ácido arsenioso (arsenitos) |
| As_2O_5 | Pentóxido de arsénico |
| $\text{O}=\text{As}(\text{OH})_3$ | Ácido arsénico (arseniatos) |
| $\text{CH}_3\text{AsO}(\text{OH})_2$ (V) | Ácido monometilarsónico (MMA) (V) |
| $(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$ | Ácido dimetilarsínico (DMA) (V) |
| $(\text{CH}_3)_3\text{As}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ | Arsenobetaina (AsB) (III) |
| $(\text{CH}_3)_3\text{As}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}^-$ | Arsenocolina (AsC) (III) |
| $(\text{CH}_3)_3\text{As}$ | Trimetilarsina (TMA) (III) |
| $(\text{CH}_3)_3\text{AsO}$ | Trimetilarsina óxido (TMAO)(V) |
| AsH_3 | Arsina |

Caracterización del peligro. Toxicidad

La toxicidad de los compuestos de As depende de su forma química y de su estado de oxidación o valencia, siendo los compuestos inorgánicos mucho más tóxicos que los orgánicos y el As(III) más tóxico que el As(V). Las formas orgánicas, que incluyen los metabolitos metilados (MMA, DMA, TMA) y compuestos orgánicos complejos (arsenocolina y arsenobetaina) son tóxicas a concentraciones más elevadas. Estas diferencias se reflejan claramente al comparar la toxicidad aguda de distintos compuestos (EFSA, 2005).

Por ejemplo, en roedores:

$LD_{50} As_2O_3 = 15-26 \text{ mg/kg pc}$

$LD_{50} CH_3AsO(OH)_2 = 916 \text{ mg/kg pc}$

$LD_{50} (CH_3)_2AsO(OH) = 648 \text{ mg/kg pc}$

$LD_{50} \text{ Arsenobetaina} = 5.500 \text{ mg/kg pc}$

Metodología analítica

Como ya se ha mencionado, la determinación individual de las distintas especies arsenicales es de vital importancia a la hora de establecer la toxicidad potencial de un producto. Sin embargo, la lógica indica que es prioritaria la determinación del contenido total de As y que únicamente cuando éste contenido supere un umbral deberá afrontarse el análisis de especiación.

Determinación del contenido total de As

Los métodos analíticos más comunes empleados para la determinación del contenido total de As son los espectrométricos de absorción atómica, tanto por atomización electrotérmica (ETAAS) como por generación de hidruros y atomización en llama ó en tubo de cuarzo.

En la metodología TEAS la muestra se mineraliza en vasija cerrada con una mezcla de ácido nítrico y peróxido de hidrógeno, la cual se calienta en un horno de microondas.

Tras la dilución con agua se determina el contenido total de arsénico en el tubo de grafito empleando modificadores de matriz (Pd y Mg, ó Ni) y el método de la adición estándar (Julshamn et al., 2000).

En el método de la generación de hidruros, la destrucción de la materia orgánica de las muestras se efectúa por calentamiento hasta cenizas y disolución en medio ácido ó por digestión ácida a presión, aunque también puede hacerse por el procedimiento de microondas ya citado. Tras la adición de una disolución de tetrahidruro borato sódico la arsina generada se determina por absorción atómica.

En los últimos años ha cobrado importancia la determinación de la arsina por espectroscopia de emisión atómica en un plasma de acoplamiento inductivo (ICP-AES) y por ICP-Espectrometría de Masas (ICP-MS), ya que ambos métodos tienen límites de detección y cuantificación más bajos que los de absorción atómica. Igualmente la generación de hidruros combinada con la espectroscopia de fluorescencia atómica (HG-AFS) posee límites de detección muy bajos (Vilano y Rubio, 2001).

Especiación de compuestos de arsénico

La necesidad de disponer de metodología analítica para la determinación de las especies de As presentes en agua y alimentos ha desarrollado numerosas metodologías basadas en técnicas de separación cromatografía de gases (GC), de líquidos (HPLC) y electroforesis acopladas a detectores tales

como los citados anteriormente (MS, ICP-MS, ICP-AES, GFAAS), detección por captura electrónica (ECD) y ultravioleta (UV). Los límites de detección han disminuido hasta unas decenas de microgramos por litro de As para cada una de las especies.

Con estas técnicas se han identificado en el ambiente más de 25 compuestos arsenicales diferentes que se generan de forma natural. De entre las técnicas la de HPLC-ICP-MS es la más empleada y para la separación de los compuestos organoarsenicales se utiliza la cromatografía de intercambio catiónico (Sloth et al., 2003). Para la separación de la especies inorgánicas se usa la cromatografía de intercambio aniónico (Wrobel et al., 2002).

1. Toxicocinética

Biodisponibilidad

La biodisponibilidad puede definirse como la fracción de As que se solubiliza y finalmente se absorbe en el tracto gastrointestinal pasando a la circulación sistémica. Son componentes de la biodisponibilidad, la bioaccesibilidad y la absorción. La primera se define como la fracción de As que se disuelve en el estómago y se encuentra disponible para la absorción durante el tránsito intestinal. Depende de la capacidad de los enzimas digestivos para liberar la/s especie/s arsenical/es en el tracto intestinal y de la solubilidad de ésta/s.

La bioaccesibilidad del As total y del As inorgánico presente en las algas depende del tipo de alga. En algas analizadas en España (*Enteromorpha spp.*, *Porphyra spp.* e *H. fusiformis*), la bioaccesibilidad del As total oscila entre el 32 y el 67% y la del As inorgánico entre el 49 y el 75%. La cocción influye en la bioaccesibilidad de ambos tipos de As (Laparra et al., 2009).

El As se absorbe por vía oral, respiratoria y cutánea, aunque para la población no expuesta profesionalmente, las principales vías son las dos primeras.

Los humanos y los animales absorben en el tracto gastrointestinal un 90% del As inorgánico, tri o pentavalente, en disolución (WHO, 2000). Los compuestos orgánicos de As presentes en los productos de origen marino también se absorben en una proporción comprendida entre el 75 y el 85%. La absorción de compuestos menos solubles, como el trióxido de arsénico es mucho menor (EFSA, 2005).

Existen diferencias significativas interespecies con respecto a la biodisponibilidad de los compuestos orgánicos arsenicales, tales como DMA (> 40% de la dosis ingerida) (WHO, 2000).

Distribución

Tras la absorción oral, la sangre es el principal vehículo de transporte del As. Éste se distribuye entre el plasma y los eritrocitos, dependiendo de la dosis ingerida, estado de oxidación y especie animal considerada. Se transporta hacia diferentes órganos unido mayoritariamente a los grupos -SH de las proteínas y de compuestos de bajo peso molecular como glutatión (GSH) y cisteína. Los estudios de distribución de As en humanos son escasos, y los análisis *post-mortem* confirman que tras una exposición a largo plazo el elemento está ampliamente distribuido en el organismo (tejido muscular, óseo, riñón, pulmón y piel) correspondiendo la mayor concentración a uñas y pelo, tejidos con alto contenido de proteínas con grupos -SH (WHO, 2000). El As inorgánico (III) y (V) puede atravesar la placenta de animales de laboratorio y humanos, y también puede excretarse a través de la leche (EFSA,

2005). Se han encontrado contenidos elevados de As en leche de mujeres con ingestas elevadas de pescado, lo que indica que los compuestos orgánicos de As presentes en los peces (arsenobetaina etc.) se excretan por la leche. Las concentraciones de As en cerebro son, en general bajas, por lo que parece que no atraviesa realmente la barrera hematoencefálica (IARC, 2004).

Metabolismo y eliminación

Arsenitos y arseniatos tras su reducción a arsenitos, son metilados en el hígado. Las formas metiladas MMA y DMA se consideran menos tóxicas, se fijan menos a los tejidos y se eliminan más rápidamente que las no metiladas (WHO, 2000). Por ello la metilación del As se considera un eficiente proceso de detoxificación. El mecanismo de metilación del As en humanos no se ha dilucidado totalmente, pero se considera que el principal agente donante es la S-adenosilmetionina (SAM) (IARC, 2004).

Los compuestos organoarsenicales se metabolizan en menor grado y se excretan rápidamente.

El As y sus metabolitos se excretan por bilis y principalmente por orina. Existe una gran variabilidad en la excreción urinaria de los diferentes metabolitos arsenicales, en función de la especie. Cabe destacar que sólo los humanos excretan cantidades significativas de MMA tras la exposición a As inorgánico.

En un ensayo en voluntarios humanos que ingirieron una única dosis de As (500 µg) en forma de arsenito sódico, MMA o DMA, la tasa de excreción del As inorgánico es menor que MMA y ésta a su vez menor que DMA (WHO, 2000).

Biomarcadores

En poblaciones expuestas los únicos metabolitos que se excretan por orina en cantidades significativas son: As inorgánico (21%), MMA total (15%) y DMA total (64%). En individuos sin exposición laboral al As la suma de los tres compuestos es usualmente inferior a 10 µg/g de creatinina (WHO, 2000).

Los contenidos normales de As en muestras biológicas de individuos no expuestos son: < 1 µg/l en sangre, < 100 µg/l en orina, < 1 mg/kg en uñas y < 1 mg/kg en pelo (ATSDR, 2008).

2. Toxicidad

Toxicidad aguda

La LD₅₀ del As₂O₃ estimada para humanos es de 1-3 mg/kg, lo que indica una mayor sensibilidad a los efectos agudos letales que la correspondiente a los animales de experimentación.

Los efectos de la exposición aguda o subaguda a As por vía digestiva incluyen diarrea, dolores gastrointestinales tipo cólico, anorexia, pérdida de peso, vómitos graves, calambres musculares, alteraciones cardíacas, alteraciones del SNC (delirio, coma o convulsiones), aumento de la irritabilidad, exantema y pérdida de pelo. En adultos se observan efectos de este tipo tras un consumo, durante unas semanas de 3 mg As/día (FAO/WHO, 1988).

Toxicidad crónica

La exposición crónica a As a través del agua de bebida origina lesiones en la piel (dilatación de los capilares cutáneos), hipo e hiperpigmentación (enfermedad del pie negro-*Blackfoot*), alteraciones va-

sooclusivas y gangrenosas. Otros síntomas asociados son neuropatías periféricas, encefalopatía, alteración del metabolismo del grupo hemo, hepatomegalia, depresión de la médula ósea, diabetes y deterioro de la función renal (necrosis) (EFSA, 2005).

Efectos sobre la reproducción y el desarrollo

La exposición a As inorgánico en el agua de bebida se ha asociado a efectos adversos sobre la reproducción. En humanos, diversos estudios retrospectivos han demostrado que las mujeres expuestas a altos niveles de As en el agua de bebida ($\geq 100 \mu\text{g/l}$) tienen mayores tasas de abortos espontáneos, de mortandad previa al nacimiento, de nacimientos pre término, y de mortandad neonatal que aquellas con baja exposición ($< 20 \mu\text{g/l}$) o no expuestas (Ahmad et al., 2001) (Milton et al., 2005). Recientemente, el estudio de una cohorte de embarazadas en Bangladesh ha puesto de manifiesto un incremento significativo de los riesgos de pérdida del feto y de muerte neonatal y postneonatal en las mujeres expuestas a contenidos de As superiores a $50 \mu\text{g/l}$ en el agua de bebida (Rahman et al., 2007).

Los estudios que relacionan la exposición a As inorgánico por vía oral con efectos sobre el desarrollo en humanos son muy escasos, asociándose la exposición crónica a As con una mayor tasa de niños con bajo peso al nacer en diversas poblaciones (Taiwán, Chile). En poblaciones expuestas a altos contenidos de As en el agua de bebida, se incrementa la mortalidad por anomalías congénitas del corazón y del sistema circulatorio (IARC, 2004) y por cáncer de pulmón y broncoectasia (ATSDR, 2008).

Clasificación del arsénico como carcinógeno

El As inorgánico fue el primer elemento identificado como carcinógeno para el ser humano. Induce cáncer primario de piel, pulmón, riñón y vejiga urinaria. La Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) clasifica al As y sus compuestos, en general, y concretamente al As en agua de bebida, constituido principalmente por As inorgánico (arseniato y en menor grado arsenito), globalmente en el grupo I (cancerígeno humano) (IARC, 1987, 2004) (EFSA, 2005).

El valor de la pendiente de potencia carcinogénica del As inorgánico es $1,50 \text{ (mg/kg/día)}$ (EPA, 1998) (ATSDR, 2007).

Mecanismos de toxicidad

As(III) y As(V) difieren en los mecanismos de acción tóxica. A nivel molecular el As(V) (arseniato) reemplaza al anión fosfato en diversas reacciones bioquímicas, como por ejemplo en la síntesis de glucosa-6-fosfato, dando glucosa-6-arseniato. Estos arseniats desacoplan la formación de ATP y se inhibe la fosforilación oxidativa en distintos tipos de células (arsenolisis).

La toxicidad de los compuestos de As(III) se atribuye a su reactividad con componentes celulares que contienen grupos tiol ($-\text{SH}$), como GSH y cisteína, inhibiéndose enzimas, como por ejemplo la piruvato deshidrogenasa. El hecho que el MMA(III) sea un potente inhibidor de la piruvato deshidrogenasa cambia el paradigma de que la metilación sea exclusivamente un proceso de disminución de toxicidad. MMA es también un potente inhibidor de GSH-reductasa y tioredoxina reductasa, lo que incrementa la susceptibilidad de las células al estrés oxidativo (EFSA, 2005).

Varios son los mecanismos propuestos en la carcinogenicidad inducida por As, siendo las especies trivalentes las implicadas en la mayoría de ellos. El As induce aberraciones cromosómicas, micronúcleos, aneuploidías, amplificación de genes. Otros mecanismos incluyen la alteración de los mecanismos de reparación del ADN, inducción de estrés oxidativo, alteración de la metilación del ADN, incremento de la proliferación celular, inducción de la expresión de proto-oncogenes, etc. (IARC, 2004).

3. Evaluación toxicológica por otros organismos

La FAO/OMS y el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios (JEFCA) establecen conjuntamente una Ingesta Semanal Tolerable Provisional (PTWI) para As inorgánico de 0,015 mg/kg pc (FAO/WHO, 1988) que traducido a la ingesta diaria es de 0,002 mg/kg pc.

En mayo del 2003, el *Committee on Toxicity of Chemicals in Food, Consumer Products and the Environment* (COT) del Reino Unido concluyó tras la clasificación dada por IARC en 2002 relativa a la carcinogenicidad del As en aguas de bebida, que en lugar de establecer un valor PTWI, debe recomendarse que la exposición dietética al As inorgánico sea tan baja como sea posible (ALARA= *As Low As Reasonably Achievable*).

La Agencia de Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (EPA) considerando como efectos críticos la hiperpigmentación, queratosis y posibles complicaciones vasculares (enfermedad endémica del "pie negro") acepta el valor de 3×10^{-4} mg/kg/día (calculado a partir de un NOAEL de 0,009 mg/l, convertido en 0,008 mg/kg/día, factor de incertidumbre 3) como dosis de referencia (RfD) en el caso de exposición humana oral crónica a As (WHO, 2000). Dicha dosis ha sido aceptada por la ATSDR (*Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) de los EE UU como nivel de riesgo mínimo (MRL) en exposiciones humanas crónicas a As inorgánico. Para exposiciones agudas el MRL es de 0,005 mg/kg/día (ATSDR, 2008).

Evaluación de la exposición

El agua y los alimentos son las principales vías de exposición para las personas que por su profesión no están expuestas al As (ATSDR, 2000).

1. Presencia en el agua de bebida

El contenido de As de la mayoría de las aguas de consumo es inferior a 10 µg/l, contenido máximo establecido en la normativa legal actual española. No obstante, el agua de bebida puede contribuir significativamente a la ingesta oral, especialmente en algunas zonas endémicas de hidroarsenicismo crónico en China, Taiwán, Argentina, Méjico, Chile, Hungría etc., donde se han encontrado áreas con concentraciones de As en agua superiores a 1.800 µg/l, e incluso de hasta 3.400 µg/l (WHO, 2000).

2. Presencia en alimentos

Para la población general, la dieta es la principal fuente de exposición al As, cuya concentración en los alimentos oscila entre 0,05 y 40 mg/kg (ATSDR, 2000).

En estudios de dieta total realizados en distintos países se comprueba que los pescados y mariscos son los principales contribuyentes al aporte de As por la dieta. En la Tabla 1 se indican los contenidos de As total correspondientes a dicho grupo de alimentos.

| Tabla 1. Estudios de dieta total. Principales contribuyentes al aporte de arsénico por la dieta | | | |
|--|-----------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| | Principales contribuyentes | As total mg/kg | Referencia |
| España-Cataluña | Pescados y mariscos | 2,21 | ACSA, 2005 |
| España-Andalucía | Pescados y mariscos | 0,234-22,008 | Bordajandi et al., 2004 |
| China | Pescados y mariscos | 0,086-7,54 | Li et al., 2003 |
| EE UU | Pescados | 0,160-2,36 | Schoof et al., 1999 |
| Francia | Peces, crustáceos y mariscos | 2 | Leblanc, 2004 |
| Nueva Zelanda | Pescado fresco | 2,08-4,14 | NZFSA, 2005 |
| Reino Unido | Pescado | 4,4 | Ysart et al., 2000 |

En el estudio realizado en el Reino Unido se indica que el pescado contribuye en un 94% a la ingesta dietética de As, que en su mayor parte se encuentra en las formas de menor toxicidad como la AsB, representando el As inorgánico sólo del 1 al 3% del total (Ysart et al., 2000). De igual modo en los pescados analizados en China la AsB representa el 98% del As total extraíble, y del 38 al 62,4% en bivalvos, que también contienen arsenoazúcares. Sólo un 2% del As total en pescados y moluscos es inorgánico (Li et al., 2003).

En alimentos de origen marino analizados en España, la AsB es el compuesto orgánico encontrado con mayor frecuencia, seguido de DMA y MMA. En pescado fresco la AsB puede representar un 81% del As total, disminuyendo hasta el 42% en pescado congelado y el 28% en alimentos enlatados (Vélez et al., 1995). El menor contenido de As total del pescado en conserva en comparación con pescado fresco puede ser debido, en parte, a pérdidas de especies solubles de As durante el procesamiento y almacenamiento (Muñoz et al., 2000). En ese sentido, se ha detectado As en forma de AsB y DMA en los líquidos de gobierno de pescados en salmuera enlatados (Vélez et al., 1995, 1996). En pescado enlatado la DMA llega a ser la especie mayoritaria, lo que se atribuye a la degradación de AsB por enzimas endógenos o procedentes de la actividad microbiana en el alimento (Vélez et al., 1996).

En zonas endémicas con una prevalencia elevada de la enfermedad de pie negro (por ejemplo: Taiwán) y contenidos altos de As en el agua (470-900 µg As/l), se ha demostrado que As(V) es la especie predominante en las aguas de los tanques de piscifactorías, existiendo una correlación positiva entre los contenidos de As inorgánico en agua y los de especies arsenicales en los peces cultivados, que poseían porcentajes de As inorgánico en tejido muscular comprendidos entre 5,7 y 12,8%, (Huang et al., 2003).

El consenso general en la literatura científica es que aproximadamente el 85-90% del As de las partes comestibles de pescados marinos y mariscos es As orgánico y que el 10% es inorgánico (Falcó et al., 2006). El hecho de que la mayoría de los animales acuáticos puedan metabolizar las formas inorgánicas de As, más tóxicas, a compuestos orgánicos como DMA y arsenobetaina explica el bajo porcentaje de As inorgánico.

3. Presencia en las algas

Los contenidos de As en muestras de algas, comercializadas y analizadas en distintos países se muestran en la Tabla 2.

| Tabla 2. Contenidos de arsénico en algas | | | | |
|---|-----------------|-----------------|--|-------------------------------|
| País | As total | As inorgánico | Comentarios | Referencia |
| España | mg/kg ps | mg/kg ps | | |
| Algas | 2,3-141 | 0,15-88 | | Almela et al., 2002 |
| Algas pardas: | | | | |
| Hijiki | 115-141 | 83-88 | | Almela et al., 2002 |
| Fucus | 50 | 0,34 | | |
| Kombu | 47-53 | 0,25-0,30 | | |
| Wakame | 32-42 | 0,15-0,26 | | |
| Arame | 23,8-30 | 0,15-0,19 | | |
| Algas rojas (nori) | 7,56-30 | 0,19-0,57 | | Almela et al., 2002 |
| Algas verdes (nori) | 2,3-5,2 | 0,37 | | Almela et al., 2002 |
| Reino Unido | | | | |
| Algas | 18,2-134 | < 0,3-96,1 | | EFSA, 2004; Rose et al., 2007 |
| Hijiki | 110 (94,6-134) | 77 (66,7-96,1) | | EFSA, 2004; Rose et al., 2007 |
| Kombu | 50 (18,9-75,2) | < 0,3 | | EFSA, 2004; Rose et al., 2007 |
| Wakame | 35 (29,2-41,9) | < 0,3 | | |
| Arame | 30 (27,9-32,3) | < 0,3 | | |
| Nori | 24 (18,2-31,9) | < 0,3 | | |
| China | | | | |
| Algas rojas (Zicai) | 1,7-19,3 | - | Arsenoazúcares | Li et al., 2003 |
| Algas pardas (Haidai) | 14,6-38,7 | - | Arsenoazúcares | Li et al., 2003 |
| Antártida | | | | |
| Algas | 8,4-29,3 | | Arsenoazúcares 50-80% del As total extraíble | Wuilloud et al., 2006 |
| Alemania (Estudio interlaboratorio) | | | | Raab et al., 2005 |
| Hijiki | 67-113 mg/kg | As(V) 65-80% | | |
| Back Moss (<i>Nostoc</i> spp.) | 33,5 mg/kg | | Organoazúcares | |

En algas comercializadas y analizadas en España, se mencionan contenidos de As total comprendidos entre 2,3 y 141 mg/kg peso seco y de As inorgánico entre 0,15 y 88 mg/kg peso seco (Tabla 2) los cuales concuerdan con los valores descritos en la bibliografía (Almela et al., 2002).

Las algas pueden contener diferentes especies de As inorgánico [As(III), As(V)], DMA(V) y varios tipos de arsenozúcares (McSheehy et al., 2002), además de AsB, arsenocolina, y otras especies desconocidas.

La hijiki variedad de alga que se utiliza en restaurantes japoneses y coreanos, aunque no en restaurantes chinos, para la preparación de sopas y ensaladas y como ingrediente de diversos platos de dietas vegetarianas, le corresponden los mayores contenidos de As total y As inorgánico (Tabla 2) (FSA, 2004b). Aunque en la mayoría de algas analizadas los contenidos de arsenozúcares son elevados, la *H. fusiformis* acumula As inorgánico (Almela et al., 2002) (Laparra et al., 2003) (Almela et al., 2005).

Estudios recientes sobre el efecto del cocinado o procesado en el contenido de As en algas indican que éstos pueden incrementarlo o disminuirlo. Así por ejemplo, durante el lavado y remojo de *H. fusiformis* el contenido de As puede disminuir hasta en un 60% (Devesa et al., 2008). El lavado de la variedad hijiki puede disminuir ligeramente, el porcentaje de As inorgánico, que antes del lavado representa del 68 al 73% del As total y después del 61 al 73%, el contenido medio inicial de As inorgánico; estos datos parecen contradecir las aseveraciones realizadas por diversos productores, en el sentido de que las diferentes etapas de preparación de las algas pueden reducir de forma significativa la fracción soluble de As inorgánico, ya que la variedad hijiki mantiene contenidos elevados de dicha fracción (Rose et al., 2007). En la misma dirección, tras el cocinado de este alga se han observado pérdidas (82%) en el contenido de arseniato, aunque la cantidad de As inorgánico remanente es aún elevada (Ichikawa et al., 2006).

Diversos autores indican que el asado, tostado o hervido de otras especies de algas rojas, verdes y pardas, procedimientos usuales en su preparación por el consumidor, no disminuyen el contenido total de As (Laparra et al., 2003) (Almela et al., 2005). Un estudio sobre biodisponibilidad de As en concentrados de algas sometidas a distintos procedimientos de cocinado, muestra diferencias entre los distintos tipos de algas, de forma que la cocción al horno no produjo cambios significativos, mientras que el hervido provoca importantes pérdidas por solubilización de As inorgánico (Laparra et al., 2003).

4. Consumo de algas

No se dispone de información relativa al consumo de algas en España.

Según información bibliográfica en Japón los consumos diarios medio y máximo se estiman en 3 g y 12 g, respectivamente (Almela et al., 2002).

5. Ingesta de arsénico procedente de la dieta

Las ingestas dietéticas de As estimadas en distintos países se muestran en la Tabla 3.

En zonas con elevados contenidos de As en las aguas de bebida (por ejemplo: Región Lagunera, Méjico) se han estimado ingestas de As que oscilaron entre 12,3 y 16,6 $\mu\text{g}/\text{kg pc}$ (grupo alta exposición) y 0,76-0,94 $\mu\text{g}/\text{kg pc}$ (grupo baja exposición) (Del Razo et al., 2002).

Tabla 3. Ingestas dietéticas de arsénico estimadas en distintos países

| País | As total intervalo | As total media $\mu\text{g}/\text{día}$ | As inorgánico $\mu\text{g}/\text{día}$ | Referencias |
|-------------------|---------------------------------------|--|---|------------------------|
| España-Pais Vasco | 255-345 $\mu\text{g}/\text{día}$ | | | Gobierno Vasco, 1996 |
| España-Cataluña | | 225,41 | 42,42 | ACSA, 2005 |
| España-Cataluña | | Hombres 165 Mujeres 152 | | Falcó et al., 2006 |
| España-Cataluña | | 261 | 33,17 | Marti-Cid et al., 2008 |
| Australia | 9,9 $\mu\text{g}/\text{kg pc/semana}$ | | | NZFSA, 2005 |
| Canadá | 14,9-59,2 $\mu\text{g}/\text{día}$ | 38,1 | | Dabeka et al., 1993 |
| EE UU | 1,8 $\mu\text{g}/\text{kg pc/semana}$ | | | NZFSA, 2005 |
| Francia | 62,1 $\mu\text{g}/\text{día}$ | | | Leblanc, 2004 |
| Japón | 15,8-1039 $\mu\text{g}/\text{día}$ | 195 | | Yamauchi et al., 1992 |
| Rep. Checa | 2,5 $\mu\text{g}/\text{kg pc/semana}$ | | | NZFSA, 2005 |
| Rep. Corea | 21 $\mu\text{g}/\text{kg pc/semana}$ | | | NZFSA, 2005 |

Reglamentación

En España se encuentran regulados:

- Los contenidos de As en conservas vegetales con un máximo de 1 mg/kg (Real Decreto 2420/1978, de 2 junio, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración y venta de conservas vegetales).
- Los contenidos de As en aguas con un máximo de 10 $\mu\text{g}/\text{l}$ (Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano).

En Europa, el Reglamento (CE) nº 1881/2006 no establece contenidos máximos de arsénico en alimentos (UE, 2006).

En Francia y los EE UU el máximo de As inorgánico permisible es de 3 mg/kg peso seco (Mabeau et al., 1993), mientras que en Australia y Nueva Zelanda de 1 mg/kg peso seco en algas y Nueva Zelanda permite 2 mg/kg peso húmedo en pescado y productos de la pesca (ANZFA, 1997).

Caracterización del riesgo

Tras la detección de altos contenidos de As total y de As inorgánico en algunas algas destinadas al consumo humano, distintos autores y entidades han realizado una evaluación del riesgo y emitido recomendaciones.

Aunque hasta la fecha no se han detectado efectos tóxicos asociados al consumo de dichas algas la Agencia Alimentaria del Reino Unido (FSA) y las autoridades de Canadá, aconsejaron a la población evitar el consumo de la variedad hijiki por su elevado contenido de As inorgánico, recomendándole escoger otras variedades alternativas (FSA, 2004a).

Uno de los inconvenientes para realizar una adecuada evaluación del riesgo es, como ya se ha indi-

cado, no disponer de datos fiables de la cantidad y frecuencia del consumo de estas algas, al no ser componentes habituales de la dieta.

Rose et al. (2007) evaluaron el riesgo que suponía para la población británica el consumo de esta variedad hijiki, con elevados contenidos de As total (109 mg/kg) y de As inorgánico (67-97 mg/kg, con un valor medio de 77 mg/kg). Situaron un nivel máximo de ingesta en 25 g/porción, con un promedio de 18 g/persona, basándose en informaciones incluidas en los envases (recetas, etc.). En el peor escenario, ingestión de 25 g y considerando el máximo contenido de As inorgánico detectado tras su preparación (22,7 mg/kg) se estimó una ingesta de 0,57 mg de As inorgánico, lo que implicaba incrementar en 30-50 veces la ingesta de As de un consumidor normal. En definitiva, el consumo de una única porción de alga hijiki equivalía a la cantidad de As inorgánico a la cual un consumidor estaría expuesto a través de su dieta en un periodo de 1-2 meses.

En la Tabla 4 se muestran los contenidos de As total y de As inorgánico de algas comercializadas en España, los aportes de As inorgánico estimados considerando una ingesta diaria de 3 g de algas, y la contribución (%) de las algas a la Ingesta Diaria Tolerable (TDI), que para un adulto de 70 kg de peso se ha establecido en 150 µg As inorgánico/día (FAO/WHO, 1988). De las estimaciones realizadas se desprende que *H. fusiformis* (hijiki) puede proporcionar 250 µg de As inorgánico al día, aporte un 67% superior a la TDI, incrementándose la ingesta diaria de As inorgánico de un consumidor español normal en siete veces (34 µg/día en población catalana; Martí-Cid et al., 2007).

| Tabla 4. Aportes de As inorgánico por consumo de 3 g/día de algas comercializadas en España y su comparación con la Ingesta Diaria Tolerable (TDI) de 150 µg As inorgánico/día, establecida para un adulto de 70 kg de peso | | | | |
|--|---------------------------------------|--|---|--|
| Tipo de alga consumida | As total mg/kg ps alga | Contenidos de As inorgánico mg/kg ps alga | Aporte de As inorgánico µg/día | % TDI TDI: 150 µg As inorgá- nico/día |
| Algas en general | 2,3-141 | 0,15-88 | 0,45-264 | 0,3%-176% |
| Algas pardas | | | | |
| <i>Hizikia fusiformis</i> (Hijiki) | 115-141 | 83-88 | 249-264 | 166%-176% |
| <i>Fucus vesiculosus</i> (Fucus) | 50 | 0,34 | 1,02 | 0,7% |
| <i>Laminaria japonica</i> (Kombu) | 47-53 | 0,25-0,30 | 0,75-0,90 | 0,5%-0,6% |
| <i>Undaria pinnatifida</i> (Wakame) | | | | |
| <i>Eisenia bicyclis</i> (Arame) | | | | |
| Algas rojas (Nori) | 7,56-30 | 0,19-0,57 | 0,57-1,71 | 0,4-1,1% |
| Algas verdes (Nori) | 2,3-5,2 | 0,37 | 1,11 | 0,7% |

Fuente: (FAO/WHO, 1988).

Aunque no existe un consenso en los factores de biodisponibilidad del As en alimentos, la aproximación será más realista si se incluye el efecto del cocinado y la bioaccesibilidad del As inorgánico. En cuyo caso y asumiendo que el As bioaccesible medio encontrado en *Hizikia fusiformis* es de 35,5 µg/kg (Laparra et al., 2003), la ingesta de 3 g diarios del alga mencionada (factor de exposición 1) proporcionará 107 µg de As bioaccesible (que puede ser absorbido). Este valor, seguiría siendo alto, supondría un 71% de la TDI y elevar la ingesta de As inorgánico de la población normal 3,5 veces.

El consumo ocasional de hijiki, probablemente, no incrementará de forma significativa el riesgo de contraer cáncer, pero el consumo crónico en ambos escenarios de ingesta de As inorgánico (0,00377 mg/kg/día) y de As inorgánico bioaccesible (0,00152 mg/kg/día), teniendo en cuenta la potencia carcinogénica del mismo (1,50 mg/kg/día) conduce a unos valores estimados de riesgo considerables/elevar para la población de contraer cáncer en el periodo de 70 años de vida. Para el resto de las algas analizadas, fucus, kombu, wakame, arame y nori, las estimaciones conducen a valores muy inferiores, comprendidos entre 0,15-1,71 µg As inorgánico/día, que comparándolos con la TDI establecida, suponen el 0,3-1,1% de dicha TDI.

No se dispone de información relativa a los efectos tóxicos derivados de la ingesta continuada de estas algas en animales de experimentación y sobre la salud de los consumidores.

Conclusiones del Comité Científico

Para una evaluación más precisa del riesgo asociado a la presencia de As en las algas destinadas al consumo humano sería necesario disponer de información relativa al consumo de algas, cantidad ingerida y frecuencia, así como disponer de datos sobre los efectos que la ingesta continuada de estas algas puede tener sobre animales de experimentación y datos epidemiológicos.

Los contenidos de As inorgánico de las muestras de *Hizikia fusiformis* analizadas exceden ampliamente los límites establecidos por la legislación en Francia, los EE UU, Australia y Nueva Zelanda. En el caso de las algas fucus, kombu, wakame, arame y nori las concentraciones de As inorgánico son inferiores a dichos límites establecidos.

Con los únicos datos existentes de contenidos de As total y de As inorgánico en algas de nuestro país, se han estimado los posibles aportes de As inorgánico por algas comercializadas en España, comprobándose que con una ingesta de 3 g/día de *H. fusiformis* (hijiki) se puede sobrepasar el valor de la TDI de 150 µg As inorgánico/día establecida para un adulto de 70 kg de peso (166-176% TDI), incrementándose de forma significativa la ingesta dietética diaria estimada para el As. Sin embargo, el consumo diario de 3 g de las algas fucus, kombu, wakame, arame y nori representa sólo el 0,3-1,1% de dicha TDI.

La clasificación de la IARC del As inorgánico (arseniato y en menor grado arsenito) en el grupo I (carcinógeno humano) aconseja que la exposición dietética al As inorgánico sea tan baja como sea razonablemente posible.

Referencias

- ACSA (2005). Contaminants químicos, estudi de dieta total a Catalunya.
- Ahmad, S.A., Sayed, M.H.S.U., Barua, S., Khan, M.H., Faruquee, M.H., Jalil, A., Hadi, S.A. y Talukder, H.K. (2001). Arsenic in drinking water and pregnancy outcomes. *Environ. Health Perspect*, 109, pp: 629-631.
- Almela, C., Algora, S., Benito, V., Clemente, M.J., Devesa, V., Suñer, M.A., Vélez, D. y Montoro, R. (2002). Heavy Metal, Total Arsenic and Inorganic Arsenic Contents of Algae Food Products, 50, pp: 918-923.
- Almela, C., Laparra, J.M., Vélez, D., Barberá, R., Farré, R. y Montoro, R. (2005). Arsenosugars in raw and cooked edible seaweed: Characterization and bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp: 7344-7351.
- ANZFA (1997). Australia New Zealand Food Authority. Food Standards Code, Issue 41.
- ATSDR (2000). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicology profile for arsenic.
- ATSDR (2007). Toxicological profile for arsenic. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf>.
- ATSDR (2008). Minimal Risk Levels (MRLs). Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/mrls/#bookmark02>
- Bordajandi, L.R., Gómez, G., Abad, E., Rivera, J., Fernández-Bastón, M.M., Blasco, J. y González, M.J. (2004). Survey of persistent organochlorine contaminants (PCBs, PCDD/Fs and PAHs), heavy metals (Cu, Cd, Zn, Pb, and Hg) and arsenic in food samples from Huelva (Spain): Levels and health implications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, pp: 992-1001.
- Dabeka, R.W., McKenzie, A.D., Lacroix, G.M., Cleoux, C., Bowe, S., Graham, R.A., Conacher, H.B. y Verdier, P. (1993). Survey of arsenic in total diet food composites and estimation of the dietary intake of arsenic by Canadian adults and children. *Journal of AOAC International*, 76, pp: 14-25.
- Del Razo, L.M., García-Vargas, G.G., García-Salcedo, J., San Miguel, M.F., Rivera, M., Hernández, M.C. y Cebrián, M.E. (2002). Arsenic levels in cooked food and assessment of adult dietary intake of arsenic in the Region Lagunera, Mexico. *Food and Chemical Toxicology*, 40, pp: 1423-1431.
- Devesa, V., Suñer, M.A. y Vélez, D. (2008). Effect of thermal treatments on arsenic species contents in food. *Food Chemical Toxicology*, 46, pp: 1-8.
- EFSA (2005). European Food Safety Authority. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to arsenic as undesirable substance in animal feed (Question No EFSA-Q-2003-031). *The EFSA Journal*, 180, pp: 1-35.
- EPA (1998). U.S. Environmental Protection Agency. Arsenic inorganic. Disponible en: <http://www.epa.gov/ncea/iris/subst/0278.htm#quaoral>
- Falcó, G., Nadal, M., Llobet, J.M. y Domingo, J.L. (2006). Riesgo tóxico por metales presentes en alimentos. En: *Toxicología Alimentaria (Cameán AM, Repetto Eds)*. Ed. Díaz de Santos, Madrid, pp: 309-326.
- FAO/WHO (1988). Organización de Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/World Health Organization. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Summary of Evaluations Performed. Disponible en: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_159.htm
- FSA (2004a). Food Standars Agency. Arsenic in seaweed. Disponible en <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/arsenicseaweed.pdf>
- FSA (2004b). Agency advises against eating hijiki seaweed. Disponible en: <http://www.food.gov.uk/news/pressreleases/2004/jul/hijikipr>
- Gobierno Vasco (1996). Vigilancia de la Contaminación química de los alimentos en la Comunidad Autónoma del País Vasco (1990-1995). Departamento de Sanidad Gobierno Vasco.
- Huang, Y.K., Lin, K.H., Chen, H.W., Chang, C.C., Liu, C.W., Yang, M.H. y Hsueh, Y.M. (2003). Arsenic species contents at aquaculture farm and in farmed mouthbreeder (*Oreochromis mossambicus*) in blackfoot disease hyperendemic areas. *Food and Chemical Toxicology*, 41, pp: 1491-1500.
- IARC (1987). Monographs, Arsenic and its compounds, suppl. 17. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/suppl7/Suppl7-19.pdf>

- IARC (2004). Monographs, Arsenic in drinking water, monographs vol. 84. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol84/mono84-6.pdf>
- Ichikawa, S., Kamoshida, M., Hanaoka, K., Hamano, M., Maitani, T. y Kaise, T. (2006). Decrease of arsenic in edible brown algae *Hijikia fusiforme* by the cooking process. *Applied Organometallic Chemistry*, 20, pp: 585-590.
- INRA (2004). Institut scientifique de recherche agronomique. Etude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces.
- Julshamn, K., Thorlacius, A. y Lea, P. (2000). Determination of arsenic in seafood by electrothermal atomic absorption spectrometry after microwave digestion: NMKL1 collaborative study. *Journal of AOAC International*, 83, pp: 1423-1428.
- Laparra, J.M., Vélez, D., Montoro, R., Barberá, R. y Farré, R. (2003). Estimation of arsenic bioaccessibility in edible seaweed by an in vitro digestion method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, pp: 6080-6085.
- Laparra, J.M., Vélez, D., Montoro, R., Barberá, R. y Farré, R. (2009). Bioavailability of arsenic species in food: practical aspects for human health risk assessments. Chapter 13 en *Arsenic in the Environment. CRC Press Taylor and Francis. London*. Vol 1, pp: 319-325.
- Leblanc, J.C. Coordinateur. (2004). Etude de l'alimentation totale française. Mycotoxines, minéraux et éléments traces. INRA.
- Li, W., Wei, C., Zhang, C., Van Hulle, M., Cornelis, R. y Zhang, X. (2003). A survey of arsenic species in chinese seafood. *Food Chemistry and Toxicology*, 41, pp: 1103-1110.
- Mabeau, S. y Fleurence, J. (1993). Seaweed in food products: biochemical and nutritional aspects. *Trends in Food Science & Technology*, 4, pp: 103-107.
- Martí-Cid, R., Bocio, A., Llobet, J.M. y Domingo, J.L. (2007). Intake of chemical contaminants through fish and seafood consumption by children of Catalonia, Spain: Health risks. *Food Chemistry and Toxicology*, 45, pp: 1968-1974.
- Martí-Cid, R., Llobet, J.M., Castell, V. y Domingo, J.L. (2008). Dietary intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by the population of Catalonia, Spain. *Biological Trace Elements Research*, 125, pp: 120-132.
- McSheehy, S., Pohl, P., Vélez, D. y Szpunar, J. (2002). Multidimensional liquid chromatography with parallel ICP MS and electrospray Ms/MS detection as a tool for the characterization of arsenic species in algae. *Analytical Biochemistry*, 372, pp: 457-466.
- Milton, A.H., Smith, W. y Rahman, B. (2005) Chronic arsenic exposure and adverse pregnancy outcomes in Bangladesh. *Epidemiology*, 16, pp: 82-86.
- Muñoz, O., Devesa, V., Suñer, M.A., Vélez, D., Montoro, R., Urieta, I., Macho, M.L. y Jalón, M. (2000). Total and Inorganic Arsenic in fresh and processed fish products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, pp: 4369-4376.
- NZFSA (2005). New Zealand Food Safety Authority. New Zealand Total Diet Survey.
- Raab, A., Fecher, P. y Feldmann, J. (2005). Determination of Arsenic in algae – Results of an Interlaboratory trial: Determination of arsenic species in the water-soluble fraction. *Microchimica Acta*, 151, pp: 153-166.
- Rahman, A., Vahter, M., Ekström, E.C., Rahman, M., Haider, A., Mustafa, M.G., Wahed, M.A., Yunus, M. y Persson, L.A. (2007). Association of arsenic exposure during pregnancy with fetal loss and infant death: a cohort study in Bangladesh. *American Journal of Epidemiology*, 165, pp: 1389-1396.
- Rose, M., Lewis, J., Langford, N., Baxter, M., Origgi, S., Barber, M., MacBain, H. y Thomas, K. (2007). Arsenic in seaweed-Forms, concentration and dietary exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 45, pp: 1263-1267.
- Sayago, A., Cameán, A.M., Repetto, M. y Asuero, A.G. (2006). Importancia de la especiación de elementos en Toxicología Alimentaria. En libro: *Toxicología Alimentaria*. Madrid. Díaz de Santos. pp: 327-348.
- Schoof, R.A., Yost, L.J., Eickhoff, J., Crecelius, E.A., Cragin, D.W., Meacher, D.M. y Menzel, D.B. (1999). A market basket survey of inorganic arsenic in food. *Food and Chemical Toxicology*, 37, pp: 839-846.
- Sloth, J.J., Larsen, E.H. y Julshamn, K. (2003). Determination of organoarsenic species in marine samples using gradient elution cation exchange HPLC-ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18, pp: 452-459.

- UE (2006). Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en Iso productos alimenticios. DO L 364, de 20 de diciembre de 2006, pp: 5-33.
- Vélez, D., Ibáñez, N. y Montoro, R. (1995). Percentages of Total Arsenic represented by Arsenobetaine levels of manufactured seafood products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, pp: 1289-1294.
- Vélez, D., Ibáñez, N. y Montoro, R. (1996). Monomethylarsonic and Dimethylarsinic Acid contents in seafood products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, pp: 859-864.
- Vilano, M. y Rubio, R. (2001). Determination of arsenic in seafood by focused microwave digestion and hydride generation-atomic fluorescence detection. *Journal of AOAC International*, 84, pp: 551-555.
- WHO (2000). World Health Organization. Arsenic. Air Quality Guidelines Second Edition. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, Denmark, 2000. Cap. 6.
- Wrobel, K., Browel, K., Parker, B., Kannamkumarath, S.S. y Caruso, J.A. (2002). Determination of As(III), As(V), monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid and arsenobetaine by HPLC-ICP-MS. Analysis of reference materials, fish tissues and urine. *Talanta*, 58, pp: 899-907.
- Wuilloud, R.G., Altamirano, J.C., Smichowski, P.N. y Heitkemper, D.T. (2006). Investigation of arsenic speciation in algae of the Antarctic region by HPLC-ICP-MS and HPLC-ESI-Ion Trap MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 21, pp: 1214-1223.
- Yamauchi, H.T.K., Mashiko, M., Saitoh, J. y Yamamura, Y. (1992). Intake of different chemical species of dietary arsenic by the Japanese, and their blood and urinary arsenic levels. *Applied Organometallic Chemistry*, 6, pp: 383-388.
- Ysart, G., Miller, P., Croasdale, M., Crews, H., Robb, P., Baxter, M., L'Argy, C. y Harrison, N. (2000). Total Diet Study-dietary exposures to aluminum, arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, mercury, nickel, selenium, tin and zinc. *Food Additives and Contaminants*, 17, pp: 775-786.