



**UNIVERSIDAD  
DE GRANADA**

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA LEGAL, TOXICOLOGÍA Y ANTROPOLOGÍA  
FÍSICA

**ANÁLISIS DE CONTAMINANTES METÁLICOS Y  
MINERALES EN PLANTAS MEDICINALES. EVALUACIÓN  
DEL RIESGO PARA LA SALUD HUMANA**

MEMORIA PRESENTADA POR

**MARÍA DE LA CONCEPCIÓN MARTÍN DOMINGO**

PARA OPTAR AL GRADO DE

**DOCTORA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS**

GRANADA, mayo 2017

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autora: María de la Concepción Martín Domingo  
ISBN: 978-84-9163-306-8  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/47435>

Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto de investigación *“Análisis de contaminantes metálicos en plantas medicinales. Evaluación del riesgo para la salud humana”*, subvencionado por el Plan Propio de la Universidad de Granada cuyo investigador principal es el profesor Fernando Gil Hernández.



*A mis padres*



## **AGRADECIMIENTOS**

Tengo que manifestar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que, durante todo este tiempo, me han apoyado en el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

En primer lugar darle gracias infinitas a mi director y tutor de Tesis, Fernando Gil, por aceptarme para realizar esta Tesis Doctoral bajo su dirección, por su paciencia a la hora de realizar las correcciones, por sus buenas ideas y, sobre todo, por las lecciones que me ha inculcado, no sólo para crecer como investigadora, sino también como persona. Le agradezco el haberme facilitado siempre los medios para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

A Antonio Pla, por toda su ayuda, dedicación y paciencia a lo largo de toda la Tesis Doctoral.

A Antonio Hernández, siempre dispuesto a proporcionarme su ayuda.

A Pepe, no sólo el técnico de laboratorio del Departamento, ya que a lo largo de la elaboración de esta Tesis Doctoral ha estado siempre conmigo, escuchándome, apoyándome y aconsejándome. Me llevo un buen amigo conmigo.

A mis compañeros de laboratorio y profesores que han trabajado conmigo durante la tesis: Marga, María Saiz, David Lozano, Pablo, Isa, Olga, Lourdes, Gema, María Meaños, María Salinero, Nati, Antonio, y un largo etcétera, por su ayuda, su apoyo y comprensión.

A todo el Departamento de Medicina Legal, Toxicología y Antropología Física, por haberme acogido con los brazos abiertos desde el primer día y haber hecho de mi doctorado una gran experiencia profesional y personal.

A mi madre y a mi hermana por toda su ayuda y sus empujoncitos cuando me ha hecho falta (y cuando no, también), y por su apoyo incondicional desde el principio de la carrera hasta el final de la Tesis.

A Quique Alvarado, por su paciencia, por su ayuda y por estar ahí para cualquier cosa que necesite.

A Jarko, por hacer de psicólogo y transmitirme su ánimo y alegría siempre que lo he necesitado.

A Pablo, por el apoyo moral que me ha dado en todo momento.

A mi padre, que desgraciadamente ya no está entre nosotros. Él fue, junto con mi madre, el que me empujó a meterme en este mundo.

A todos mis amigos y familiares, que han vivido y sufrido junto a mí la elaboración de esta Tesis.

Lo hemos conseguido.





## ÍNDICE



<b>ABREVIATURAS</b>	<b>1</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>5</b>
<b>I. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS</b>	<b>9</b>
<b>I.1. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>9</b>
<b>I.2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS</b>	<b>9</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN</b>	<b>13</b>
<b>II.1. FUENTES DE EXPOSICIÓN A METALES DERIVADAS DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL</b>	<b>13</b>
<b>II.2 PRINCIPALES EFECTOS TÓXICOS DEL ARSÉNICO, CADMIO, COBRE, CROMO HIERRO, MANGANESO, MERCURIO, PLOMO Y ZINC</b>	<b>21</b>
<b>II.2.1. Arsénico (As)</b>	<b>21</b>
<b>II. 2.2. Cadmio (Cd)</b>	<b>22</b>
<b>II.2.3. Cobre (Cu)</b>	<b>23</b>
<b>II.2.4. Cromo (Cr)</b>	<b>23</b>
<b>II.2.5. Hierro (Fe)</b>	<b>24</b>
<b>II.2.6. Manganeso (Mn)</b>	<b>24</b>
<b>II.2.7. Mercurio (Hg)</b>	<b>25</b>
<b>II.2.8. Plomo (Pb)</b>	<b>26</b>
<b>II.2.9. Zinc (Zn)</b>	<b>28</b>
<b>II.3. LA EXPOSICIÓN A METALES, METALOIDES Y MINERALES A TRAVÉS DEL CONSUMO DE PLANTAS MEDICINALES.</b>	<b>29</b>
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>41</b>
<b>III.1. REACTIVOS</b>	<b>41</b>
<b>III.1.1. DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO (As) TOTAL</b>	<b>41</b>
<b>III.1.2. DETERMINACIÓN DE MERCURIO (Hg) TOTAL</b>	<b>41</b>
<b>III.1.3. RESTO DE ELEMENTOS METÁLICOS ANALIZADOS (Pb, Cd, Cr, Mn, Cu, Fe, y Zn)</b>	<b>42</b>
<b>III.1.3.a) Soluciones patrón</b>	<b>42</b>
<b>III.1.3.b) Diluyente</b>	<b>43</b>
<b>III.1.3.c) Modificadores de matriz</b>	<b>43</b>
<b>III.1.4. REACTIVOS EMPLEADOS EN LA DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS</b>	<b>44</b>

<b>III.2. MATERIAL E INSTRUMENTACIÓN</b>	<b>44</b>
<b>III.3. TÉCNICAS DE ANÁLISIS</b>	<b>45</b>
<b>III.3.1. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA</b>	<b>45</b>
<b>III.3.2. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON GENERACIÓN DE HIDRUROS</b>	<b>47</b>
<b>III.3.3. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN POR LLAMA</b>	<b>47</b>
<b>III.4. METODOLOGÍAS PARA EL ANÁLISIS DE ELEMENTOS METÁLICOS EN MUESTRAS DE PLANTAS MEDICINALES</b>	<b>48</b>
<b>III.4.1. TRATAMIENTO PREVIO DE LAS MUESTRAS</b>	<b>48</b>
<b>III.4.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL ARSÉNICO POR GENERACIÓN DE HIDRUROS (FIAS-100)</b>	<b>49</b>
<b>III.4.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO POR GENERACIÓN DE HIDRUROS (MHS-10)</b>	<b>52</b>
<b>III.4.4. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES POR HORNO DE GRAFITO</b>	<b>54</b>
<b>III.4.4.1. Cadmio</b>	<b>54</b>
<b>III.4.4.2. Cromo</b>	<b>56</b>
<b>III.4.4.3. Plomo</b>	<b>57</b>
<b>III.4.5. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES POR LLAMA</b>	<b>59</b>
<b>III.4.5.1. Cobre (Cu)</b>	<b>59</b>
<b>III.4.5.2. Hierro (Fe)</b>	<b>61</b>
<b>III.4.5.3. Manganeseo (Mn)</b>	<b>62</b>
<b>III.4.5.4. Zinc (Zn)</b>	<b>63</b>
<b>III.5. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS</b>	<b>65</b>
<b>III.6. CONTROL DE CALIDAD DE LOS ENSAYOS, CHEQUEO DEL EQUIPO Y LIMPIEZA DE MATERIAL</b>	<b>65</b>
<b>III.6.1. CONTROL DE CALIDAD DE LOS ENSAYOS</b>	<b>65</b>
<b>III.6.2. CHEQUEO DEL EQUIPO</b>	<b>66</b>
<b>III.6.3. MATERIALES DE REFERENCIA</b>	<b>66</b>

III.6.4. LIMPIEZA DEL MATERIAL	66
III.7. PROTOCOLO DE MUESTREO	67
III.7.1. MUESTRAS BIOLÓGICAS	67
III.7.2. TAMAÑO MUESTRAL	68
III.7.3. CODIFICACIÓN	69
III.7.4. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO	69
III.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	69
III.9. EVALUACIÓN DEL RIESGO PARA EL CONSUMIDOR	70
IV.RESULTADOS	75
IV.I. VALIDACIÓN ANALÍTICA	75
IV.II. NIVELES DE ELEMENTOS METÁLICOS, METALOIDES Y MINERALES EN PLANTAS MEDICINALES	80
IV.III. EVALUACIÓN DEL RIESGO	96
V. DISCUSIÓN	121
V.I. CONTENIDO DE ELEMENTOS METÁLICOS, METALOIDE Y MINERALES EN PLANTAS MEDICINALES	121
V.II. EVALUACIÓN DEL RIESGO	127
VI.CONCLUSIONES	135
VII.BIBLIOGRAFÍA	139
VIII. ANEXO. Martín-Domingo M <sup>a</sup> C et al. Determination of metalloid, metallic and mineral elements in herbal teas. Risk Assessment for the consumers. J Food Comp Anal 2017; 60: 81-89.	161









## **ABREVIATURAS**







## **ABREVIATURAS**

**AAS:** Atomic Absorption Spectrometry – Espectrometría de Absorción Atómica.

**AI:** Adequate intake – Ingesta Adecuada.

**ATSDR:** Agencia norteamericana para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades

**BMDL<sub>01</sub>:** Benchmark Dose Lower Confidence Limit 01- límite inferior del intervalo de confianza al 95% correspondiente a un incremento del 1% del riesgo.

**BMDL<sub>10</sub>:** Benchmark Dose Lower Confidence Limit 10 - límite inferior del intervalo de confianza al 95% correspondiente a un incremento del 10% del riesgo.

**CE:** Comisión Europea.

**CRM:** Certified Reference Material- Material de referencia certificado

**EC:** European Commission.

**EDI:** Ingesta Diaria Estimada (valor teórico sin ser corregido por el porcentaje de solubilización y biodisponibilidad).

**EDL:** Electrodeless Discharge Lamp - Lámpara de descarga sin electrodos

**EPA:** Environment Protection Agency. Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

**EWI:** Ingesta semanal estimada (valor teórico sin ser corregido por el porcentaje de solubilización y biodisponibilidad)

**EFSA:** European Food Safety Authority – Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

**ENIDE:** Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española.

**FIAS:** Flow Injection systems for Atomic Spectrometry.

**HDL:** Hollow Cathode Lamp - lámpara de cátodo hueco.

**IARC:** Agencia internacional para la investigación sobre el Cáncer.

**JECFA:** Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives - Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios

**LOD:** Limit of Detection – Límite de Detección.

**LOQ:** Limit of Quantification – Límite de Cuantificación

**MHS:** Mercury/Hydride System.

**MG:** Media geométrica

**NA:** No disponible al ser el contenido del elemento analizado inferior al límite de detección.

**NOAEL:** No Observable Adverse Effect Level - Nivel sin efecto adverso observable.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**OSHA:** Administración para la Salud y Seguridad Ocupacional

**PMTDI:** Provisional Maximum Tolerable Daily Intake – Ingesta Diaria Máxima Tolerable Provisional.

**PTWI:** Provisional Tolerable Weekly Intake – Ingesta semanal tolerable provisional.

**RDA:** Recommended Dietary Allowance - Ingesta diaria recomendada

**RfD:** Reference Dose - Dosis de Referencia.

**RSD:** Desviación estándar relativa

**SD:** Standard Deviation – Desviación Estandar.

**TDI:** Tolerable Daily Intake - Ingesta diaria tolerable

**TWI:** Tolerable Weekly Intake – Ingesta semanal tolerable.

**UL:** Tolerable Upper Intake Level - Ingesta Máxima Tolerable.

**WHO:** World Health Organization – Organización Mundial de la Salud (OMS).

## **RESUMEN**





## RESUMEN

A pesar de que la ingesta de plantas medicinales posee *a priori* beneficios potenciales para la salud, la posible presencia de contaminación por elementos metálicos en estos productos ha motivado un aumento de la preocupación en materia de salud pública.

En este estudio se han validado diversos métodos analíticos para la determinación de elementos metálicos (Hg, Pb, Cd y Cr), un metaloide (As) y compuestos minerales (Cu, Fe, Mn y Zn) en plantas medicinales. Los niveles de estos elementos se han determinado en 220 muestras de plantas medicinales, adquiridas en supermercados (que disponían tanto de marcas propias -blancas- como comerciales), mercados tradicionales con una venta a granel y herbolarios. Además, se han evaluado los riesgos potenciales para la salud de los consumidores.

El Cd, en el tomillo y la manzanilla en ciertos puntos de venta, superó el límite máximo permisible establecido por la OMS y la Farmacopea Europea para las plantas medicinales. En cuanto a los elementos minerales, los niveles más altos de Mn se encontraron en el té rojo y en el té verde de entre todas las plantas estudiadas, en consonancia con lo descrito por otros autores en la literatura científica especializada.

Sin embargo, las ingestas diarias estimadas de metales/metaloides y elementos minerales de las plantas medicinales estudiadas, considerando tanto el porcentaje de solubilización en las infusiones como la biodisponibilidad de cada compuesto en el organismo, no plantean riesgos para la salud de los consumidores.



## **I. JUSTIFICACIÓN, HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**



## **I. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

### **I.1. JUSTIFICACIÓN**

El análisis de elementos metálicos y minerales en plantas medicinales y sus preparaciones (infusiones) es del máximo interés en Seguridad Alimentaria, y por tanto, en materia de Salud Pública. Con el presente trabajo se pretende conocer el grado de contaminación por elementos metálicos, así como el nivel de elementos minerales en las muestras seleccionadas y consumidas en el ámbito andaluz, establecer protocolos analíticos validados para la determinación de dichos compuestos a disposición de las autoridades sanitarias (Seguridad Alimentaria), y evaluar el riesgo para la salud de los consumidores, una vez conocido el grado de contaminación por dichos compuestos procedente del consumo de plantas medicinales.

Así mismo, se desea saber qué especies o plantas en su conjunto, en función de su grado de contaminación por metales, presentan un mayor riesgo derivado de su consumo. Por último, se pretenden establecer programas de intervención sobre hábitos saludables aconsejando qué plantas medicinales, en función de su procedencia (supermercados, herbolarios y mercados locales o tradicionales), pueden tener un mayor grado de contaminación por metales y, por tanto, deben ser sometidas a un mayor control de calidad.

Se han realizado numerosos trabajos de metales en plantas medicinales a nivel internacional, aunque existen escasos datos a nivel nacional salvo en la zona de Tenerife (Rubio et al., 2012). Los trabajos publicados relacionados con este estudio se han recogido en diversas revistas de ámbito internacional de gran impacto, lo que indudablemente avala la relevancia y pertinencia del presente estudio.

### **I.2. HIPÓTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS**

La **hipótesis** se sustenta en la afirmación de que las plantas medicinales y sus preparaciones, a través de infusiones calientes o frías, contendrían concentraciones de metales, metaloides o minerales inadecuadas que podrían resultar perjudiciales para la salud de los consumidores.

Por tanto, el **objetivo general** es determinar el grado de contaminación por elementos metálicos, metaloides y minerales (As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb y Zn) en plantas medicinales y sus preparaciones (infusiones) consumidas en Andalucía. De los resultados obtenidos se evaluaría el riesgo de consumo de dichos productos por parte de la especie humana.

Se pretenden así abordar los siguientes **objetivos específicos**:

1º) Validación analítica de las determinaciones de As total, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg total, Mn, Pb y Zn en plantas medicinales y sus preparaciones (infusiones) consumidas en Andalucía.

2º) Determinación de la concentración de As total, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg total, Mn, Pb y Zn en plantas medicinales y sus preparaciones (infusiones) consumidas en Andalucía.

3º) Evaluación del riesgo e impacto sobre la salud de los consumidores derivado de la ingesta de dichas plantas medicinales y sus preparaciones (infusiones) consumidas en Andalucía.

4º) Comparación de los datos obtenidos con los recogidos en estudios similares de otras zonas geográficas a nivel nacional e Internacional con objeto de valorar el nivel de impregnación y/o contaminación de las mismas.

5º) Suministro de datos al sector industrial que justifiquen la necesidad de control para así asegurar la calidad de las plantas medicinales.

6º) En caso de resultados positivos relativos a la presencia de elementos metálicos, se valoraría la advertencia a la población del posible riesgo derivado del consumo de plantas medicinales no sometidas a un riguroso control de dichos contaminantes.

## **II. INTRODUCCIÓN**





## **II. INTRODUCCIÓN**

### **II.1. FUENTES DE EXPOSICIÓN A METALES DERIVADAS DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL**

Aunque los metales se encuentran mayormente en la naturaleza, usualmente proceden de la actividad antropogénica y, más concretamente, de procesos industriales, cobrando especial relevancia en la actualidad la procedencia de éstos a través de la incineración de residuos sólidos urbanos (Barman et al., 2010).

Adquieren, pues, especial relevancia como fuentes de exposición ambiental las emisiones industriales los efluentes agrícolas que contienen fungicidas orgánicos con mercurio o arseniato de plomo, entre otros, y las baterías que poseen esencialmente cadmio y plomo.

La concentración de estos contaminantes en los ecosistemas ha aumentado en las últimas décadas como resultado de dichas actividades antropogénicas. Debido a la toxicidad intrínseca de los metales, su presencia en el medio ambiente puede representar una amenaza potencial para la biota terrestre y todos los organismos que habitan en ella, incluidas las plantas. Así mismo, la contaminación por metales afecta negativamente a la densidad y diversidad de las comunidades bióticas (Gómez et al., 2007).

Mientras las plantas asimilan fácilmente los elementos metálicos a través de las raíces, estos compuestos también pueden ser absorbidos a través de las hojas. Las precipitaciones, el polvo o materia particulada atmosférica e incluso aquellas sustancias que se añaden para proteger la plantas incluyendo a los fertilizantes, constituyen fuentes adicionales de dichos elementos y podrían ser asimilados por las plantas (Lozak et al., 2002).

Por otra parte, aunque algunos elementos metálicos presentes en los alimentos juegan un papel fisiológico como compuestos y cofactores esenciales, la contaminación de las plantas con elementos metálicos y metaloides es hoy en día motivo de preocupación. No olvidemos que incluso en el caso de los oligoelementos o elementos minerales, al igual que bajas concentraciones pueden tener efectos

beneficiosos, altos niveles podrían plantear riesgos para salud, debido a sus propiedades acumulativas y tóxicas (Bhat et al., 2010).

Uno de los principales problemas que pueden presentar los metales en el ecosistema es la *bioacumulación* (acumulación de sustancias químicas en un organismo vivo) y *biomagnificación* (proceso de bioacumulación de una sustancia tóxica, la cual se presenta en bajas concentraciones en organismos al principio de la cadena trófica y en mayor proporción a medida que se asciende en dicha cadena). La peligrosidad de estos xenobióticos (compuestos raros de encontrar en la naturaleza ya que son sintetizados por el ser humano), resulta aún mayor al no ser química ni biológicamente degradables. Una vez emitidos, pueden permanecer en el ambiente durante numerosos años, contaminando el suelo y acumulándose en las plantas del ecosistema.

El Cd, Mn, Pb, Hg y algunos metaloides como el As, etc., se encuentran dispersos en el entorno y presentan características claramente bioacumulativas por lo que resulta del máximo interés valorar las posibles fuentes de exposición de la población.

A pesar de la importancia de los recursos minerales para el progreso humano, la extracción de minerales ha provocado graves problemas medioambientales derivados de la contaminación por metales (Moore y Luoma, 1990; Rybička, 1996; Chopin y Alloway, 2007). En zonas con gran actividad minera, y por ello sometidas a un alto grado de contaminación, los metales pueden entrar en el organismo a través del aire, los alimentos y el agua pudiendo causar efectos nocivos a largo plazo, es decir, efectos crónicos.

Además, resulta fácil de comprender que los niños, las gestantes y los ancianos sean los grupos poblacionales de mayor riesgo. Por ejemplo, para la población infantil, la contaminación del suelo es una importante vía de exposición de forma directa y sobre todo indirecta (a través de alimentos), por lo que la biodisponibilidad de metales en el suelo es un factor que merece especial atención (Carrizales et al., 2006). No olvidemos que en ciertas patologías benignas en la infancia (cólico del lactante,

acumulación de gases en digestivo, etc.) se recurre de manera habitual al uso de infusiones preparadas a partir de plantas medicinales.

Seguidamente, nos ocuparemos de comentar las fuentes de exposición ambiental y/o industrial de los principales elementos metálicos seleccionados en el estudio.

El arsénico (As) es un metaloide presente en el ambiente de forma natural, por lo que siempre se va a encontrar en pequeñas concentraciones en el suelo, aire y agua (Saoudi et al., 2012). Se ha estimado que alrededor de un tercio del flujo atmosférico de As es de origen natural. La actividad volcánica es la fuente natural más importante, seguida de la volatilización a bajas temperaturas (Signorelli, 1997). Los niveles normales son aproximadamente de 5000  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  en el suelo, 0,02- 0,10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  en la atmósfera y 2  $\mu\text{g}/\text{L}$  en el agua. El As elemental es insoluble en agua y la solubilidad de las sales arsenicales varía en función del pH y de las condiciones iónicas. El metabolismo y la toxicidad de las especies de As es diferente; así, las formas inorgánicas son más tóxicas que las orgánicas, siendo el compuesto arsenical más tóxico el anhídrido arsenioso, comúnmente llamado arsénico (Batista et al., 2011).

En relación a las fuentes de contaminación por As es conveniente resaltar que los principales procesos industriales que contribuyen a la misma son la extracción y fundición de metales no ferrosos y la utilización de combustibles fósiles. No obstante, también hay otros empleos en la industria del As y sus derivados entre los que destacan: conservación de pieles y taxidermismo; fabricación de vidrios coloreados y esmaltes; fabricación y empleo de colorantes; fabricación de perdigones; industria química de obtención de derivados arsenicales y fabricación de fuegos artificiales y gases bélicos (Gil, 2012).

Una fuente importante de contaminación ambiental procede de la agricultura, ya que el arseniato de plomo y el arseniato tricálcico constituyen la base del tratamiento específico de diversas parasitosis en viñedos. Además, el anhídrido arsenioso y el arseniato sódico forman parte de herbicidas y xiloprotectores (sustancia que sirve para proteger la madera). Se estima que el 70% de la producción mundial de As se ha utilizado en el tratamiento de la madera en forma de arseniato de

cobre y cromo, el 22% en productos químicos de uso agrícola (usualmente, parasiticidas) y el resto, en la obtención de vidrio y aleaciones no ferrosas (Jensen y Olsen, 1995).

Puesto que dichos compuestos pueden contaminar de forma intensa y extensa el ecosistema (Olmedo et al., 2013), la EPA (Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos) estableció límites para la emisión de As al medio ambiente procedente de fuentes industriales y restringió o prohibió numerosos usos del As en formulaciones para plaguicidas (EPA, 2007).

El cadmio (Cd), es un metal pesado que se encuentra en la corteza terrestre y se difunde en el medio ambiente, tanto por procesos naturales como por actividades humanas, entre las que destacan la quema de combustibles fósiles, la incineración de residuos, los procedimientos de fundición y el uso de fertilizantes fosfatados (ATSDR, 2008). La absorción de Cd presente en el medio ambiente por las plantas y animales, puede finalmente dar lugar a la exposición humana a través de la dieta (Ciesielski et al., 2012).

La mayor parte de terrenos y rocas, incluidos minerales de carbón y abonos minerales, contienen Cd, tratándose, por lo tanto, de un elemento enormemente ubicuo en el medio ambiente. Al aumentar el contenido de Cd en el suelo, aumenta la absorción del metal por las plantas y la especie humana podría verse sometida a una mayor ingesta a partir de éstas. Dado que la absorción por las plantas desde el suelo es mayor a medida que disminuye el pH, los procesos que acidifican el suelo (por ejemplo, la lluvia ácida) pueden aumentar las concentraciones medias de Cd (Elinder, 1992).

En cuanto a las exposiciones a Cd, éstas proceden de polvos y humos que se desprenden en la producción del metal y sus sales, siendo sus principales aplicaciones industriales las que se citan a continuación (Gil, 2012):

- La industria del zinc y la extracción del cadmio a partir de sus residuos.
- Cadmiado de metales (hierro, acero y cobre).
- Sustituyente del estaño en las aleaciones para soldadura.
- Fabricación de acumuladores eléctricos al cadmio-níquel.

- Fabricación de colorantes.

La exposición al Cd a nivel industrial suele acontecer con frecuencia de manera conjunta con el As. La OSHA (Administración para la Salud y Seguridad Ocupacional) limitó la cantidad de Cd en el aire industrial a  $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$  en forma de vapor y a  $200 \mu\text{g}/\text{m}^3$  en el caso de la materia particulada (ATSDR, 1999).

Debido a las múltiples fuentes y a la continua degradación del medio ambiente que conducen al aumento de mercurio (Hg) en el mismo, la exposición humana al Hg resulta relativamente frecuente (Passos et al., 2008). El Hg se encuentra de forma natural en la corteza terrestre. Sin embargo, un porcentaje considerable de éste (aproximadamente el 70%) tiene un origen antropogénico (Davidson et al., 2004; Marques et al., 2007). Es un metal pesado tóxico y su biomagnificación en las cadenas alimentarias acuáticas se ha convertido en un problema considerable (Mergler et al., 2007; NRC-*National Research Council*, 2000) como consecuencia de su capacidad para ser transportado a través de la atmósfera y ser depositado lejos de su fuente inicial de emisión.

También destacan aspectos relativos a su metilación (MeHg) microbiana en los sedimentos acuáticos (Benoit et al., 2003) y la bioacumulación y biomagnificación posterior del mismo en ciertas especies acuáticas y, muy especialmente, en los túnidos (Evans et al., 2005).

Las fuentes de contaminación de Hg pueden ser igualmente naturales o antropogénicas. Las fuentes naturales incluyen las emisiones volcánicas, el polvo arrastrado por el viento de las zonas continentales y la emisión de Hg gaseoso procedente de los suelos, la vegetación y los océanos. La contaminación por Hg se ha generalizado en los diferentes compartimentos ecológicos como la atmósfera, el suelo y el agua. En cuanto a la especie humana, la principal vía de exposición es la alimentación mediante el consumo de pescado (Marques et al., 2007).

Sin embargo, desde hace algunos años hay una urgente necesidad de identificar las fuentes de contaminación por Hg así como la concentración en los diferentes compartimentos ecológicos, habida cuenta que la exposición a largo plazo puede

conducir a altos niveles de impregnación, siendo especialmente vulnerables los niños, gestantes y ancianos (Zhang y Wong, 2007).

Por otro lado, las fuentes antropogénicas más importantes de Hg en el medio ambiente son los vertidos urbanos, los materiales agrícolas, la minería y la combustión. Se estima que la cantidad de Hg en la atmósfera ha aumentado como mínimo diez veces desde el comienzo de la revolución industrial (EPA, 2003). Los incendios forestales también suponen una fuente importante de contaminación por Hg así como la combustión de biomasa (Streets et al., 2005).

El tiempo medio de persistencia del Hg elemental en la atmósfera es de 0,5 a 2 años, lo que permite que pueda ser transportado a larga distancia. Además, éste se puede depositar en el ecosistema terrestre y acuoso mediante la precipitación seca y húmeda (Zhang y Wong, 2007).

En lo referente al suelo, un elevado número de estudios han corroborado el papel de la deforestación y la erosión del suelo como una fuente importante de liberación de Hg en los cursos de agua (Passos et al., 2008). En el caso particular de las aguas, tanto de los ríos como del mar, pueden verse contaminadas por Hg debido a que, en ocasiones, son receptoras de vertidos residuales procedentes de plantas industriales, originando un problema ambiental y consiguientemente de salud para la población (Da Silva et al., 2005).

Algunas de las principales fuentes de contaminación de Hg en el medio ambiente son la fundición de metales (especialmente de Zn) y la combustión del carbón (especialmente en plantas de energía industrial). Así mismo, existen trazas de Hg en el carbón, que se emiten al ambiente cuando los combustibles se queman a temperaturas superiores a 150°C (Finkelman, 1981).

Además, una gran parte del Hg emitido procede de las centrales eléctricas que queman carbón, responsables de aproximadamente un tercio de las emisiones antropogénicas (Jensen et al., 2004), siendo China la principal productora y consumidora mundial de carbón (Jiang et al., 2005). También destacan otras fuentes como la producción de lámparas fluorescentes y pilas, la producción de cemento, la

minería del Hg, la quema de biocombustibles y la industria de cosméticos (Counter y Buchanan, 2004; Zhang y Wong, 2007).

En relación al plomo (Pb), pese a los considerables esfuerzos por identificar y eliminar las fuentes de exposición, este metal sigue siendo un importante problema en materia de salud pública (Banks et al., 1997; Grigg, 2004; Juberg et al., 1997), y muy especialmente para los niños debido a la falta de estructuración completa de su barrera hematoencefálica (Jakubowski et al., 2005).

El plomo es uno de los metales tóxicos más omnipresentes (Bergkvist et al., 2010), y se emplea en numerosas actividades. Las principales vías de exposición industrial al Pb son la minería (minerales de carbonato y sulfato), la manufactura de baterías de Pb, la fabricación y aplicación de pinturas, lacas, barnices o tintas a base de compuestos de Pb, actividades en plantas con municiones, artículos pirotécnicos y campos de tiro, fabricación de vidrio, trabajos de fontanería, soldadura, pulido de objetos de Pb o sus aleaciones, trabajos con cerámicas, uso de combustibles con aditivos antidetonantes, etc. (Villanueva, 2004b; Gil, 2012). A partir de todas estas actividades se contamina el aire y el suelo, y a continuación puede pasar a las plantas que posteriormente son consumidas por la población (Thomas et al., 1999; Sanna et al., 2008).

Las industrias relacionadas con la minería son también algunas de las mayores fuentes de contaminación ambiental por Pb (Horvath y Gruiz, 1996; Yang et al., 2003; Li et al., 2007). China es uno de los principales productores de Pb en el mundo. Una gran cantidad de Pb y elementos relacionados (Cd, Zn), son liberados al medio ambiente debido a las actividades de procesamiento de minerales y han afectado los recursos hídricos, suelos, vegetales y cultivos en general. En algunas áreas, esta contaminación ha conllevado una mayor impregnación de Pb en la sangre (plumbemia) de la población (Zhang et al., 2012).

No obstante, en las últimas décadas, las concentraciones atmosféricas de Pb se han reducido significativamente en todo el mundo. A ello ha contribuido de forma notoria el hecho de eliminar el tetraetilato de plomo como antidetonante de la gasolina. De hecho, desde la década de 1980, en que Estados Unidos y otros países

desarrollados prohibieron el uso del Pb en la gasolina, la plumbemia ha descendido drásticamente (Chillrud et al., 1999; Pirkle et al., 1994, 1998; Storch et al., 2004; Jones et al., 2009). Sin embargo, aún existen ciertos países como China donde los problemas de salud relacionados con el Pb continúan siendo preocupantes (Bian, 2008; Zhong y Zhang, 2008).

En la actualidad, se considera que la exposición al Pb tiene lugar principalmente a través de la dieta, juguetes de baja calidad cuya pintura pudiera contener compuestos de Pb o a través de ciertas plantas empleadas en medicina alternativa (Bellinger, 2008).

En lo referente al manganeso (Mn), entre las fuentes de contaminación industrial destacan las actividades mineras, refinerías y fundiciones. Es enormemente empleado en la industria para la producción de hierro y acero y en los procesos de fundición (industria ferromangánica). El óxido de Mn es ampliamente usado como fertilizante y en la industria de la cerámica. En la naturaleza se encuentra en forma de óxidos, siendo el dióxido el más estable e importante. Cuando actúa como metaloide, forma los ácidos mangánico y permangánico, con sus sales correspondientes. Como metal, forma compuestos manganosos y mangánicos, estos últimos muy tóxicos. También forma compuestos organometálicos, entre los que destaca el metilciclopentadienil-manganeso-tricarbonilo (MMT) (Gil y Gisbert-Calabuig, 2004), el cual ha sido utilizado como sustituto del Pb en la gasolina para incrementar su octanaje. Su combustión libera a la atmósfera compuestos inorgánicos de Mn, sulfatos y fosfatos, contaminando el aire, la tierra y el agua. No obstante, la toxicidad de los distintos compuestos dependerá del tipo de ion Mn y de su estado de oxidación. En general, cuanto menos oxidado esté el compuesto, mayor será su toxicidad.

Por su parte, la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado ciertos elementos entre los que se incluyen el As, Cd, Cr y Pb, como potencialmente cancerígenos para los seres humanos, debido a su capacidad para inducir daño sobre el ADN. Por ello, debe tenerse en cuenta la importancia de la monitorización de dichos elementos en las plantas medicinales, con el fin de prevenir una posible exposición excesiva por parte de los consumidores (Sarma et al., 2011).



## **II.2 PRINCIPALES EFECTOS TÓXICOS DEL ARSÉNICO, CADMIO, COBRE, CROMO HIERRO, MANGANESO, MERCURIO, PLOMO Y ZINC**

En este apartado se hará una breve referencia a la toxicidad de los elementos metálicos elegidos en el presente estudio, haciendo especial hincapié en los efectos tóxicos crónicos por ser los que más frecuentemente cabría esperar que se produjeran y no los agudos, más característicos de otro tipo de exposiciones, aun cuando en teoría también pudieran acontecer.

### **II.2.1. Arsénico (As)**

El arsénico se clasifica como un metaloide, aunque en el contexto de la toxicología suele agruparse y estudiarse junto a los metales pesados. Es un elemento que, a pesar de encontrarse a bajas concentraciones en el medio ambiente de modo natural, salvo en zonas con actividad volcánica o depósitos geológicos de minerales de sulfuro (arsenopiritas) en donde las concentraciones son algo más elevadas, deriva fundamentalmente de actividades industriales antropogénicas como ya se ha indicado (Orloff et al., 2009; Gil, 2012).

El As es la primera de las sustancias tóxicas enumerada en la lista de la Agencia norteamericana para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades (ATSDR), lo que de algún modo denota su peligrosidad. El As inorgánico es mucho más tóxico que el orgánico. El As trivalente inhibe el complejo piruvato-deshidrogenasa y reduce la conversión de piruvato a acetil coenzima A, disminuyendo la actividad del ciclo de Krebs y la producción celular de ATP (Bergquist et al., 2009). Además, el As trivalente es capaz de inhibir otras muchas enzimas celulares a través de la unión a los grupos sulfhidrilo. Todo ello provoca la inhibición de la captación de glucosa por las células, la glucogénesis, la oxidación de ácidos grasos y la producción de glutatión, que protege a las células frente al estrés oxidativo. Por su parte, el As pentavalente mimetiza al fosfato inorgánico y lo reemplaza en vías metabólicas glucolíticas y oxidativas. El desacoplamiento de la fosforilación oxidativa ocurre porque los enlaces de fosfato de alta energía no se forman ya que, en presencia de As pentavalente, éste se une a la adenosina difosfato en lugar de unirse al fosfato (Hughes, 2002).

Las principales vías de exposición al As son el agua de bebida, los alimentos (principalmente, el marisco y el pescado), así como la inhalación de aire y polvo contaminados (Orloff et al., 2009).

Los principales efectos derivados de una exposición crónica a As inorgánico consisten en una alteración vascular e hipertensión. También provoca neuropatías periféricas y alteraciones gastrointestinales. Ciertos productos intermedios en su proceso de detoxificación pueden llegar a ser especialmente reactivos provocando procesos de carcinogénesis (Hernández y Gisbert-Calabuig, 2004; Jomova et al., 2011). Otros efectos que puede ocasionar son problemas respiratorios, renales y dérmicos, además de alteraciones sobre el sistema nervioso central (Rosado et al., 2007).

## **II. 2.2. Cadmio (Cd)**

Este metal posee una vida media muy elevada (20-35 años), lo cual hace que su capacidad acumulativa sea muy importante, uniéndose a diferentes proteínas, especialmente a nivel hepático y, sobre todo, renal. Se ha identificado como una de las causas más probables de enfermedades relacionadas con la exposición a metales pesados (Hu, 2000), de ahí que la ATSDR sitúe a este metal entre las siete primeras de las 275 sustancias más peligrosas presentes en el medio ambiente (ATSDR, 1999).

Su acción más característica es la alteración de la función renal a nivel del túbulo proximal (Ruiz et al., 2010; Gil, 2012), al ser el riñón el órgano diana. La exposición crónica se traduce en la reducción de la reabsorción tubular de nutrientes; de hecho, la excreción anormal de proteínas de bajo peso molecular (por ejemplo, la  $\beta$ 2-microglobulina o la proteína de unión al retinol) y calcio o fosfato, entre otros, hacen que se llegue a una pérdida progresiva de masa ósea pudiendo originar debilidad, dolor y lesiones óseas (cuadro típico de osteomalacia).

Otro de los efectos característicos de la exposición crónica a Cd es una elevación de la presión arterial unida a daños en los vasos sanguíneos que pueden generar una enfermedad arterial periférica. El Cd es también un reconocido carcinógeno sobre todo a nivel pulmonar cuando la absorción es por vía inhalatoria,

aunque también existen evidencias de otros tipos de cáncer como el de mama. Otros efectos incluyen alteraciones del sistema inmune, hígado y testículos, además de causar neurotoxicidad (Gil y Gisbert-Calabuig, 2004; Cao et al., 2009; Satarug et al., 2010).

### **II.2.3. Cobre (Cu)**

El cobre es un elemento esencial debido a su presencia en importantes proteínas y enzimas; actúa como cofactor en las cuproenzimas, esenciales para el normal funcionamiento del organismo (Kosalec et al., 2009).

Aunque sus requerimientos diarios se suelen cubrir sobradamente con una dieta normal y variada e incluso únicamente con la ingesta de agua, se han observado síntomas asociados a su déficit consistentes en anemia, neutropenia y defectos esqueléticos. La toxicidad del Cu adquiere especial relevancia en individuos afectados por la enfermedad de Wilson, la cual impide el correcto metabolismo y eliminación del Cu, que se acumula en órganos vitales como riñones, hígado, cerebro y córnea. Entre los efectos más importantes originados por la exposición a Cu destacan la enfermedad hepática crónica, las alteraciones neurológicas y las alteraciones psiquiátricas, frecuentemente acompañadas de disfunción renal. También son comunes las manifestaciones oftalmológicas, hematológicas y óseas (Goldhaber, 2003; López de Romaña, 2011).

### **II.2.4. Cromo (Cr)**

El cromo se utiliza principalmente en metalurgia para aportar resistencia a la corrosión y un acabado brillante. Las acciones tóxicas de mayor importancia son sin duda la causticidad (especialmente del ácido crómico y sus sales), el poder sensibilizante y la acción cancerígena. La intoxicación crónica se debe normalmente al Cr hexavalente y afecta esencialmente a tres niveles clínicos: a) dermatológico, originando dermatosis que se manifiestan bajo dos formas clínicas: úlceras cutáneas o bien dermatosis por sensibilización; b) respiratorio, que cursa con cuadros

traqueobronquiales, caracterizados por tos, dolor retroesternal y broncoespasmo, o cuadros de asma bronquial de tipo alérgico; y c) acción cancerígena y mutagénica, ya que los cromatos y dicromatos (de calcio, plomo, etc.) son capaces de provocar cáncer broncopulmonar. El cromato de zinc es un potencial carcinógeno gástrico. Igualmente, el Cr hexavalente y sus sales son mutágenos según se ha comprobado en ensayos de toxicidad específicos (Lauwerys, 1994; Gil y Gisbert-Calabuig, 2004).

### **II.2.5. Hierro (Fe)**

El hierro tiene un importante papel en el organismo y constituye un elemento esencial en el transporte de oxígeno, en la transferencia electrónica y en la síntesis de ADN. Todo ello hace que sea un elemento requerido para el normal crecimiento y desarrollo. La intoxicación por hierro suele ser poco frecuente y claramente dosis-dependiente. El hierro con frecuencia se incorpora al organismo a partir de preparados farmacológicos, en forma aislada o bien como preparados polivitamínicos.

La toxicidad es consecuencia de la generación de radicales libres producidos a partir del catabolismo del hierro. El tracto gastrointestinal suele ser probablemente el más afectado y también han sido bien descritos los efectos hepatotóxicos (Nordberg et al, 2007).

### **II.2.6. Manganeso (Mn)**

El Mn es un elemento esencial con gran actividad bioquímica en el metabolismo de glúcidos, ácidos grasos y como cofactor de diversas enzimas entre las que se encuentra la superóxido dismutasa (SOD). Es el duodécimo elemento más abundante de la tierra. La mayor parte del Mn en sangre se une a los eritrocitos (Gil y Gisbert-Calabuig, 2004; Gil, 2012). Es un elemento que interviene en la formación de tejidos y especialmente del hueso. Presenta una gran actividad bioquímica en el metabolismo de glúcidos y ácidos grasos.

Su déficit en humanos se ha asociado con la aparición de dermatitis, con el aumento de las concentraciones séricas de calcio y fósforo, y con una mayor actividad de la fosfatasa alcalina, lo que sugiere una reabsorción ósea. Está implicado en el sistema inmune, habiéndose implicado en la prevención del cáncer. Sin embargo, dependiendo de la ruta y la dosis de exposición, se acumula en el organismo y especialmente en el cerebro, ocasionando daños neurológicos especialmente tras la exposición crónica (Menezes-Filho et al., 2009; 2011).

Los niños son particularmente susceptibles a los efectos neurotóxicos del Mn, debido al desarrollo del cerebro y del sistema nervioso central y a la capacidad del Mn ambiental para atravesar la barrera hemato-encefálica y acumularse en las estructuras nerviosas (Aschner, 2006; Elder et al., 2006).

El manganeso origina un cuadro neurológico similar a la enfermedad de Parkinson (seudoparkinsonismo) con idénticos síntomas (temblor intencional de grandes oscilaciones, rigidez muscular, ataxia, etc.), aunque las lesiones neurológicas se producen en zonas diferentes a las afectadas en el Parkinson clásico. Otros efectos tóxicos relacionados con la exposición crónica a Mn son la disminución en la fertilidad, las alteraciones en el desarrollo fetal, el hipertiroidismo, la fiebre y posibles alteraciones cardiovasculares (Gil y Gisbert-Calabuig, 2004; Crossgrove y Zheng, 2004).

### **II.2.7. Mercurio (Hg)**

La exposición a Hg puede producirse a través de amalgamas dentales, termómetros, conservantes de vacunas y productos cosméticos, entre otros, además de la emisión de combustibles fósiles. No obstante, como ya se indicó en el apartado anterior, la principal fuente de exposición de la población al Hg es el consumo de pescado contaminado con metil-mercurio (EPA, 2003), procedente sobre todo de especies de pescado azul de cierta envergadura, y más concretamente de túnidos (Ramón et al., 2008; 2009; Olmedo et al, 2013).

La forma orgánica tiene una gran afinidad por los grupos sulfhidrilo lo que induce interferencias con las funciones de numerosas estructuras celulares y

subcelulares. Además, el Hg aumenta la susceptibilidad al daño sobre el sistema nervioso a bajas dosis (Jensen et al., 2005).

Sus principales efectos crónicos conllevan daños en el sistema nervioso central (SNC), especialmente en el caso de exposición fetal (Amaya et al., 2013), recién nacidos y niños, debido a la mayor vulnerabilidad de su sistema nervioso aún en desarrollo y que incluyen, entre otros, un posible déficit en la función motora hasta los 14 años, así como un deterioro pulmonar y renal (Goyer y Clarkson, 2001; Counter y Buchanan, 2004; Murata et al., 2004; García-Rico et al., 2007). El Hg interfiere en la transcripción del ADN y en la síntesis de proteínas, incluidas aquellas que participan en procesos de desarrollo neuronal, con destrucción del retículo endoplasmático, ocasionando la desaparición de ribosomas (Berlin et al., 2007). Asimismo, se ha observado la alteración de numerosos elementos subcelulares del SNC y de otros órganos. Se incluyen de este modo efectos adversos sobre la integridad de las membranas, generación de radicales libres, perturbaciones en los neurotransmisores, etc.

Todo ello provoca daños no sólo en el sistema nervioso central, sino también del sistema nervioso periférico. Aparte de los efectos neurológicos, el metil-mercurio (MeHg) causa alteraciones del sistema inmune al reducir la actividad de las células Natural Killers, así como desequilibrios en los balances de células Th1 y Th2, favoreciéndose la autoinmunidad (De Vos et al., 2007). Otros efectos incluyen trastornos en el proceso de reparación del ADN y su posible efecto destructor de la membrana mitocondrial (Villanueva, 2004a; Bernhoft, 2012).

#### **II.2.8. Plomo (Pb)**

El Pb es un elemento no esencial para el cuerpo humano y probablemente uno de los metales más estudiados, y del cual se han divulgado más sus efectos tóxicos, debido a que se considera uno de los más perjudiciales para ciertos sectores de la población (gestantes, niños y ancianos) (Counter y Buchanan, 2004; Rodríguez-Barranco et al., 2013). Sin embargo, y aunque durante bastante tiempo las principales fuentes de exposición al Pb fueron la combustión de la gasolina, las tuberías de Pb y la

pintura de uso doméstico, actualmente todas ellas se han eliminado, reduciéndose sustancialmente la exposición de la población durante los últimos años (Bridbord y Hanson, 2009).

Actualmente su principal forma tóxica es la inorgánica ya que la orgánica, tradicionalmente más frecuente, es decir el tetraetilato de plomo, y que fue ampliamente usada como antidetonante en gasolinas, está actualmente prohibida por su enorme impacto nocivo medioambiental, ya descrito.

El Pb tiene como principales dianas de actuación las enzimas que participan en la síntesis del grupo hemo, inhibiendo su formación y provocando una anemia característica (Piomelli, 2002; Villanueva, 2004b).

La exposición crónica interfiere con las enzimas dependientes de calcio, incorporándose este metal al tejido óseo a nivel de las epífisis de los huesos largos (unión selectiva por afinidad química). Este hecho, unido a su lenta excreción, acentúa su carácter acumulativo cuya vida media es aproximadamente de 10 años (Philip y Gerson, 1994). Desde el punto de vista tóxico, causa la degeneración de los axones motores y la desmielinización de las neuronas traduciéndose esto en encefalopatías crónicas y neuropatías periféricas.

La exposición crónica a Pb puede causar nefropatías que cursan con fibrosis del tejido intersticial, reducción del filtrado glomerular y azoemia, llegando a ser estos daños irreversibles en determinadas ocasiones. Otros efectos del Pb incluyen el aumento de la presión sanguínea, alteraciones gastrointestinales y reducción en la cantidad (oligospermia-azoospermia) y movilidad (astenospermia) de los espermatozoides (Villanueva, 2004b; Rosin, 2009).

El contacto durante el periodo fetal, por la propia exposición de la madre durante el embarazo, así como por la movilización de los distintos compuestos tóxicos que ocurre desde los tejidos maternos (esencialmente, hueso y tejido adiposo) durante el embarazo y en etapas posteriores, así como durante la lactancia, podría conllevar un aumento en la impregnación en los niños. En la población infantil, los daños neuropáticos se traducen en una disminución de su capacidad intelectual, baja

capacidad de concentración y torpeza en ciertas habilidades manuales (a la hora de jugar, etc.) (Papanikolaou et al., 2005; Rodríguez-Barranco et al., 2013).

### **II.2.9. Zinc (Zn)**

El zinc es un elemento esencial que forma parte como cofactor de diversas enzimas (metaloenzimas), entre las que se encuentran las polimerasas ribonucleicas, la alcohol deshidrogenasa, la anhidrasa carbónica y la fosfatasa alcalina. Los síntomas derivados de la deficiencia de Zn incluyen la pérdida de apetito, el retraso en el crecimiento y normal desarrollo, los cambios en la piel y las alteraciones inmunológicas.

Respecto a su toxicidad crónica, se ha podido comprobar que es de gran importancia el balance entre los niveles de Cu y Fe respecto del Zn. Un cambio de este equilibrio a favor del Zn podría disminuir los niveles de HDL (lipoproteínas de alta densidad), además de originar disminuciones en las actividades biológicas del Fe y del Cu (Goldhaber, 2003; Kosalec et al., 2009).



### **II.3. LA EXPOSICIÓN A METALES, METALOIDES Y MINERALES A TRAVÉS DEL CONSUMO DE PLANTAS MEDICINALES.**

Los metales, junto a los plaguicidas, constituyen probablemente el grupo de sustancias tóxicas más importantes desde el punto de vista de la contaminación ambiental. La exposición a metales, aunque pueda provenir de fuentes naturales, posee mayoritariamente un origen antropogénico como ya ha sido ampliamente expuesto.

La fitoterapia posee una larga y amplia tradición a lo largo de la historia de la humanidad, y aún en nuestros días sigue siendo ampliamente utilizada, constituyendo una parte importante en la medicina tradicional. Los beneficios asociados a la ingesta de plantas medicinales incluyen, entre otros, la prevención y el tratamiento de ciertos trastornos inflamatorios del tracto génito-urinario (por ejemplo, cistitis y uretritis), del sistema respiratorio y del tracto gastrointestinal (Rodríguez-Fragoso et al., 2008).

Aproximadamente el 70-80% de la población mundial ha utilizado alguna vez la medicina alternativa o no convencional en el ámbito de la atención primaria, empleando plantas medicinales que pudieran ser de utilidad en el tratamiento de ciertos problemas de salud (Chan et al., 2003, Kalny et al., 2007, Rubio et al., 2012).

De hecho, en los últimos años ha aumentado la popularidad en el consumo de ciertos medicamentos procedentes de plantas u otras fuentes naturales en los países desarrollados debido a la creencia de que pueden ser suficientemente eficaces y sobre todo poseer menos efectos adversos en la prevención o tratamiento de ciertas patologías que los propios productos farmacéuticos de síntesis.

En los países occidentales, a pesar del desarrollo y la producción de numerosos medicamentos sintéticos, la popularidad y la utilización de los medicamentos basados en el uso de plantas medicinales con fines terapéuticos (prevención y/o tratamiento de las enfermedades) aumentó notablemente en el último cuarto del siglo XX. Existen diversas razones que pueden influir en el crecimiento, a nivel mundial, del uso terapéutico de plantas medicinales, así como de sus preparados. Entre ellas destacamos la creencia generalizada de que los productos naturales suelen ser más inofensivos, además de tener una menor tasa de efectos adversos comparados con los

medicamentos tradicionales, el bajo coste de la mayoría de los preparados a base de plantas medicinales en comparación con las presentaciones farmacéuticas (Martínez-Domínguez et al., 2014; Meena et al., 2010), y sobre todo, su fácil acceso.

Esta actitud indica, indirectamente, la falta de confianza de la población general respecto de los medicamentos de síntesis, que trata de buscar otras alternativas terapéuticas.

Los consumidores confían, cada vez más, en suplementos dietéticos basados en el uso de plantas capaces de mejorar la agudeza mental, tratar problemas o carencias asociados a la edad (por ejemplo, la menopausia, la hipertrofia benigna de próstata o la presión arterial elevada), disminuir los niveles de colesterol o aliviar el estrés. Sin embargo, su notable popularidad y expansión mundial suelen ir unidas a una constante preocupación relativa a la seguridad y la calidad de estos productos de cara al consumidor (Raman et al., 2004; Arpadjan et al., 2008; Kosalec et al., 2009).

Numerosas personas, incluyendo especialmente a gestantes y madres lactantes, se automedican con este tipo de productos (Gómez et al., 2007; Gil et al., 2016; Meena et al., 2010). Además del riesgo de aborto espontáneo que pueden causar algunas plantas (aloe, pasiflora...), existen ciertos estudios que sugieren que determinadas plantas ricas en alcaloides pirrolidínicos pueden provocar efectos embriotóxicos y fetotóxicos (Rodríguez-Fragoso et al., 2008).

En este sentido, los consumidores son cada vez más cuidadosos a la hora de elegir los alimentos que componen su dieta, aunque suelen incorporar nutrientes procedentes de fuentes naturales, entre las que se incluyen las plantas medicinales (Bhat et al., 2010). El aumento del interés científico y la propia demanda de los consumidores han promovido el notable desarrollo de productos cuya materia prima la constituyen las plantas clásicamente denominadas medicinales. Éstas se comportan pues como auténticos medicamentos, ya que las sustancias químicas que contienen pueden tener una actividad biológica específica en humanos. Un ejemplo lo hallamos en el ácido fenólico y en los flavonoides, antioxidantes naturales capaces de eliminar o neutralizar la generación de radicales libres (Choudhury et al., 2006).

En numerosos países, las formulaciones a partir de plantas medicinales pueden adquirirse como suplementos dietéticos que no requieren de un control sanitario previo. Sin embargo, la seguridad y el beneficio de estos productos, constituidos en gran medida a partir de estas plantas, está directamente relacionados con la calidad de dichas materias primas (Salgueiro et al., 2010).

Por ello aunque la medicina basada en el uso de plantas hipotéticamente podría llegar a ser tan eficaz como aquella que emplea fármacos sintéticos, la presencia de contaminantes, entre los que se incluyen elevados niveles de metales, hace que sea *a priori* menos segura (Blicharska et al. 2010), y por ello, el uso de dichas plantas podría ser responsable de la aparición de efectos adversos para la población, al menos, en teoría (WHO 1999-2009).

En este sentido, se conoce bien que algunas plantas son capaces de acumular gran cantidad de metales pues se consideran hiperacumuladoras (Pollard et al., 2002). Esta propiedad ha propiciado la acumulación de elementos metálicos en plantas procedentes de suelos contaminados que incluso han llegado a emplearse en técnicas de bioremediación. Evidentemente y como consecuencia, el consumo de estas plantas como alimentos o agentes terapéuticos usados en la medicina tradicional podría llegar a ser muy nocivo (Barthwal et al., 2008).

De hecho, la contaminación por metales ha sido bien documentada en productos empleados en medicina tradicional y cuya materia prima son las plantas (Van Vonderen et al., 2000; Ernst et al., 2001; Ernst, 2002; Dwivedi y Dey, 2002; Tait et al., 2002; Fuh et al., 2003; Caldas y Machado, 2004; Saper et al., 2004; Kauffman et al., 2007; Rai et al., 2007; Meena et al. 2010; Rubio et al., 2012).

Además, existen hierbas medicinales comercializadas en forma de pastillas o extractos que incluso pueden contener metales que han sido adicionados expresamente (Saper et al., 2008). Un ejemplo lo hallamos en preparados ayurvédicos que contienen metales (Pb, Hg) o metaloides (As) como resultado de la incorporación de monóxido de plomo, sulfuro de mercurio, cloruro mercurioso, óxido rojo de mercurio y sulfuro, disulfuro, trisulfuro o trióxido de arsénico, entre otros (Wong et al.,

1993; Rai et al., 2001; Martena et al., 2010), habiéndose descrito determinados efectos secundarios en productos a base de hierbas (Gurib-Fakim, 2006; Bush et al., 2007).

Por otra parte, no cabe duda que las plantas medicinales son también fuentes adecuadas de minerales, por lo que pueden ser utilizadas como complementos alimenticios con ciertas propiedades promotoras de la salud (Musa Özcan et al., 2008; Bhat et al., 2010). Sin embargo, dichos minerales esenciales pueden llegar a ser tóxicos por encima de cierto umbral o dosis. Así, un alto consumo de oligoelementos como Cu o Zn se ha relacionado con diferentes efectos adversos; altos niveles de Cu inducen daños en el hígado y altas concentraciones de Zn reducen la función inmune y las lipoproteínas de alta densidad. Además, la exposición a estos minerales podría incluso generar efectos aditivos de carácter incierto (Tongesayi et al., 2013).

También Malik et al. (2008), indicaron que las infusiones a partir de algunas plantas podrían constituir una valiosa fuente de micronutrientes y minerales en la dieta.

Por tanto, no cabe duda que las plantas medicinales son ampliamente utilizadas en la actualidad para tratar enfermedades; a modo de ejemplo, en Estados Unidos se emplean para tratar, aproximadamente, el 25% de las enfermedades. Sin embargo, aunque teóricamente se cree que son seguras para el consumidor, se han recogido diferentes efectos secundarios, incluyendo reacciones alérgicas, toxicidad provocada por los contaminantes presentes así como interacciones con otros fármacos o plantas medicinales (Bent y Ko, 2004). Se han notificado problemas hepáticos tras la utilización de plantas medicinales chinas empleadas para tratar trastornos de la piel, así como reacciones alérgicas e intoxicaciones por metales en el continente asiático tras el empleo de remedios indios tradicionales (Shaw et al., 1997).

Así mismo, no deberíamos olvidar las potenciales interacciones entre los fármacos y las plantas medicinales pues no siempre pueden predecirse (Shaw et al., 1997). Este tipo de interacciones pueden ser de naturaleza farmacocinética o farmacodinámica (Rodríguez-Fragoso et al., 2008). Una de interacciones farmacocinéticas más importantes ocurre entre las plantas y los sistemas de enzimas que metabolizan los fármacos, concretamente el citocromo P450 (CYP450), habida

cuenta que dicho sistema enzimático, caracterizado por importantes polimorfismos genéticos, metaboliza un gran número de xenobióticos. Por ejemplo, la interacción entre algunas isoformas del CYP450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9 y CYP3A4) y ciertos aceites de menta pueden llegar a alterar la metabolización de algunos fármacos (Maliakal y Wanwimolruk, 2001; Unger and Frank, 2004).

Además, la contaminación de las plantas medicinales durante cualquier etapa de la producción, puede dar lugar a cambios en su calidad y su seguridad. El peligro de estos productos depende, en gran medida, de la presencia de altas concentraciones de compuestos químicos inusuales, entre los que se encuentran los metales, que pueden derivar en una intoxicación si llegan a ser consumidos (Chan, 2003).

Dado que las plantas medicinales pudieran proceder a menudo de áreas contaminadas y por ello no excesivamente respetuosas con el medio ambiente, dichos productos finales pueden estar contaminados con elementos metálicos, metaloides o minerales en cantidades importantes. Así, las plantas medicinales pueden recolectarse de zonas no cultivadas ni sometidas a un cierto control (lechos de ríos, acequias...), y por tanto, de zonas inseguras desde el punto de vista toxicológico, y por personas no capacitadas, lo que podría conllevar la introducción en el mercado de estos productos sin el adecuado control sanitario y/o alimentario.

Las plantas asimilan fácilmente estos elementos metálicos a través de sus raíces y las concentraciones que alcanzan dependen de las características geoquímicas de los suelos o sedimentos donde se cultivan (por ejemplo, del pH y/o la presencia o ausencia de otros elementos con los que puedan interactuar), así como de la propia capacidad de las plantas para acumular selectivamente algunos de estos elementos en función a veces de la selectividad o afinidad química por ciertos grupos como por ejemplo los sulfhidrilo en el caso particular del arsénico (Haider et al., 2004, Sarma et al., 2011).

Esto significa que los consumidores podrían estar expuestos a productos potencialmente contaminados (Lozak et al., 2002; Gómez et al., 2007; Gil y Gisbert-Calabuig, 2004). Debido a sus propiedades acumulativas y a su elevada toxicidad, las concentraciones de los elementos metálicos podrían llegar a alcanzar niveles

considerables, pudiendo aparecer efectos adversos nocivos para la salud humana, y en particular en aquellos consumidores habituales cuya ingesta potencial sea notable.

El contenido de los elementos metálicos en plantas medicinales varía en función de diversos factores (Haider et al., 2004). Entre ellos se encuentran las condiciones geoclimáticas, las características geoquímicas del suelo, las actividades antropogénicas (por ejemplo, las industrias químicas existentes en la zona), la especie (algunas plantas pueden acumular selectivamente ciertos elementos tóxicos) así como la parte de la planta utilizada para la preparación del producto final.

El grado en que los metales se acumulan en las plantas también está influenciado por las propiedades fisicoquímicas del suelo donde crecen las plantas (características del suelo o sedimento, nivel de pH, período de exposición, rango de dispersión, y la presencia o ausencia de otros elementos). Estas propiedades determinan la naturaleza de la asociación de los elementos que componen el suelo, siendo claves en la biodisponibilidad de los elementos metálicos (Sarma et al., 2011).

En este sentido, varios estudios han suscitado cierta preocupación debido a la presencia de altas concentraciones de elementos metálicos tóxicos en plantas medicinales (Mika et al., 2004; Meena et al., 2010). Las concentraciones de elementos metálicos podrían conllevar efectos nocivos para la salud de los consumidores, merced a sus propiedades acumulativas y su elevada toxicidad, y muy especialmente en el caso de consumidores frecuentes y sobre todo en el supuesto de exceder los niveles permisibles (Sarma et al., 2011).

Mientras que determinados elementos minerales como Fe, Cu, Mn y Zn, presentes en las plantas medicinales son considerados como esenciales para la especie humana y una gran parte de los organismos vivos, otros metales como Pb, Cd y Hg no desempeñan ningún papel conocido en los sistemas biológicos siendo tóxicos incluso a bajas concentraciones, de ahí que el análisis de los niveles de micronutrientes, elementos metálicos y metaloides en plantas medicinales sea altamente pertinente, no sólo desde el punto de vista nutricional (especialmente útil el caso de los minerales), sino también de cara a evaluar su calidad y el posible binomio riesgo-beneficio

derivado de su consumo especialmente en el caso de los metales tóxicos (Bhat et al., 2010).

Otro problema de máxima relevancia y que atañe a la protección de los consumidores de plantas medicinales es el hecho de la inexistencia de niveles permisibles legislados de la totalidad de los elementos metálicos. No cabe duda que la monitorización de dichos elementos en productos elaborados a partir de plantas, constituye un importante campo de investigación que ofrece información relevante para la evaluación del riesgo y para el establecimiento de los niveles permisibles (Rubio et al., 2012). Sin embargo, un problema importante de cara a la protección del consumidor de estos productos es la falta de estandarización de los niveles de metales, metaloides y minerales permitidos en plantas medicinales por parte de las entidades gubernamentales reguladoras (Sarma et al., 2011).

En este sentido, la OMS reguló los límites máximos permisibles de ciertos metales tóxicos como el As, Hg, Cd y Pb en plantas medicinales, estableciéndolos en 10, 1, 0,3, y 10 ppm, respectivamente (WHO, 1998). Sin embargo, no ha establecido límites permisibles para elementos esenciales, muchos de ellos considerados micronutrientes.

Por su parte, la Comisión Europea estudió la necesidad de establecer niveles máximos de Pb, Cd y Hg en suplementos alimenticios con el fin de modificar el reglamento (CE) Nº 1881/2006 de la Comisión Reguladora. Hicieron diversos estudios de monitorización en los cuales algunos niveles fueron elevados. Los límites fijados fueron: 3 mg/kg para Pb; 1 mg/kg para Cd (salvo productos de algas, donde se estableció el límite en 3 mg/kg); y 0,1 mg/kg para el Hg (Commission Regulation (EC) No 629/2008; Gasser et al., 2009).

En este sentido Rai et al. (2007) analizaron Pb y Cd en formulaciones a partir de plantas obteniendo resultados dentro de los límites permisibles anteriormente citados. Igualmente, Markert (1994) analizó Cr, Mn y Zn en plantas arrojando concentraciones de 1,5, 200, y 50 ppm, respectivamente.

Cabe destacar la importancia de un buen control de calidad sobre las hierbas medicinales con el fin de proteger a los consumidores de posibles intoxicaciones con

elementos metálicos que puedan suponer un riesgo para la salud (Başgel y Erdemoglu, 2006). Por ello, debería ser obligatorio el análisis de residuos de metales en las plantas medicinales al objeto de informar al consumidor sobre la calidad de las mismas.

Creemos pues imprescindible, biomonitorizar los elementos minerales, elementos metálicos y metaloides en las plantas medicinales aptas para el consumo humano al objeto de valorar y asegurar la calidad y seguridad de estos productos (Caldas y Machado, 2004; Naithani y Kakkar, 2005; Gjorgieva et al., 2010) de cara al consumidor final, lo que constituye el objetivo prioritario de la presente memoria de Tesis.

En la tabla 1 se revisan los diferentes estudios tanto a nivel nacional como internacional (se cita el país de estudio) recogidos en la literatura científica especializada que analizan los elementos metálicos, metaloides y minerales seleccionados en el presente estudio en las plantas elegidas, así como el formato de planta analizado y el lugar de adquisición de la planta. Puede observarse como ningún estudio ha evaluado todos los elementos metálicos y minerales considerados en nuestro estudio en las doce plantas seleccionadas, constituyendo por tanto, el estudio más amplio llevado a cabo hasta el momento en plantas medicinales. Por otra parte, los estudios mencionados con anterioridad son esencialmente descriptivos y no aportan la evaluación del riesgo para el consumidor, aspecto del máximo interés actualmente en Seguridad Alimentaria.



**Tabla 1.** Estudios de elementos metálicos, metaloides y elementos minerales en plantas medicinales recogidos en la literatura científica nacional e internacional especializada

Plantas medicinales	Formato	Autores, año	País	Elementos metálicos y metaloides					Elementos minerales				
				As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn	
<i>Mentha piperita</i>	BD	Arpadjan et al., 2008	Bulgaria	X	X			X					
	BD	Muza Özcan et al., 2008	Turquía	X	X	X		X	X	X	X	X	
	BD	Rubio et al., 2012	España		X	X		X	X	X	X	X	
	BD	Lozak et al., 20023	Polonia	X	X	X		X	X	X	X	X	
	BD/NBD	Abou-arab et al., 1999	Egipto		X	X		X	X	X	X	X	
<i>Mentha sp.</i>	BD <sup>S</sup>	Rubio et al., 2012	España									X	
	BD <sup>F</sup>				X	X		X	X	X	X	X	
	BD <sup>H</sup>												X
	NBD <sup>M</sup>												X
<i>Thymus vulgaris</i>	BD	Dghaim et al., 2015	Dubai		X			X	X	X		X	
<i>Thymus serpyllum</i>	BD	Arpadjan et al., 2008	Bulgaria	X	X			X					
<i>Salvia officinalis</i>	BD	Başgel and Erdemoglu, 2006	Turquía		X	X		X	X	X	X	X	
	BD	Dghaim et al., 2015	Dubai		X			X	X	X		X	
	NBD	Gasser et al., 2009	Alemania		X		X	X					
<i>Matricaria chamomilla</i>	BD	Başgel y Erdemoglu, 2006	Turquía		X	X		X	X	X	X	X	
	BD	Arpadjan et al., 2008	Bulgaria	X	X			X					
	BD	Malik et al., 2008	República Checa						X	X	X	X	
	BD	Dghaim et al., 2015	Dubai		X			X	X	X		X	
	BD/NBD	Abou-arab et al., 1999	Egipto		X	X		X	X	X	X	X	
	NBD	Gasser et al., 2009	Alemania		X		X	X					

**Tabla 1 (Continuación).** Estudios de elementos metálicos, metaloides y elementos minerales en plantas medicinales recogidos en la literatura científica nacional e internacional especializada

Plantas medicinales	Formato	Autores, año	País	Elementos metálicos y metaloides					Elementos minerales			
				As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
<i>Tilia vulgaris</i>	BD	Başgel y Erdemoglu, 2006	Turquía		X	X		X	X	X	X	X
<i>Lindin blossom</i>	BD/NBD	Arpadjan et al., 2008	Bulgaria		X	X		X	X	X	X	X
<i>Valeriana officinalis</i>	BD	Arce et al., 2005	Argentina		X	X		X	X	X	X	X
<i>Equisetum arvense</i>	NBD	Gasser et al., 2009	Alemania		X		X	X				
<i>Cassia angustifolia</i>	BD	Muza Özcan et al., 2008	Turquía	X	X	X		X	X	X	X	X
	NBD	Gasser et al., 2009	Alemania		X		X	X				
<i>Aloysia triphylla</i>	NBD	Gasser et al., 2009	Alemania		X		X	X				
<i>Aspalatus linearis</i>	BD	Gasser et al., 2009	Alemania		X		X	X				
	NBD	Malik et al., 2008	República Checa						X	X	X	X
<i>Camellia sinensis</i>	BD	Muza Özcan et al., 2008	Turquía	X	X	X		X	X	X	X	X
	NBD	Malik et al., 2008	República Checa						X	X	X	X

BD: Bolsa dispensable; NBD: El formato no es bolsa dispensable; BD<sup>S</sup>: Bolsa dispensable adquirida en Supermercado; BD<sup>F</sup>: Bolsa dispensable adquirida en Farmacia; BD<sup>H</sup>: Bolsa dispensable adquirida en Herbolario; NBD<sup>M</sup>: El formato no es bolsa dispensable y es adquirida en Mercado tradicional.

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**



### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### III.1. REACTIVOS

En este apartado se relacionan los reactivos utilizados en el presente estudio para el análisis de los diferentes elementos seleccionados.

##### III.1.1. DETERMINACIÓN DE ARSÉNICO (As) TOTAL

- Solución patrón de arsénico (As), Panreac, de  $1,000 \pm 0,002$  mg/mL ( $As_2O_5$  en  $H_2O$ ).

- Sistema Milli-Q, Millipore Corp., para la obtención de agua grado reactivo.

- Ácido clorhídrico, HCl, (37%), Panreac, P.A.

- Solución de HCl al 10% (v/v): se diluyen 100 ml de HCl hasta 1 l de agua Milli-Q. Se utiliza como solución ácida y como diluyente de patrones y muestras.

- Borohidruro sódico,  $NaBH_4$ , Aldrich, P.A.

- Hidróxido sódico, NaOH, Panreac, P.A.

- Solución de  $NaBH_4$  al 0,2% (w/v) y NaOH al 0,05% (w/v): se diluye 1 g de  $NaBH_4$  y 0,25 g de NaOH hasta 500 ml de agua Milli-Q. Se utiliza como solución reductora.

- Ácido ascórbico,  $C_8H_8O_6$ , Panreac, P.A.

- Yoduro potásico, KI, Panreac, P.A.

- Solución al 5% (w/v) de ácido ascórbico/yoduro potásico: se diluyen 5 g de cada reactivo hasta 100 ml de agua Milli-Q. Se utiliza para tratar el  $As^{5+}$  presente en la muestra y transformarlo en  $As^{3+}$  y, por tanto, como diluyente de patrones y muestras.

##### III.1.2. DETERMINACIÓN DE MERCURIO (Hg) TOTAL

- Solución patrón de mercurio (Hg), Panreac, de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml ( $Hg^{2+}$  en  $H_2O$ ).

- Sistema Milli-Q, Millipore Corp., para la obtención de agua grado reactivo.
  - Ácido nítrico,  $\text{HNO}_3$ , (65%), Panreac, P.A.
  - Ácido sulfúrico,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , (96%), Panreac, P.A.
  - Solución de  $\text{HNO}_3$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$  al 1,5% (v/v): se diluyen 15 ml de  $\text{HNO}_3$  y otros 15 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  hasta 1 l de agua Milli-Q. Esta mezcla de ácidos se utiliza como solución ácida y como diluyente de patrones y muestras.
  - Borohidruro sódico,  $\text{NaBH}_4$ , Aldrich, P.A.
  - Hidróxido sódico,  $\text{NaOH}$ , Panreac, P.A.
  - Solución de  $\text{NaBH}_4$  al 3% (w/v) y  $\text{NaOH}$  al 1% (w/v): se diluyen 7,5 g de  $\text{NaBH}_4$  y 2,5 g de  $\text{NaOH}$  hasta 250 ml de agua Milli-Q. Se utiliza como solución reductora.
  - Permanganato potásico,  $\text{KMnO}_4$ , Merck, P.A.
  - Solución al 5% de permanganato potásico: se diluyen 5 g de  $\text{KMnO}_4$  hasta 100 ml de agua Milli-Q. Se utiliza como agente oxidante para eliminar los óxidos de nitrógeno reductores. Debe conservarse al abrigo de la luz.

### **III.1.3. RESTO DE ELEMENTOS METÁLICOS ANALIZADOS (Pb, Cd, Cr, Mn, Cu, Fe, y Zn)**

Debido a que la técnica empleada en el análisis del resto de metales cuantificados en el presente estudio, es decir, Pb, Cd, Cr, Mn, Cu, Fe, y Zn, es bastante similar, la mayoría de los reactivos son comunes. Por este motivo, se han agrupado al objeto de evitar reiteraciones.

#### **III.1.3.a) Soluciones patrón**

- Solución patrón de plomo (Pb), Carlo Erba, de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml ( $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  en  $\text{HNO}_3$ ).
- Solución patrón de cadmio (Cd), Carlo Erba, de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml ( $\text{CdCl}_2 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  en  $\text{HCl}$ ).

- Solución patrón de manganeso (Mn), Carlo Erba, de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  en HCl).
- Solución patrón de cobre (Cu), CertiPur (Merk), de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  en  $\text{HNO}_3$ ).
- Solución patrón de hierro (Fe), Panreac, P.A., de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml ( $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  en  $\text{HNO}_3$ ).
- Solución patrón de zinc (Zn), Merck, de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$  en  $\text{HNO}_3$ ).

### III.1.3.b) Diluyente

- Sistema Milli-Q, Millipore Corp., para la obtención de agua grado reactivo.
- Ácido nítrico,  $\text{HNO}_3$ , (65%), Panreac, P.A.
- Solución al 0,2% (v/v) de ácido nítrico en agua Milli-Q: se diluyen 0,2 ml de  $\text{HNO}_3$  hasta 100 ml de agua Milli-Q. Se utiliza como diluyente de patrones y muestras y también como blanco.

### III.1.3.c) Modificadores de matriz

- Sistema Milli-Q, Millipore Corp., para la obtención de agua grado reactivo.
- Dihidrogenofosfato de amonio,  $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$  Suprapur, Merck, P.A.
- Solución de  $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$  al 1 % (w/v): se pesan 0,5 g de  $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$  hasta 50 ml de agua Milli-Q. *Se utiliza como modificador de matriz en la determinación de plomo (Pb).*
- Nitrato magnésico,  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , Merck, P.A.
- Paladio,  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  /  $\text{HNO}_3$  15%, Merck, P.A.
- Solución de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  al 0,03% (w/v) y  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  al 3,3% (v/v): se diluyen 0,03g de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  y 3,3 ml de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  hasta 100 ml de agua Milli-Q. *Se utiliza como modificador de matriz para la determinación de cadmio y cromo.*

En el análisis de cobre (Cu), hierro (Fe), manganeso (Mn) y zinc (Zn) no fue preciso utilizar modificadores de matriz.

#### **III.1.4. REACTIVOS EMPLEADOS EN LA DIGESTIÓN DE LAS MUESTRAS**

- Sistema Milli-Q, Millipore Corp., para la obtención de agua grado reactivo.
- Ácido nítrico Suprapur, HNO<sub>3</sub>, (65%), Merck, P.A.
- Ácido clorhídrico Suprapur, HCl, (30%), Merck, P.A.
- Peróxido de hidrógeno, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, (30%), Merck, P.A.

#### **III.2. MATERIAL E INSTRUMENTACIÓN**

- Agitador de tubos de ensayo, Heidolph, modelo REAX2000.
- Balanza analítica Mettler, modelo AE 260.
- Baño de limpieza por ultrasonidos Selecta, modelo 514.
- Congelador Bosch a -32° C.
- Digestor asistido por microondas Anton Paar Multiwave 3000.
- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo AAnalyst 800, equipado con corrector de fondo Zeeman.
- Espectrofotómetro de absorción atómica Perkin Elmer modelo 560.
- Lámparas de descarga sin electrodos (EDL) Perkin Elmer para As, Cd y Hg.
- Lámparas de cátodo hueco (HCL) Perkin Elmer para Cr, Cu, Fe, Mn, Pb y Zn.
- Tubos de grafito con plataforma integrada de L'vov pirolizada.
- Generador de hidruros Perkin Elmer, modelo FIAS 100 (arsénico).
- Generador de hidruros Perkin Elmer, modelo MHS 10 (mercurio).



- Material de vidrio (matraces, matraces Erlenmeyer, probetas, vasos de precipitado y pesa-sustancias).
- Pipetas Dragon Med de volúmenes variables (50-200  $\mu$ l, 200-1000  $\mu$ l y 1-5 ml).
- Pipeta Rainin de volumen variable (1-10 ml).
- Puntas de plástico desechables para las pipetas.
- Tubos de propileno de 3 y 10 ml.
- Pocillos de fondo cónico de propileno de 2 ml.
- Película autosellante, Parafilm "M".
- Gradillas de plástico.
- Pipetas Pasteur de 3 ml, Copan.

### **III.3. TÉCNICAS DE ANÁLISIS**

La técnica seleccionada para la determinación de las concentraciones totales de metales en las muestras de las plantas medicinales ha sido la Espectrometría de Absorción Atómica –EAA- (*Atomic Absorption Spectrometry, AAS*). En esta técnica se produce la atomización a través de una llama (atomización por llama) o un horno de grafito (atomización electrotérmica). El vapor atómico obtenido absorbe la radiación emitida por una fuente y un detector fotoeléctrico mide la intensidad de dicha radiación. También cabe la posibilidad de que ese vapor atómico sea obtenido generando el hidruro del metal correspondiente ya sea en frío (como en el caso del Hg) o en caliente (para la determinación de As).

#### **III.3.1. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN ELECTROTÉRMICA**

Se utilizó para la determinación de Cd, Cr y Pb. Esta técnica normalmente se emplea cuando se necesita disponer de límites de detección bajos de elementos no muy volátiles como suele ser el caso de los niveles de dichos metales en las muestras

de plantas medicinales y sus extractos (infusiones). En esta técnica es muy importante el uso de un modificador de matriz adecuado, tanto para patrones como para las muestras, para así eliminar las posibles interferencias en la medida. Una vez inyectada la muestra, las condiciones operativas del sistema de atomización, horno de grafito en este caso, transcurren de la siguiente forma:

a) *Etapa de secado*: el objetivo es evaporar el disolvente de la muestra, sin que se produzcan salpicaduras. La temperatura y el tiempo de secado son elegidos en función del volumen de muestra inyectada y de las características del disolvente de la muestra; se recomiendan dos etapas, lo que asegura el secado completo evitando proyecciones de la muestra.

b) *Etapa de calcinación*: el objetivo es eliminar, en la medida de lo posible, la matriz orgánica de la muestra antes de la atomización, lo cual disminuye las posibles interferencias químicas y la magnitud de la señal de fondo. Para esto muchas veces es necesario añadir a la muestra un modificador de matriz que permita estabilizar el elemento a analizar y someterlo a una mayor temperatura de calcinación para que ésta sea más eficaz. También puede convertir las distintas especies de un mismo elemento en una especie común y así evitar la aparición de múltiples picos. La temperatura óptima de calcinación será  $100^{\circ}\text{C}$  inferior a aquella en la que comienza a perderse el elemento de estudio. El tiempo de esta etapa estará en función del volumen de muestra inyectada y de la cantidad de matriz a eliminar.

c) *Etapa de atomización*: la muestra es atomizada para obtener los átomos en estado fundamental. La temperatura a utilizar dependerá de las propiedades del compuesto en el que se encuentra el elemento a analizar y debe ser la temperatura menor de atomización que produce la mayor señal de absorción. El tiempo se establece teniendo en cuenta que el pico de la señal vuelva a la línea base una vez finalizada la etapa.

d) *Etapa de limpieza*: esta última etapa evita un posible efecto memoria. Se calienta el horno a la máxima temperatura durante 2-5 segundos, según el elemento a analizar y la naturaleza de la muestra.

Además, hay que tener en cuenta el tiempo de vida útil de los hornos de grafito el cual depende en gran medida del programa seleccionado y del número de determinaciones. Los tubos han de sustituirse cuando muestren pérdidas de sensibilidad y/o precisión. Antes de comenzar con un tubo de grafito nuevo, éste deberá acondicionarse aumentando la temperatura lenta y progresivamente hasta 2500 °C (mediante varias etapas) para así eliminar posibles impurezas y permitir una distribución uniforme de la temperatura en su interior. El equipo dispone de un programa de acondicionamiento específico.

### **III.3.2. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON GENERACIÓN DE HIDRUROS**

Esta técnica se utiliza para los elementos capaces de formar su hidruro correspondiente (en nuestro caso para el As, el AsH<sub>3</sub> y para el Hg, el HgH<sub>2</sub>). Estos hidruros, al ser volátiles, se arrastran hacia una célula de cuarzo previamente calentada a 900°C en el caso del As y a temperatura ambiente en el caso del Hg (atomización en vapor frío). Los hidruros son producidos por la adición de una solución reductora, NaBH<sub>4</sub> en NaOH, que genera hidrógeno naciente en contacto con los ácidos. Los hidruros gaseosos y el hidrógeno producido son arrastrados por una corriente de argón hacia la célula de cuarzo.

En el sistema de inyección de flujo automático FIAS-100 utilizado para el As, la muestra es llevada al detector en una corriente continua de flujo. Por el contrario, el generador de hidruros MHS-10 utilizado para el Hg opera de forma manual.

### **III.3.3. ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA CON ATOMIZACIÓN POR LLAMA**

Esta técnica es la más sencilla y rápida pero su sensibilidad es algo menor por lo que se utiliza para la determinación de metales que no necesitan un límite de detección muy bajo como es el caso del Cu, Fe, Mn o Zn en las plantas medicinales. La muestra es aspirada por un capilar y transformada en un aerosol que es llevado a una cámara de nebulización. Una vez allí, la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante (en nuestro caso, oxígeno) mezclado con el gas combustible (en nuestro

caso se trata de acetileno) que se transforma en una llama donde se produce la atomización. La llama es atravesada por un haz de radiación a una longitud de onda determinada que será absorbida por los átomos y medidos posteriormente por el sistema de detección.

### **III.4. METODOLOGÍAS PARA EL ANÁLISIS DE ELEMENTOS METÁLICOS EN MUESTRAS DE PLANTAS MEDICINALES**

#### **III.4.1. TRATAMIENTO PREVIO DE LAS MUESTRAS**

Antes del análisis de los metales en las plantas medicinales, como primer paso, fue necesario realizar una molturación para evitar posibles interferencias debido al tamaño y textura diversa de las hojas a analizar.

Además, fue necesario obtener una disolución de la muestra de las plantas. En nuestro estudio se optó por una digestión ácida asistida por la energía de las microondas (Anton Paar, Multiwave 3000). El procedimiento de tratamiento de la muestra fue el siguiente:

- 1- Las muestras de plantas medicinales, previamente dispensadas en sobres de papel, fueron guardadas en frascos secos y limpios en el laboratorio, al objeto de evitar su posible contaminación.
- 2- En el momento de proceder a realizar los análisis, se extrajo una parte alícuota de la muestra, cuyo peso exacto debería ser de 0,5 g, anotándose éste como el *peso seco*.
- 3- Esta porción fue sometida al proceso de digestión ácida (mineralización), depositándola en un tubo de cuarzo junto a 2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 4 ml de HNO<sub>3</sub> suprapuro y 1 ml de HCl suprapuro.
- 4- Los tubos de cuarzo con cada muestra se dispusieron en el digestor junto a un tubo que actuó como *blanco de mineralización* y que contenía todos los reactivos anteriormente citados pero carecía de muestra.

- 5- El digestor fue convenientemente cerrado y se ejecutó el programa de digestión de la librería del equipo denominado “Leaves” y cuyos parámetros están optimizados para muestras de plantas incluyendo hojas, tallos y raíces. Dichos parámetros fueron: 280°C de temperatura, 1400 W de potencia y 80 bar de límite de presión (10 min de rampa hasta alcanzar la temperatura prefijada, 20 min de mantenimiento a 1400 W y 15 min de refrigeración posterior).
- 6- Una vez finalizado el programa de digestión, el contenido de los tubos fue recogido en tubos de propileno de 10 ml, los cuales se sellaron con Parafilm M, procediendo posteriormente a su almacenamiento en la cámara frigorífica a 4°C, quedando así listos para su análisis.

#### **III.4.2. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL ARSÉNICO POR GENERACIÓN DE HIDRUROS (FIAS-100)**

Para llevar a cabo el análisis de arsénico (As) se trató previamente la muestra para reducir el  $\text{As}^{5+}$  (forma en la que se encuentra el arsénico) a  $\text{As}^{3+}$ , estado en el cual se midió. La reducción se llevó a cabo añadiendo a 1 ml de muestra o solución patrón, 1 ml de HCl concentrado y 1 ml de solución al 5% (w/v) de ácido ascórbico/yoduro potásico, siendo esta solución la que conseguiría dicha reducción. Tras una hora a temperatura ambiente, se diluyó con  $\text{H}_2\text{O}$  Milli-Q hasta 10 ml, de tal forma que el HCl quedara al 10%.

La curva patrón para el *calibrado* del espectrómetro se realizó a partir de soluciones hijas obtenidas de la solución patrón comercial del As de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml. Para obtener las soluciones hijas se prepararon diluciones seriadas de la solución madre en 5 tubos de propileno (a-e) procediéndose de esta manera:

- a) Solución madre de 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .
- b) Solución de 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ : 500  $\mu\text{l}$  de a) y 4,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  Milli-Q.
- c) Solución de 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ : 500  $\mu\text{l}$  de b) y 4,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  Milli-Q.
- d) Solución de 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ : 500  $\mu\text{l}$  de c) y 4,5 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  Milli-Q.

e) Solución de 0,1 µg/ml: 500 µl de d) y 4,5 ml de H<sub>2</sub>O Milli-Q.

La preparación de la curva patrón acuosa se llevó a cabo de acuerdo a lo indicado en la tabla 2. Una vez preparada se dejaron reaccionar estos 3 ml durante una hora. Transcurrida la hora, se adicionaron 7 ml de H<sub>2</sub>O Milli-Q a cada uno de los patrones.

**Tabla 2.** Metodología para la realización de la curva patrón acuosa de arsénico.

Concentración (µg /l)	ml As de 0,1 µg/ml	ml de H <sub>2</sub> O Milli-Q	ml HCl concentrado	ml mezcla KI/AA
0	0	1	1	1
0,5	0,05	0,95	1	1
1,5	0,15	0,85	1	1
2,5	0,25	0,75	1	1

En lo que concierne a la *preparación de la muestra*, experiencias previas demostraron la existencia de interferencia de matriz, de ahí que la preparación se realizara según el método de adición, de tal forma que la muestra tuviera una dilución final 1/20 (0,5 ml de muestra en un volumen final de 10 ml).

El método de adición (o adición de patrón interno) se llevó a cabo añadiendo a cada punto de la curva patrón acuosa, una misma cantidad de muestra, en este caso 0,5 ml completando hasta 1 ml con H<sub>2</sub>O Milli-Q (tabla 3). Igualmente, se dejaron reaccionar estos 3 ml una hora y a continuación se agregaron 7 ml de H<sub>2</sub>O Milli-Q a cada una de las muestras.

**Tabla 3.** Metodología para la preparación de las muestras en la determinación de As de acuerdo con el método de adición de patrón.

Concentración (µg/l)	ml As 0,1 µg/ml	ml H <sub>2</sub> O Milli-Q	ml de muestra	ml HCl concentrado	ml mezcla KI/AA
<b>0+X</b>	0	0,5	0,5	1	1
<b>0,5+X</b>	0,05	0,45	0,5	1	1
<b>1,5+X</b>	0,15	0,35	0,5	1	1
<b>2,5+X</b>	0,25	0,25	0,5	1	1

X= Concentración de la muestra.

Las *condiciones* de trabajo del espectrómetro de absorción atómica para la determinación de As fueron las siguientes:

- Lámpara de descarga sin electrodos (EDL) para As.
- Longitud de onda: 193,7 nm
- Rendija: 0,7 nm
- Modo de lectura: altura de pico

Las condiciones en el sistema FIAS fueron:

- Temperatura de la célula: 900°C
- Volumen de inyección de muestra: 500 µl

Además, para la determinación de As total con el sistema FIAS-100 se precisaron varias etapas que se indican en la tabla 4.

**Tabla 4.** Etapas requeridas para la determinación de As mediante el sistema FIAS-100.

Etapa	Tiempo (s)	Velocidad bomba	Posición válvula	Lectura
Pre-llenado	10	120	Llenado	
1ª	10	120	Llenado	
2ª	45	120	Inyección	X
3ª	1	1	Llenado	

Para la obtención de los *resultados* fue necesario realizar una recta de regresión lineal ( $y = a + bx$ ) utilizando como variable dependiente “y” las adiciones efectuadas, es decir, 0; 0,5; 1,5 y 2,5 y como variable independiente “x” sus correspondientes absorbancias corregidas considerando la señal previa del blanco (*Blank Correction Signal*). De esta manera se obtendría la ordenada en el origen (a) y la pendiente (b), siendo la concentración de cada muestra igual a la expresión “a/b x dilución” en nuestro caso a/b x 20 ya que la dilución de la muestra final fue de 20 (0,5 ml de muestra en un volumen final de 10 ml).

#### III.4.3. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE MERCURIO POR GENERACIÓN DE HIDRUROS (MHS-10)

El mercurio (Hg) también utiliza la generación de hidruros para su análisis, pero en este caso no fue necesario aplicar a la determinación de este metal un método de adición. Tanto las muestras como los patrones, fueron preparados con una mezcla de ácidos de HNO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 1,5% (v/v) y se les adicionaron, justo antes de realizar la medida, 0,5 ml de KMnO<sub>4</sub> al 5% como agente oxidante.

Primeramente, la curva de *calibrado* del espectrómetro se realizó a partir de soluciones hijas obtenidas de la solución patrón comercial de Hg de  $1,000 \pm 0,002$  mg/ml. Para obtener las soluciones hijas se prepararon diluciones seriadas de la solución madre en 5 tubos de propileno, procediéndose de esta manera:

- a) Solución madre de 1000 µg/ml.



b) Solución de 100 µg/ml: 500 µl de a) y 4,5 ml de mezcla de ácidos.

c) Solución de 10 µg/ml: 500 µl de b) y 4,5 ml de mezcla de ácidos.

d) Solución de 1 µg/ml: 500 µl de c) y 4,5 ml de mezcla de ácidos.

e) Solución de 0,1 µg/ml: 500 µl de d) y 4,5 ml de mezcla de ácidos.

La preparación de la curva patrón acuosa se llevó a cabo siguiendo lo indicado en la tabla 5:

**Tabla 5.** Metodología para la realización de la curva patrón acuosa de Hg.

<b>Concentración (µg/l)</b>	<b>ml de 0,1 µg/ml</b>	<b>ml de mezcla de ácidos</b>
<b>0</b>	0	10
<b>2,5</b>	0,250	9,75
<b>5</b>	0,500	9,5
<b>10</b>	1	9

Para la *preparación de la muestra* se empleó la misma mezcla de ácidos, diluyendo con 9 ml de ésta, 1 ml de muestra. Por ello, la dilución en este caso fue de 1/10.

Las *condiciones* instrumentales del espectrómetro de absorción atómica para la determinación del Hg total fueron las siguientes:

- Lámpara de descarga sin electrodos (EDL) para Hg.
- Longitud de onda: 253,6 nm
- Rendija: 0,7 nm
- Modo de lectura: altura de pico

Las condiciones en el sistema MHS-10 fueron las siguientes:

- Temperatura de la célula: ambiente (no precisa ser precalentada)
- Inyección manual de la muestra

Los *resultados* se obtuvieron al interpolar los datos de absorbancia corregidos con el blanco (aportado únicamente por la muestra de ácidos) en la curva de calibrado.

### III.4.4. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES POR HORNO DE GRAFITO

#### III.4.4.I. Cadmio

##### 1- Soluciones hijas

- a) Solución madre de 1000 µg/ml.
- b) Solución de 100 µg/ml: 500 µl de a) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%.
- c) Solución de 10 µg/ml: 500 µl de b) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%.
- d) Solución de 1 µg/ml: 500 µl de c) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%.
- e) Solución de 0,1 µg/ml: 500 µl de d) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%.
- f) Solución de 0,01 µg/ml: 500 µl de e) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%.

##### 2- Patrones

Para realizar la curva patrón de cadmio se añadieron las cantidades de la solución de 0,01 µg/ml de Cd y de HNO<sub>3</sub> al 0,2% que se indican en la tabla 6:

**Tabla 6.** Curva patrón de calibrado para la determinación de Cd

Concentración (µg/l)	ml Cd de 0,01 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
0	0	5
0,5	0,25	4,75
1	0,50	4,50
1,5	0,75	4,25

##### 3- Muestra

Se agregaron 400  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  Milli-Q a 100  $\mu\text{l}$  de muestra consiguiéndose de este modo una dilución 1/5.

#### 4- Modificador de matriz

Muestras y patrones precisaron de la adición de un modificador de matriz. Para la determinación de Cd el que se utilizó fue el compuesto por una mezcla de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  al 0,03% y  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  al 3,3%.

#### 5- Condiciones en el espectrofotómetro de absorción atómica

– Lámpara de descarga sin electrodos (EDL) para Cd

– Longitud de onda: 228,8 nm

– Rendija: 0,7 nm

– Modo de lectura: área de pico

– Corrector de fondo: Zeeman

– Tiempo de retardo (s): 0

– Volumen de muestra ( $\mu\text{l}$ ): 20

– Volumen de modificador ( $\mu\text{l}$ ): 20

– Programación del horno (ver tabla 7):

**Tabla 7.** Programación de temperaturas para la determinación de Cd

Temperaturas (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de mantenimiento (s)	Ar ( $\text{ml min}^{-1}$ )	Lectura
100	10	5	250	
120	5	10	250	
600	10	10	250	
700	10	5	250	
1600	0	5	0	X
2600	4	6	250	

### III.4.4.2. Cromo

#### 1- Soluciones hijas

- a) Solución madre de 1000 µg/ml
- b) Solución de 100 µg/ml: 500 µl de a) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%
- c) Solución de 10 µg/ml: 500 µl de b) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%
- d) Solución de 1 µg/ml: 500 µl de c) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%
- e) Solución de 0,1 µg/ml: 500 µl de d) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%
- f) Solución de 0,01 µg/ml: 500 µl de e) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

#### 2- Patrones

Para realizar la curva patrón de cromo se adicionaron las cantidades de la solución de 0,01 µg/ml de Cr y de HNO<sub>3</sub> 0,2% que se relacionan en la siguiente tabla:

**Tabla 8.** Curva patrón de calibrado para la determinación de Cr

Concentración (µg/ml)	ml Cr de 0,01 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
<b>0,001</b>	0,5	4,5
<b>0,003</b>	1,5	3,5
<b>0,005</b>	2,5	2,5

#### 3- Muestra

Se agregaron 1950 µl de H<sub>2</sub>O Milli-Q a 50 µl de muestra consiguiéndose de este modo una dilución 1/40.

#### 4- Modificador de matriz

Las muestras y patrones precisaron de la adición de un modificador de matriz. Para la determinación de Cr el que se utilizó fue el compuesto por una solución de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  y  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  en  $\text{H}_2\text{O}$  mili-Q.

*5- Condiciones en el espectrofotómetro de absorción atómica*

- Lámpara de cátodo hueco (HCL) para Cr
- Longitud de onda: 357,9 nm
- Rendija: 0,7 nm
- Modo de lectura: área de pico
- Corrector de fondo: Zeeman
- Tiempo de retardo (s): 0
- Volumen de muestra ( $\mu\text{l}$ ): 10
- Volumen de modificador ( $\mu\text{l}$ ): 10
- Programación del horno: se detalla a continuación en la tabla 9.

**Tabla 9.** Programación de temperaturas para la determinación de Cr

Temperaturas (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de mantenimiento (s)	Ar ( $\text{ml min}^{-1}$ )	Lectura
110	1	30	250	
130	15	30	250	
1500	10	20	250	
2400	0	5	0	X
2600	1	3	250	

**III.4.4.3. Plomo**

*1- Soluciones hijas*

- a) Solución madre de 1000  $\mu\text{g/ml}$
- b) Solución de 100  $\mu\text{g/ml}$ : 500  $\mu\text{l}$  de a) y 4,5 ml de  $\text{HNO}_3$  0,2%

c) Solución de 10 µg/ml: 500 µl de b) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

d) Solución de 1 µg/ml: 500 µl de c) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

## 2- Patrones

Para realizar la curva patrón de plomo se adicionaron las cantidades de la solución de 1 µg/ml de Pb y de HNO<sub>3</sub> 0,2% que se relacionan en la siguiente tabla:

**Tabla 10.** Curva patrón de calibrado para la determinación del Pb

Concentración (µg /l)	ml Pb de 1 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
0	0	5
50	0,25	4,75
100	0,5	4,5
200	1	4

## 3- Muestra

Se agregaron 400 µl de H<sub>2</sub>O Milli-Q a 100 µl de muestra consiguiéndose de este modo una dilución 1/5.

## 4- Modificador de matriz

Muestras y patrones precisaron de la adición de un modificador de matriz. Para la determinación de Pb el que se utilizó fue una solución de (NH<sub>4</sub>)H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> al 1 % (w/v) en agua Milli-Q.

## 5- Condiciones en el espectrofotómetro de absorción atómica

– Lámpara de cátodo hueco (HCL) para Pb

– Longitud de onda: 283,3 nm

– Rendija: 0,7 nm

- Modo de lectura: área de pico
- Corrector de fondo: Zeeman
- Tiempo de retardo (s): 0
- Volumen de muestra ( $\mu\text{l}$ ): 10
- Volumen de modificador ( $\mu\text{l}$ ): 10
- Programación del horno: queda detallada en la tabla 11

**Tabla 11.** Programación de temperaturas para la determinación de Pb

Temperaturas (°C)	Tiempo de rampa (s)	Tiempo de mantenimiento (s)	Ar ( $\text{ml min}^{-1}$ )	Lectura
110	10	10	250	
200	10	10	250	
800	10	10	250	
850	10	5	250	
1700	0	5	0	X
2600	1	3	250	

### III.4.5. METODOLOGÍA ANALÍTICA PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES POR LLAMA

#### III.4.5.I. Cobre (Cu)

##### 1- Soluciones hijas

- a) Solución madre de 1000  $\mu\text{g/ml}$
- b) Solución de 100  $\mu\text{g/ml}$ : 500  $\mu\text{l}$  de a) y 4,5 ml de  $\text{HNO}_3$  0,2%
- c) Solución de 10  $\mu\text{g/ml}$ : 500  $\mu\text{l}$  de b) y 4,5 ml de  $\text{HNO}_3$  0,2%

## 2- Patrones

Para realizar la curva patrón de Cu se añadieron las cantidades de la solución de 10 µg/ml y de HNO<sub>3</sub> 0,2% que se indican en la siguiente tabla:

**Tabla 12.** Curva patrón de calibrado para la determinación del Cu

Concentración (µg /ml)	ml de 10 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
0	0	5
0,625	0,3152	4,6875
1,25	0,625	4,375
2,5	1,25	3,75
5	2,5	2,5

## 3- Muestra

Se agregaron 750 µl de H<sub>2</sub>O Milli-Q a 250 µl de muestra consiguiéndose de este modo una dilución 1/4 de la muestra. El volumen final de muestra preparado fue mucho mayor al empleado en la técnica del horno de grafito ya que la técnica de llama consume más volumen.

## 4- Modificador de matriz

No precisa

## 5- Condiciones en el espectrofotómetro de absorción atómica

–Lámpara de cátodo hueco (HCL) para Cu

–Longitud de onda: 324,8 nm

–Rendija: 0,7 nm



- Modo de lectura: tiempo medio
- Tiempo de retardo (s): 0
- Caudal de gas oxidante (O<sub>2</sub>): 18,0 l/min
- Caudal de gas combustible (acetileno): 2,5 l/min

### III.4.5.2. Hierro (Fe)

#### 1- Soluciones hijas

- a) Solución madre de 1000 µg/ml
- b) Solución de 100 µg/ml: 500 µl de a) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%
- c) Solución de 10 µg/ml: 500 µl de b) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

#### 2- Patrones

Para realizar la curva patrón de Fe se añadieron las cantidades de la solución de 10 µg/ml y de HNO<sub>3</sub> 0,2% que se indican en la siguiente tabla:

**Tabla 13.** Curva patrón de calibrado para la determinación de Fe

Concentración (µg /ml)	ml de 10 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
0	0	5
1,25	0,625	4,375
2,5	1,25	3,75
5	2,5	2,5

#### 3- Muestra

Se agregaron 750 µl de H<sub>2</sub>O Milli-Q a 250 µl de muestra consiguiéndose de este modo una dilución 1/4.

#### 4- Modificador de matriz

No precisa

#### 5- Condiciones en el espectrofotómetro de absorción atómica

- Lámpara de cátodo hueco (HCL) para Fe
- Longitud de onda: 248,3 nm
- Rendija: 0,7 nm
- Modo de lectura: tiempo medio
- Tiempo de retardo (s): 0
- Caudal de gas oxidante (O<sub>2</sub>): 18,0 l/min
- Caudal de gas combustible (acetileno): 2,5 l/min

### III.4.5.3. Manganeso (Mn)

#### 1- Soluciones hijas

- a) Solución madre de 1000 µg/ml
- b) Solución de 100 µg/ml: 500 µl de a) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%
- c) Solución de 10 µg/ml: 500 µl de b) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%
- d) Solución de 1 µg/ml: 500 µl de c) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

#### 2- Patrones

Para realizar la curva patrón de Mn se añadieron las cantidades de la solución de 1 µg/ml y de 10 µg/ml de Mn y HNO<sub>3</sub> 0,2% que se indican en la tabla siguiente:

**Tabla 14.** Curva patrón de calibrado para la determinación del Mn

Concentración (mg /l)	ml Mn de 1 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
0	0	5
0,5	2,5	2,5
1	5	0
	ml Mn de 10 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
2	1	4

*3- Muestra*

Se agregaron 750 µl de H<sub>2</sub>O Milli-Q a 250 µl de muestra consiguiéndose de este modo una dilución 1/4.

*4- Modificador de matriz*

No precisa

*5- Condiciones en el espectrofotómetro de absorción atómica*

- Lámpara de cátodo hueco (HCL) para Mn
- Longitud de onda: 279,5 nm
- Rendija: 0,7 nm
- Modo de lectura: tiempo medio
- Tiempo de retardo (s): 0
- Caudal de gas oxidante (O<sub>2</sub>): 17,0 l/min
- Caudal de gas combustible (acetileno): 2,0 l/min

**III.4.5.4. Zinc (Zn)**

*1- Soluciones hijas*

- a) Solución madre de 1000 µg/ml: del laboratorio.
- b) Solución de 100 µg/ml: 500 µl de a) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

c) Solución de 10 µg/ml: 500 µl de b) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

d) Solución de 1 µg/ml: 500 µl de c) y 4,5 ml de HNO<sub>3</sub> 0,2%

## 2- Patrones

Para realizar la curva patrón de Zn se añadieron las cantidades de la solución de 1 µg/ml y de 10 µg/ml de Zn y de HNO<sub>3</sub> 0,2%, como se indica en la siguiente tabla:

**Tabla 15.** Curva patrón de calibrado para la determinación del Zn

Concentración (mg /l)	ml Zn de 1 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
0	0	5
0,5	2,5	2,5
1	5	0
	ml Zn de 10 µg/ml	ml HNO <sub>3</sub> 0,2%
2	1	4

## 3- Muestra

Se agregaron 750 µl de H<sub>2</sub>O Milli-Q a 250 µl de muestra consiguiéndose de este modo una dilución 1/4.

## 4- Modificador de matriz

No precisa

## 5- Condiciones en el espectrofotómetro de absorción atómica

–Lámpara de cátodo hueco (HCL) para Zn

–Longitud de onda: 213,9 nm

- Rendija: 0,7 nm
- Modo de lectura: tiempo medio
- Tiempo de retardo (s): 0
- Caudal de gas oxidante (O<sub>2</sub>): 18,0 l/min
- Caudal de gas combustible (acetileno): 2,5 l/min

### **III.5. VALIDACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS**

En el contexto de los objetivos de la calidad del proyecto de tesis y concretamente en la determinación de los elementos metálicos en las muestras de plantas medicinales, creímos absolutamente necesario contar con una validación analítica que permitiera conocer diversos parámetros de acuerdo a la Normativa Internacional (UNE-EN ISO/IEC 17025:2005) y que incluyen los límites de detección y cuantificación, los intervalos de linealidad, la precisión (mínima, repetitividad y precisión intermedia), la exactitud y la recuperación.

En el caso de nuestro laboratorio, los métodos utilizados en el estudio para la determinación de As total, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg total, Mn, Pb y Zn descritos en los apartados anteriores fueron parcialmente validados con anterioridad (Gil et al., 2006; Olmedo et al., 2010; Gil et al., 2011). El límite de detección (LOD) fue calculado como  $3 \text{ SD}/b$ , donde SD es la desviación estándar de 10 inyecciones sucesivas de un blanco y b es la pendiente de la recta de calibrado. El límite de cuantificación (LOQ) fue calculado como  $10 \text{ SD}/b$ .

### **III.6. CONTROL DE CALIDAD DE LOS ENSAYOS, CHEQUEO DEL EQUIPO Y LIMPIEZA DE MATERIAL**

#### **III.6.1. CONTROL DE CALIDAD DE LOS ENSAYOS**

Consiste en la repetición, en la misma tanda de análisis, de la misma muestra, de una porción de ésta o de alícuotas de una de ellas. Esta actividad elimina los errores

accidentales (error de lectura de los datos, de cálculo, etc.) y mejora la estimación del verdadero valor de las muestras. Al mismo tiempo, suministra información sobre la variabilidad inherente a la muestra y sobre la repetitividad de los resultados.

Durante el análisis de las muestras se analizó un patrón cada 10-15 muestras. El valor de dicho patrón nos sirvió también como control de calidad y para asegurar la óptima calibración del instrumental. Además, se analizaron los blancos de mineralización con cada serie de muestras.

### **III.6.2. CHEQUEO DEL EQUIPO**

Se chequeó el equipo en cada sesión de trabajo en relación a la observación de tres parámetros:

- El coeficiente de correlación lineal de la recta de calibrado. Este debería ser de al menos 0,995.

- Las medidas de precisión y exactitud deberían estar comprendidas entre la media  $\pm 3SD$ , siendo SD la desviación estándar correspondiente a la repetibilidad del método.

### **III.6.3. MATERIALES DE REFERENCIA**

Con objeto de comprobar la exactitud de los diferentes métodos analíticos validados, se utilizaron dos tipos de muestras certificadas de composición similar a la muestra en estudio, es decir, hojas de plantas. Los materiales elegidos fueron:

- \* BCR-62 “olive leaves” (Brussels, Belgium)
- \* NIST-SRM 1573a “tomato leaves” (Michigan, USA).

### **III.6.4. LIMPIEZA DEL MATERIAL**

Se empleó material desechable de polietileno previamente analizado para los elementos objeto del estudio, comprobando la ausencia de dichos metales. El resto del

material no desechable de polietileno, propileno y vidrio se sumergió en agua con detergente dentro de un baño de ultrasonidos durante 30 minutos. Se enjuagó con agua milli-Q y a continuación se sumergió en HNO<sub>3</sub> al 20% (v/v) situándolo de nuevo dentro del baño de ultrasonidos durante otros 30 minutos. Se enjuagó abundantemente con agua milli-Q tres veces. Por último, se secó en una estufa a 60 °C. Una vez seco, el material se almacenó en bolsas de plástico estériles.

### **III.7. PROTOCOLO DE MUESTREO**

#### **III.7.1. MUESTRAS BIOLÓGICAS**

Un total de 220 muestras fueron recogidas en el presente estudio. Las muestras fueron adquiridas en diferentes puntos de venta: dos correspondientes a supermercados (incluían marcas blancas y marcas comerciales registradas), otro procedente de herbolarios y finalmente otro de un mercado tradicional de venta a granel ubicado en Granada.

El formato de venta fue el de bolsas dispensables en el caso de los supermercados, frente a las hojas sueltas tanto en el caso del herbolario como en el del mercado tradicional.

El origen geográfico de las plantas medicinales, la estación de recogida de las mismas, las partes de las hierbas recolectadas así como las condiciones bajo las que fueron desecadas, fueron desconocidas al no figurar dichas características en las etiquetas de venta de los diferentes establecimientos donde fueron adquiridas. Tampoco fue posible obtener la información completa en el caso del mercado tradicional.

Para realizar los análisis, fueron adquiridas cinco unidades de cada formato de venta, excepto en el caso de la salvia (no se encontró la marca comercial), hierbaluisa (no se halló la marca blanca) y flor de azahar (no se encontraron ni la marca blanca ni la comercial).

Las muestras fueron seleccionadas de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión:

- 1) Consumo frecuente en Andalucía y España (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2008);
- 2) Muestras usualmente existentes en supermercados o grandes superficies comerciales en formato de bolsa dispensable.

Como criterio de exclusión se estableció el que hubieran caducado o estuvieran próximas a hacerlo.

Las doce muestras finalmente seleccionadas fueron:

- \* Menta Poleo (*Mentha piperita*)
- \* Tomillo (*Thymus vulgaris*)
- \* Salvia (*Salvia officinalis*);
- \* Manzanilla (*Matricaria chamomilla*)
- \* Tila (*Tilia sp.*)
- \* Valeriana (*Valeriana officinalis*)
- \* Cola de caballo (*Equisetum arvense*)
- \* Sen (*Cassia angustifolia*)
- \* Hierbaluisa (*Aloysia triphylla*)
- \* Té rojo (*Aspalathus linearis*)
- \* Té verde (*Camellia sinensis*)
- \* Flor de Azahar (*Citrus sp.*)

### III.7.2. TAMAÑO MUESTRAL

Respecto del tamaño de muestra, de acuerdo con el Reglamento 333/2007 de la Comisión Europea de 28 de marzo, el número mínimo de muestras elementales que deben tomarse del lote es 3 (para mayor detalle, ver apartado B.2 referido a los planes de muestreo, cuadro número 3, en URL <http://www.boe.es/doue/2007/088/L00029-00038.pdf>, accesible el 20 de abril de 2017).



No obstante, tomando como referencia los datos aportados por Meena et al. (2010) y de acuerdo con los resultados obtenidos en el estudio piloto realizado en nuestro laboratorio, asumiendo una confianza del 95% y una potencia estadística del 80% se precisaban 5 individuos por especie, lo que es ligeramente superior a lo indicado en la normativa anterior. Así mismo y siguiendo las sugerencias de diversos autores (Choudhury et al., 2006; Rubio et al., 2012), finalmente se tomaron 5 muestras diferentes de hoja desecada para cada tipo de planta medicinal procedentes, a su vez, de los 3 puntos de venta, uno de los cuales (supermercados) a su vez presentaba dos tipos diferentes de muestras (marca blanca y marca registrada o comercial).

### **III.7.3. CODIFICACIÓN**

A cada bolsa de plástico con las muestras de plantas se le colocó una etiqueta para identificarlas mediante un código con una numeración. La etiqueta con el código se ubicó en el lateral de cada recipiente de polipropileno. Además, se realizó una base de datos Excel en la que se registraron los códigos, los nombres de las plantas a las que correspondían y la procedencia de las mismas.

### **III.7.4. TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO**

Las muestras colocadas en sus bolsas y recipientes de polipropileno correspondientes, con sus respectivos códigos, fueron empaquetadas y selladas para evitar así su posible contaminación hasta el momento de la digestión y análisis. Para conservar el sobrante, se utilizó el mismo vaso de plástico en el que fue previamente almacenado.

### **III.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS**

Los niveles de elementos metálicos, minerales y metaloides estudiados se han expresado como media y desviación estándar. Para los cálculos, cuando el nivel del elemento se encontró por debajo del LOD, la concentración establecida fue el LOD/2. El test de no paramétrico de Kruskal-Wallis fue utilizado para comparar los niveles de

minerales, elementos metálicos y metaloide entre las diferentes plantas medicinales y puntos de venta. Cuando se observaron diferencias significativas, se empleó el test de Mann-Whitney para valorar diferencias entre parejas de categorías de plantas medicinales, con la corrección de Bonferroni.

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico IBM SPSS 20 (Chicago, IL, USA).

### **III.9. EVALUACIÓN DEL RIESGO PARA EL CONSUMIDOR**

Para cada elemento del estudio se calculó la "ingesta diaria estimada" (EDI), parámetro fundamental en la evaluación crónica del riesgo para la salud, utilizando el contenido medio analizado en las plantas medicinales (mg/kg), el peso corporal medio de un adulto (60 kg) así como el consumo máximo diario de plantas medicinales (g/día). Este último se basó en las recomendaciones del Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos (CGCOF, 2010), de la Agencia Europea del Medicamento (EMA, 2005-2014), de las monografías seleccionadas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre plantas medicinales (WHO, 1999-2009) así como de la dosificación diaria o posología recomendada por los propios fabricantes de los productos comercializados.

En la interpretación de los valores EDI calculados, se consideró tanto el porcentaje de solubilización de cada contaminante en las infusiones de las plantas medicinales como su biodisponibilidad en función del porcentaje de absorción intestinal.

Se comparó el EDI con los valores de referencia para cada contaminante (TDI o ingestión diaria tolerable; PTWI o ingesta semanal provisional tolerable; UL o límite tolerable superior, y la BMDL<sub>01</sub> (*Benchmark Dose Lower Confidence Limit*), es decir, el límite inferior del intervalo de confianza al 95% correspondiente a un incremento del 1 % del riesgo.

Por otra parte, dado que ciertos elementos estudiados se consideran esenciales para el organismo, como ya se indicó en la introducción, se realizó una evaluación

nutricional comparando la ingesta diaria estimada de las diferentes especies de plantas medicinales estudiadas con la Ingesta Diaria Recomendada (RDA) considerada como aquella ingesta dietética diaria suficiente como para cubrir los requerimientos nutricionales de casi todos (97-98%) los individuos sanos de un grupo o la Ingesta Adecuada (IA) para estos elementos minerales (FNB / OIM, 2001; EFSA, 2016). En este sentido la IA es idéntica a la RDA, pero en este caso no se dispone de información suficiente como para especificar el porcentaje de individuos en los que dicha ingesta se considera suficiente.

Así mismo se consideró que la cantidad de contaminantes en plantas medicinales individuales no superara el 10% de la ingesta diaria admisible total para cada contaminante. Este límite de corte para los valores de referencia se ha sugerido previamente para el contenido de metales pesados en suplementos dietéticos (NSF International, 2008). Por ello, se podría considerar que las muestras con niveles de contaminantes por encima del límite de corte del 10% contribuirían a elevar los niveles de impregnación basales, debido a la exposición de estos elementos a través de otras vías, incluyendo los alimentos y el agua potable.

La evaluación de la exposición al metal en la dieta a partir de la ingesta de plantas medicinales se estimó utilizando las concentraciones medias de los elementos metálicos, metaloides y minerales estudiados.

Así, para el As, la evaluación del riesgo se realizó utilizando el  $BMDL_{01}$ . Dado que el As inorgánico se considera potencialmente genotóxico y cancerígeno, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2009a) recomendó usar como valor de referencia el  $BMDL_{01}$ , que considera un riesgo adicional del 1%.

En el caso del Cd, Hg y Pb, el riesgo para la salud de los consumidores se evaluó mediante la comparación de la ingesta dietética estimada de estos elementos metálicos con la ingesta provisional semanal tolerable (PTWI).

Asimismo, se evaluó la ingesta de elementos minerales (Cr, Zn, Cu, Fe y Mn) procedente de las plantas medicinales utilizando los niveles recomendados en las guías tales como el TDI (ingesta diaria tolerable), PMTDI (ingesta diaria provisional máxima tolerable) y UL (ingesta máxima tolerable). El UL es el mayor nivel de ingesta diaria de

un nutriente que se considera no posee efectos adversos para la salud para “casi todos” los individuos de la población general. Se recomienda que el valor UL no se sobrepase rutinariamente.

## **IV. RESULTADOS**



## **IV. RESULTADOS**

### **IV.I. VALIDACIÓN ANALÍTICA**

Las tablas 16 y 17 muestran los resultados correspondientes a la validación de los métodos analíticos utilizados para la determinación de As total, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg total, Mn, Pb y Zn.

La respuesta instrumental se consideró lineal para la curva de calibración seleccionada para cada uno de los elementos estudiados y los coeficientes de correlación fueron superiores a 0,997 en todos los casos.

Los límites de detección (LOD), cuantificación (LOQ) y la precisión (mínima, intermedia y reproducibilidad) de los procedimientos analíticos también se recogen en las tablas 16 y 17. Así mismo, se observan unos bajos coeficientes de variación (valorados a través de los datos de precisión), que fueron inferiores, en la mayoría de los casos, al 5%.

Igualmente, en las tablas 16 y 17 a modo de resumen, se detallan los factores de dilución, la técnica empleada y el tipo de lámpara empleada (HCL o EDL) así como la necesidad o no, de modificador de matriz (Cd, Cr y Pb).

En el caso de los elementos minerales, analizados todos por el procedimiento de llama, se ha eliminado la columna correspondiente al modificador de matriz ya que no fue necesario su uso en ningún caso.

Los resultados de los ensayos de recuperación relativos a elementos metálicos y metaloides (tabla 18) y minerales (tabla 19) muestran que la mayor parte de las recuperaciones cayeron dentro del rango de aceptación del 90-110%, indicando por tanto una buena concordancia con respecto a los valores teóricos. En el material certificado (CRM) correspondiente a “hojas de tomate” (SRM 1573<sup>a</sup>), no se dispuso de valores certificados para Cd y Hg. Tampoco se dispuso de valores certificados para el material “hojas de olivo” (BCR-62) en el caso del Fe.

**Tabla 16.** Procedimientos analíticos para la determinación de elementos metálicos y metaloides en plantas medicinales

Elemento	Rango de la curva de calibración (mg l <sup>-1</sup> )	LOD/LOQ (mg Kg <sup>-1</sup> )	Precisión (%) Mínima-Intermedia- Reproducibilidad	Dilución	Técnica	Lámpara	Modificador de matriz
As	0 - 2,5 x 10 <sup>-2</sup>	3,30 x 10 <sup>-3</sup> /1,0 x 10 <sup>-2</sup>	3,51-6,70-5,09	1:20	Generación de hidruros (método de adición)	Descarga sin electrodos	-
Cd	0 - 5,0 x 10 <sup>-3</sup>	3,30 x 10 <sup>-3</sup> /1,0 x 10 <sup>-2</sup>	2,62-4,94-3,45	1:5/1:10	Horno de grafito	Descarga sin electrodos	0,3 g l <sup>-1</sup> de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + 0,33g l <sup>-1</sup> de Pd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Cr	0 - 5,0 x 10 <sup>-3</sup>	0,02/0,07	4,36-2,32-3,29	1:40	Horno de grafito	Cátodo hueco	1 g l <sup>-1</sup> de Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> + 0,5 g l <sup>-1</sup> de Pd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Hg	0 - 0,01	2,20 x 10 <sup>-4</sup> /7,0 x 10 <sup>-4</sup>	1,98-3,56-2,20	1:10	Generación de hidruros (vapor frío)	Descarga sin electrodos	-
Pb	0 - 0,20	0,09/0,27	3,21-2,63-2,98	1:5/1:6	Horno de grafito	Cátodo hueco	10 g l <sup>-1</sup> de NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>

**LOD / LOQ:** Límite de detección / Límite de cuantificación



**Tabla 17.** Procedimientos analíticos para la determinación de elementos minerales en plantas medicinales

Elemento	Rango de la curva de calibración	LOD/LOQ	Precisión (%)	Dilución	Técnica	Lámpara
	(mg l <sup>-1</sup> )	(mg Kg <sup>-1</sup> )	Mínima-Intermedia- Reproducibilidad			
Cu	0 - 5	9,81 x 10 <sup>-4</sup> /3,27 x 10 <sup>-3</sup>	1,37-4,44-6,67	1:4/1:10	Llama	Cátodo hueco
Fe	0 - 5	0,16/0,54	1,03-1,20-2,35	1:4/1:20	Llama	Cátodo hueco
Mn	0 - 1	6,38 x 10 <sup>-4</sup> /2,13 x 10 <sup>-3</sup>	1,76-2,57-4,46	1:4/1:10	Llama	Cátodo hueco
Zn	0 - 1	0,14/0,46	1,83-4,53-8,21	1:4	Llama	Cátodo hueco

**LOD / LOQ:** Límite de detección / Límite de cuantificación

**Tabla 18.** Parámetros de recuperación y concentraciones obtenidas en los materiales de referencia empleados para determinación de elementos metálicos y el metaloide seleccionados

Elementos	Material de referencia certificado	n	Concentración	RSD	Concentración	Recuperación (%)
			obtenida (mg kg <sup>-1</sup> ) media (rango)		certificada (mg kg <sup>-1</sup> )	
As	BCR-62 hojas de olivo	1	0,21		0,2	105
	SRM 1573a hojas de tomate	1	0,24		0,22 - 0,32	90,4
Cd	BCR-62 hojas de olivo	3	0,08 (0,07-0,08)	10,3	0,08 - 0,12	90,2
	SRM 1573a hojas de tomate	5	2,83 (2,80-2,87)	0,97	3*	94,3
Cr	BCR-62 hojas de olivo	3	1,89 (1,86-1,91)	1,41	2	95,3
	SRM 1573a hojas de tomate	3	4,06 (4,05-4,07)	0,28	4 - 5	90,2
Hg	BCR-62 hojas de olivo	2	0,30 (0,27-0,32)	11,99	0,28	105
	SRM 1573a hojas de tomate	3	0,11 (0,10-0,12)	10,71	0,1*	110
Pb	BCR-62 hojas de olivo	4	29,0 (28,8-29,5)	1,09	23,5 - 26,5	116
	SRM 1573a hojas de tomate	5	6,32 (6,27-6,37)	0,58	6,0 - 6,6	100

\*Valores no certificados; RSD: Desviación estándar relativa

**Tabla 19.** Parámetros de recuperación y concentraciones obtenidas en los materiales de referencia empleados para determinación de elementos minerales seleccionados

Elementos	Material de referencia certificado	n	Concentración	RSD	Concentración	Recuperación (%)
			obtenida (mg kg <sup>-1</sup> ) media (rango)		certificada (mg kg <sup>-1</sup> )	
Cu	BCR-62 hojas de olivo	5	51.6 (45.5-54.6)	6.98	44.2 - 47.8	112
	SRM 1573a hojas de tomate	5	11,1 (8,68-12-9)	14,1	10 - 12	100
Fe	BCR-62 hojas de olivo	2	293 (288-298)	2,23	280*	104
	SRM 1573a hojas de tomate	4	695 (682-707)	1,84	665 - 715	101
Mn	BCR-62 hojas de olivo	3	56,0 (55,6-58,8)	2,87	54,6 - 59,4	98,3
	SRM 1573a hojas de tomate	4	236 (209-259)	11,0	231 - 245	99,1
Zn	BCR-62 hojas de olivo	6	17,1 (14,6-19,3)	9,29	15,3 - 16,7	107
	SRM 1573a hojas de tomate	6	65,5 (54,6-72,2)	10,6	56 - 68	106

\*Valores no certificados; RSD: Desviación estándar relativa

#### IV.II. NIVELES DE ELEMENTOS METÁLICOS, METALOIDES Y MINERALES EN PLANTAS MEDICINALES

Las tablas 20 y 21 muestran la distribución de los niveles de elementos metálicos, metaloides y minerales, expresados en  $\mu\text{g/g}$ , en las diferentes plantas medicinales estudiadas.

El 96,8% de las muestras arrojaron concentraciones detectables, oscilando entre el 47,5% para Hg total y el 100% de las muestras en el caso del As, Zn y Mn.

Las medianas así como el percentil 95 (situado entre paréntesis para cada elemento) fueron de 0,18 (0,50); 0,05 (0,36); 1,10 (5,57); 0,002 (0,06) y 0,80 (2,39)  $\text{mg kg}^{-1}$  para As total, Cd, Cr, Hg total y Pb, respectivamente, y se recogen en la tabla 20 relativa a elementos metálicos y metaloides.

De igual modo, las medianas así como el percentil 95 (situado entre paréntesis para cada elemento) para los diferentes elementos minerales analizados fueron de 28,2 (40,4); 8,25 (20,0); 395 (1070) y 67,1 (1503)  $\text{mg kg}^{-1}$  para Zn, Cu, Fe y Mn, respectivamente (tabla 21).

**Tabla 20.** Concentración de elementos metálicos y metaloides expresada en  $\text{mg kg}^{-1}$  en la totalidad de las plantas analizadas

Elemento	n	<LOD (%)	AM (SD)	MG	P25	Mediana	P75	P95	Máximo
As	213	0,00	0,20 (0,13)	0,17	0,11	0,18	0,26	0,50	0,54
Cd	212	12,70	0,08 (0,11)	0,02	0,02	0,05	0,08	0,36	0,60
Cr	214	9,30	1,73 (1,55)	1,19	0,60	1,10	2,30	5,57	6,45
Hg	219	52,50	0,02 (0,02)	0,0003	<LOD <sup>1</sup>	<LOD <sup>1</sup>	0,02	0,06	0,11
Pb	207	9,20	1,00 (0,84)	0,42	0,30	0,80	1,62	2,39	3,86

AM (SD): Media aritmética (Desviación estándar); MG: Media geométrica; Px: Percentil x expresado en  $\mu\text{g/g}$ . <sup>1</sup>LOD (Límite de detección) de Hg: 0,002 Hg ( $\text{mg kg}^{-1}$ ). Para el análisis, los valores inferiores al LOD fueron imputados como el LOD/2

**Tabla 21.** Concentración de elementos minerales expresada en mg kg<sup>-1</sup> en la totalidad de las plantas analizadas

Elemento	n	<LOD (%)	AM (SD)	MG	P25	Mediana	P75	P95	Máximo
Zn	207	0,00	27,97 (8,62)	26,6	20,9	28,2	34,6	40,4	53,8
Cu	217	2,80	9,72 (5,79)	6,40	5,66	8,25	13,04	20,04	28,36
Fe	201	0,50	532,64 (441,83)	402	261	395	756	1070	3300
Mn	200	0,00	254,17 (469,10)	87,7	36,4	67,1	110	1503	2200

AM (SD): Media aritmética (Desviación estándar); MG: Media geométrica; Px: Percentil x expresado en µg/g. LOD: Límite de detección

La concentración expresada como mg kg<sup>-1</sup> ± desviación estándar de los elementos metálicos y metaloides en plantas medicinales clasificadas en función de los diferentes puntos de venta se indican en la tabla 22. De forma idéntica, las concentraciones para los elementos minerales se detallan en la tabla 23.

Los contenidos de metales, metaloides y elementos minerales variaron significativamente dependiendo del lugar de adquisición. Como se observa en la tabla 22, se encontró una ausencia de significación estadística para el Cr en las muestras de salvia (más concretamente entre la marca blanca procedente de supermercados, la del mercado tradicional y la de herbolario) y para la flor de azahar (entre el mercado tradicional y el herbolario).

En el caso del Hg total no se halló significación estadística en las muestras de salvia, valeriana, té verde y flor de azahar (tabla 22) así como en el caso del Fe en el tomillo (tabla 23).

**Tabla 22.** Concentración de elementos metálicos y metaloides expresada como mg kg<sup>-1</sup> ± desviación estándar en las plantas medicinales analizadas y clasificada en función del punto de venta

Planta medicinal	Punto de venta	As	Cd	Cr	Hg	Pb	
<b>Menta</b> ( <i>Mentha piperita</i> )	S	MB	0,154 ± 0,02	0,051 ± 0,00	1,60 ± 0,19	0,012 ± 0,01	0,303 ± 0,08
		MC	0,162 ± 0,01	0,074 ± 0,00	2,00 ± 0,31	0,039 ± 0,01	0,446 ± 0,05
	MT	0,213 ± 0,04	0,005 ± 0,00	5,62 ± 0,86	<2,2x10 <sup>-4</sup>	2,44 ± 0,30	
	H	0,070 ± 0,01	0,038 ± 0,01	0,50 ± 0,07	0,033 ± 0,04	1,16 ± 0,31	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,015	0,000	
<b>Tomillo</b> ( <i>Thymus vulgaris</i> )	S	MB	0,223 ± 0,03	0,129 ± 0,03	3,57 ± 0,56	0,075 ± 0,02	0,886 ± 0,16
		MC	0,197 ± 0,02	0,173 ± 0,02	2,76 ± 0,70	0,062 ± 0,01	0,618 ± 0,11
	MT	0,245 ± 0,03	0,300 ± 0,01	1,94 ± 0,30	0,023 ± 0,01	1,68 ± 0,34	
	H	0,278 ± 0,02	0,564 ± 0,19	2,09 ± 0,35	0,036 ± 0,02	1,57 ± 0,48	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	
<b>Salvia</b> ( <i>Salvia officinalis</i> )	S	MB	0,240 ± 0,02	0,018 ± 0,00	2,05 ± 0,16	0,014 ± 0,03	1,60 ± 0,31
		MC	ND	ND	ND	ND	ND
	MT	0,358 ± 0,01	0,023 ± 0,00	1,84 ± 0,81	0,003 ± 0,01	1,16 ± 0,06	
	H	0,297 ± 0,02	0,014 ± 0,00	2,27 ± 0,10	0,002 ± 0,00	1,80 ± 0,14	
	<i>p</i>	0,000	0,003	0,542	0,384	0,002	
<b>Manzanilla</b> ( <i>Matricaria chamomilla</i> )	S	MB	0,115 ± 0,01	0,190 ± 0,01	3,33 ± 0,52	0,008 ± 0,01	0,196 ± 0,04
		MC	0,106 ± 0,01	0,483 ± 0,01	1,05 ± 0,16	<2,2x10 <sup>-4</sup>	0,027 ± 0,04
	MT	0,059 ± 0,01	0,035 ± 0,00	1,09 ± 0,09	0,001 ± 0,00	1,39 ± 0,20	
	H	0,043 ± 0,01	0,047 ± 0,00	0,96 ± 0,21	<2,2x10 <sup>-4</sup>	0,366 ± 0,11	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	
<b>Tila</b> ( <i>Tilia sp.</i> )	S	MB	0,189 ± 0,02	0,089 ± 0,01	3,03 ± 0,37	0,034 ± 0,02	2,48 ± 0,45
		MC	0,249 ± 0,03	0,081 ± 0,01	5,53 ± 0,61	0,074 ± 0,02	2,30 ± 0,11
	MT	0,115 ± 0,01	0,072 ± 0,02	0,798 ± 0,64	0,006 ± 0,01	1,66 ± 0,07	
	H	0,047 ± 0,01	0,043 ± 0,00	0,314 ± 0,05	0,021 ± 0,01	0,380 ± 0,07	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
<b>Valeriana</b> ( <i>Valeriana officinalis</i> )	S	MB	0,315 ± 0,03	0,039 ± 0,02	5,44 ± 0,43	0,010 ± 0,02	2,17 ± 0,63
		MC	0,114 ± 0,01	<3,3x10 <sup>-3</sup>	1,61 ± 0,14	0,013 ± 0,03	0,554 ± 0,05
	MT	0,062 ± 0,01	0,077 ± 0,05	0,275 ± 0,00	0,031 ± 0,02	0,629 ± 0,21	
	H	0,081 ± 0,02	0,020 ± 0,01	0,639 ± 0,07	<2,2x10 <sup>-4</sup>	0,556 ± 0,16	
	<i>p</i>	0,000	0,003	0,000	0,176	0,000	
<b>Cola de caballo</b> ( <i>Equisetum arvense</i> )	S	MB	0,513 ± 0,08	0,095 ± 0,01	5,72 ± 0,28	0,020 ± 0,01	1,34 ± 0,15
		MC	0,480 ± 0,06	0,053 ± 0,00	0,487 ± 0,03	0,002 ± 0,00	0,993 ± 0,4
	MT	0,076 ± 0,01	0,009 ± 0,01	0,336 ± 0,08	0,004 ± 0,01	0,014 ± 0,03	
	H	0,174 ± 0,06	0,012 ± 0,00	0,275 ± 0,00	<2,2x10 <sup>-4</sup>	0,002 ± 0,00	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,006	0,000	

**Tabla 22 (continuación).** Concentración de elementos metálicos y metaloides expresada como mg kg<sup>-1</sup> ± desviación estándar en las plantas medicinales analizadas y clasificada en función del punto de venta

Planta medicinal	Punto de venta	As	Cd	Cr	Hg	Pb	
<b>Sen</b> ( <i>Cassia angustifolia</i> )	S	MB	0,099 ± 0,03	<3,3x10 <sup>-3</sup>	0,616 ± 0,12	0,010 ± 0,01	1,37 ± 0,11
		MC	0,178 ± 0,03	<3,3x10 <sup>-3</sup>	0,883 ± 0,09	0,037 ± 0,02	0,172 ± 0,05
	MT	0,152 ± 0,01	<3,3x10 <sup>-3</sup>	0,688 ± 0,06	0,007 ± 0,01	0,399 ± 0,05	
	H	0,246 ± 0,02	<3,3x10 <sup>-3</sup>	0,630 ± 0,15	0,005 ± 0,01	0,092 ± 0,09	
	<i>p</i>	0,000	-	0,011	0,002	0,000	
<b>Hierbaluisa</b> ( <i>Aloysia triphylla</i> )	S	MB	ND	ND	ND	ND	ND
		MC	0,143 ± 0,02	0,127 ± 0,01	0,275 ± 0,00	<2,2x10 <sup>-4</sup>	0,081 ± 0,10
	MT	0,500 ± 0,06	0,050 ± 0,02	1,03 ± 0,10	0,027 ± 0,01	0,787 ± 0,18	
	H	0,191 ± 0,03	0,028 ± 0,00	0,291 ± 0,02	0,015 ± 0,01	0,053 ± 0,07	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	
<b>Té rojo</b> ( <i>Aspalathus linearis</i> )	S	MB	0,275 ± 0,03	0,049 ± 0,00	1,64 ± 0,40	0,002 ± 0,00	1,71 ± 0,20
		MC	0,541 ± 0,05	0,069 ± 0,01	3,77 ± 0,28	0,005 ± 0,00	2,16 ± 0,29
	MT	0,260 ± 0,01	0,040 ± 0,01	1,08 ± 0,19	<2,2x10 <sup>-4</sup>	1,20 ± 0,68	
	H	0,210 ± 0,04	0,057 ± 0,00	1,24 ± 0,14	<2,2x10 <sup>-4</sup>	2,73 ± 1,01	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,052	0,014	
<b>Té verde</b> ( <i>Camellia sinensis</i> )	S	MB	0,258 ± 0,05	0,070 ± 0,00	1,26 ± 0,37	<2,2x10 <sup>-4</sup>	0,546 ± 0,13
		MC	0,066 ± 0,01	0,022 ± 0,00	3,09 ± 0,48	<2,2x10 <sup>-4</sup>	0,298 ± 0,03
	MT	0,191 ± 0,02	0,043 ± 0,01	0,599 ± 0,13	<2,2x10 <sup>-4</sup>	1,29 ± 0,12	
	H	0,129 ± 0,02	0,069 ± 0,01	0,617 ± 0,19	<2,2x10 <sup>-4</sup>	2,01 ± 0,18	
	<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	1,000	0,000	
<b>Flor de azahar</b> ( <i>Citrus sp.</i> )	S	MB	ND	ND	ND	ND	ND
		MC	ND	ND	ND	ND	ND
	MT	0,062 ± 0,01	0,004 ± 0,00	0,839 ± 0,12	0,004 ± 0,01	0,017 ± 0,02	
	H	0,139 ± 0,01	0,015 ± 0,00	0,847 ± 0,04	0,008 ± 0,01	0,105 ± 0,04	
	<i>p</i>	0,008	0,008	0,690	0,548	0,008	

S: Supermercado; MB: Marca blanca; MC: Marca comercial; MT: Mercado tradicional; H: Herbolario; ND: Planta medicinal no disponible en ese formato; *p*: significación estadística

**Tabla 23.** Concentración de elementos minerales expresada como mg kg<sup>-1</sup> ± desviación estándar en las plantas medicinales analizadas y clasificada en función del punto de venta

Planta medicinal	Punto de venta	Cu	Fe	Mn	Zn	
<b>Menta</b> ( <i>Mentha piperita</i> )	S	MB	12,5 ± 0,63	931 ± 56,5	89,1 ± 4,82	36,3 ± 1,89
		MC	10,8 ± 1,47	734 ± 33,3	103 ± 2,80	33,8 ± 2,40
	MT	H	17,8 ± 2,52	3197 ± 117	160 ± 2,22	32,9 ± 2,28
			6,06 ± 0,60	303 ± 13,1	80,1 ± 1,13	36,5 ± 1,23
	<i>p</i>		0,000	0,000	0,000	0,039
<b>Tomillo</b> ( <i>Thymus vulgaris</i> )	S	MB	8,70 ± 0,73	655 ± 59,1	83,1 ± 4,58	36,7 ± 2,73
		MC	10,1 ± 0,92	722 ± 98,9	91,7 ± 6,40	28,1 ± 1,09
	MT	H	7,27 ± 1,42	729 ± 69,3	149,1 ± 3,95	32,2 ± 0,62
			7,38 ± 0,36	709 ± 38,8	224,7 ± 9,80	51,8 ± 2,32
	<i>p</i>		0,001	0,357	0,000	0,000
<b>Salvia</b> ( <i>Salvia officinalis</i> )	S	MB	3,90 ± 0,41	969 ± 31,1	36,2 ± 0,89	20,2 ± 0,33
		MC	ND	ND	ND	ND
	MT	H	7,21 ± 0,54	790 ± 12,4	46,4 ± 0,89	20,9 ± 0,75
			6,71 ± 0,29	1069 ± 17,9	31,1 ± 0,59	17,8 ± 0,78
	<i>p</i>		0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Manzanilla</b> ( <i>Matricaria chamomilla</i> )	S	MB	10,3 ± 1,03	859 ± 39,9	65,2 ± 6,15	21,3 ± 1,28
		MC	8,10 ± 0,77	355 ± 23,0	82,3 ± 5,04	32,1 ± 2,14
	MT	H	10,6 ± 0,47	425 ± 42,3	53,0 ± 1,25	38,5 ± 1,79
			13,1 ± 0,57	567 ± 7,44	68,1 ± 1,46	32,9 ± 1,42
	<i>p</i>		0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Tila</b> ( <i>Tilia sp.</i> )	S	MB	11,6 ± 3,13	733 ± 78,5	152 ± 7,76	21,2 ± 1,83
		MC	10,6 ± 0,63	817 ± 20,1	102 ± 6,65	26,5 ± 1,51
	MT	H	9,11 ± 2,24	230 ± 40,2	65,8 ± 1,42	20,9 ± 1,89
			7,02 ± 0,72	132 ± 2,94	58,4 ± 0,91	20,8 ± 1,47
	<i>p</i>		0,012	0,000	0,000	0,000
<b>Valeriana</b> ( <i>Valeriana officinalis</i> )	S	MB	6,17 ± 0,54	929 ± 109	52,6 ± 4,61	38,9 ± 2,22
		MC	4,64 ± 0,21	289 ± 54,4	23,3 ± 1,33	26,2 ± 3,01
	MT	H	0,72 ± 0,89	123 ± 69,9	53,9 ± 3,81	38,8 ± 1,33
			0,000 ± 0,00	256 ± 22,2	28,6 ± 2,15	31,7 ± 1,58
	<i>p</i>		0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Cola de caballo</b> ( <i>Equisetum arvense</i> )	S	MB	7,77 ± 0,80	1190 ± 91,8	85,6 ± 4,78	28,8 ± 0,91
		MC	7,08 ± 0,71	492 ± 16,1	42,1 ± 2,79	31,1 ± 1,71
	MT	H	6,63 ± 0,56	174 ± 29,8	27,8 ± 1,07	30,4 ± 1,59
			4,30 ± 0,29	90,0 ± 9,83	11,5 ± 0,70	22,9 ± 0,48
	<i>p</i>		0,000	0,000	0,000	0,000



**Tabla 23 (continuación).** Concentración de elementos minerales expresada como mg kg<sup>-1</sup> ± desviación estándar en las plantas medicinales analizadas y clasificada en función del punto de venta

Planta medicinal	Punto de venta	Cu	Fe	Mn	Zn	
<b>Sen</b> ( <i>Cassia angustifolia</i> )	S	MB	3,81 ± 0,45	197 ± 15,8	106 ± 2,90	11,9 ± 0,79
		MC	4,25 ± 0,66	317 ± 12,4	10,3 ± 0,55	18,9 ± 0,91
	H	MT	4,30 ± 0,41	310 ± 9,24	33,0 ± 1,38	21,5 ± 0,85
		H	3,30 ± 0,80	277 ± 20,1	33,7 ± 1,16	13,2 ± 0,66
		<i>p</i>	0,061	0,000	0,002	0,000
<b>Hierbaluisa</b> ( <i>Aloysia triphylla</i> )	S	MB	ND	ND	ND	ND
		MC	17,7 ± 0,58	308 ± 20,1	61,2 ± 4,03	22,9 ± 0,97
	H	MT	4,16 ± 0,83	522 ± 49,4	59,7 ± 0,70	15,5 ± 0,73
		H	8,36 ± 1,00	286 ± 32,0	63,0 ± 4,94	25,4 ± 0,64
		<i>p</i>	0,000	0,000	0,519	0,000
<b>Té rojo</b> ( <i>Aspalathus linearis</i> )	S	MB	25,6 ± 1,93	719 ± 62,7	1211 ± 58,9	33,0 ± 1,93
		MC	17,8 ± 1,41	1016 ± 99,5	1002 ± 61,1	41,0 ± 2,78
	H	MT	18,6 ± 0,37	308 ± 30,2	659 ± 16,5	38,4 ± 1,55
		H	23,4 ± 1,56	304 ± 6,89	698 ± 37,6	39,0 ± 1,71
		<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Té verde</b> ( <i>Camellia sinensis</i> )	S	MB	17,6 ± 0,94	492 ± 80,8	1577 ± 60,0	33,1 ± 1,74
		MC	12,7 ± 0,67	169 ± 18,9	2071 ± 77,9	20,0 ± 1,06
	H	MT	15,0 ± 0,40	204 ± 22,1	917 ± 23,0	26,1 ± 1,75
		H	11,5 ± 1,19	212 ± 42,7	1336 ± 2,33	26,4 ± 1,27
		<i>p</i>	0,000	0,000	0,000	0,000
<b>Flor de Azahar</b> ( <i>Citrus sp.</i> )	S	MB	ND	ND	ND	ND
		MC	ND	ND	ND	ND
	H	MT	6,23 ± 0,26	202 ± 7,22	11,3 ± 0,55	15,0 ± 0,76
		H	16,4 ± 0,69	413 ± 26,9	25,9 ± 0,70	26,3 ± 2,50
		<i>p</i>	0,008	0,008	0,008	0,016

S: Supermercado; MB: Marca blanca; MC: Marca comercial; MT: Mercado tradicional; H: Herbolario; ND: Planta medicinal no disponible en ese formato; *p*: significación estadística

Aunque se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes puntos de venta para la gran mayoría de los elementos analizados, fueron particularmente evidentes en el caso del As, Cr y Fe en las muestras de tila (tablas 24 y 25). Se apreciaron diferencias en el As y el Cr en la tila, en el Cd en la menta y el tomillo así como en el Pb en el té verde (tabla 24).

Igualmente, cabe destacar las diferencias significativas observadas para Fe y Mn en relación a los distintos puntos de venta (tabla 25).

**Tabla 24.** Significación estadística en la concentración de elementos metálicos y metaloides en relación a los diferentes puntos de venta

		As				Cd				Cr				Hg				Pb				
		MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	
<b>Menta</b> <i>(Mentha piperita)</i>	MB	-		0,003	0,000	-	0,000	0,002	0,000	-		0,000	0,011	-				-		0,000	0,001	
	MC		-	0,011	0,000	0,000	-	0,000	0,000		-	0,000	0,001		-	0,028			-	0,000	0,002	
	MT	0,003	0,011	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	0,000	-	0,000		0,028	-	0,078	0,000	0,000	-	0,000
	H	0,000	0,000	0,000	-	0,002	0,000	0,000	-	0,011	0,001	0,000	-			0,078	-	0,001	0,002	0,000	-	
<b>Tomillo</b> <i>(Thymus vulgaris)</i>	MB	-			0,007	-	0,078	0,000	0,000	-		0,001	0,002	-		0,000	0,001	-		,022	0,060	
	MC		-	0,018	0,000	0,078	-	0,000	0,000		-				-	0,001	0,035		-	0,005	0,012	
	MT		0,018	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,001		-		0,000	0,001	-		0,022	0,005	-		
	H	0,007	0,000		-	0,000	0,000	0,000	-	0,002			-	0,001	0,035		-	0,060	0,012		-	
<b>Salvia</b> <i>(Salvia officinalis)</i>	MB	-	ND	0,000	0,000	-	ND	0,065		-	ND			-	ND			-	ND	0,016		
	MC	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	-	ND	ND
	MT	0,000	ND	-	0,000	0,065	ND	-	0,000		ND	-			ND	-		0,016	ND	-	0,002	
	H	0,000	ND	0,000	-		ND		-		ND		-		ND		-		ND	0,002	-	
<b>Manzanilla</b> <i>(Matricaria chamomilla)</i>	MB	-		0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,003	0,006	0,003	-		0,000		
	MC		-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-			0,003	-				-	0,000		
	MT	0,000	0,000	-	0,065	0,000	0,000	-		0,000		-		0,006		-		0,000	0,000	-	0,000	
	H	0,000	0,000	0,065	-	0,000	0,000		-	0,000	0,000		-	0,003			-		0,004	0,000	-	

**Tabla 24 (continuación).** Significación estadística en la concentración de elementos metálicos y metaloides en relación a los diferentes puntos de venta

		As				Cd				Cr				Hg				Pb			
		MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H
<b>Tila</b> <i>(Tilia sp.)</i>	MB	-	0,001	0,000	0,000	-			0,000		0,000	0,000	0,000	-				-		0,001	0,000
	MC	0,001	-	0,000	0,000		-		0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,011	-	0,000	0,001		-	0,016	0,000
	MT	0,000	0,000	-	0,001			-	0,004	0,000	0,000	-			0,000	-		0,001	0,016	-	0,000
	H	0,000	0,000	0,001	-	0,000	0,000	0,004	-		0,000	0,000	-		0,001		-	0,000	0,000	0,000	-
<b>Valeriana</b> <i>(Valeriana officinalis)</i>	MB	-	0,000	0,000	0,000	-				-	0,000	0,000	0,000	-				-	0,000	0,000	0,000
	MC	0,000	-	0,017			-	0,003		0,000	-	0,000	0,000		-			0,000	-		
	MT	0,000	0,017	-			0,003	-	0,028	0,000	0,000	-				-		0,000		-	
	H	0,000			-			0,028	-	0,000	0,000		-				-	0,000			-
<b>Cola de caballo</b> <i>(Equisetum arvense)</i>	MB	-		0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,019	0,054	0,009	-		0,000	0,000
	MC		-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-			0,019	-				-	0,000	0,000
	MT	0,000	0,000	-	0,099	0,000	0,000	-		0,000		-		0,054		-		0,000	0,000	-	
	H	0,000	0,000	0,099	-	0,000	0,000		-	0,000			-	0,009			-	0,000	0,000		-
<b>Sen</b> <i>(Cassia angustifolia)</i>	MB	-	0,000	0,009	0,000	-	ND	ND	ND	-	0,016			-	0,015			-	0,000	0,000	0,000
	MC	0,000	-		0,001	ND	-	ND	ND	0,016	-		0,024	0,015	-	0,007	0,004	0,000	-	0,005	
	MT	0,009		-	0,000	ND	ND	-	ND			-			0,007	-		0,000	0,005	-	0,000
	H	0,000	0,001	0,000	-	ND	ND	ND	-		0,024		-		0,004		-	0,000		0,000	-

**Tabla 24 (continuac.).** Significación estadística en la concentración de elementos metálicos y metaloides en relación a los diferentes puntos de venta

		As				Cd				Cr				Hg				Pb			
		MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H
<b>Hierbaluisa</b> <i>(Aloysia triphylla)</i>	MB	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND
	MC	ND	-	0,000		ND	-	0,000	0,000	ND	-	0,000		ND	-	0,003	0,093	ND	-	0,000	
	MT	ND	0,000	-	0,000	ND	0,000	-	0,046	ND	0,000	-	0,000	ND	0,003	-		ND	0,000	-	0,000
	H	ND		0,000	-	ND	0,000	0,046	-	ND		0,000	-	ND	0,093		-	ND		0,000	-
<b>Té rojo</b> <i>(Aspalathus linearis)</i>	MB	-	0,000		0,085	-	0,001			-	0,000	0,027		-				-			
	MC	0,000	-	0,000	0,000	0,001	-	0,000	0,078	0,000	-	0,000	0,000		-	0,098	0,098		-		
	MT		0,000	-			0,000	-	0,004	0,027	0,000	-			0,098	-				-	0,012
	H	0,085	0,000		-		0,078	0,004	-		0,000		-		0,098		-			0,012	-
<b>Té verde</b> <i>(Camellia sinensis)</i>	MB	-	0,000	0,015	0,000	-	0,000	0,000		-	0,000	0,029	0,035	-				-	0,035	0,000	0,000
	MC	0,000	-	0,000	0,054	0,000	-	0,001	0,000	0,000	-	0,000	0,000		-			0,035	-	0,000	0,000
	MT	0,015	0,000	-	0,062	0,000	0,001	-	0,000	0,029	0,000	-			-			0,000	0,000	-	0,000
	H	0,000	0,054	0,062	-		0,000	0,000	-	0,035	0,000		-				-	0,000	0,000	0,000	-
<b>Flor de azahar</b> <i>(Citrus sp.)</i>	MB	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND
	MC	ND	-		ND	ND	-		ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	ND	-	ND
	MT	ND	ND	-		ND	ND	-		ND	ND	-		ND	ND	-		ND	ND	-	
	H	ND	ND		-	ND	ND		-	ND	ND		-	ND	ND		-	ND	ND		-

MB: Marca blanca; MC: Marca comercial; MT: Mercado tradicional; H: Herbolario; ND: No disponible

**Tabla 25.** Significación estadística en la concentración de elementos minerales en relación a los diferentes puntos de venta

		Cu				Fe				Mn				Zn			
		MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H
<b>Menta</b> <i>(Mentha piperita)</i>	MB	-		0,000	0,000	-	0,002	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,002	-			
	MC		-	0,000	0,001	0,002	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000		-		
	MT	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000			-	
	H	0,000	0,001	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,002	0,000	0,000	-				-
<b>Tomillo</b> <i>(Thymus vulgaris)</i>	MB	-				-				-		0,000	0,000	-	0,000	0,022	0,000
	MC		-	0,001	0,002		-				-	0,000	0,000	0,000	-	0,042	0,000
	MT		0,001	-				-		0,000	0,000	-	0,000	0,022	0,042	-	0,000
	H		0,002		-				-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-
<b>Salvia</b> <i>(Salvia officinalis)</i>	MB	-	ND	0,000	0,000	-	ND	0,000	0,000	-	ND	0,000	0,000	-	ND		0,001
	MC	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND
	MT	0,000	ND	-	0,000	0,000	ND	-	0,000	0,000	ND	-	0,000		ND	-	0,000
	H	0,000	ND	0,000	-	0,000	ND	0,000	-	0,000	ND	0,000	-	0,001	ND	0,000	-
<b>Manzanilla</b> <i>(Matricaria chamomilla)</i>	MB	-	0,002		0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,002		-	0,000	0,000	0,000
	MC	0,002	-	0,000	0,000	0,000	-	0,016	0,000	0,000	-	0,000	0,001	0,000	-	0,000	
	MT		0,000	-	0,000	0,000	0,016	-	0,000	0,002	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000
	H	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-		0,001	0,000	-	0,000		0,000	-

**Tabla 25 (continuación).** Significación estadística en la concentración de elementos minerales en relación a los diferentes puntos de venta

		Cu				Fe				Mn				Zn			
		MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H
<b>Tila</b> <i>(Tilia sp.)</i>	MB	-			0,016	-	0,086	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,001		
	MC		-		0,050	0,086	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,001	-	0,001	0,000
	MT			-		0,000	0,000	-	0,066	0,000	0,000	-			0,001	-	
	H	0,016	0,050		-	0,000	0,000	0,066	-	0,000	0,000		-		0,000		-
<b>Valeriana</b> <i>(Valeriana officinalis)</i>	MB	-	0,004	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000		0,000	-	0,000		0,002
	MC	0,004	-	0,000	0,000	0,000	-	0,017		0,000	-	0,000		0,000	-	0,000	0,013
	MT	0,000	0,000	-		0,000	0,017	-	0,051		0,000	-	0,000		0,000	-	0,003
	H	0,000	0,000		-	0,000		0,051	-	0,000		0,000	-	0,002	0,013	0,003	-
<b>Cola de caballo</b> <i>(Equisetum arvense)</i>	MB	-		0,065	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,083		0,000
	MC		-		0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,083	-		0,000
	MT	0,065		-	0,000	0,000	0,000	-	0,075	0,000	0,000	-	0,000			-	0,000
	H	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,075	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-
<b>Sen</b> <i>(Cassia angustifolia)</i>	MB	-				-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,000	0,000	
	MC		-			0,000	-		0,008	0,000	-	0,000	0,000	0,000	-	0,001	0,000
	MT			-		0,000		-	0,025	0,000	0,000	-		0,000	0,001	-	0,000
	H				-	0,000	0,008	0,025	-	0,000	0,000		-		0,000	0,000	-

**Tabla 25 (continuación).** Significación estadística en la concentración de elementos minerales en relación a los diferentes puntos de venta

		Cu				Fe				Mn				Zn			
		MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H	MB	MC	MT	H
<b>Hierbaluisa</b> <i>(Aloysia triphylla)</i>	MB	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND
	MC	ND	-	0.000	0.000	ND	-	0.000		ND	-			ND	-	0.000	0.001
	MT	ND	0.000	-	0.000	ND	0.000	-	0.000	ND		-		ND	0.000	-	0.000
	H	ND	0.000	0.000	-	ND		0.000	-	ND			-	ND	0.001	0.000	-
<b>Té rojo</b> <i>(Aspalathus linearis)</i>	MB	-	0.000	0.000		-	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000	-	0.005		0.038
	MC	0.000	-		0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.005	-		
	MT	0.000		-	0.000	0.000	0.000	-		0.000	0.000	-				-	
	H		0.000	0.000	-	0.000	0.000		-	0.000	0.000		-	0.038			-
<b>Té verde</b> <i>(Camellia sinensis)</i>	MB	-	0.000	0.001	0.000	-	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.003	-	0.000	0.000	0.000
	MC	0.000	-	0.004		0.000	-			0.000	-	0.000	0.000	0.000	-	0.000	0.000
	MT	0.001	0.004	-	0.000	0.000		-		0.000	0.000	-	0.000	0.000	0.000	-	
	H	0.000		0.000	-	0.000			-	0.003	0.000	0.000	-	0.000	0.000		-
<b>Flor de azahar</b> <i>(Citrus sp.)</i>	MB	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND	ND
	MC	ND	-		ND	ND	-		ND	ND	-	ND	ND	ND	-	ND	ND
	MT	ND	ND	-		ND	ND	-		ND	ND	-		ND	ND	-	
	H	ND	ND		-	ND	ND		-	ND	ND		-	ND	ND		-

MB: Marca blanca; MC: Marca comercial; MT: Mercado tradicional; H: Herbolario; ND: No disponible



En las tablas 26 y 27 se muestran las correlaciones entre los diferentes elementos metálicos, metaloide y minerales. El As , Cd y Cr mostraron correlaciones positivas en todas las muestras estudiadas. Las concentraciones de Cr y Pb se correlacionaron de forma positiva con otros elementos metálicos y metaloides principalmente en las muestras de tila y cola de caballo (tabla 26).

De entre todas las muestras analizadas, el Fe mostró correlaciones positivas con el Cu y el Mn en aproximadamente la mitad de las muestras. El mayor número de correlaciones positivas entre los elementos minerales se halló en la flor de azahar (tabla 27).

**Tabla 26.** Correlaciones entre los diferentes elementos metálicos y metaloide

		As	Cd	Cr	Hg	Pb
<b>Menta</b> ( <i>Mentha piperita</i> )	As			0.967**		
	Cd				0.731**	-0.814**
	Cr	0.967**			-0.476*	
	Hg		0.731**	-0.476*		-0.522*
	Pb		-0.814**		-0.522*	
<b>Tomillo</b> ( <i>Thymus vulgaris</i> )	As		0.784**		-0.568**	0.683**
	Cd	0.784**		-0.690**	-0.793**	0.725**
	Cr		-0.690**		0.635**	-0.520*
	Hg	-0.568**	-0.793**	0.635**		-0.670**
	Pb	-0.683**	0.725**	-0.520*	-0.670**	
<b>Salvia</b> ( <i>Salvia officinalis</i> )	As		0.553*			-0.638*
	Cd	0.553*				-0.733**
	Cr					
	Hg					
	Pb	-0.638*	-0.733**			
<b>Manzanilla</b> ( <i>Matricaria chamomilla</i> )	As		0.630**	0.520*	0.453*	-0.569*
	Cd	0.630**				-0.925**
	Cr	0.520*			0.637**	
	Hg	0.453*		0.637**		
	Pb	-0.569*	-0.925**			
<b>Tila</b> ( <i>Tilia sp.</i> )	As		0.528*	0.959**	0.599*	0.812**
	Cd	0.528*		0.599**		0.724**
	Cr	0.959**	0.599**		0.623**	0.884**
	Hg	0.599*		0.623**		
	Pb	0.812**	0.724**	0.884		
<b>Valeriana</b> ( <i>Valeriana officinalis</i> )	As			0.955**		0.617**
	Cd				0.771**	
	Cr	0.955**				0.705**
	Hg					
	Pb	0.617**		0.705**		
<b>Cola de caballo</b> ( <i>Equisetum arvense</i> )	As		0.845**	0.791**		0.787**
	Cd	0.845**		0.867**	0.565**	0.893**
	Cr	0.791**	0.867**			0.934**
	Hg		0.565**			0.460*
	Pb	0.787**	0.893**	0.934**	0.460*	
<b>Sen</b> ( <i>Cassia angustifolia</i> )	As					-0.910**
	Cd					
	Cr				0.567*	
	Hg				0.567*	
	Pb	-0.910**				
<b>Hierbaluisa</b> ( <i>Aloysia triphylla</i> )	As			0.871**	0.844**	0.710**
	Cd					
	Cr	0.871**			0.643*	0.861**
	Hg	0.844**		0.643*		0.536*
	Pb	0.710**		0.861**	0.536*	
<b>Té rojo</b> ( <i>Aspalathus linearis</i> )	As		0.463*	0.742**	0.495*	
	Cd	0.463*		0.644**		0.736**
	Cr	0.742**	0.644**		0.520*	
	Hg	0.495*		0.520*		
	Pb		0.736**			
<b>Té verde</b> ( <i>Camellia sinensis</i> )	As		0.652**			
	Cd	0.652**				
	Cr					
	Hg					
	Pb		0.499*	-0.848**		
<b>Flor de Azahar</b> ( <i>Citrus sp.</i> )	As		0.793**			0.816**
	Cd	0.793**				0.765**
	Cr					
	Hg					
	Pb	0.816**	0.765**			

\* p < 0.05; \*\* p < 0.01

**Tabla 27.** Correlaciones entre los diferentes elementos minerales

		Cu	Fe	Mn	Zn
<b>Menta</b> ( <i>Mentha piperita</i> )	Cu		0.912**	0.735**	
	Fe	0.912**		0.712**	
	Mn	0.735**	0.712**		-0.523*
	Zn			-0.523*	
<b>Tomillo</b> ( <i>Thymus vulgaris</i> )	Cu			-0.505*	-0.635**
	Fe				
	Mn	-0.505*			
	Zn	-0.635**			
<b>Salvia</b> ( <i>Salvia officinalis</i> )	Cu				
	Fe			-0.867**	-0.776**
	Mn		-0.867**		0.733*
	Zn		-0.776**	0.733*	
<b>Manzanilla</b> ( <i>Matricaria chamomilla</i> )	Cu		0.599**		
	Fe	0.599**			
	Mn				
	Zn				
<b>Tila</b> ( <i>Tilia sp.</i> )	Cu		0.819**	0.760**	
	Fe	0.819**		0.688**	0.653**
	Mn	0.760**	0.688**		
	Zn		0.653**		
<b>Valeriana</b> ( <i>Valeriana officinalis</i> )	Cu		0.511*		
	Fe	0.511*			
	Mn				0.812**
	Zn			0.812**	
<b>Cola de caballo</b> ( <i>Equisetum arvense</i> )	Cu		0.843**	0.861**	0.556*
	Fe	0.843**		0.968**	
	Mn	0.861**	0.968**		
	Zn	0.556*			
<b>Sen</b> ( <i>Cassia angustifolia</i> )	Cu				0.532*
	Fe			-0.739**	0.842**
	Mn		-0.739**		-0.546*
	Zn	0.532*	0.842**	-0.546*	
<b>Hierbaluisa</b> ( <i>Aloysia triphylla</i> )	Cu		-0.635*		
	Fe	-0.635*			-0.635*
	Mn				
	Zn		-0.675**		
<b>Té rojo</b> ( <i>Aspalathus linearis</i> )	Cu			0.494*	-0.496*
	Fe			0.724**	
	Mn	0.494*	0.724**		
	Zn	-0.496*			
<b>Té verde</b> ( <i>Camellia sinensis</i> )	Cu		0.550*		0.571**
	Fe	0.550*			0.695**
	Mn				
	Zn	0.571**	0.695**		
<b>Flor de Azahar</b> ( <i>Citrus sp.</i> )	Cu		0.964**	0.952**	0.783*
	Fe	0.964**		0.903**	0.667*
	Mn	0.952**	0.903**		0.783*
	Zn	0.783*	0.667*	0.783*	

\* p < 0.05; \*\* p < 0.01

#### IV.III. EVALUACIÓN DEL RIESGO

Las tablas 28 a la 36 muestran las ingestas diarias estimadas de cada uno de los elementos metálicos, metaloides y minerales analizados en las diferentes plantas medicinales de forma detallada, así como aquellos valores de referencia necesarios para llevar a cabo la evaluación del riesgo.

Por otra parte, las tablas 37 y 38 presentan los datos medios de la solubilización de los elementos metálicos, metaloides y minerales en las infusiones de plantas medicinales así como la biodisponibilidad expresada como porcentaje de la absorción intestinal. Tomando en consideración ambos parámetros (solubilización y biodisponibilidad), los factores correctores aplicados sobre el valor de ingesta diaria fueron los siguientes: 0,2318 (As); 0,0075 (Cd); 0,0232 (Cr); 0,0008 (Hg); 0,001 (Pb); 0,2260 (Zn); 0,1764 (Cu); 0,010 (Fe) y 0,0184 (Mn).

Por último, y a modo de resumen, la tabla 39 recopila las ingestas diaria y semanal estimadas de los diferentes elementos metálicos, metaloides y minerales en las plantas medicinales analizadas expresadas en  $\mu\text{g}$  así como los parámetros referidos a la evaluación del riesgo para el consumidor, considerando el porcentaje de solubilización y la biodisponibilidad.

**Tabla 28.** Ingesta diaria estimada para arsénico. Evaluación de riesgo (24.40<sup>a</sup>; 95<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[As] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	BMDL <sub>01</sub>	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales”  Evaluación de Riesgo
<b>Menta</b>	5.4	0.149 (0.056)	<b>0.804</b>	<b>73,2 <math>\mu\text{g}/\text{día}</math></b> (EFSA, 2009a)	<b>BMDL<sub>01</sub>: 0,3-8 <math>\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}</math></b> <b>Ingesta máxima diaria de 18<math>\mu\text{g}/\text{día}</math></b> (considerando el valor más bajo -0,3- y 60 kg de peso) (EFSA, 2009a)	<b>1.03% BMDL<sub>01</sub></b> 0.25% Ingesta diaria total
<b>Tomillo</b>	4.5	0.235 (0.036)	<b>1.057</b>			<b>1.36% BMDL<sub>01</sub></b> 0.33% Ingesta diaria total
<b>Salvia</b>	4.5	0.298 (0.052)	<b>1.341</b>			<b>1.72% BMDL<sub>01</sub></b> 0.42% Ingesta diaria total
<b>Manzanilla</b>	8	0.080 (0.032)	<b>0.64</b>			<b>0.82% BMDL<sub>01</sub></b> 0.20% Ingesta diaria total
<b>Tila</b>	6	0.157 (0.079)	<b>0.942</b>			<b>1.21% BMDL<sub>01</sub></b> 0.29% Ingesta diaria total
<b>Valeriana</b>	4.5	0.151 (0.108)	<b>0.679</b>			<b>0.87% BMDL<sub>01</sub></b> 0.21% Ingesta diaria total
<b>Cola de caballo</b>	4.5	0.310 (0.201)	<b>1.395</b>			<b>1.79% BMDL<sub>01</sub></b> 0.44% Ingesta diaria total

**Tabla 28 (Continuación).** Ingesta diaria estimada para arsénico. Evaluación de riesgo (24.40<sup>a</sup>; 95<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[As] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	BMDL <sub>01</sub>	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales”  Evaluación de Riesgo
Sen	2	0.169 (0.058)	<b>0.338</b>	<b>73,2 µg/día</b> (EFSA, 2009a)	<b>BMDL<sub>01</sub>: 0,3-8 µg/kg/día</b> <b>Ingesta máxima diaria de 18µg/día</b> (considerando el valor más bajo -0,3- y 60 kg de peso) (EFSA, 2009a)	<b>0.43% BMDL<sub>01</sub></b> 0.11% Ingesta diaria total
Hierbaluisa	3.6	0.277 (0.165)	<b>0.997</b>			<b>1.28% BMDL<sub>01</sub></b> 0.31% Ingesta diaria total
Té rojo	3	0.323 (0.139)	<b>0.969</b>			<b>1.25% BMDL<sub>01</sub></b> 0.31% Ingesta diaria total
Té verde	6	0.164 (0.080)	<b>0.984</b>			<b>1.26% BMDL<sub>01</sub></b> 0.31% Ingesta diaria total
Flor de azahar	6	0.100 (0.041)	<b>0.600</b>			<b>0.77% BMDL<sub>01</sub></b> 0.19% Ingesta diaria total

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; BMDL<sub>01</sub>: *Benchmark Dose Lower confidence Limit 01*

**Tabla 29.** Ingesta diaria estimada para cadmio. Evaluación de riesgo (10.73<sup>a</sup>; 7<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Cd] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta Semanal (µg/semana)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	PTWI	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales”  Evaluación de Riesgo
<b>Menta</b>	5.4	0.042 (0.026)	0.226	<b>1.587</b>	<b>16.3-25.7 µg/día</b> (EFSA, 2009b/2012b) (60 Kg de peso)	<b>2.5 µg/Kg/semana (PTWI) (EFSA, 2009b/ 2012b)</b>  0,357 µg/kg/día <b>Ingesta máxima diaria</b> de 21,4 µg/día, para 60 Kg de peso <b>(150 µg/semana)</b>	<b>0.008 % PTWI</b>  0.01 % Ingesta diaria
<b>Tomillo</b>	4.5	0.290 (0.185)	1.305	<b>9.135</b>			<b>0.04 % PTWI</b>  0.06 % Ingesta diaria
<b>Salvia</b>	4.5	0.019 (0.004)	0.085	<b>0.598</b>			<b>0.003 % PTWI</b>  0.004 % Ingesta diaria
<b>Manzanilla</b>	8	0.188 (0.185)	1.504	<b>10.528</b>			<b>0.052 % PTWI</b>  0.07 % Ingesta diaria
<b>Tila</b>	6	0.072 (0.019)	0.432	<b>3.024</b>			<b>0.01 % PTWI</b>  0.02 % Ingesta diaria
<b>Valeriana</b>	4.5	0.032 (0.036)	0.144	<b>1.008</b>			<b>0.005 % PTWI</b>  0.006 % Ingesta diaria
<b>Cola de caballo</b>	4.5	0.042 (0.036)	0.189	<b>1.323</b>			<b>0.006 % PTWI</b>  0.008 % Ingesta diaria

**Tabla 29 (continuación).** Ingesta diaria estimada para cadmio. Evaluación de riesgo (10.73<sup>a</sup>; 7<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Cd] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	<b>Ingesta Semanal (µg/semana)</b>	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	PTWI	<b>Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales"</b>  <b>Evaluación de Riesgo</b>	
<b>Sen</b>	2	ND	---	---	<b>16.3-25.7 µg/día</b> (EFSA, 2009b/2012b) (60 Kg de peso)	<b>2.5 µg/Kg/semana</b> (PTWI) (EFSA, 2009/2011)	---	
<b>Hierbaluisa</b>	3.6	0.069 (0.046)	0.248	<b>1.739</b>			0,357 µg/kg/día <b>Ingesta máxima diaria</b> de 21,4 µg/día, para 60 Kg de peso (150 µg/semana)	<b>0.008 % PTWI</b>  0.011 % Ingesta diaria
<b>Té rojo</b>	3	0.053 (0.012)	0.159	<b>1.113</b>			<b>0.005 % PTWI</b>  0.007 % Ingesta diaria	
<b>Té verde</b>	6	0.052 (0.020)	0.312	<b>2.184</b>			<b>0.010 % PTWI</b>  0.014 % Ingesta diaria	
<b>Flor de azahar</b>	6	0.010 (0.006)	0.060	<b>0.42</b>			<b>0.002 % PTWI</b>  0.003 % Ingesta diaria	

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; PTWI: Ingesta Semanal Provisional Tolerable



**Tabla 30.** Ingesta diaria estimada para cromo. Evaluación de riesgo (23.21<sup>a</sup>; 10<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Cr] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales”  Evaluación de Riesgo
<b>Menta</b>	5.4	2.427 (2.016)	<b>13.106</b>	25-160 µg/día (EFSA, 2006)	20-35 µg/día (FNB/IOM, 2001)	0.3 mg/kg (EFSA, 2014) <b>18 mg/día</b>	<b>0.002 % TDI</b> 0.87 % RDA 0.190 % Ingesta diaria total
<b>Tomillo</b>	4.5	2.59 (0.806)	<b>11.655</b>				<b>0.001 % TDI</b> 0.77 % RDA 0.17 % Ingesta diaria total
<b>Salvia</b>	4.5	2.022 (0.506)	<b>9.099</b>				<b>0.001 % TDI</b> 0.602 % RDA 0.131 % Ingesta diaria total
<b>Manzanilla</b>	8	1.608 (1.054)	<b>12.864</b>				<b>0.002 % TDI</b> 0.85 % RDA 0.186 % Ingesta diaria total
<b>Tila</b>	6	2.417 (2.167)	<b>14.502</b>				<b>0.002 % TDI</b> 0.96 % RDA 0.210 % Ingesta diaria total
<b>Valeriana</b>	4.5	2.081 (2.132)	<b>9.364</b>				<b>0.001 % TDI</b> 0.62 % RDA 0.135 % Ingesta diaria total

**Tabla 30 (continuación).** Ingesta diaria estimada para cromo. Evaluación de riesgo (23.21<sup>a</sup>; 10<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Cr] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales”  Evaluación de Riesgo
<b>Cola de caballo</b>	4.5	1.493 (2.247)	<b>6.718</b>	25- <b>160</b> µg/día (EFSA, 2006)	20- <b>35</b> µg/día (FNB/IOM, 2001)	0.3 mg/kg (TDI) (EFSA, 2014) <b>18 mg/día</b>	<b>0.0009 % TDI</b> 0.445 % RDA 0.10 % Ingesta diaria total
<b>Sen</b>	2	0.694 (0.145)	<b>1.388</b>				<b>0.0002 % TDI</b> 0.092 % RDA 0.019 % Ingesta diaria total
<b>Hierbaluisa</b>	3.6	0.552 (0.377)	<b>1.987</b>				<b>0.0002 % TDI</b> 0.131 % RDA 0.028 % Ingesta diaria total
<b>Té rojo</b>	3	1.932 (1.138)	<b>5.796</b>				<b>0.0007 % TDI</b> 0.384 % RDA 0.084 % Ingesta diaria total
<b>Té verde</b>	6	1.392 (1.082)	<b>8.352</b>				<b>0.0012 % TDI</b> 0.553 % RDA 0.121 % Ingesta diaria total
<b>Flor de azahar</b>	6	0.843 (0.085)	<b>5.058</b>				<b>0.0007 % TDI</b> 0.335 % RDA 0.073 % Ingesta diaria total

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; TDI: Ingesta Diaria Tolerable; RDA: Ingesta Diaria Recomendada; AI: Ingesta adecuada

**Tabla 31.** Ingesta diaria estimada para mercurio. Evaluación de riesgo (<1<sup>a</sup>; 8<sup>b</sup>).

	Consumo Medio (g/día)	[Hg] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta Semanal (µg/semana)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	PTWI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales"  Evaluación de Riesgo
<b>Menta</b>	5.4	0.021 (0.023)	0.113	<b>0.794</b>	1 µg/kg/semana (excluyendo productos de la pesca) <b>60µg/semana</b> (Codex, 2011)	<b>4 µg/kg/semana para mercurio inorgánico (PTWI) (JECFA, 2011a) (EFSA, 2012a) 240 µg/semana</b>	<b>0.0003 % PTWI</b> 0.001 % Ingesta diaria total
<b>Tomillo</b>	4.5	0.049 (0.024)	0.220	<b>1.543</b>			<b>0.0005 % PTWI</b> 0.002 % Ingesta diaria total
<b>Salvia</b>	4.5	0.007 (0.015)	0.031	<b>0.220</b>			<b>0.00007 % PTWI</b> 0.0003 % Ingesta diaria total
<b>Manzanilla</b>	8	0.002 (0.004)	0.016	<b>0.112</b>			<b>0.00004 % PTWI</b> 0.0001 % Ingesta diaria total
<b>Tila</b>	6	0.034 (0.030)	0.204	<b>1.428</b>			<b>0.00005 % PTWI</b> 0.002 % Ingesta diaria total
<b>Valeriana</b>	4.5	0.014 (0.022)	0.063	<b>0.441</b>			<b>0.0001 % PTWI</b> 0.0006 % Ingesta diaria total
<b>Cola de caballo</b>	4.5	0.007 (0.011)	0.031	<b>0.220</b>			<b>0.00007 % PTWI</b> 0.0003 % Ingesta diaria total

**Tabla 31 (Continuación).** Ingesta diaria estimada para mercurio. Evaluación de riesgo (<1<sup>a</sup>; 8<sup>b</sup>).

	Consumo Medio (g/día)	[Hg] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta Semanal (µg/semana)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	PTWI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales"
<b>Sen</b>	2	0.015 (0.017)	0.030	<b>0.210</b>	1 µg/kg/semana (excluyendo productos de la pesca) <b>60µg/semana</b> (Codex, 2011)	<b>4 µg/kg/semana para mercurio inorgánico (PTWI) (JECFA, 2011a) (EFSA, 2012a) 240 µg/semana</b>	<b>0.00007 % PTWI</b> 0.0003 % Ingesta diaria total
<b>Hierbaluisa</b>	3.6	0.014 (0.014)	0.050	<b>0.353</b>			<b>0.0001 % PTWI</b> 0.0005 % Ingesta diaria total
<b>Té rojo</b>	3	0.002 (0.003)	0.006	<b>0.042</b>			<b>0.00002 % PTWI</b> 0.00005 % Ingesta diaria total
<b>Té verde</b>	6	ND	---	---			<b>--% PTWI</b> % Ingesta diaria total
<b>Flor de azahar</b>	6	0.006 (0.009)	0.036	<b>0.252</b>			<b>0.00009 % PTWI</b> 0.0003 % Ingesta diaria total

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; PTWI: Ingesta Semanal Provisional Tolerable

**Tabla 32.** Ingesta diaria estimada para plomo. Evaluación de riesgo (1.04<sup>a</sup>; 10<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Pb] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta Semanal (µg/semana)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	PTWI	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales”  Evaluación de Riesgo	
<b>Menta</b>	5.4	1.173 (0.896)	<b>6.334</b>	<b>44.339</b>	21.6- <b>74.4 µg/día</b> . Hasta 146 µg/día (EFSA, 2010) Hasta 1022 µg/semana	BMDL <sub>10</sub> : 0,63 µg/kg/día para efectos renales en adultos <b>Ingesta máxima</b> diaria de <b>37.8 µg/día</b> , considerando 60 kg de peso	<b>0.003 % PTWI</b> <b>0.016 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.008 % Ingesta diaria total	
<b>Tomillo</b>	4.5	1.273 (0.537)	<b>5.728</b>	<b>40.099</b>			<b>0.003 % PTWI</b> <b>0.015 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.008 % Ingesta diaria total	
<b>Salvia</b>	4.5	1.498 (0.334)	<b>6.741</b>	<b>47.187</b>			<b>0.003 % PTWI</b> <b>0.018 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.009 % Ingesta diaria total	
<b>Manzanilla</b>	8	0.528 (0.577)	<b>4.224</b>	<b>29.568</b>			0.025 mg/kg (PTWI) (JECFA, 1999) Eliminada (JECFA, 2011a,b)	<b>0.002 % PTWI</b> <b>0.011 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.006 % Ingesta diaria total
<b>Tila</b>	6	1.672 (0.907)	<b>10.032</b>	<b>70.224</b>			<b>1500 µg/semana</b>	<b>0.005 % PTWI</b> <b>0.026 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.013 % Ingesta diaria total
<b>Valeriana</b>	4.5	0.978 (0.775)	<b>4.401</b>	<b>30.807</b>				<b>0.002 % PTWI</b> <b>0.011 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.006 % Ingesta diaria total

**Tabla 32 (Continuación).** Ingesta diaria estimada para plomo. Evaluación de riesgo (1.04<sup>a</sup>; 10<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Pb] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta Semanal (µg/semana)	Ingesta diaria estimada (por consumo de alimentos)	PTWI	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales” Evaluación de Riesgo
<b>Cola de caballo</b>	4.5	0.587 (0.642)	<b>2.641</b>	<b>18.490</b>	21.6- <b>74.4 µg/día</b> . Hasta 146 µg/día (EFSA, 2010) Hasta 1022 µg/semana	BMDL <sub>10</sub> : 0,63 µg/kg/día para efectos renales en adultos <b>Ingesta máxima</b> diaria de <b>37.8 µg/día</b> , considerando 60 kg de peso  0.025 mg/kg (PTWI) (JECFA, 1999) Eliminada (JECFA, 2011a,b) <b>1500 µg/semana</b>	<b>0.001 % PTWI</b> <b>0.007 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.003 % Ingesta diaria total
<b>Sen</b>	2	0.526 (0.536)	<b>1.052</b>	<b>7.364</b>			<b>0.0005 % PTWI</b> <b>0.003 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.001 % Ingesta diaria total
<b>Hierbaluisa</b>	3.6	0.307 (0.370)	<b>1.105</b>	<b>7.736</b>			<b>0.0005 % PTWI</b> <b>0.003 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.001 % Ingesta diaria total
<b>Té rojo</b>	3	1.962 (0.836)	<b>5.886</b>	<b>41.202</b>			<b>0.003 % PTWI</b> <b>0.015 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.008 % Ingesta diaria total
<b>Té verde</b>	6	0.985 (0.676)	<b>5.91</b>	<b>41.37</b>			<b>0.003 % PTWI</b> <b>0.015 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.008 % Ingesta diaria total
<b>Flor de azahar</b>	6	0.061 (0.055)	<b>0.366</b>	<b>2.562</b>			<b>0.0002 % PTWI</b> <b>0.0005 % BMDL<sub>10</sub></b> 0.0005 % Ingesta diaria total

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; BMDL<sub>10</sub>: Benchmark Dose Lower confidence Limit 10; PTWI: Ingesta Semanal Provisional Tolerable

**Tabla 33.** Ingesta diaria estimada para cobre. Evaluación de riesgo. (25.21<sup>a</sup>; 70<sup>b</sup>).

	Consumo Medio (g/día)	[Cu] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales" Evaluación de Riesgo
<b>Menta</b>	5.4	11.800 (4.530)	<b>63.72</b>	<b>2-3 mg</b> (Codex, 2011)	<b>1.3-1.6 mg/día</b> (EFSA, 2015b)	<b>5 mg/día</b> (EFSA, 2006)	0,05-0,5 mg/Kg/día (PMTDI, JECFA) =3-30 mg/día (60 Kg) (FAO/WHO, 1982)	<b>0.037 % PMTDI</b> 0.702 % RDA <b>0.224 % UL</b> 0.374 % Ingesta diaria total
<b>Tomillo</b>	4.5	8.371 (1.471)	<b>37.669</b>					<b>0.021 % PMTDI</b> 0.414 % RDA <b>0.132 % UL</b> 0.220 % Ingesta diaria total
<b>Salvia</b>	4.5	5.883 (1.599)	<b>26.473</b>					<b>0.016 % PMTDI</b> 0.291 % RDA <b>0.093 % UL</b> 0.155 % Ingesta diaria total
<b>Manzanilla</b>	8	10.507 (1.934)	<b>84.056</b>					<b>0.049 % PMTDI</b> 0.926 % RDA <b>0.296 % UL</b> 0.493 % Ingesta diaria total
<b>Tila</b>	6	9.476 (2.451)	<b>56.856</b>					<b>0.033 % PMTDI</b> 0.626 % RDA <b>0.201 % UL</b> 0.333 % Ingesta diaria total

**Tabla 33 (Continuación).** Ingesta diaria estimada para cobre. Evaluación de riesgo. (25.21<sup>a</sup>; 70<sup>b</sup>).

	Consumo Medio (g/día)	[Cu] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales" Evaluación de Riesgo
<b>Valeriana</b>	4.5	2.710 (2.658)	<b>12.195</b>	<b>2-3 mg</b> (Codex, 2011)	<b>1.3-1.6 mg/día</b> (EFSA, 2015b)	<b>5 mg/día</b> (EFSA, 2006)	0,05-0,5 mg/Kg/día (PMTDI, JECFA) =3-30 mg/día (60 Kg) (FAO/WHO ,1982)	<b>0.007 % PMTDI</b> 0.134 % RDA <b>0.042 % UL</b> 0.070 % Ingesta diaria total
<b>Cola de caballo</b>	4.5	6.446 (1.456)	<b>29.007</b>					<b>0.017 % PMTDI</b> 0.319 % RDA <b>0.102 % UL</b> 0.169 % Ingesta diaria total
<b>Sen</b>	2	3.916 (0.690)	<b>7.832</b>					<b>0.005 % PMTDI</b> 0.086 % RDA <b>0.028 % UL</b> 0.046 % Ingesta diaria total
<b>Hierbaluisa</b>	3.6	10.073 (5.905)	<b>36.262</b>					<b>0.021 % PMTDI</b> 0.398 % RDA <b>0.127 % UL</b> 0.213 % Ingesta diaria total
<b>Té rojo</b>	3	21.362 (3.618)	<b>64.086</b>					<b>0.037 % PMTDI</b> 0.705 % RDA <b>0.225 % UL</b> 0.375 % Ingesta diaria total
<b>Té verde</b>	6	14.185 (2.514)	<b>85.11</b>					<b>0.049 % PMTDI</b> 0.938 % RDA <b>0.299 % UL</b> 0.500 % Ingesta diaria total
<b>Flor de azahar</b>	6	11.306 (5.374)	<b>67.836</b>					<b>0.039 % PMTDI</b> 0.747 % RDA <b>0.238 % UL</b> 0.398 % Ingesta diaria total

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; RDA: Ingesta Diaria Recomendada; AI: Ingesta adecuada; UL: Ingesta máxima tolerable; TDI: Ingesta Diaria Tolerable; PMTDI: Ingesta Diaria Máxima Provisional Tolerable



**Tabla 34.** Ingesta diaria estimada para hierro. Evaluación de riesgo. (5.79<sup>a</sup>; 18<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Fe] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales"  Evaluación de Riesgo
<b>Menta</b>	5.4	1137.230 (1049.96)	<b>6141.042</b>	11-16 mg/día (EFSA, 2015a)	6-7 mg/día (EFSA, 2015a)	45 mg/día (FNB/IOM, 2001)	0.8 mg/kg (TDI) (JECFA, 1993) 48 mg/día	<b>0.128 % TDI</b> 0.877 % RDA <b>0.136 % UL</b> 0.383 % Ingesta diaria total
<b>Tomillo</b>	4.5	703.630 (70.827)	<b>3166.335</b>					<b>0.066 % TDI</b> 0.452 % RDA <b>0.070 % UL</b> 0.198 % Ingesta diaria total
<b>Salvia</b>	4.5	934.005 (120.415)	<b>4203.022</b>					<b>0.087 % TDI</b> 0.600 % RDA <b>0.093 % UL</b> 0.262 % Ingesta diaria total
<b>Manzanilla</b>	8	535.384 (191.659)	<b>4283.072</b>					<b>0.089 % TDI</b> 0.611 % RDA <b>0.095 % UL</b> 0.265 % Ingesta diaria total
<b>Tila</b>	6	510.751 (310.301)	<b>3064.506</b>					<b>0.064 % TDI</b> 0.438 % RDA <b>0.068 % UL</b> 0.191 % Ingesta diaria total
<b>Valeriana</b>	4.5	375.931 (317.151)	<b>1691.689</b>					<b>0.035 % TDI</b> 0.241 % RDA <b>0.037 % UL</b> 0.106 % Ingesta diaria total

**Tabla 34 (Continuación).** Ingesta diaria estimada para hierro. Evaluación de riesgo. (5.79<sup>a</sup>; 18<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Fe] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales"  Evaluación de Riesgo
<b>Cola de caballo</b>	4.5	447.028 (437.743)	<b>2011.626</b>	11-16 mg/día (EFSA, 2015a)	6-7 mg/día (EFSA, 2015a)	45 mg/día (FNB/IOM, 2001)	0.8 mg/kg (TDI) (JECFA, 1993) <b>48 mg/día</b>	<b>0.042 % TDI</b> 0.287 % RDA <b>0.045 % UL</b> 0.126 % Ingesta diaria total
<b>Sen</b>	2	273.061 (51.098)	<b>546.122</b>					<b>0.011 % TDI</b> 0.078 % RDA <b>0.012 % UL</b> 0.034 % Ingesta diaria total
<b>Hierbaluisa</b>	3.6	376.420 (118.117)	<b>1355.112</b>					<b>0.028 % TDI</b> 0.193 % RDA <b>0.030 % UL</b> 0.085 % Ingesta diaria total
<b>Té rojo</b>	3	545.817 (315.321)	<b>1637.451</b>					<b>0.034 % TDI</b> 0.234 % RDA <b>0.036 % UL</b> 0.102 % Ingesta diaria total
<b>Té verde</b>	6	262.338 (134.217)	<b>1574.028</b>					<b>0.033 % TDI</b> 0.225 % RDA <b>0.035 % UL</b> 0.098 % Ingesta diaria total
<b>Flor de azahar</b>	6	307.740 (112.953)	<b>1846.440</b>					<b>0.038 % TDI</b> 0.264 % RDA <b>0.041 % UL</b> 0.115 % Ingesta diaria total

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; TDI: Ingesta Diaria Tolerable; RDA: Ingesta Diaria Recomendada; UL: Ingesta Máxima Tolerable;

**Tabla 35.** Ingesta diaria estimada para manganeso. Evaluación de riesgo (23.04<sup>a</sup>; 8<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Mn] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales”  Evaluación de Riesgo	
<b>Menta</b>	5.4	104.998 (30.220)	<b>566.989</b>	<b>11 mg/día</b>  (WHO, 2011 a,b)	<b>3 mg/día</b> <i>(EFSA, 2013)</i>	<b>11 mg/día</b> <i>(FNB/IOM, 2001)</i>	0.06 mg/Kg/día (TDI) <i>(WHO, 2011 a,b)</i> <b>3.6 mg/día</b>	<b>0.289 % TDI</b> 0.347 % RDA <b>0.094 % UL</b> 0.094 % Ingesta diaria total	
<b>Tomillo</b>	4.5	131.623 (57.494)	<b>592.303</b>					11 mg/día se considera un NOAEL (WHO, 2011 a,b) para derivar la TDI	<b>0.302 % TDI</b> 0.363 % RDA <b>0.099 % UL</b> 0.099 % Ingesta diaria total
<b>Salvia</b>	4.5	38.286 (6.380)	<b>172.287</b>					<b>0.088 % TDI</b> 0.105 % RDA <b>0.029 % UL</b> 0.029 % Ingesta diaria total	
<b>Manzanilla</b>	8	67.101 (11.607)	<b>536.808</b>					<b>0.274 % TDI</b> 0.328 % RDA <b>0.089 % UL</b> 0.089 % Ingesta diaria total	
<b>Tila</b>	6	94.683 (38.467)	<b>568.098</b>					<b>0.290 % TDI</b> 0.348 % RDA <b>0.095 % UL</b> 0.095% Ingesta diaria total	

**Tabla 35 (Continuación).** Ingesta diaria estimada para manganeso. Evaluación de riesgo (23.04<sup>a</sup>; 8<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Mn] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de “plantas medicinales” Evaluación de Riesgo	
Valeriana	4.5	38.832 (14.426)	<b>174.744</b>	<b>11 mg/día</b> (WHO, 2011a,b)	<b>3 mg/día</b> (EFSA, 2013)	<b>11 mg/día</b> (FNB/IOM, 2001)	0.06 mg/Kg/día (TDI) (WHO, 2011a,b) <b>3.6 mg/día</b>	<b>0.089 % TDI</b> 0.107 % RDA <b>0.029 % UL</b> 0.029 % Ingesta diaria total	
Cola de caballo	4.5	42.459 (28.962)	<b>191.065</b>					11 mg/día se considera un NOAEL (WHO, 2011a,b) para derivar la TDI	<b>0.097 % TDI</b> 0.117 % RDA <b>0.032 % UL</b> 0.032 % Ingesta diaria total
Sen	2	45.872 (37.202)	<b>91.744</b>					<b>0.046 % TDI</b> 0.056 % RDA <b>0.015 % UL</b> 0.015 % Ingesta diaria total	
Hierbaluisa	3.6	61.147 (3.480)	<b>220.129</b>					<b>0.112 % TDI</b> 0.135 % RDA <b>0.037 % UL</b> 0.037 % Ingesta diaria total	
Té rojo	3	929.147 (238.413)	<b>2787.441</b>					<b>1.424 % TDI</b> 1.709 % RDA <b>0.466 % UL</b> 0.466 % Ingesta diaria total	
Té verde	6	1577.648 (437.833)	<b>9465.888</b>					<b>4.837 % TDI</b> 5.796 % RDA <b>1.583 % UL</b> 1.583 % Ingesta diaria total	
Flor de azahar	6	18.597 (7.689)	<b>11.582</b>					<b>0.005 % TDI</b> 0.007 % RDA <b>0.002 % UL</b> 0.002 % Ingesta diaria total	

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; TDI: Ingesta Diaria Tolerable; RDA: Ingesta Diaria Recomendada; UL: Ingesta Máxima Tolerable; NOAEL: Nivel sin efecto adverso observable.

**Tabla 36.** Ingesta diaria estimada para zinc. Evaluación de riesgo (25.16<sup>a</sup>; 90<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Zn] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales"  Evaluación de Riesgo
<b>Menta</b>	5.4	34.901 (2.408)	<b>188.465</b>	<b>20 mg/día</b> <i>(FNB/IOM, 2001)</i>	<b>6.2-12.7 mg/día</b> <i>(EFSA, 2014)</i>	<b>25 mg/día</b> <i>(EFSA, 2006)</i>	0,3 mg/Kg/día (RfD) (EPA, 2005) = <b>18 mg/día</b> (60 Kg)	<b>0.235 % TDI</b> 0.685 % RDA <b>0.169 % UL</b> 0.212 % Ingesta diaria total
<b>Tomillo</b>	4.5	36.644 (9.115)	<b>164.898</b>					<b>0.205 % TDI</b> 0.596 % RDA <b>0.147 % UL</b> 0.185 % Ingesta diaria total
<b>Salvia</b>	4.5	19.837 (1.407)	<b>89.266</b>					<b>0.111 % TDI</b> 0.323 % RDA <b>0.079 % UL</b> 0.099 % Ingesta diaria total
<b>Manzanilla</b>	8	31.192 (6.596)	<b>249.536</b>					<b>0.312 % TDI</b> 0.906 % RDA <b>0.224 % UL</b> 0.280 % Ingesta diaria total
<b>Tila</b>	6	22.352 (2.892)	<b>134.112</b>					<b>0.167 % TDI</b> 0.488 % RDA <b>0.122 % UL</b> 0.151 % Ingesta diaria total

**Tabla 36 (Continuación).** Ingesta diaria estimada para zinc. Evaluación de riesgo (25.16<sup>a</sup>; 90<sup>b</sup>)

	Consumo Medio (g/día)	[Zn] Media (mg/Kg)	Ingesta Diaria (µg/día)	Ingesta diaria total estimada (por consumo de alimentos)	RDA/AI Cantidad diaria recomendada	UL Ingesta máxima tolerable	TDI	Ingesta diaria estimada por consumo de "plantas medicinales"  Evaluación de Riesgo
<b>Valeriana</b>	4.5	33.750 (5.989)	<b>151.875</b>	<b>20 mg/día</b> (FNB/IOM, 2001)	<b>6.2-12.7 mg/día</b> (EFSA, 2014)	<b>25 mg/día</b> (EFSA, 2006)	0,3 mg/Kg/día (RfD) (EPA, 2005) = <b>18 mg/día</b> (60 Kg)	<b>0.190 % TDI</b> 0.549 % RDA <b>0.135 % UL</b> 0.169 % Ingesta diaria total
<b>Cola de caballo</b>	4.5	28.460 (3.420)	<b>128.070</b>					<b>0.160 % TDI</b> 0.465 % RDA <b>0.115 % UL</b> 0.145 % Ingesta diaria total
<b>Sen</b>	2	16.389 (4.127)	<b>32.778</b>					<b>0.041 % TDI</b> 0.120 % RDA <b>0.029 % UL</b> 0.036 % Ingesta diaria total
<b>Hierbaluisa</b>	3.6	21.277 (4.455)	<b>76.597</b>					<b>0.095 % TDI</b> 0.275 % RDA <b>0.068 % UL</b> 0.086 % Ingesta diaria total
<b>Té rojo</b>	3	37.818 (4.169)	<b>113.454</b>					<b>0.142 % TDI</b> 0.411 % RDA <b>0.102 % UL</b> 0.126 % Ingesta diaria total
<b>Té verde</b>	6	26.385 (4.950)	<b>158.310</b>					<b>0.199 % TDI</b> 0.576 % RDA <b>0.142 % UL</b> 0.178 % Ingesta diaria total
<b>Flor de azahar</b>	6	20.006 (6.208)	<b>120.036</b>					<b>0.151 % TDI</b> 0.436 % RDA <b>0.108 % UL</b> 0.135 % Ingesta diaria total

<sup>a</sup> Porcentaje de solubilización; <sup>b</sup> Porcentaje absorción intestinal; TDI: Ingesta Diaria Tolerable; RDA: Ingesta Diaria Recomendada; PMTDI: Ingesta Diaria Máxima Provisional Tolerable; UL: Ingesta Máxima Tolerable

**Tabla 37.** Solubilización de elementos metálicos y metaloide en el total de las plantas medicinales.

<b>Elemento</b>	<b>% Solubilización (media)</b>	<b>Biodisponibilidad (% de absorción intestinal)</b>	
<b>As</b>	24,40	95	ATSDR (2007)
<b>Cd</b>	10,73	3 – 7*	WHO (2011a)
<b>Cr</b>	23,21	10	WHO (2003b)
<b>Hg</b>	<1	7 – 8*	WHO (2003a; 2005)
<b>Pb</b>	1,04	10	WHO (2011a)

\* El valor más alto fue el empleado en los cálculos de la evaluación del riesgo

**Tabla 38.** Solubilización de elementos minerales en el total de las plantas medicinales.

<b>Elemento</b>	<b>% Solubilización (media)</b>	<b>Biodisponibilidad (% de absorción intestinal)</b>	
<b>Zn</b>	25,16	10 -90*	WHO (2003b)
<b>Cu</b>	25,21	70	WHO (2003b)
<b>Fe</b>	5,79	16 – 18*	WHO (2003b) EFSA (2015a)
<b>Mn</b>	23,04	8	(WHO 2011b)

\* El valor más alto se utilizó para los cálculos de la evaluación del riesgo

**Tabla 39.** Ingestas diaria y semanal estimadas de elementos metálicos, metaloides y minerales en las plantas medicinales analizadas expresadas en µg. Evaluación del riesgo del consumidor.

Plantas medicinales (Ingesta)	Elementos metálicos y metaloides					Elementos minerales			
	As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
<b>Menta</b> <i>Mentha piperita</i> (5,4 g/día)	EDI: 0.80 BMDL <sub>01</sub> : 1.03 0.25*	EWI: 1.58 PTWI: 0.008 0.01*	EDI: 13.10 TDI: 0.002 RDA: 0.87 0.190*	EWI: 0.79 PTWI: 0.0003 0.001*	EWI: 44.3 PTWI: 0.003 BMDL <sub>10</sub> : 0.016 0.008*	EDI: 63.7 PMTDI: 0.037 RDA: 0.702 UL: 0.224 0.374*	EDI: 6141 TDI: 0.128 RDA: 0.877 UL: 0.136 0.383*	EDI: 567 TDI: 0.289 RDA: 0.347 UL: 0.094 0.094*	EDI: 188 TDI: 0.235 RDA: 0.685 UL: 0.169 0.212*
<b>Tomillo</b> <i>Thymus vulgaris</i> (4,5 g/día)	EDI: 1.06 BMDL <sub>01</sub> : 1.36 0.33*	EWI: 9.13 PTWI: 0.04 0.06*	EDI: 11.7 TDI: 0.001 RDA: 0.77 0.17*	EWI: 1.54 PTWI: 0.0005 0.002*	EWI: 40.1 PTWI: 0.003 BMDL <sub>10</sub> : 0.015 0.008*	EDI: 37.7 PMTDI: 0.021 RDA: 0.414 UL: 0.132 0.220*	EDI: 3166 TDI: 0.066 RDA: 0.452 UL: 0.070 0.198*	EDI: 592 TDI: 0.302 RDA: 0.363 UL: 0.099 0.099*	EDI: 165 TDI: 0.205 RDA: 0.596 UL: 0.147 0.185*
<b>Salvia</b> <i>Salvia officinalis</i> (4,5 g/día)	EDI: 1.34 BMDL <sub>01</sub> : 1.72 0.42*	EWI: 0.59 PTWI: 0.003 0.004*	EDI: 9.10 TDI: 0.001 RDA: 0.602 0.131*	EWI: 0.22 PTWI: 0.00007 0.0003*	EWI: 47.2 PTWI: 0.003 BMDL <sub>10</sub> : 0.018 0.009*	EDI: 26.5 PMTDI: 0.016 RDA: 0.291 UL: 0.093 0.155*	EDI: 4203 TDI: 0.087 RDA: 0.600 UL: 0.093 0.262*	EDI: 172 TDI: 0.088 RDA: 0.105 UL: 0.029 0.029*	EDI: 89.3 TDI: 0.111 RDA: 0.323 UL: 0.079 0.099*
<b>Manzanilla</b> <i>Matricaria chamomilla</i> (8 g/día)	EDI: 0.64 BMDL <sub>01</sub> : 0.82 0.20*	EWI: 10.5 PTWI: 0.052 0.07*	EDI: 12.9 TDI: 0.002 RDA: 0.85 0.186*	EWI: 0.11 PTWI: 0.00004 0.0001*	EWI: 29.6 PTWI: 0.002 BMDL <sub>10</sub> : 0.011 0.006*	EDI: 84.1 PMTDI: 0.049 RDA: 0.926 UL: 0.296 0.493*	EDI: 4283 TDI: 0.089 RDA: 0.611 UL: 0.095 0.265*	EDI: 537 TDI: 0.274 RDA: 0.328 UL: 0.089 0.089*	EDI: 250 TDI: 0.312 RDA: 0.906 UL: 0.224 0.280*



**Tabla 39 (Continuación).** Ingestas diaria y semanal estimadas de elementos metálicos, metaloides y minerales en las plantas medicinales analizadas expresadas en µg. Evaluación del riesgo del consumidor.

Plantas medicinales (Ingesta)	Elementos metálicos y metaloides					Elementos minerales			
	As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
<b>Tila</b> <i>Tilia sp.</i> <b>(6 g/día)</b>	EDI: 0.94 BMDL <sub>01</sub> : 1.21 0.29*	EWI: 3.02 PTWI: 0.01 0.02*	EDI: 14.5 TDI: 0.002 RDA: 0.96 0.210*	EWI: 1.43 PTWI: 0.00005 0.002*	EWI: 70.2 PTWI: 0.005 BMDL <sub>10</sub> : 0.026 0.013*	EDI: 56.9 PMTDI: 0.033 RDA: 0.626 UL: 0.201 0.333*	EDI: 3065 TDI: 0.064 RDA: 0.438 UL: 0.068 0.191*	EDI: 568 TDI: 0.290 RDA: 0.348 UL: 0.095 0.095*	EDI: 134 TDI: 0.167 RDA: 0.488 UL: 0.122 0.151*
<b>Valeriana</b> <i>Valeriana officinalis</i> <b>(4,5 g/día)</b>	EDI: 0.68 BMDL <sub>01</sub> : 0.87 0.21*	EWI: 1.01 PTWI: 0.005 0.006*	EDI: 9.36 TDI: 0.001 RDA: 0.62 0.135*	EWI: 0.44 PTWI: 0.0001 0.0006*	EWI: 30.8 PTWI: 0.002 BMDL <sub>10</sub> : 0.011 0.006*	EDI: 12.2 PMTDI: 0.007 RDA: 0.134 UL: 0.042 0.070*	EDI: 1692 TDI: 0.035 RDA: 0.241 UL: 0.037 0.106*	EDI: 175 TDI: 0.089 RDA: 0.107 UL: 0.029 0.029*	EDI: 152 TDI: 0.190 RDA: 0.549 UL: 0.135 0.169*
<b>Cola de caballo</b> <i>Equisetum arvense</i> <b>(4,5 g/día)</b>	EDI: 1.39 BMDL <sub>01</sub> : 1.79 0.44*	EWI: 1.32 PTWI: 0.006 0.008*	EDI: 6.72 TDI: 0.0009 RDA: 0.445 0.10*	EWI: 0.22 PTWI: 0.00007 0.0003*	EWI: 18.5 PTWI: 0.001 BMDL <sub>10</sub> : 0.007 0.003*	EDI: 29.0 PMTDI: 0.017 RDA: 0.319 UL: 0.102 0.169*	EDI: 2012 TDI: 0.042 RDA: 0.287 UL: 0.045 0.126*	EDI: 192 TDI: 0.097 RDA: 0.117 UL: 0.032 0.032*	EDI: 128 TDI: 0.160 RDA: 0.465 UL: 0.115 0.145*
<b>Sen</b> <i>Cassia angustifolia</i> <b>(2 g/día)</b>	EDI: 0.34 BMDL <sub>01</sub> : 0.43 0.11*	EWI: NA	EDI: 1.39 TDI: 0.0002 RDA: 0.092 0.019*	EWI: 0.21 PTWI: 0.00007 0.0003*	EWI: 7.36 PTWI: 0.0005 BMDL <sub>10</sub> : 0.003 0.001*	EDI: 7.83 PMTDI: 0.005 RDA: 0.086 UL: 0.028 0.046*	EDI: 546 TDI: 0.011 RDA: 0.078 UL: 0.012 0.034*	EDI: 91.7 TDI: 0.046 RDA: 0.056 UL: 0.015 0.015*	EDI: 32.8 TDI: 0.041 RDA: 0.120 UL: 0.029 0.036*

**Tabla 39 (Continuación).** Ingestas diaria y semanal estimadas de elementos metálicos, metaloides y minerales en las plantas medicinales analizadas expresadas en µg.

Plantas medicinales (Ingesta)	Elementos metálicos y metaloides					Elementos minerales			
	As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
<b>Hierba luisa</b> <i>Aloysia triphylla</i> (3,6 g/día)	EDI: 0.99 BMDL <sub>01</sub> : 1.28 0.31*	EWI: 1.74 PTWI: 0.008 0.011*	EDI: 1.98 TDI: 0.0002 RDA: 0.131 0.028*	EWI: 0.35 PTWI: 0.0001 0.0005*	EWI: 7.74 PTWI: 0.0005 BMDL <sub>10</sub> : 0.003 0.001*	EDI: 36.3 PMTDI: 0.021 RDA: 0.398 UL: 0.127 0.213*	EDI: 1355 TDI: 0.028 RDA: 0.193 UL: 0.030 0.085*	EDI: 220 TDI: 0.112 RDA: 0.135 UL: 0.037 0.037*	EDI: 76.6 TDI: 0.095 RDA: 0.275 UL: 0.068 0.086*
<b>Té rojo</b> <i>Aspalathus linearis</i> (3 g/día)	EDI: 0.97 BMDL <sub>01</sub> : 1.25 0.31*	EWI: 1.11 PTWI: 0.005 0.007*	EDI: 5.79 TDI: 0.03 RDA: 16.56 3.62*	EWI: 0.04 PTWI: 0.00002 0.00005*	EWI: 41.2 PTWI: 0.003 BMDL <sub>10</sub> : 0.015 0.008*	EDI: 64.1 PMTDI: 0.037 RDA: 0.705 UL: 0.225 0.375*	EDI: 1637 TDI: 0.034 RDA: 0.234 UL: 0.036 0.102*	EDI: 2787 TDI: 1.42 RDA: 1.71 UL: 0.466 0.466*	EDI: 113 TDI: 0.142 RDA: 0.411 UL: 0.102 0.126*
<b>Té verde</b> <i>Camellia sinensis</i> (6 g/día)	EDI: 0.98 BMDL <sub>01</sub> : 1.26 0.31*	EWI: 2.18 PTWI: 0.010 0.014*	EDI: 8.35 TDI: 0.05 RDA: 23.86 5.22*	EWI: NA PTWI: NA	EWI: 41.4 PTWI: 0.003 BMDL <sub>10</sub> : 0.015 0.008*	EDI: 85.1 PMTDI: 0.049 RDA: 0.938 UL: 0.299 0.500*	EDI: 1574 TDI: 0.033 RDA: 0.225 UL: 0.035 0.098*	EDI: 9466 TDI: 4.84 RDA: 5.80 UL: 1.58 1.58*	EDI: 158 TDI: 0.199 RDA: 0.576 UL: 0.142 0.178*
<b>Flor de azahar</b> <i>Citrus sp.</i> (6 g/día)	EDI: 0.60 BMDL <sub>01</sub> : 0.77 0.19*	EWI: 0.42 PTWI: 0.002 0.003*	EDI: 5.06 TDI: 0.03 RDA: 14.45 3.16*	EWI: 0.25 PTWI: 0.00009 0.0003*	EWI: 2.56 PTWI: 0.0002 BMDL <sub>10</sub> : 0.0005 0.0005*	EDI: 67.8 PMTDI: 0.039 RDA: 0.747 UL: 0.238 0.398*	EDI: 1846 TDI: 0.038 RDA: 0.264 UL: 0.041 0.115*	EDI: 11.6 TDI: 0.005 RDA: 0.007 UL: 0.002 0.002*	EDI: 120 TDI: 0.151 RDA: 0.436 UL: 0.108 0.135*

EDI: Ingesta Diaria Estimada (valor teórico sin ser corregido por el porcentaje de solubilización y biodisponibilidad). EWI: Ingesta semanal estimada (valor teórico sin ser corregido por el porcentaje de solubilización y biodisponibilidad). BMDL<sub>01</sub>: % de la Benchmark Dose Lower confidence Limit 01; PTWI: % de la Ingesta Semanal Provisional Tolerable; TDI: % de la Ingesta Diaria Tolerable; RDA: % de la Ingesta Diaria Recomendada; PMTDI: % de la Ingesta Diaria Máxima Provisional Tolerable; UL: % de la ingesta máxima tolerable; \*% de ingesta de elementos respecto del consumo total de alimentos (dieta); NA: No disponible al ser el contenido del elemento analizado inferior al límite de detección.

## **V.DISCUSIÓN**



## V. DISCUSIÓN

### V.I. CONTENIDO DE ELEMENTOS METÁLICOS, METALOIDE Y MINERALES EN PLANTAS MEDICINALES

En el presente estudio se analizaron las concentraciones de elementos metálicos, metaloide y minerales en un total de doce plantas medicinales, lo que supone el estudio más amplio llevado a cabo hasta el momento tanto en España como a nivel internacional.

Algunas de las concentraciones de Cd excedieron el nivel permisible internacionalmente aceptado. Dicho límite permisible para plantas medicinales fue propuesto por la OMS (WHO, 1999-2009) y es de  $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Por su parte, la European Pharmacopoeia (2008 a,b) en sus monografías relativas a fármacos elaborados a partir de plantas medicinales estableció como límite permisible para, Cd la concentración de  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ .

En nuestro estudio, tan sólo el 4.6% y el 2.3% de las muestras presentaron niveles de Cd por encima de los límites propuestos por la OMS y la Farmacopea Europea, respectivamente. Sin embargo, ninguna muestra excedió los límites establecidos para As, Pb y Hg. De hecho, la media aritmética de la concentración de Pb ( $1,00 \text{ mg kg}^{-1}$ ) se halló muy por debajo de los niveles permitidos de  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $5 \text{ mg kg}^{-1}$  según la OMS (WHO,1999-2009) y la European Pharmacopoeia (2008 a, b), respectivamente.

Aunque la media aritmética para el Cd fue de  $0,08 \text{ mg kg}^{-1}$  (tabla 20), algunos puntos de venta asociados a las plantas de tomillo y manzanilla (Tabla 22) superaron el límite máximo permisible de  $0,3$  y  $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$  para plantas medicinales establecido por la OMS (WHO, 1999-2009) y la European Pharmacopoeia, respectivamente, (2008a, b).

Como se expuso ampliamente en la introducción, Cu, Mn y Zn son componentes esenciales de los organismos vivos y se hallan presentes en las enzimas vegetales siendo también importantes para el crecimiento de las plantas, la fotosíntesis y la respiración (Abou-Arab et al., 1999). En este sentido, la OMS no ha establecido límites permisibles para estos minerales porque muchos de ellos se consideran

micronutrientes. En estudios previos, el contenido de minerales en plantas medicinales para Cr, Mn y Zn fue de 1,5, 200 y 50 mg kg<sup>-1</sup> (Markert, 1994).

Uno de los hallazgos observados en el presente estudio es la amplia variabilidad de concentraciones de metales en las plantas analizadas. Dicha variabilidad podría atribuirse a diferencias en las capacidades de captación y translocación del metal en la propia planta. La absorción del metal por las plantas depende de varios factores, incluyendo las especies vegetales y su estado de crecimiento, las características del suelo y las condiciones geoambientales (pH, potencial de oxidación-reducción), así como de las condiciones climáticas, etc.. (Dghaim et al., 2015).

La tabla 40 compara los resultados hallados en nuestro estudio con otros publicados en la literatura científica nacional e internacional. En general, nuestros resultados son similares a los recogidos por otros autores en países europeos, con la excepción del Mn en el té verde (*Camellia sinensis*), que fueron superiores a los publicados por en Malik et al. (2008) en la República Checa.

En la menta (*Mentha piperita*), las concentraciones de Cr, Pb, Cu y Fe halladas en nuestro estudio fueron similares a las recogidas por Rubio y cols. (2012) en las islas Canarias. Así mismo, nuestros resultados para As y Mn fueron del mismo orden que los indicados por Lozak et al. (2002).

Por el contrario, encontramos mayores niveles de Cd en el tomillo (*Thymus vulgaris*) que los hallados en Dubai por Dghaim y colaboradores en 2015.

En la salvia, nuestros resultados de Cr, Pb y Mn coinciden con los señalados por Basgel y Erdemoglu (2006) en Turquía y los de Cd, Pb y Hg con los publicados por Gasser y cols. (2009) en Alemania.

Respecto a la manzanilla (*Matricaria chamomilla*), los resultados obtenidos en el presente estudio son coincidentes con los recogidos por Arpadjan et al. (2008) en Bulgaria y Basgel y Erdemoglu (2006) en Turquía.

En el caso de la tila (*tilia sp.*) se hallaron niveles más elevados de elementos metálicos que los publicados en Egipto por Abou-arab y cols. (1999), con la excepción del Zn.

Para la valeriana (*Valeriana officinalis*) nuestro estudio aporta niveles más bajos de Cr, Pb, Fe y Mn que los recogidos por Arce et al. (2005) en Argentina.

Para un elevado número de plantas medicinales entre las que podemos citar la cola de caballo (*Equisetum arvense*), Sen (*Cassia angustifolia*), hierbaluisa (*Aloysia triphylla*) y té rojo (*Aspalathus linearis*), las concentraciones de Cd, Hg y Pb fueron similares a las halladas en Alemania por Gasser y cols. (2009).

**Tabla 40.** Concentración de elementos metálicos, metaloides y minerales expresada en mg kg<sup>-1</sup> (desviación estándar) en las plantas medicinales seleccionadas. Comparativa con estudios similares publicados en la literatura científica especializada

Plantas medicinales		Elementos metálicos y metaloides					Elementos minerales			
		As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
<i>Mentha piperita</i>	Estudio	0,15 (0,16/0,25)	0,04 (0,05/0,08)	2,40 (1,70/6,44)	0,02 (0,01/0,08)	1,17 (0,86/2,66)	11,80 (11,88/19,78)	1137,23 (765,29/3245,13)	105,00 (96,81/160,45)	34,90 (35,30/38,04)
	PS <sup>a</sup>	0,09 - 0,23	0,02 - 0,12			1,83 - 2,58				
	PS <sup>b</sup>	0 (0)	0,02 (0,02)	6,28 (1,61)		0 (0)	6,47 (0,41)	451,40 (85,60)	43,50 (3,09)	10,79 (0,19)
	PS <sup>c</sup>		0,20 (0,03)	1,33 (0,35)		0,61 (0,16)	12,41 (0,87)	402,43 (60,19)	46,20 (5,32)	27,05 (3,00)
	PS <sup>d</sup>	0,12 (0,03)	0,09 (0,01)	0,94 (0,14)		2,41 (0,11)	12,00 (0,20)	239,00 (20,00)	188,00 (3,00)	51,00 (6,10)
	PS <sup>e</sup>		0,29	0,09		0,05	6,10	76,40	36,90	34,60
	NPS <sup>e</sup>		0,31	0,10		0,08	6,90	84,80	38,80	38,80
<i>Mentha sp.,</i>	PS <sup>c1</sup>		0,25 (0,03)	2,27 (0,48)		0,60 (0,28)	10,66 (0,78)	508,43 (78,92)	57,99 (6,61)	33,53 (3,47)
	PS <sup>c2</sup>		0,18 (0,05)	0,86 (0,21)		0,38 (0,13)	8,96 (1,05)	253,35 (60,62)	51,11 (5,50)	31,12 (5,50)
	PS <sup>c3</sup>		0,15 (0,03)	1,01(0,36)		0,38 (0,08)	10,28 (0,98)	270,18 (57,70)	39,78 (6,30)	26,96 (3,97)
	NPS <sup>c4</sup>		0,28 (0,04)	1,20 (0,08)		1,11 (0,70)	14,31 (3,86)	562,84 (47,67)	35,25 (7,44)	28,53 (11,33)
<i>Thymus vulgaris</i>	Estudio	0,24 (0,24/0,30)	0,29(0,19/0,58)	2,59 (2,25/4,35)	0,05 (0,05/0,10)	1,27 (1,78/2,10)	8,37 (8,35/11,12)	703,63 (705,08/856,23)	131,62 (97,23/227,01)	36,65 (32,71/53,21)
	PS <sup>f</sup>		<0,10			9,07 (0,34) - 23,5(1,68)	3,52 (0,22) - 13,16 (0,33)	120,75 (1,82) - 764,51 (39,15)		16,50 (1,29) - 146,67 (7,57)
<i>Thymus serpyllum</i>	PS <sup>a</sup>	0,03 - 0,07	0,14 - 0,27			6,45 - 8,63				



**Tabla 40 (Continuación).** Concentración de elementos metálicos, metaloides y minerales expresada en mg kg<sup>-1</sup> (desviación estándar) en las plantas medicinales seleccionadas.

Comparativa con estudios similares publicados en la literatura científica especializada

Plantas medicinales		Elementos metálicos					Elementos minerales			
		As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
<i>Salvia officinalis</i>	Estudio	0,30 (0,30/0,36)	0,02 (0,02/0,03)	2,02 (2,1/2,9)	0,01 (-/0,03)	1,50 (1,40/2,03)	5,88 (6,69/7,65)	934,01 (969,99/1080,59)	38,29 (36,58/47,18)	19,84(20,14/21,65)
	PS <sup>e</sup>		ND	2,12 (0,40)		1,14 (0,28)	35,80 (4,20)	297,40 (20,20)	32,60 (3,15)	48,40 (2,20)
	PS <sup>f</sup>		<0,10			12,7(1,54) - 21,76(1,3)	5,17 (0,03) - 156,24 (1,22)	204,15 (19,62) - 799,31 (36,85)		24,64 (0,53) - 58,78 (2,72)
	NPS <sup>h</sup>		<0,07 - 0,14		<0,02-0,06	<0,04 - 6,47				
<i>Matricaria chamomilla</i>	Estudio	0,08(0,08/0,13)	0,19(0,11/0,50)	0,61(1,05/4,04)	0,002(0,001/0,020)	0,53(0,28/1,42)	10,51(10,63/13,67)	535,38 (490,50/880,06)	67,10(67,17/85,31)	31,19(32,27/40,48)
	PS <sup>e</sup>		0,44 (0,02)	1,22 (0,02)		0,72 (0,08)	8,34 (0,05)	502,70 (3,00)	60,20 (3,30)	30,60 (2,10)
	PS <sup>a</sup>	0,08 - 0,12	0,18 - 0,26			0,29 - 1,63				
	PS <sup>i</sup>						29,10 (8,30)	467 (115)	51,20 (11,40)	32,90 (7,30)
	PS <sup>f</sup>		<0,10			5,37(1,25)- 11,40(1,32)	6,12 (1,03) - 12,99 (0,48)	188,27 (3,72) - 581,30 (41,89)		25,23 (3,56) - 38,93(3,14)
	PS <sup>e</sup>		0,10	0,08		0,24	8,90	104,80	25,40	116,00
	NPS <sup>e</sup>		0,21	0,07		0,31	10,40	125,00	28,80	122,00
NPS <sup>h</sup>		<0,07 - 0,76		<0,02	<0,40 - 3,12					
<i>Tilia sp.</i>	Estudio	0,16 (0,17/0,26)	0,07 (0,08/0,01)	2,42 (2,20/6,14)	0,03 (0,02/0,08)	1,67 (1,92/2,90)	9,48 (9,55/13,12)	510,75 (660,20/834,05)	94,68 (81,25/161,33)	22,35 (21,77/28,11)
<i>Tilia vulgaris</i>	PS <sup>e</sup>		ND	0,34 (0,08)		0,26 (0,04)	9,64 (0,76)	228 (26)	71,2 (1,5)	35,6 (2,2)
<i>Lindin Blossom</i>	PS <sup>a</sup>		0,09	0,07		0,10	4,40	46,90	33,10	42,40
	NPS <sup>a</sup>		0,14	0,20		0,12	4,90	49,40	36,40	60,40
<i>Valeriana officinalis</i>	Estudio	0,15	0,03 (0,02/0,06)	2,08 (1,40/5,90)	0,01 (-/0,07)	0,98 (0,60/3,22)	2,71 (2,21/6,42)	375,93 (259,90/939,97)	38,83 (31,48/58,30)	33,750 (34,21/40,37)
	PS <sup>i</sup>		0,01 (0,001)	5,40 (0,22)		17,04 (0,68)	4,97 (0,15)	2293 (18,86)	83,47 (2,50)	27,30 (0,82)
<i>Equisetum arvense</i>	Estudio	0,31	0,04 (0,03/0,10)	1,49 (0,44/5,83)	0,01 (0,01/0,03)	0,59 (0,36/1,71)	6,45 (6,84/8,35)	447,03 (203,61/1221,11)	42,46 (37,47/88,62)	28,46 (29,48/32,63)
	NPS <sup>h</sup>		<0,07 - 0,63		<0,02 - 0,1	<0,4 - 21,45				

**Tabla 40 (Continuación).** Concentración de elementos metálicos, metaloides y minerales expresada en mg kg<sup>-1</sup> (desviación estándar) en las plantas medicinales seleccionadas.

Comparativa con estudios similares publicados en la literatura científica especializada

Plantas medicinales		Elementos metálicos					Elementos minerales			
		As	Cd	Cr	Hg	Pb	Cu	Fe	Mn	Zn
<i>Cassia angustifolia</i>	Estudio	0,17 (0,16/0,27)	ND	0,69 (0,69/0,89)	0,02 (0,01/0,06)	0,53 (0,34/1,46)	3,92 (3,92/4,92)	273,06 (297,56/322,63)	45,87 (33,60/109,62)	16,39(15,85/22,06)
	PS <sup>b</sup>	5,40 (5,36)	0,05 (0,05)	4,99 (1,83)		1,43 (0,43)	2,46 (1,80)	199,50 (127,19)	16,66 (11,20)	6,34 (6,28)
	NPS <sup>h</sup>		<0,07		<0,02	<0,4-0,72/<0,04-0,93				
<i>Aloysia triphylla</i>	Estudio	0,28 (0,18/0,55)	0,07 (0,04/0,01)	0,55 (0,29/1,12)	0,01 (0,01/0,04)	0,31 (0,07/0,91)	10,07 (8,38/18,30)	376,42 (320,80/570,35)	61,15 (60,32/57)	21,28 (22,85/43,28)
	NPS <sup>h</sup>		<0,07 - 0,57		<0,02	<0,4 - 2,57				
<i>Aspalathus linearis</i>	Estudio	0,32 (0,27/0,56)	0,05 (0,06/0,08)	1,93 (1,32/4,14)	0,002 (0,001/0,01)	1,96(1,90/3,80)	21,36 (20,75/28,25)	545,82 (319,98/1038,99)	929,15 (958,81/1237,14)	37,82 (39,46/43,28)
	NPS <sup>h</sup>		<0,07 - 0,11		<0,02	<0,4 - 0,46				
	PS <sup>i</sup>						11,30 (2,00)	120,40 (4,00)	50,60 (0,70)	7,50 (0,26)
<i>Camellia sinensis</i>	Estudio	0,16 (0,17/0,30)	0,05 (0,06/0,07)	1,39 (0,92/3,72)	ND	0,99 (0,70/2,04)	14,19 (13,88/18,45)	262,34 (202,39/532,89)	1577,65 (1610,11/2134,69)	26,39 (26,24/34,81)
	PS <sup>b</sup>	1,90 (1,97)	0,14 (0,14)	0,45 (0,05)		3,85 (3,07)	0,15 (0,13)	2,94 (2,91)	20,25 (7,83)	17,55 (2,34)
	NPS <sup>i</sup>						36,50 (1,50)	116,00 (3,00)	302 (7,00)	28,70 (7,00)
	NPS <sup>i</sup>						23,10 (2,50)	184,00 (23,00)	211,00 (15,00)	19,00 (0,40)
	NPS <sup>i</sup>						35,70 (1,90)	107,00 (4,00)	482,00 (23,00)	24,10 (1,00)
	NPS <sup>i</sup>						26,20 (1,00)	98,70 (2,80)	1045,00 (87,00)	20,60 (0,30)
<i>Citrus sp.</i>	Estudio	0,10 (0,10/0,15)	0,01 (0,01/0,02)	0,84 (0,84/1,02)	0,01 (-/0,03)	0,06 (0,06/0,17)	11,31 (11,06/17,12)	307,74 (295,28/442,74)	18,60 (18,37/26,50)	20,01(15,75/26,26)

Nuestro estudio: Media (P50/P95); PS: Formato bolsa dispensable; NPS: No bolsa dispensable (f); ND: No detectable; <sup>a</sup>Arpadjan et al., 2008 (Bulgaria); <sup>b</sup>Musa Özcan et al., 2008 (Turquía); <sup>c</sup>Rubio et al., 2012 (España); <sup>d</sup>Rubio et al., 2012 (Supermercado) <sup>e</sup>Rubio et al., 2012 (Farmacia); <sup>f</sup>Rubio et al., 2012 (Herbolario); <sup>g</sup>Rubio et al., 2012 (Mercado tradicional); <sup>h</sup>Lozak et al., 2002 (Polonia); <sup>i</sup>Abou-arab et al., 1999 (Egipto); <sup>j</sup>Dghaim et al., 2015 (Dubai); <sup>k</sup>Başgel and Erdemoglu., 2006 (Turquía); <sup>l</sup>Gasser et al., 2009 (Alemania); <sup>m</sup>Malik et al., 2008 (República Checa) <sup>n</sup>Arce et al., 2005 (Argentina);

## V.II. EVALUACIÓN DEL RIESGO

Este estudio planteó, como aspecto esencial del trabajo, si las plantas medicinales analizadas podrían representar un riesgo para la salud de los consumidores. Cabe señalar que la evaluación del riesgo realizada en este estudio se hizo sobre las infusiones obtenidas de las plantas en lugar de sobre la hoja desecada. Esto significa que se ha considerado la solubilización de los elementos metálicos/minerales estudiados en cada planta medicinal. Así mismo, también se ha considerado su biodisponibilidad, es decir, el porcentaje de absorción intestinal del elemento en cuestión por el organismo (tablas 37 y 38).

Como se ha comentado, en diversos estudios se han hallado niveles por encima de los permitidos en algunas de las muestras analizadas (Sarma et al., 2011). De hecho, en un estudio realizado por Cooper et al. (2007), sobre ciertos productos empleados en medicina tradicional china, se observó una importante contaminación con As, Pb y Hg; sin embargo, aunque este hallazgo pudiera suponer un riesgo importante para los consumidores, no habría que olvidar que en la evaluación del riesgo se deben tomar en consideración los datos sobre biodisponibilidad de dichos elementos para ponerse en la situación real del consumidor.

Las concentraciones de As encontradas en las plantas medicinales analizadas fueron generalmente bajas. Aunque se determinó el As total, es decir, la suma del orgánico e inorgánico, se asumió que la mayoría correspondería a As inorgánico, que es la forma química habitual de As presente en alimentos. Sin embargo, no podemos descartar que parte del As pudiera ser ácido dimetilarsínico como el ácido cacodílico, un compuesto del arsénico dimetilado que aún se utiliza como pesticida en numerosos países.

La ingesta diaria estimada del As inorgánico osciló entre 0,34-1,39  $\mu\text{g}/\text{día}$ , cifras muy por debajo de la  $\text{BMDL}_{01}$  más restrictiva para los efectos carcinógenos del As inorgánico (EFSA, 2009a; JECFA, 2011a). Sin embargo, la ingesta estimada fue algo mayor que la descrita por Arpadjan et al. (2008) para plantas medicinales (1,3  $\mu\text{g}/\text{semana}$ ).

La contribución del As inorgánico a la dieta (0,11-0,44%) a través de las plantas medicinales analizadas es por muy escasa (tablas 28 y 39), máxime teniendo en cuenta una solubilización promedio del 24,4% en las infusiones y un 95% de biodisponibilidad (tabla 37). Por ello, no representaría un riesgo significativo para los consumidores con respecto al riesgo general derivado de la exposición a través de la dieta (EFSA, 2009a).

En cuanto al Cd, la ingesta teórica semanal calculada osciló entre 0,42 µg/semana (flor de azahar) y 10,53 µg/semana (manzanilla), para una persona promedio de 60 kg, lo que corresponde al 0,002-0,052% del PTWI (EFSA, 2009b; 2012b) (tablas 29 y 39), asumiendo el porcentaje de solubilización del Cd en las infusiones y la biodisponibilidad indicados en la tabla 37.

Este consumo representa pues el 0,003-0,07% de la ingesta diaria total de Cd a través del consumo global de alimentos. En consecuencia, el porcentaje del valor de referencia (PTWI) fue en todos los casos mucho más bajo que el 10% considerado como límite de corte. Por ello, la ingesta de Cd procedente de las plantas medicinales analizadas no plantea riesgo alguno para la salud de los consumidores.

En relación a los datos aportados por otros autores, Arpadjan et al. (2008) indican una ingesta máxima de 2,2 µg/semana de Cd en tés y Caldas y Machado (2004) hallaron concentraciones que oscilaron entre 0,01 y 0,75 µg/día, también muy bajas en comparación con el PTWI propuesto por la FAO/OMS.

Por el contrario, Obi y colaboradores (2006) refieren una ingesta considerablemente mayor de Cd en remedios naturales a base de plantas recolectadas en Nigeria (550-4750 µg/día), lo que indicaría que dichos productos contendrían niveles excesivos de Cd.

Respecto del Hg, la ingesta calculada osciló entre 0,04 (té rojo) y 1,54 (tomillo) µg/semana (tablas 31 y 39). La ingesta semanal calculada de Hg en nuestro estudio osciló entre el 0,00002% (té rojo) y el 0,0005% (tomillo) del PTWI fijado por JECFA (2011a) y EFSA (2012a) para Hg inorgánico tomando como base una persona de 60 kg. Dichas ingestas representan una pequeña fracción de la ingesta diaria de Hg inorgánico total por exposición a través de la dieta (0,00005-0,002%), tras considerar el porcentaje de solubilización del Hg en las infusiones y su biodisponibilidad (ver tabla

37). En consecuencia, el consumo de las plantas medicinales estudiadas puede considerarse seguro con respecto al Hg inorgánico.

En relación al Pb, se fijó una PTWI de 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso corporal (1500  $\mu\text{g}/\text{persona}$ ) por la JECFA (1993). Teniendo en cuenta las concentraciones de Pb encontradas en nuestro estudio y el consumo de plantas medicinales, las menores ingestas de Pb calculadas correspondieron a la flor de azahar, sen y la hierbaluisa con concentraciones de 2,56, 7,36 y 7,74  $\mu\text{g}/\text{semana}$ , respectivamente. El consumo más elevado correspondió a la tila (*Tilia cordata*) (70,22  $\mu\text{g}/\text{semana}$ ), que osciló entre 0,0002 y 0,005% del PTWI (tablas 32 y 39), una vez considerado el porcentaje medio de solubilización del Pb en las infusiones y su biodisponibilidad (tabla 37).

Dado que las plantas medicinales estudiadas representan un pequeño porcentaje (0.0005-0.013%) de la ingesta diaria total de Pb a través de los alimentos, su consumo no representaría ninguna amenaza para la salud. Sin embargo, la presencia omnipresente y la persistencia de Pb en el medio ambiente como contaminante requerirían una biomonitorización constante de todas aquellas posibles fuentes de exposición humana, incluyendo las plantas medicinales.

Así mismo, la EFSA (2010) y el Comité mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) (2011b) concluyeron que el PTWI establecido por el JECFA para Pb (1993) en 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal no era apropiado. Esto es debido a que no hay evidencia de un umbral para una serie de efectos tóxicos, incluyendo la neurotoxicidad sobre el desarrollo especialmente en niños y la nefrotoxicidad en los adultos. Por este motivo, se eliminó el valor de PTWI y la EFSA (2010), como medida alternativa, estableció el percentil 95 de la *Benchmark Dose Confidence Limit* o  $\text{BMDL}_{01}$  y  $\text{BMDL}_{10}$ , es decir, 1,50 y 0,63  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de peso corporal por día, para efectos cardiovasculares y nefrotoxicidad, respectivamente.

En consecuencia, en el presente estudio se llevó a cabo la evaluación del riesgo de exposición a Pb a través de las plantas medicinales utilizando la  $\text{BMDL}_{10}$  para nefrotoxicidad en adultos (tablas 32 y 39). En este caso, la ingesta diaria estimada de Pb a través de las plantas estudiadas representó el 0,0005-0,026% de la  $\text{BMDL}_{10}$  una vez considerado el porcentaje de solubilización del Pb en las infusiones y su

biodisponibilidad tal y como recoge la tabla 37, por lo que su consumo puede ser considerado seguro.

En el caso de los oligoelementos o elementos minerales y a efectos de la evaluación de riesgos, se compararon las ingestas diarias calculadas de Cu, Zn, Fe, Mn y Cr a través del consumo de plantas medicinales con sus valores de referencia, es decir, con la Ingesta Diaria Tolerable (TDI) o bien con la Ingesta Diaria Máxima Provisional Tolerable (PMTDI). Dado que estos metales son minerales esenciales para los seres humanos, existen unos requerimientos alimentarios mínimos que deben ser cubiertos por la dieta. Es lo que se denomina RDA (Recommended Dietary Allowance) o ingesta diaria recomendada. Además, existe el UL o ingesta máxima tolerable, que sería el nivel máximo de ingesta diaria del elemento que no supone ningún riesgo de efectos adversos. Todos estos valores de referencia fueron considerados para la evaluación del riesgo (tablas 30 y 33-36).

En este sentido, las ingestas diarias estimadas para Cr, Cu, Fe y Zn, representaron porcentajes muy bajos de los valores de referencia (TDI, PMTDI o UL) (tablas 30, 33, 34, 36 y 39). La contribución de las plantas medicinales a la RDA de estos elementos minerales oscila entre 0.09-0.96% (Cr), 0.09-0.93% (Cu) y 0.08-0.88% (Fe) y 0.12-0.91% (Zn). Estas cifras tienen en cuenta el porcentaje de solubilización de los elementos minerales en las infusiones y su biodisponibilidad (ver tabla 38). En consecuencia, la ingesta de estos elementos minerales a través de plantas medicinales no representa ningún riesgo para la salud del consumidor.

Hallazgos similares son recogidos por García-Rico et al. (2007) quienes analizaron la presencia de ciertos minerales como Cu, Zn en suplementos dietéticos comprobando que las ingestas diarias estimadas se situaban por debajo de las recomendaciones por la OMS (WHO, 1989).

Los únicos resultados que, aparentemente, vale la pena resaltar corresponden al Mn en las plantas de té tanto verde como rojo (tablas 35 y 39). Para el resto de plantas analizadas, la ingesta diaria teórica de Mn varió de 0,30% a 16,44% de la TDI (para la flor de azahar y el tomillo, respectivamente) y de 0,1% a 5,38% de su UL, respectivamente.

Estudios previos llevados a cabo por Lozak et al. (2002) también encontraron que los tés (verde y rojo) presentaban las concentraciones más altas de Mn (tabla 39). La ingesta diaria teórica de Mn en el té verde fue de 9,47 mg/día, lo que representa un 263% de la TDI, un 86% del UL, un 315% de la RDA y un 86% de la ingesta total de Mn a través de los alimentos.

Por su parte, aunque la ingesta diaria estimada del Mn procedente del té rojo también fue elevada (2,79 mg/día), esta cifra fue inferior a la TDI (77,41%) y a la RDA (92,90%). Así, la ingesta diaria de Mn por consumo de té rojo tan sólo representó el 25,33% de la ingesta diaria total a través de la dieta.

En adultos se absorbe aproximadamente del 3-5% del Mn ingerido. Posteriormente, se excreta a través de la bilis y sólo se retienen unos pocos  $\mu\text{g}$  al día. Por el contrario, la población infantil absorbe casi el 70% y elimina bastante menos que la población adulta (Aschner et al., 2006). Por todo ello, cuando se tiene en cuenta el porcentaje de solubilización del Mn en las infusiones y su biodisponibilidad (véase tabla 38), la RDA ajustada es del 5,80% para el té verde y del 1,71% para el té rojo, cifras que permiten descartar cualquier riesgo para la salud del consumidor medio. En relación a la TDI y la UL, representan el 1,42% y el 0,47% en el té rojo, y el 4,84% y el 1,58% en el té verde, respectivamente (tablas 35 y 39).





## **VI.CONCLUSIONES**



## VI. CONCLUSIONES

**Primera.-** Se ha procedido a la validación analítica de las determinaciones de As total, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg total, Mn, Pb y Zn en plantas medicinales. Para ello se ha tomado como referencia la normativa internacional (UNE-EN ISO/IEC 17025:2005) que incluye los siguientes parámetros: límites de detección y cuantificación, intervalo de linealidad, precisión (mínima, repetitividad y precisión intermedia), exactitud valorada mediante materiales de referencia certificados (CRMs) y porcentaje de recuperación.

**Segunda.-** Se ha determinado la concentración de As total, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg total, Mn, Pb y Zn en 220 muestras de plantas medicinales adquiridas en supermercados (que disponían tanto de marcas propias -blancas- como comerciales), mercados tradicionales con venta a granel y herbolarios ubicados en Andalucía. El 96,8% de las muestras arrojaron concentraciones detectables, oscilando entre el 47.5% para el Hg y el 100% en el caso del As, Mn y Zn.

**Tercera.-** En el presente estudio, tan solo el 4,6% y el 2,3% de las muestras presentaron niveles de Cd por encima de los límites propuestos por la OMS y la Farmacopea Europea establecidos en 0,3 y 0,5 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Esto fue evidenciado únicamente en determinados puntos de venta y tan sólo en muestras de tomillo y manzanilla.

**Cuarta.** Dado que las concentraciones de metales en las plantas pueden variar dependiendo de diversos factores geoclimáticos y a la vista de nuestros resultados, los niveles de Cd deberían medirse con frecuencia en las plantas medicinales al objeto de comprobar si exceden los límites de referencia vigentes. Así mismo, se podría considerar la reevaluación de los límites propuestos en plantas medicinales para ciertos elementos metálicos con propiedades acumulativas, como el caso del Cd.

**Quinta.-** Respecto a los elementos minerales, los niveles más altos correspondieron al Mn tanto en el té rojo (659-1211 mg kg<sup>-1</sup>) como en el té verde (917-2071 mg kg<sup>-1</sup>) de

entre todas las plantas estudiadas, lo que estaría en consonancia con lo descrito previamente por otros autores en la literatura científica especializada.

**Sexta.-** Se ha efectuado una comparativa de los niveles de metales, metaloide y minerales encontrados en las plantas estudiadas con respecto a los obtenidos en otros estudios llevados a cabo a nivel nacional e internacional también sobre plantas medicinales que han sido recogidos en la literatura científica especializada. En general, nuestros resultados son coincidentes con los hallados por otros autores en países europeos en plantas de especies similares.

**Séptima.-** Se ha procedido a la evaluación del riesgo e impacto sobre la salud de los consumidores derivado de la ingesta de dichas plantas medicinales y sus preparaciones (infusiones). Aun cuando las ingestas diarias estimadas de algunos elementos como el Mn en el té rojo y en el té verde fueron elevadas (2,79 y 9,47 mg/día, respectivamente), si se considera tanto el porcentaje de solubilización en las infusiones como la biodisponibilidad o porcentaje de absorción intestinal de cada metal, metaloide o mineral en el organismo, no se plantea ningún riesgo para la salud de los consumidores derivado de la ingesta de dichas plantas medicinales.

## **VII.BIBLIOGRAFÍA**



## VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abou-Arab AAK, Kawther MS, El Tantawy ME, Badeaa RI, Khayria N. Quantity estimation of some contaminants in commonly used medicinal plants in the Egyptian market. *Food Chem.* 1999; 67 (4): 357-363
- Arce S, Cerutti S, Olsina R, Gomez MR, Martinez LD. Determination of metal content in Valerian root phytopharmaceutical derivatives by atomic spectrometry. *J AOAC Inter.* 2005; 88(1): 221–225
- Amaya E, Gil F, Freire C, Olmedo P, Fernández-Rodríguez M, Fernández MF, Olea N. Placental concentrations of heavy metals in a mother-child cohort. *Environ Res.* 2013; 120: 63-70.
- Arpadjan S, Celik G, Taşkesen S, Güçer S. Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46(8): 2871-75.
- Aschner M. The transport of manganese across the blood-brain barrier. *Neurotoxicology.* 2006; 27(3): 311-14.
- ATSDR (Agency of Toxic substances and Disease Registry); 1999; 2007; 2008; 2012. Draft toxicological profile for arsenic, lead, cadmium, manganese and mercury. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp> (accesible el 21 de abril de 2017).
- Banks J, Blundell R, Lewbe A. Quadratic Engel Curves and Consumer Demand. *Rev Econ Stat.* 1997; 79 (4): 527-39.
- Barman SC, Kumar N, Singh R, Kisku GC, Khan AH, Kidwai MM, et al. Assessment of urban air pollution and it's probable health impact. *J Environ Biol.* 2010; 31(6): 913-20.
- Barthwal J, Nair S, Kakkar P. Heavy metal accumulation in medicinal plants collected from environmentally different sites. *Biomed Environ Sci.* 2008; 21: 319-24.

- Başgel S, Erdemoglu SB. Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey. *Sci Total Environ.* 2006; 359: 82–89.
- Batista BL, Souza JMO, De Souza SS, Barbosa FJr. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. *J Hazard Mater.* 2011; 191: 342-48.
- Bellinger DC. Very low lead exposures and children’s neurodevelopment. *Curr Opin Pediatr.* 2008; 20: 172-77.
- Bent S, Ko R. Commonly used herbal medicines in the United States: a review. *Am J Med.* 2004; 116(7): 478-85.
- Benoit JM, Gilmour CC, Heyes A, Mason RP, Miller CL. Geochemical and biological controls over methylmercury production and degradation in aquatic environments. En: *Biogeochemistry of environmentally important trace elements*, Cai Y, Braids OC, eds. ADS Symposium Series Washington DC, J. Am. Chem. Soc. 2003; 262-97.
- Bergkvist A, Rusnakova V, Sindelka R, Garda JM, Sjögren B, Lindh D, Forootan A, Kubista M. Gene expression profiling. Clusters of possibilities. *Methods.* 2010; 50 (4): 323-35.
- Bergquist ER, Fischer RJ, Sugden KD, Martin BD. Inhibition by methylated organo-arsenicals of the respiratory 2-oxo-acid dehydrogenases. *J Organomet Chem.* 2009; 694: 973-80.
- Berlin M, Zalups RK, Fowler BA. Mercury. En: *Handbook on the Toxicology of Metals*, Nordberg GF et al, eds. Academic Press, Burlington MA, 2007(3<sup>rd</sup>ed); 675-729.
- Bernhoft RA. Mercury Toxicity and Treatment: A Review of the Literature. *J Environ Public Health.* 2012: 460-508.
- Bhat R, Kiran K, Arun AB, Karim AA. Determination of mineral composition and heavy metal content of some nutraceutically valued plant products. *Food Anal Meth.* 2010; 3: 181–87.



- Bian GG. Lead level in blood for Chinese countryside children. *Environ Sci Technol.* 2008; 31(6): 101-106.
- Blicharska E, Komsta L, Kocjan R et al. A preliminary study on the effect of mineralization parameters on determination of metals in *Viscum album* species. *Central Eur J Chem.* 2010; 8: 264–68.
- Bridbord K, Hanson D. A personal perspective on the initial federal health-based regulation to remove lead from gasoline. *Environ Health Perspect.* 2009; 117: 1195-201
- Bush TM, Rayburn KS, Holloway SW, et al. Adverse interactions between herbal and dietary substances and prescription medications: a clinical survey. *Altern Ther Health Med.* 2007; 13: 30-35.
- Caldas ED, Machado LL. Cadmium, mercury and lead in medicinal herbs in Brazil. *Food Chem. Toxicol.* 2004; 42(4): 599-603.
- Cao Y, Chen A, Radcliffe J, Dietrich KN, Jones RL, Caldwell K, et al. Postnatal cadmium exposure, neurodevelopment, and blood pressure in children at 2, 5, and 7 years of age. *Environ Health Persp.* 2009; 117: 1580-586.
- Carrizales L, Razo I, Téllez-Hernández J, Torres-Nerio R, Torres A. Exposure to arsenic and lead of children living near a copper-smelter in San Luis Potosi, Mexico: Importance of soil contamination for exposure of children. *Environ. Res.* 2006; 101 (1): 1-10.
- Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, CGCOF. Catálogo de Plantas Medicinales. Colección Consejo 2010. Madrid. España.
- Chan K. Some aspects of toxic contaminants in herbal medicines. *Chemosphere.* 2003; 52(9), 1361–71.
- Chillrud SN, Bopp RF, Simpson HJ, Ross JM, Shuster EL, Chaky DA, et al. Twentieth century atmospheric metal fluxes into Central Park Lake, New York City. *Environ Sci Technol.* 1999; 33(5): 657-62.

- Chopin EIB, Alloway BJ. Distribution and mobility of trace elements in soils and vegetation around the mining and smelting areas of Tharsis, Ríotinto and Huelva, Iberian Pyrite Belt, SW Spain. *Water Air Soil Poll.* 2007; 182: 245-261.
- Choudhury R.P, Kumar A, Garg AN. Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour. *J Pharm Biomed Anal.* 2006; 41(3): 825-32.
- Ciesielski T, Weuve J, Bellinger DC, Schwartz J, Lanphear B, Wright RO. Cadmium Exposure and Neurodevelopmental Outcomes in U.S. Children. *Environ Health Perspect.* 2012; 120: 758-763.
- Codex. Joint FAO/WHO food standards programme codex committee on contaminants in foods. Fifth Session, The Netherlands, 21 - 25 March, 2011.
- Commission Regulation (EC) No. 629/2008, amending Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official J Eur Union.* 2008; 51(L173): 6-9.
- Cooper K, Noller B, Connell D, et al. Public health risks from heavy metals and metalloids present in traditional Chinese medicines. *J Toxicol Environ Health A.* 2007; 70(19): 1694-1699.
- Counter SA, Buchanan LH. Mercury exposure in children: a review. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004; 198(2): 209-30.
- Crossgrove J, Zheng W. Manganese toxicity upon overexposure. *NMR Biomed.* 2004; 17(8): 544-53.
- Da Silva DS, Lucotte M, Roulet M, Poirier H, Mergler D, Santos EO, et al. Trophic structure and bioaccumulation of mercury in fish of three natural lakes of the Brazilian Amazon. *Water Air Soil Poll.* 2005; 165: 77-94.
- Davidson PW, Myers GJ, Weiss B. Mercury exposure and child development outcomes. *Pediatrics.* 2004; 113: 1023-9.

- De Vos RC, Moco S, Lommen A, Keurentjes JJ, Bino RJ, Hall RD. Untargeted large-scale plant metabolomics using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Nature Protocols*. 2007; 2 (4): 778-791.
- Dghaim, R., Al Khatib, S., Rasool, H., Ali Khan, M., 2015. Determination of heavy metals concentration in traditional herbs commonly consumed in the United Arab Emirates. *J Environ Pub Health*. 2015: 973878.
- Dwivedi SK, Dey S. Medicinal herbs: a potential source of toxic metal exposure for man and animals in India. *Arch Environ Health*. 2002; 57(3): 229-31.
- EFSA, 2006. European Food Safety Authority. Tolerable Upper Intake Levels for vitamins and minerals. Scientific Committee on Food. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA).
- EFSA, 2009a. European Food Safety Authority. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on arsenic in food. *EFSA Journal* 7(10), 1351.
- EFSA, 2009b. European Food Safety Authority. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Cadmium in Food. *EFSA Journal* 980, 1-139.
- EFSA, 2010. European Food Safety Authority. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on lead in food. *EFSA Journal* 8(4), 1570.
- EFSA, 2012a. European Food Safety Authority. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal* 10(12), 2985.
- EFSA, 2012b. European Food Safety Authority. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal* 10(1), 2551.
- EFSA, 2013. European Food Safety Authority. Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for manganese. *EFSA Journal* 11(11), 3419.

- EFSA, 2014. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of chromium in food and drinking water. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM)2, 3. EFSA Journal 2014;12(3):3595
- EFSA, 2015a. Scientific opinion on dietary reference values for iron. EFSA Journal 13(10): 4254.
- EFSA 2015b. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. EFSA Journal,13(10):4253 [51 pp.].
- EFSA, 2016. European Food Safety Authority. Dietary Reference Values and dietary guidelines. Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Disponible en: [www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/drv](http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/drv) (accesible 10 de mayo de 2017)
- Elder A, Gelein R, Silva V, Feikert T, Opanashuk L, Carter J, et al. Translocation of inhaled ultrafine manganese oxide particles to the central nervous system. Environ Health Perspect. 2006; 114(8): 1172-8.
- Elinder CG. Cadmium as an environmental hazard. International Agency for Research on Cancer (IARC) Scientific Publications. 1992; 118: 123-132.
- EMA, (2005-2014) (European Medicines Agency), 2016. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). Disponible en: [http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/herbal\\_medicines\\_search\\_landing\\_page.jsp&mid=](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/herbal_medicines_search_landing_page.jsp&mid=) (accesible 10 de mayo de 2017)
- Ernst E, Thompson Coon J. Heavy metals in traditional Chinese medicines: a systematic review. Clin Pharmacol Ther. 2001; 70: 497–504.
- Ernst E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. Trends Pharmacol Sci. 2002; 23(3): 136-9.
- EPA (United States Environment Protection Agency). 2003. Mercury. Disponible en: <http://www.epa.gov/mercury/> (Accesible el 21 de abril de 2017).
- EPA (United States Environment Protection Agency), 2005. Integrated Risk Information System (IRIS). Zinc. Disponible en:

[https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance\\_nmbr=426](https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=426)  
(Accesible el 21 de abril de 2017).

EPA (United States Environment Protection Agency). Framework for Metals Risk Assessment. Office of the Science Advisor. Risk Assessment Forum, 2007. Disponible en: <http://www.epa.gov/raf/metalsframework/pdfs/metals-risk-assessment-final.pdf> (Accesible el 21 de abril de 2017).

European Pharmacopoeia, 2008a. Herbal drugs, monograph 0765. Pharmeuropa; 20 (2), 291-293.

European Pharmacopoeia, 2008b. Herbal drugs, monograph 1433. Pharmeuropa; 20 (2), 302-303.

Evans MS, Lockhart WL, Doetzel L, Low G, Muir D, Kidd K, et al. Elevated mercury concentrations in fish in lakes in the Mackenzie River Basin: the role of physical, chemical, and biological factors. *Sci Total Environ.* 2005 ; 351-352: 479-500.

FAO/WHO (1982). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary of JECFA evaluations: copper. Disponible en: [http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec\\_453.htm](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec_453.htm) (Accesible el 21 de abril de 2017).

FAO/WHO (1982). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary of JECFA evaluations: zinc. Disponible en: [http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec\\_2411.htm](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jeceval/jec_2411.htm) (Accesible el 21 de abril de 2017).

Finkelman RB, 1981. Modes of occurrence of trace elements in coal. IEA Coal Research. The Clean Coal Centre, London, UK, 36.

FNB/IOM (2001). Food and Nutrition Board/Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. National Academy Press. Washington DC.

- Fuh C, Lin H, Tsai H. Determination of lead, cadmium, chromium and arsenic in 13 herbs of tocolysis formulation using atomic absorption spectrometry. *J Food Drug Anal.* 2003; 11: 39-45.
- Garcia-Rico L, Leyva-Perez J, Jara-marini ME. Content and daily intake of copper, zinc, lead, cadmium and mercury from dietary supplements in Mexico. *Food Chem Toxicol.* 2007; 45: 1599-1605.
- Gasser U, Klier B, Kühn AV, Steinhoff B. Current findings on the heavy metal content in herbal drugs. *Pharmeuropa Scientific Notes.* 2009; 37–50.
- Gil F. Toxicología Industrial (III). Toxicidad de los metales pesados. Capítulo 48. En: *Tratado de Medicina del trabajo*, Gil F. ed., Elsevier, Barcelona (2ª ed). 2012; 2: 767-783.
- Gil F, Gisbert-Calabuig JA. Intoxicaciones por otros metales. En: E. Villanueva, (Ed.), *Medicina Legal y Toxicología*, Masson, Barcelona. 2004; 964-980.
- Gil F, Capitan-Vallvey LF, De Santiago E, Ballesta J, Pla A, Hernández AF, Gutiérrez-Bedmar M, Fernández-Crehuet J, Gómez J, López-Guarnido O, Rodrigo L, Villanueva E. Heavy metal concentrations in the general population of Andalusia, South of Spain A comparison with the population within the area of influence of Aznalcollar mine spill (SW Spain). *Sci Total Environ.* 2006; 372: 49-57.
- Gil F, Hernández AF, Márquez C, Femia P, Olmedo P, López-Guarnido O, Pla A. Biomonitorization of cadmium, chromium, manganese, nickel and lead in whole blood, urine, axillary hair and saliva in an occupationally exposed population *Sci Total Environ.* 2011; 409: 1172-80.
- Gil F, Rodrigo L. Contaminantes químicos. Conceptos básicos en Toxicología Industrial. Criterios de toxicidad. Protección individual frente a contaminantes químicos. Capítulo 24. En: *Tratado de Medicina del trabajo*, Gil F. ed., Elsevier, Barcelona (2ª ed). 2012; 1: 333-350.
- Gil, F., Hernández, A.F., Martín-Domingo, M.C., 2016. Toxic Contamination of Nutraceuticals and Food Ingredients. In: Gupta, R. (Ed.), *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*, Elsevier, London, pp. 825-838.

- Gjorgieva D, Kadifkova-Panovska T, Baceva K, Stafilov T. Content of toxic and essential metals in medicinal herbs growing in polluted and unpolluted areas of Macedonia. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju*. 2010; 61(3): 297–303.
- Goldhaber SB. Trace element risk assessment: essentiality vs. toxicity. *Reg Toxicol Pharmacol*. 2003; 38 (2): 232-242.
- Gomez MR, Cerutti S, Sombra LL, Silva MF, Martínez LD. Determination of heavy metals for the quality control in Argentinian herbal medicines by ETAAS and ICP-OES. *Food Chem Toxicol*. 2007; 45 (6): 1060-1064.
- Goyer RA, Clarkson TW. Toxic effects of metals. In: Amdur, M.O., Doull, J., Klaassen, C.D. (eds.), *Toxicology the Basic Science of Poisons*, 6 ed. McGraw-Hill Press, USA. 2001; 623–680.
- Grigg J. Environmental toxins: their impact on children's health. *Arch Dis Child*. 2004; 89: 244–250.
- Gurib-Fakim A. Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med*. 2006; 27: 1–93.
- Gómez MR, Cerutti S, Sombra LL, Silva MF, Martínez LD. Determination of heavy metals for the quality control in Argentinian herbal medicines by ETAAS and ICP-OES. *Food Chem Toxicol*. 2007; 45(6): 1060–1064.
- Haider S, Naithani V, Barthwal J, et al. Heavy metal content in some therapeutically important medicinal plants. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2004; 72(1):119-27.
- Hernández AF y Gisbert-Calabuig JA. Intoxicación por arsénico. En: Gisbert-Calabuig *Medicina Legal y Toxicología*, Villanueva-Cañadas ed., Masson SA, Barcelona, (6ª ed.). 2004; 930-38.
- Horvath B, Gruiz K. Impact of metalliferous ore mining activity on the environment in Gyongyosorozi, Hungary. *Sci Total Environ*. 1996; 184: 215-27
- Hu H. Exposure to metals. *Primary Care*. 2000; 27: 983-96.
- Hughes MF. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicol Lett*. 2002; 133: 1-16.

- Jakubowski M, Levy D, Goor-Aryeh I, Collins B, Bajwa Z, Burstein R. Terminating migraine with allodynia and ongoing central sensitization using parenteral administration of COX1/COX2 inhibitors. *Headache*. 2005; 45: 850–861.
- JECFA, 1993. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No. 837.
- JECFA 1999. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Fifty-third Meeting. Summary and Conclusions. World Health Organization, Geneva.
- JECFA 2005. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Sixty-fourth Meeting. Summary and Conclusions. World Health Organization, Geneva.
- JECFA, 2011a. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No. 959.
- JECFA, 2011b. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. Seventy-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series No. 960.
- JECFA, 2016. JECFA evaluations. Retrieved June 23, 2016 from: <http://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/search.aspx>
- Kalny, P., Fijałek, Z., Daszczyk, A., Ostapczuk, P., 2007. Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. *The Science of the Total Environment* 381, 99–104.
- Jensen GE, Olsen ILB.. Occupational exposure to inorganic arsenic in wood workers and taxidermists air sampling and biological monitoring. *J Environ Sci and Health*. 1995; 30(4): 921-38.
- Jensen RR, Karki S, Salehfar H. Artificial neural network-based estimation of mercury speciation in combustion flue gases. *Fuel Process Technol*. 2004; 85: 451–62.



- Jensen TK, Grandjean P, Jorgensen EB, White RF, Debes F, Weihe P. Effects of breast feeding on neuropsychological development in a community with methylmercury exposure from seafood. *J Expo Anal Environ Epidemiol*. 2005; 15: 423-30.
- Jiang JK, Hao JM, Wu H, Streets DG, Duan L, Tiao HZ. Development of mercury emission inventory from coal combustion in china. *Environ Sci*. 2005; 26: 34-39.
- Jomova K, Jenisova Z, Feszterova M, Baros S, Liska J, Hudecova D, et al. Arsenic: toxicity, oxidative stress and human disease. *J Appl Toxicol*. 2011; 31(2): 95-107.
- Jones RL, Homa DM, Meyer PA, Brody DJ, Caldwell KL, Pirkle JL, et al. Trends in blood lead levels and blood lead testing among U.S. children aged 1 to 5 years, 1988–2004. *Pediatrics*. 2009; 123: 376-85.
- Juberg DR, Kleiman CF, Kwon SC. Position Paper of the American Council on Science and Health: Lead and Human Health. *Ecotoxicol Environ Safety*. 1997; 38 (3): 162-180.
- Kalny P, Fijałek Z, Daszczuk A, Ostapczuk P. Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. *Sci Total Environ*. 2007; 381: 99–104.
- Kauffman JF, Westenberger BJ, Robertson JD, et al. Lead in pharmaceutical products and dietary supplements. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2007; 48(2): 128-34.
- Kosalec I, Cvek J, Tomic S. Contaminants of medicinal herbs and herbal products. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2009; 60: 485-501.
- Lauwerys RR. *Toxicología Industrial e Intoxicaciones Profesionales*. Masson S.A Barcelona.1994.
- Li YH, Ji YF, Yang LS, Li SJ. Effects of mining activity on heavy metals in surface water in lead–zinc deposit area. *J Agro-environ Sci*. 2007; 26: 103-7.
- Lopez de Romaña D, Olivares M, Uauy R, Araya M. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. *J Trace Elements Med Biol*. 2011; 67: 1046S-1053S.
- Lozak A, Soltyk K, Ostapczuk P, Fijalek Z. Determination of selected trace elements in herbs and their infusions. *Sci Total Environ*. 2002; 289 (1-3) 33–40.

- Maliakal PP, Wanwimolruk S. Effect of herbal teas on hepatic drug metabolizing enzymes in rats. *J Pharmacy Pharmacol.* 2001; 53 (10): 1323-1329.
- Malik J, Szakova J, Drabek O, Balik J, Kokoska L. Determination of certain micro and macroelements in plant stimulants and their infusions. *Food Chemistry.* 2008; 111: 520–525.
- Markert B. Plants as biomonitors. Potential advantages and problems. In: Adriano, D.C., Chen, Z.S., Yang S.S. (eds.), *Biogeochemistry of trace elements*, Science & Technology Letters, Northwood, UK. 1994; 601–613.
- Martena MJ, Van Der Wielen JCA, Rietjens IMCM, et al. Monitoring of mercury, arsenic, and lead in traditional Asian herbal preparations on the Dutch market and estimation of associated risks. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2010; 27: 190–205.
- Marques RC, Dórea JG, Bastos WR, Malm O. Changes in children hair-Hg concentrations during the first 5 years: Maternal, environmental and iatrogenic modifying factors. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2007; 49: 17-24.
- Martínez-Domínguez G, Plaza-Bolaños P, Romero-González R, et al. Analytical approaches for the determination of pesticide residues in nutraceutical products and related matrices by chromatographic techniques coupled to mass spectrometry. *Talanta.* 2014; 118: 277-91.
- Mazzanti, G., Battinelli, L., Daniele, C., Costantini, S., Ciaralli, L., Evandri, M.G., 2008. Purity control of some Chinese crude herbal drugs marketed in Italy. *Food and Chemical Toxicology* 46, 3043–3047.
- Meena AK, Bansal P, Kumar S, Rao MM, Garg VK. Estimation of heavy metals in commonly used medicinal plants: a market basket survey. *Environ Monitor Assess.* 2010; 170(1-4): 657-60.
- Menezes-Filho JA, Paes CR, Pontes AMC, Moreira JC, Sarcinelli PN, Mergler D. High levels of hair manganese in children living in the vicinity of a ferro-manganese alloy production plant. *Neurotoxicol.* 2009; 30(6): 1207-13.

- Menezes-Filho JA, Novaes CD, Moreira JC, Sarcinelli PN, Mergler D. Elevated manganese and cognitive performance in school-aged children and their mothers. *Environ Res.* 2011; 111(1): 156-63.
- Mergler D, Anderson HA, Chan LHM, Mahaffey KR, Murray M, Sakamoto M, et al. Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio.* 2007; 36: 3-11.
- Mika A, Minibayeva F, Beckett R, Lüthje S. Possible functions of extracellular peroxidases in stress-induced generation and detoxification of active oxygen species. *Phytochem.* 2004; 3: 173-193.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 2008. Base de Datos de Consumo en Hogares. Disponible en: <http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/panel-de-consumo-alimentario/base-de-datos-de-consumo-en-hogares/consulta10.asp> (Accesible el 21 de abril de 2017).
- Moore JN, Luoma SN. Hazardous wastes from large-scale metal extraction. A case study. *Environ Sci Technol.* 1990; 24 (9): 1278-1285.
- Murata K, Weihe P, Budtz-Jorgensen E, Jorgensen P, Grandjean P. Delayed brainstem auditory evoked potential latencies in 14-year old children exposed to methylmercury. *J Pediatr.* 2004; 144(2): 177-83.
- Musa Özcan M, Ünver A, Uçar T, Arslan D. Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction. *Food Chem.* 2008; 106: 1120–1127.
- Naithani V, Kakkar P. Evaluation of heavy metals in Indian herbal teas. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2005; 75(1): 197–203.
- Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg LT. En: *Handbook on the Toxicology of Metals.* Elsevier, San Diego, 2007 (3ª ed); 3: 117-145.
- NRC (National Research Council), 2000. *Toxicological effects of MeHg*, National Academy Press, Washing DC 118:113.

- NSF International (2008). NSF International Standard/American National Standard #173 for dietary supplements. Ann Arbor, United States: NSF International.
- Obi, E., Akunyili, D.N., Ekpo, B., aOrisakwe, O.E. Heavy metal hazards of Nigerian herbal remedies. *The Science of the Total Environment*. 2006; 369: 35–41.
- Olmedo P, Pla A, Hernández AF, López-Guarnido O, Rodrigo L, Gil F. Validation of a method to quantify chromium, cadmium, manganese, nickel and lead in human whole blood, urine, saliva and hair samples by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2010; 659(1-2):60-7
- Olmedo P, Pla A, Hernández AF, Barbier F, Ayouni L, Gil F. Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. *Environ Int*. 2013; 59: 63-72.
- Orloff K, Mistry K, Metcalf S. Biomonitoring for environmental exposures to arsenic. *J Toxicol Env Health B*. 2009; 12: 509-24.
- Papanikolaou NC, Hatzidaki EG, Belivanis S, Tzanakakis GN, Tsatsakis AM. Lead toxicity update. A brief review. *Med Sci Monit*. 2005; 11(10): 329-36.
- Passos CJ, Mergler D. Human mercury exposure and adverse health effects in the Amazon: a review. *Cad Saude Publica*. 2008; 24(4): 503-20.
- Philip AT, Gerson B. Lead poisoning-Part II. Effects and assay. *Cin Lab Med*. 1994; 14: 651-70.
- Piomelli S. Childhood lead poisoning. *Pediatr Clin N Am*. 2002; 49: 1285–304.
- Pirkle JL, Brody DJ, Gunter EW, Kramer RA, Paschal DC, Flegal KM, et al. The decline in blood lead levels in the United States. The National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES). *J Am Med Assoc*. 1994; 272: 277–83.
- Pirkle JL, Kaufmann RB, Brody DJ, Hickman T, Gunter EW, Paschal DC. Exposure of the U.S. population to lead, 1991–1994. *Environ Health Perspect*. 1998; 106: 745-50.
- Pollard, AJ, Powell KD, Harper FA, et al. The genetic basis of metal hyperaccumulation in plants. *Crit Rev Plant Sci*. 2002; 21: 539-66.

- Rai V, Kakkar P, Khatoon S, et al. Heavy metal accumulation in some herbal drugs. *Pharm Biology*. 2001; 39: 384–87.
- Rai V, Kakkar P, Misra C, et al. Metals and organochlorine pesticide residues in some herbal Ayurvedic formulations. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2007; 79(3): 269-72.
- Raman P, Patino LC, Nair MG. Evaluation of metal and microbial contamination in botanical supplements. 2004. *J Agric Food Chem*; 52: 7822–27.
- Ramón R, Murcia M, Ballester F, Rebagliato M, Lacasaña M, Vioque J, Llop S, Amurrio A, Aguinagalde X, Marco A, León G, Ibarluzea J y Ribas-Fitó N. Prenatal exposure to mercury in a prospective mother-infant cohort study in a Mediterranean area, Valencia, Spain. *Sci Total Environ*. 2008; 392(1): 69-78.
- Ramón R, Ballester F, Aguinagalde X, Amurrio A, Vioque J, Lacasaña M, et al. Fish consumption during pregnancy, prenatal mercury exposure, and anthropometric measures at birth in a prospective mother-infant cohort study in Spain. *Am J Clin Nutr*. 2009; 90: 1047-55.
- Reglamento 333/2007 de la Comisión Europea de 2 de marzo por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo(a)pireno en los productos alimenticios. Disponible en: <http://www.boe.es/doue/2007/088/L00029-00038.pdf> (accesible el 15 de mayo de 2017).
- Rodríguez-Barranco M, Lacasaña M, Aguilar-Garduño C, Alguacil J, Gil F, González-Alzaga B, et al. Association of arsenic, cadmium and manganese exposure with neurodevelopment and behavioural disorders in children: a systematic review and meta-analysis. *Sci Total Environ*. 2013. 454-455: 562-77.
- Rodriguez-Fragoso L, Reyes-Esparza J, Burchiel SW, Herrera-Ruiz D, Torres E. Risks and benefits of commonly used herbal medicines in Mexico. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008; 227(1): 125-35.
- Rosado JL, Ronquillo D, Kordas K, Rojas O, Alatorre J, Lopez P, et al. Arsenic exposure and cognitive performance in Mexican schoolchildren. *Environ Health Perspect*. 2007; 115: 1371-5.

- Rosin A. The long-term consequences of exposure to lead. *Isr Med Assoc J.* 2009; 11(11): 689-94.
- Rubio C, Lucas JRD, Gutiérrez AJ, Glez-Weller D, Pérez Marrero B, Caballero JM, Hardisson A. Evaluation of metal concentrations in mentha herbal teas (*Mentha piperita*, *Mentha pulegium* and *Mentha* species) by inductively coupled plasma spectrometry. *J Pharma Biomed Anal.* 2012; 71: 11–17.
- Ruiz P, Mumtaz M, Osterloh J, Fisher J, Fowler BA. Interpreting NHANES biomonitoring data, cadmium. *Toxicol Lett.* 2010; 198: 44-8.
- Rybička EH. Impact of mining and metallurgical industries on the environment in Poland. *Appl Geochem.* 1996; 11: 3-9.
- Salgueiro L, Martins AP, Correia H. Raw materials: the importance of quality and safety. A review. *Flavour Fragr J.* 2010; 25: 253-271.
- Sanna E, Floris G, Vallascas E. Town and gender effects on hair lead levels in children from three Sardinian towns (Italy) with different environmental backgrounds. *Biol Trace Elem Res* 2008; 124(1): 52-9.
- Saudi A, Zeghnoun A, Bidondo ML, Garnier R, Cirimele V, Persoons R, et al. Urinary arsenic levels in the French adult population: The French National Nutrition and Health Study, 2006-2007. *Sci. Total Environ.* 2012; 433: 206-215.
- Saper RB, Kales SN, Paquin J, Burns et al. Heavy metal content of ayurvedic herbal medicine products. *J American Medical Association (JAMA).* 2004; 292: 2868-73.
- Saper RB, Phillips RS, Sehgal A, et al. Lead, mercury, and arsenic in US- and Indian-manufactured Ayurvedic medicines sold via the Internet. *J American Medical Association.* 2008; 300: 915–23.
- Sarma H, Deka S, Deka H, et al. Accumulation of heavy metals in selected medicinal plants. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2011; 214: 63-86.
- Satarug S, Garrett SH, Sens MA, Sens DAh. Cadmium environmental exposure and health outcomes. *Environ Health Perspect.* 2010; 118(2): 182-190.

- Shaw D, Leon C, Kolev S, et al. Traditional remedies and food supplements: a 5-year toxicological study (1991–1995). *Drug Safety*. 1997; 17: 342-56.
- Signorelli S. Arsenic in volcanic gases. *Environ Geol*. 1997; 32(4): 239-44.
- Storch HV, Hagner C. Controlling lead concentrations in human blood by regulating the use of lead in gasoline. *J Hum Environ*. 2004; 33(3); 126–32.
- Streets DG, Hao JM, Wu Y, Jiang JK, Chan M, Tian HZ, et al. Anthropogenic mercury emissions in China. *Atmos. Environ*. 2005; 39: 7789-806.
- Tait PA, Vora A, James S. Severe congenital lead poisoning in a preterm infant due to a herbal remedy. *Med J Australia*. 2002; 177: 193-95.
- Thomas VM, Socolow RH, Fanelli JJ, Spiro TG. Effects of reducing lead in gasoline: an analysis of international experience. *Environ Sci Technol* 1999; 33(22); 3942-948.
- Tongesayi T, Fedick P, Lechner L, et al. Daily bioaccessible levels of selected essential but toxic heavy metals from the consumption of non-dietary food sources. *Food Chem. Toxicol*. 2013; 62:142-7.
- Unger M, Frank A. Simultaneous determination of the inhibitory potency of herbal extracts on the activity of six major cytochrome P450 enzymes using liquid chromatography/mass spectrometry and automated online extraction. *Rapid Commun. Mass Spectrom*. 2004; 18: 2273-281.
- Van Vonderen MGA, Klinkenberg-Knot EC, Craanen ME. Severe gastrointestinal symptoms due to lead poisoning from Indian traditional medicine. *American J Gastroenterol*. 2000; 95: 1591-92.
- Villanueva E, 2004a. Intoxicación por mercurio. En: Gisbert-Calabuig. *Medicina Legal y Toxicología*, Villanueva-Cañadas E (Ed.), Masson, Barcelona, (6ªed), 939-46.
- Villanueva E, 2004b. Intoxicación por plomo. En: Gisbert-Calabuig. *Medicina Legal y Toxicología*, Villanueva-Cañadas E (Ed.), Masson, Barcelona, 947-63.
- WHO, 1989. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants; 33rd Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; Technical Report Series 776. WHO, Geneva. Disponible en:

[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39252/1/WHO\\_TRS\\_776.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39252/1/WHO_TRS_776.pdf)

(Accesible el 21 de abril de 2017)

WHO, 1998. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: World Health Organization. Disponible en: <http://whqlibdoc.who.int/publications/1998/9241545100.pdf> (Accesible el 21 de abril de 2017).

WHO, 1999-2009. Monographs on selected medicinal plants. Vol I, II, III y IV. Geneva.

WHO, 2003a. Elemental Mercury and Inorganic Mercury Compounds: Human Health Aspects. Concise International Chemical Assessment Document 50. World Health Organization, Geneva.

WHO, 2003b. Chromium in drinking-water (WHO/SDE/WSH/03.04/4). Copper in drinking-water (WHO/SDE/WSH/03.04/88). Zinc in drinking-water (WHO/SDE/WSH/03.04/17). Iron in drinking-water (WHO/SDE/WSH/03.04/08). Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization.

WHO, 2003d. Copper in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/ WSH/03.04/88).

WHO, 2011a. Cadmium in drinking water (WHO/SDE/WSH/03.04/80/Rev/1). Lead in drinking-water (WHO/SDE/WSH/03.04/09/Rev/1). Manganese in drinking-water (WHO/SDE/WSH/03.04/104/Rev/1). Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization.

WHO, 2011b. Manganese in Drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality

Wong M, Tan P, Wee Y. Heavy metals in some Chinese herbal plants. *Biol Trace Element Res.* 1993; 36: 135-42.

Yang YG, Liu CQ, Zhang GP, Wu P, Zhu WH. Heavy metal accumulations in environmental media induced by lead and zinc mine development in



northwestern Guizhou province, China. *Bull Mineral Petrol Geochem.* 2003; 22: 305-9.

Zhang L, Wong MH. Environmental mercury contamination in China: sources and impacts. *Environ. Int.* 2007; 33: 108-21.

Zhang X, Yang L, Li Y, Li H, Wang W, Ye B. Impacts of lead/zinc mining and smelting on the environment and human health in China. *Environ Monit Assess.* 2012; 184: 2261-73.

Zhong K, Zhang JL. Sources and influencing factors of children blood lead in China. *J Environ Health.* 2008; 25: 651-54.



## **VIII. ANEXO**



**VIII. ANEXO. Martín-Domingo M<sup>a</sup>C et al. Determination of metalloid, metallic and mineral elements in herbal teas. Risk Assessment for the consumers. J Food Comp Anal 2017; 60: 81-89.**