

Contenido de macroelementos y elementos traza en muestras de diferentes especies de cefalópodos congelado

Dario Sangiuliano¹, Carmen Rubio Armendáriz¹, Ángel Gutiérrez Fernández¹, Dailos González-Weller², Consuelo Revert Gironés³, Arturo Hardisson de la Torre¹, Emanuela Zanardi⁴, Soraya Paz Montelongo¹

¹Departamento de Toxicología, Universidad de La Laguna, 38071 La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España.

²Servicio de Inspección Sanitaria y Laboratorio, Servicio Canario de Salud, 38006 S/C de Tenerife, Islas Canarias, España.

³Departamento de Medicina Física y Farmacología, Universidad de La Laguna, 38071 La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España.

⁴Departamento de Ciencia de los Alimentos y Medicina, Università di Parma, 43124 Parma, Italia

* Correspondencia: Soraya Paz Montelongo, spazmont@gmail.com

Recibido: 10-diciembre -2017, revisado: 27-diciembre-2017, aceptado 29-diciembre-2017

Resumen

Contenido de macroelementos y elementos traza en muestras de diferentes especies de cefalópodos congelados

Introducción: los cefalópodos congelados son uno de los productos marinos más consumidos siendo una importante fuente de nutrientes. Los cefalópodos, además, pueden contener metales como los macroelementos (Na, K, Ca, Mg), elementos traza esenciales (Fe, Zn, Mn, Mo) y no esenciales (B, Ba, V). Debido al destacable consumo de cefalópodos congelados, es necesario determinar el contenido de estos metales y su aporte a la ingesta dietética.

Objetivos: determinar el contenido de metales en cuatro especies de cefalópodos congelados (sepia, pulpo, potas y calamares) para evaluar el aporte nutricional derivado del consumo de estos productos, estudiando las posibles diferencias entre las cuatro especies analizadas.

Material y métodos: se ha determinado el contenido de macroelementos (Ca, K, Na y Mg) y elementos traza (Fe, Zn, B, Ba, Mn, Mo y V) en 65 muestras de cefalópodos congelados mediante ICP-OES (Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry).

Resultados: el Na ha sido el macroelemento mayoritario (2499 mg/kg peso húmedo) en las sepias. El elemento traza destacable es el Zn (7.08 mg/kg p.h.) en las potas. Para la mayoría de los metales estudiados se han encontrado diferencias significativas entre las diferentes especies.

Conclusiones: atendiendo al consumo recomendado de productos marinos, como los cefalópodos, el aporte de elementos esenciales no es destacable, así mismo, el aporte de elementos traza no esenciales, es bastante bajo no suponiendo un riesgo para la salud de personas adultas.

Palabras clave: cefalópodos, metales, macroelementos, elementos traza, ingesta dietética, ICP-OES

Abstract

Content of macroelements and trace elements in samples of different species of frozen cephalopods

Introduction: frozen cephalopods are one of the most highly consumed seafood products and they are a valuable source of nutrients. Cephalopods could contain metals such as macroelements (Na, K, Ca, Mg), essential trace elements (Fe, Zn, Mn, Mo) and non-essential trace elements (B, Ba, V). Because of the level of human consumption of frozen cephalopods, it is necessary to determine their metal contents and their dietary intake.

Objectives: to determine the metal contents of four species of frozen cephalopods (cuttlefish, octopus, squid and shortfin squid) and their dietary intake, as well as studying the possible existence of statistical differences between the four studied species.

Material and methods: the macroelement (Ca, K, Na and Mg) and trace elements (Fe, Zn, B, Ba, Mn, Mo and V) contents have been determined in 65 samples of frozen cephalopods by ICP-

OES (Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry).

Results: Na (2499 mg/kg wet weight) is the major macroelement found in cuttlefish. The most noteworthy trace element was Zn (7.08 mg/wet weight.) which was found in squid. Statistical differences between the studied species have been found in most of the metals studied.

Conclusions: in terms of the recommended intake of seafood products such as cephalopods, the essential element intake is not noteworthy; in addition, the non-essential element intake is low and, consequently, does not pose a health risk to adults.

Keywords: cephalopods, metals, macroelements, trace elements, dietary intake, ICP-OES

Introducción

Los productos marinos son uno de los alimentos más consumidos, siendo un alimento de gran valor nutritivo por su aporte de proteínas de alta calidad, vitaminas liposolubles, ácidos grasos como el omega-3 y minerales [19, 27, 29]. Los cefalópodos, que pertenecen al grupo de las *Mollusca*, son uno de los productos marinos de mayor consumo, siendo el consumo de cefalópodos congelados uno de los más destacables [8]. De entre las especies de cefalópodos más conocidos se encuentran las sepias, los calamares, potas y pulpos.

Las sepias (*Sepia spp*) pueden alcanzar los 49 cm de largo y un peso de hasta 4 kg [24]. Su hábitat es el sublitoral, hasta una profundidad de 250 m, en arena o sedimentos. Procedente del mar Mediterráneo, el mar del Norte y el mar Báltico [20]. Se alimenta principalmente, de crustáceos y peces, así mismo, los principales depredadores de esta especie son peces de gran tamaño y cetáceos [13, 25].

El pulpo común (*Octopus vulgaris*) es un molusco de la familia Octopodidae. Puede llegar a alcanzar 1 metro de largo. Su hábitat comprende desde las aguas superficiales hasta los 100 metros de profundidad. De actividad nocturna, este animal se alimenta principalmente de crustáceos, bivalvos y peces. Se encuentra tanto en el mar Mediterráneo y en el Atlántico Oriental [20].

Las potas argentinas (*Ilex argentinus*) son una especie de cefalópodos de la subclase Coleoidea, su aspecto es similar a los calamares. Su hábitat comprende el mar Argentino y zonas adyacentes [7], encontrándose en zonas superficiales y en zonas profundas de hasta 800 metros. Su alimentación, se basa principalmente en el consumo de peces pelágicos, crustáceos e invertebrados.

El calamar común (*Loligo vulgaris*), que puede alcanzar hasta los 40 cm de largo, puede

encontrarse desde el mar del Norte hasta la costa oeste de África. Habita tanto en aguas superficiales como en aguas profundas de hasta 500 metros.

Los cefalópodos tienen la capacidad de acumular metales procedentes, principalmente, de la dieta y, en menor medida, del agua del mar [3, 4]. Por este motivo, debido al aumento de la contaminación marina y un mayor consumo, los cefalópodos pueden suponer una fuente de exposición a metales, siendo un medio de transferencia de metales a lo largo de la cadena alimentaria [22].

Los metales pueden dividirse en esenciales, tales como los macroelementos y algunos elementos traza, y otros que no tienen función en el organismo y son considerados como no esenciales.

Los macroelementos (Ca, K, Na, Mg) son requeridos en grandes cantidades debido a que son necesarios para el desarrollo de importantes funciones, como el Ca que es necesario para la formación y el mantenimiento de las estructuras óseas, así como para la contracción de los músculos. Tanto el Na como el K forman parte de la bomba sodio-potasio ($\text{Na}^+/\text{K}^+\text{ATPasa}$) necesaria para la transmisión del impulso nervioso, transducción de señales, etc. [16]. Por otro lado, el Mg es un cofactor en diferentes enzimas [14, 21].

Los elementos traza esenciales, son requeridos en menores cantidades. Estos, desempeñan múltiples funciones como, por ejemplo, el Fe, que forma parte de la hemoglobina y de múltiples enzimas, y participa en la respiración mitocondrial así como en la inactivación de radicales libres [11]. El Zn, por otro lado, es necesario para la regulación de la expresión de los genes [14]. No obstante, si se superan los límites recomendados, pueden producir efectos adversos.

El Mo es otro elemento traza de vital importancia dado que participa como cofactor de metaloenzimas involucradas en el catabolismo de purinas, piridinas y aminoácidos de azufre [6, 10]. Así mismo, el Mn también puede encontrarse en un gran número de enzimas tales como la arginasa o la glucosil transferasas, entre otras [2].

Por otro lado, los elementos traza no esenciales, como el B, Ba y V, se encuentran de forma natural en el ambiente y en los alimentos. Estos, aunque carecen de función conocida en el organismo humano, carecen de toxicidad en las concentraciones normales que se encuentran en los alimentos. Sin embargo, organismos como el Institute of Medicine, Food and Nutrition Board (IOM) o el Scientific Committee on Health and Environmental Risk (SCHER) establecen límites máximos de ingesta para estos metales.

Por lo tanto, debido a que los cefalópodos tienen la capacidad de acumular metales, y a que se trata de uno de los productos marinos más consumidos, se ha determinado el contenido de macroelementos (Na, K, Ca y Mg) y elementos traza (Fe, Zn, B, Ba, V, Mo, Mn) en diferentes muestras de cefalópodos congelados con el objetivo de evaluar la ingesta de estos metales y el riesgo toxicológico.

Objetivos

Los objetivos de este estudio han sido determinar el contenido de macroelementos (Ca, K, Na, Mg) y elementos traza (Fe, Zn, B, Ba, V, Mo, Mn) en 65 muestras de cefalópodos, y evaluar la ingesta dietética teniendo en cuenta los valores recomendados y máximos establecidos por diferentes instituciones.

Material y Métodos

Muestras y tratamiento de las muestras

Se han analizado un total de 65 muestras de cefalópodos congelados divididas en: 20 muestras de sepias congeladas (*Sepia spp*), 15 muestras calamares congelados (*Loligo vulgaris*), 15 muestras de pulpos congelados (*Octopus vulgaris*) y 15 muestras de potas congeladas (*Ilex argentinus*).

Las muestras, adquiridas en diferentes superficies comerciales de la isla de Tenerife (Canarias, España) entre septiembre del 2016 y diciembre del 2016, fueron conservadas en congelador y analizadas antes de la fecha de caducidad.

En primer lugar, las muestras fueron descongeladas en su envase, en una nevera a 4°C durante 24 horas. Después, fueron pesados 10 gramos de cada muestra homogeneizada en cápsulas de porcelana (Staalich, Alemania) y se sometieron a desecación en estufa (Heraeus, Alemania) a 70°C durante 24 horas. Finalmente, se realizó la digestión ácida en caliente de las muestras añadiendo entre 2 – 3 mL de HNO₃ 65% (Sigma Aldrich, Alemania), calentando en placa calefactora. Tras la digestión de las muestras, éstas fueron incineradas en un horno mufla (Heraeus, Alemania) con un programa de la temperatura 50°C por hora – tiempo de 450°C – 48 h. Las cenizas blancas obtenidas tras el proceso de incineración [12] fueron disueltas en HNO₃ al 1.5% hasta un volumen de 25 mL.

Análisis de las muestras

La determinación del contenido metálico fue realizada usando un espectrómetro de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) modelo Thermo Scientific iCAP 6000 series spectrometer (Waltham, MA, EEUU). Las condiciones instrumentales fueron:

-Flujo de gases (flujo de gas de nebulización y flujo de gas auxiliar): 0.5 L/min.

-Potencia aproximada de radiofrecuencia: 1.2 kW.

-Flujo de la bomba de inyección de muestra (flujo de estabilización y flujo de análisis): 50 rpm.

Los materiales de referencia certificados usados para el análisis fueron el SRM 1566b Oyster Tissue y SRM 1515 Apple Leaves, ambos del National Institute of Standards and Technology (NIST). La Tabla 1 recoge los resultados obtenidos del estudio de recuperación de los materiales de referencia, los cuales fueron sometidos al mismo proceso de tratamiento que las muestras. Posteriormente, fue realizado un análisis estadístico demostrando la inexistencia de diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la concentración certificada y la obtenida.

Por otro lado, han sido calculados los límites de detección y cuantificación instrumentales (Tabla 2). Han sido determinados mediante el análisis de 15 blancos en condiciones de reproducibilidad [15].

Análisis estadístico

Se ha llevado a cabo el análisis estadístico para determinar la existencia o no de diferencias significativas entre el contenido metálico dependiendo de la especie estudiada.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa IBM Statistict SPPS 22.0. Se aplicaron los test de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de los datos [26, 27]. El test estadístico de Levene fue realizado para comprobar la homogeneidad de las varianzas [17, 18]. Para los datos que no seguían una distribución normal, se ha recurrido a la aplicación de test no paramétricos como el test de Kruskal-Wallis, en caso de diferencias significativas se aplicó el test de U de Mann-Whitney.

Resultados

En la Tabla 3 se encuentran las concentraciones medias (mg/kg peso húmedo) y las desviaciones estándar (SD) obtenidas para los metales analizados en cada grupo de cefalópodos estudiado.

El Na ha sido el macroelemento encontrado en mayor proporción en las cuatro especies de cefalópodos analizadas, siendo las muestras de sepia las de mayor concentración de Na (2499 mg/kg p.h.), seguido de K > Ca > Mg. Seguidas de las muestras de pulpo, con un contenido medio de Na de 2242 mg/kg p.h., seguido de K > Mg > Ca. Mientras que, las muestras de pota presentan un menor contenido de Na (1719 mg/kg p.h.), seguido de K > Mg > Ca. Y, por último, en las muestras de calamares se ha registrado el menor contenido medio de Na (1600 mg/kg p.h.), seguido de K > Mg > Ca.

Tabla 1. Estudio de recuperación con los materiales de referencia para los metales analizados

Metal	Material	Concentración obtenida (mg/kg)	Concentración certificada (mg/kg)	Recuperación (%)
B		4.22±5.6	4.5	93.7
Ba		7.96±3.1	8.6	92.6
Ca		0.0820±0.16	0.0838	97.9
Fe		209.09±20	205.8	101.6
K	SRM 1566b Oyster	0.6663±0.4	0.652	102.2
Mg	Tissue	0.1068±0.08	0.1085	98.4
Mn		18.00±5.6	18.5	97.3
Na		0.3403±1.4	0.3297	103.2
V		0.5389±0.09	0.577	93.4
Zn		1412.61±34	1424	99.2
Mo	SRM 1515 Apple Leaves	0.0872±0.028	0.094	92.8

Tabla 2. Longitudes de onda (nm), límites de detección (mg/L) y de cuantificación (mg/L) para los metales analizado

Metaly longitud de onda (nm)	Límite Detección (mg/L)	Límite Cuantificación (mg/L)
B (249.7)	0.003	0.012
Ba (455.4)	0.001	0.005
Ca (317.9)	0.58	1.955
Fe (259.9)	0.003	0.009
K (769.9)	0.565	1.884
Mg (279.1)	0.583	1.943
Mn (257.6)	0.002	0.008
Mo (202.0)	0.0007	0.002
Na (589.6)	1.097	3.655
V (310.2)	0.001	0.005
Zn (206.2)	0.002	0.007

Tabla 3. Concentraciones medias (mg/kg) de cada metal estudiado en las muestras de cefalópodos analizadas

	Sepia (<i>Sepia spp</i>) n = 20	Pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>) n = 15	Calamar común (<i>Loligo vulgaris</i>) n = 15	Pota argentina (<i>Ilex argentinus</i>) n = 15
Metal	Concentración media (mg/kg) ± Desviación Estándar (DS)			
B	0.332±0.605	0.162±0.121	0.070±0.014	0.057±0.018
Ba	0.488±0.145	0.344±0.114	0.438±0.209	0.307±0.097
Ca	233±89.5	160±50.2	211±22.6	78.7±7.18
Fe	1.317±0.569	0.939±0.303	3.347±1.521	1.243±0.192
K	1159±178	1161±198	774±92.7	1223±121
Mg	176±44.7	253±87.4	134±16.9	203±63.2
Mn	0.225±0.322	0.131±0.164	0.282±0.363	0.129±0.027
Mo	0.008±0.002	0.010±0.003	0.008±0.003	0.007±0.001
Na	2499±99.0	2242±187	1600±51.9	1719±73.9
V	0.067±0.048	0.064±0.033	0.074±0.055	0.057±0.041
Zn	5.670±0.575	6.666±1.405	5.256±0.563	7.083±0.632

Tabla 4. Valores de ingesta diaria estimada (IDE) para cada metal estudiado dependiendo de la especie de cefalópodo

	Sepia (<i>Sepia spp</i>)	Pulpo común (<i>Octopus vulgaris</i>)	Calamar común (<i>Loligo vulgaris</i>)	Pota argentina (<i>Ilex argentinus</i>)
Metal	IDE (mg/día)	IDE (mg/día)	IDE (mg/día)	IDE (mg/día)
B	0.02	0.01	0.005	0.004
Ba	0.03	0.02	0.03	0.02
Ca	15.0	10.3	13.6	5.06
Fe	0.08	0.06	0.22	0.08
K	74.5	74.7	49.8	78.6
Mg	11.3	16.3	8.62	13.1
Mn	0.01	0.01	0.02	0.01
Mo	0.001	0.001	0.001	0.001
Na	161	144	103	111
V	0.005	0.004	0.005	0.004
Zn	0.36	0.43	0.34	0.46

Tabla 5. Porcentajes de contribución (%) a la ingesta diaria recomendada y a la ingesta máxima tolerable para los metales estudiados dependiendo de la especie de cefalópodo

	Sepia	Pulpo común	Calamar común	Pota argentina
	(<i>Sepia spp</i>)	(<i>Octopus vulgaris</i>)	(<i>Loligo vulgaris</i>)	(<i>Ilex argentinus</i>)
Metal	Porcentaje de contribución (%) (hombres – mujeres) ^a			
B	0.12	0.06	0.03	0.02
Ba	2.30	1.60	2.07	1.46
Ca	1.50	1.03	1.36	0.51
Fe	0.94 – 0.47	0.67 – 0.34	2.39 – 1.20	0.89 – 0.44
K	2.40	2.41	1.61	2.54
Mg	3.23 – 3.77	4.65 – 5.42	2.46 – 2.87	3.73 – 4.35
Mn	0.64 – 0.82	0.36 – 0.46	0.78 – 1.00	0.36 – 0.46
Mo	0.001	0.001	0.001	0.001
Na	10.7	9.61	6.86	7.37
V	0.25	0.21	0.25	0.21
Zn	3.84 – 5.21	4.51 – 6.13	3.56 – 4.83	4.79 – 6.50

^aSuponiendo un peso medio de un adulto de 68.48 kg [1].

Tras realizar el análisis estadístico, han sido encontradas diferencias significativas para los cuatro macroelementos ($p < 0.05$) entre las diferentes especies estudiadas.

En cuanto a los elementos traza, se tiene que el Zn ha sido el elemento traza mayoritario en las cuatro especies estudiadas, encontrándose el mayor nivel de Zn (7.08 mg/kg p.h.) en las muestras de pota. En las muestras de pulpo, el contenido medio de Zn ha sido de 6.67 mg/kg p.h. En cuanto a las muestras de sepia, el contenido en Zn ha sido de 5.67 mg/kg p.h. Finalmente, en las muestras de calamares se ha registrado el menor nivel medio de Zn, siendo de 5.26 mg/kg p.h. La secuencia de los elementos traza coincide en todas las especies analizadas, siendo la siguiente: Zn > Fe > Ba > B > Mn > V > Mo.

Una vez realizado el análisis estadístico, se detectan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre todos los metales traza estudiados entre las cuatro especies, exceptuando el V.

Discusión

La Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC) recomienda, en las Guías Alimentarias para la población española, un consumo de entre 3 – 4 raciones semanales de pescado [5]. Una ración estándar de pescado tiene un peso de unos 150 gramos [5, 23]. Por lo que, siguiendo la recomendación semanal de 3 raciones (450 gramos), se ha estimado la ingesta diaria estimada (IDE) y los porcentajes de contribución a la ingesta diaria y/o límite máximo (TDI, tolerable daily intake o UL, upper level intake) para para cada metal analizado dependiendo de la especie de cefalópodo estudiada (Tabla 4).

La ingesta diaria estimada (IDE) ha sido calculada como se indica a continuación:

$IDE (mg/día) = \text{Concentración de metal} (mg/kg) \cdot \text{Consumo medio} (kg/día)$

Las mayores ingestas de macroelementos y elementos traza han sido encontradas en las muestras de sepia, en las que destaca la ingesta de Na (161 mg/día), mientras que la ingesta de K (78.6 mg/día) procedente del consumo de las potas es, también, destacable. En cuanto a los elementos traza, la mayor ingesta corresponde al Zn (0.46 mg/día) procedente del consumo de potas.

Los porcentajes de contribución (%) para cada metal han sido calculados como se muestra en la siguiente expresión:

$\text{Contribución}(\%) = [IDE(mg/día) / IDR, UL \text{ o TDI}] \cdot 100$

Para el cálculo de los porcentajes de contribución a la ingesta se ha tenido en cuenta los valores de referencia recomendados para adultos, establecidos por la FESNAD (Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética) para los macroelementos y elementos esenciales, siendo los siguientes: 1500 mg Na/día, 3100 mg K/día, 900-1000 mg Ca/día, 300 mg Mg/día mujeres, 350 mg Mg/día hombres, 18 mg Fe/día mujeres, 9 mg Fe/día hombres, 1.8 mg Mn/día mujeres, 2.3 mg Mn/día hombres, 7 mg Zn/día mujeres, 9.5 mg Zn/día hombres, 45 mg Mo/día [9].

Por otro lado, para el cálculo del porcentaje de contribución a la ingesta de metales no esenciales, han sido usados diferentes valores de ingesta diaria tolerable (TDI) y de límite máximo (UL) establecidos por diversas instituciones, como el IOM, la cual establece un UL para vanadio de 1.8 mg V/día para adultos y de boro de 17 – 20 mg B/día para adultos [14]. Por otro lado, el SCHER establece una ingesta diaria tolerable (TDI) para bario de 0.02 mg Ba/kg peso corporal/día [28].

En relación con los macroelementos, los mayores porcentajes de contribución a la IDR se corresponden al Na (10.7% adultos) y al Ca (1.50% adultos) procedentes del consumo de sepias, mientras que, el mayor aporte dietético de Mg (4.65% hombres, 5.42% mujeres) se encuentra en las muestras de pulpo y el mayor porcentaje de K (2.54% adultos) procede de las muestras de potas. Para los elementos traza esenciales, destaca el porcentaje de contribución de Zn (4.79% hombres, 6.59% mujeres) procedente del consumo de potas. Sin embargo, el aporte de elementos esenciales por parte de las cuatro especies de cefalópodos congelados analizados no supone una fuente importante de estos elementos para adultos.

Por último, para los elementos traza no esenciales, destaca el porcentaje de contribución de Ba (2.30% adultos) procedente del consumo

de las sepias. El aporte de estos elementos es muy bajo no existiendo riesgo para la salud de los consumidores.

Conclusiones

Se ha determinado el contenido de macroelementos (Ca, K, Na, Mg) y elementos traza (Fe, Zn, B, Ba, V, Mo, Mn) en 65 muestras de cefalópodos congelados (sepias, potas, calamares y pulpos) comercializados en la isla de Tenerife, Islas Canarias (España).

En base al consumo recomendado de productos marinos, como los cefalópodos, el aporte de elementos esenciales no es destacable, encontrándose porcentajes de contribución a la IDR menores al 11%. Por otro lado, el aporte de elementos traza no esenciales, es muy bajo no suponiendo un riesgo para la salud de personas adultas.

Bibliografía

1. AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición). Modelo de dieta española para la determinación de la exposición del consumidor a sustancias químicas. Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006. Madrid, España.
2. Blanco A. Química Biológica. 8ª edición. Editorial El Ateneo 2006; Madrid, España.
3. Bustamante P, González AF, Rocha F, Miramand P, Guerra A. Metal and metalloids concentrations in the giant squid *Architeuthis dux* from Iberian waters. *Mar Environ Res* 2008; 66(2): 278-287.
4. Bustamante P, Teyssié JL, Fowler S, Cotret O, Danis B, Warnau M. (2002). Biokinetics of cadmium and zinc accumulation and depuration at different stages in the life cycle of the cuttlefish *Sepia officinalis*. *Mar Ecol Prog Ser* 2002; 231: 167-177.
5. Dapcich V, Salvador Castell G, Ribas Barba I, Pérez Rodrigo C, Aranceta Bartrina J, Serra Majem LI. Guía de la Alimentación Saludable. Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC) 2004; Madrid, España.
6. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for molybdenum. *EFSA J* 2013; 11(8): 3333.
7. FAO (Food and Agriculture Organization of the United States). Species Catalogue. Cephalopods of the world. An Annotated and Illustrated Catalogue of Species of Interest to Fisheries Clyde FE Roper, Michael J. Sweeney, Cornelia E. Nauen. FAO Fisheries Synopsis 1984; 125(3).
8. FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all 2016. Rome, Italy.

9. FESNAD (Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética). Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR) para la población española. *Act Diet* 2010; 14(4):196-197.
10. González-Weller D, Rubio C, Gutiérrez AJ, Pérez B, Hernández-Sánchez C, Caballero JM, Revert C, Hardisson A. Dietary Content and Evaluation of Metals in Four Types of Tea (White, Black, Red and Green) Consumed by the Population of the Canary Islands. *Pharma Anal Acta* 2015; 6: 1-10.
11. Gurzau ES, Neagu C, Gurzau AE. Essential metals – Case study on iron. *Ecotoxicol Environ Saf* 2003; 56(1): 190-200.
12. Hardisson A, Rubio C, Báez A, Martín MM, Álvarez R, Díaz E. Mineral composition of the banana (*Musa acuminata*) from the island of Tenerife. *Food Chem* 2001; 73:153-161.
13. Hernández-García V. The diet of the swordfish *Xiphias gladius* Linnaeus, 1758, in the central east Atlantic, with emphasis on the role of cephalopods. *Fish Bull* 1995; 93(2): 403-411.
14. IOM (Institute of Medicine). Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine of the National Academies. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press 2001; Washington, USA.
15. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods including Detection and Quantification Capabilities. *Pure Appl Chem* 1995; 67: 1699-1723.
16. Lehninger A. (2001). Principios de Bioquímica, 3ª Edición 2001; España.
17. Lozano-Bilbao E, Gutiérrez AJ, Hardisson A, Rubio C, González-Weller D, Aguilar N, Escáñez A, Espinosa JM, Canales G, Lozano G. Influence of the submarine volcanic eruption off El Hierro (Canary Islands) on the mesopelagic cephalopod's metal content. *Mar Poll Bull* 2017; DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.10.017
18. Luis G, Rubio C, Revert C, Espinosa A, González-Weller D, Gutiérrez AJ, Hardisson A. Dietary intake of metals from yogurts analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). *J Food Comp Anal* 2015; 39: 48-54.
19. Markaida U, Gilly WF. Cephalopods of Pacific Latin America. *Fish Res* 2016; 173: 113-121.
20. Norman MD. Cephalopods: A World Guide. ConchBooks 2000; Berlin, Germany.
21. Paz Montelongo S, Hernández Velázquez OD, Rubio Armendáriz C, Gutiérrez Fernández A, González-Weller D, García Melón E, Hardisson de la Torre A. Metales en Erizos de Lima (*Diadema antillarum*) de las costas de la isla de Tenerife (Islas Canarias, España) – Bioindicadores de contaminación marina. *Majorensis* 2017; 13: 80-88.
22. Pereira P, Raimundo J, Vale C, Kadar E. Metal concentrations in digestive gland and mantle of *Sepia officinalis* from two coastal lagoons of Portugal. *Sci Total Environ* 2009; 407(3): 1080-1088.
23. Pinto Fontanillo JA. Capítulo 6: El pescado en la dieta. Nutrición y salud. Servicio de Promoción de la Salud. Instituto de Salud Pública. Dirección General de Salud Pública Alimentación y Consumo. Consejería de Sanidad y Consumo 2005; Madrid, España.
24. Reid A, Jereb P, Roper CFE. 2005. Family Sepiidae. En: Jereb P y Roper CFE (eds). Cephalopods of the world. An annotated and illustrated catalogue of species known to date. Chambered nautilus and sepioids (Nautilidae, Spiidae, Sepiolidae, Sepiariidae, Idiosepididae and Spirulidae). FAO Species Catalogue for Fishery Purposes 2005; Rome, Italy.
25. Royer J, Santos MB, Cho SK, Stowasser G, Pierce GJ, Daly HI, Robin JP. Cephalopod consumption by fish in English Channel and Scottish waters. *International Council for the Exploration of the sea: The impact of Cephalopods in the Food Chain and Their interaction with the Environment* 1998; London, UK.
26. Rubio C, Paz S, Ojeda I, Gutiérrez AJ, González-Weller D, Hardisson A, Revert C. Dietary Intake of Metals from Fresh Cage-Reared Hens' Eggs in Tenerife, Canary Islands. *J Food Qual* 2017; DOI: 10.1155/2017/5972153
27. Sangiuliano D, Rubio C, Gutiérrez AJ, González-Weller D, Revert C, Hardisson A, Zanardi E, Paz S. Metal Concentrations in Samples of Frozen Cephalopods (Cuttlefish, Octopus, Squid, and Shortfin Squid): An Evaluation of Dietary Intake. *J Food Protect* 2017; 80(11): 1867-1871.
28. SCHER (Scientific Committee on Health and Environmental Risk). Assessment of the tolerable daily intake of barium 2012; European Commission.
29. Velusamy A, Kumar PS, Ram A, Chinnadurai S. Bioaccumulation of heavy metals in commercially important marine fishes from Mumbai Harbor, India. *Mar Poll Bull* 2014; 81(1): 218-224.