

Vies d'exposició a compostos
organoclorats i metalls en infants

Eva Junqué Martínez

TESI DOCTORAL UPF / ANY 2019

Director de la Tesi

Dr. Joan O. Grimalt

Tutor de la Tesi

Dr. Jordi Sunyer



Vies d'exposició a compostos organoclorats i metalls en infants

Eva Junqué Martínez

Aquest doctorat s'ha realitzat al Institut de Diagnòstic Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDÆA) del Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC), dins del programa de Doctorat en Biomedicina del Departament de Ciències Experimentals i de la Salut de la Universitat Pompeu Fabra (UPF).

Barcelona, 25 de Setembre del 2019

Als meus pares

Agraïments

No podria sentir-me més afortunada. Durant aquests darrers anys he pogut créixer, tan a nivell científic com personal, fent el que més m'agrada.

En primer lloc, donar-li les gràcies al Joan Grimalt, per haver-me donat l'oportunitat de fer la tesi doctoral al seu grup. Agrair-li tots aquests anys plens de ciència i d'aprenentatge. També pel recolzament que sempre m'ha donat, per permetre'm fer una estada de recerca a la Xina i totes les altres portes que m'ha obert. A més de ser un gran científic, és una gran persona.

També m'agradaria donar les gràcies a altres científics del grup, a la Pilar Fernández i al Barend van Droogbeek, per guiar-me en aquest viatge i donar-me llum quan el camí era fosc.

Gràcies al Jordi Sunyer per acceptar la tutoria d'aquesta tesi, per la seva orientació en la recerca i agilització de tràmits quan l'hem necessitat.

A la Mercè, a la Marta i a la Natalia per acollir-me tan bé quan vaig arribar i per tot el que hem compartit des d'ençà, dintre i fora del laboratori. En especial a la Natalia per tots aquests anys rejoinint al seu costat.

A tota la gent del grup, als que hi són i als que ja han marxat: el Rai, la Nupur, el Marco, la Inma, l'Esther, la Belén, el Jordi, l'Aleix, la Marta Casado, la Marta Fontal, el David, l'Óscar, el Bibi, la Yolanda, la Lourdes, la Patrícia, l'Anuar, el Guillermo, la Soraya, el Lorenzo, el Sergi, l'Aina, l'Ariadna, l'Àlex i la Núria. També als tècnics dels equips de gasos i masses: la Roser i la Dori. Un recordatori especial al Miguel, al Ruben i a tota la gent que he conegut d'altres grups.

Aquesta tesi doctoral no hauria estat possible sense l'ajuda i el suport de tots vosaltres. La meva sincera gratitud per haver col·laborat; pel vostre temps i la vostra paciència. Sempre recordaré amb carinyo els moments al laboratori, els dinars i cafès del dia a dia, les hores passades a masses i les birres que he fet amb molts de vosaltres. Impossible no somriure al recordar

els mostratges als que he pogut participar; com el de Menorca comprant menjar als mercats, el dels Pirineus pescant truites als llacs i el de les Illes Medes recollint ous de gavines. Som un Institut ben polivalent!

感谢张干老师让我加入他的课题组。感谢我在中国遇见的每一个人，谢谢你们给我卓有成效而尽善尽美的环境，你们就像我的家人一样，关心我，帮助我。我无法用语言来描述在中国美好的回忆和时刻，但这一切都将永存我心。

Y saliendo del laboratorio, gracias a todas *Las Típicas*; Cris, Montse, Jenny, Valeria, Sofí y Chus, por su enorme corazón y por contagiarme con su actitud positiva y luchadora ante la vida. Sofí, gracias por haber crecido conmigo, desde los tiempos de uniformes hasta encontrar nuestro propio camino. Mi vida habría sido completamente diferente sin ti. Tengo que agradecerte también tus ayudas “last minute”, como aquella vez aplicando para la beca MC. Cris, creo que eres de las personas que más he escuchado. Gracias por ser un pilar fundamental y por acordarte de todos mis deadlines. Y Jenny, por ser como mi hermana y por todo lo que hemos aprendido viajando.

Thanks to John for all his help, both in Ireland and with English grammar. Agradecerle a Ivan la impresión de esta tesis y los momentos que pasamos con Alma. Un agradecimiento especial a Marcos, por todo lo que hemos compartido, hasta convertirse en un experto en compuestos organoclorados y mercurio. Gràcies als meus grans bioamors; l'Emilio i la Irene, per preocupar-se sempre per mi encara que estiguin a l'altra punta del món, i a la meva estimada Ester.

I per últim, però els més importants, un agraïment especial als meus pares. No hauria arribat fins aquí sense el vostre amor i recolzament incondicional. Gràcies per guiar-me en el camí de la vida, que no sempre és fàcil, d'una manera immillorable. Des de la infància, hem veu ensenyar a estimar i cuidar la natura. Aquest és el meu gra de sorra; us el dedico a vosaltres. *Us estimo.*

Prefaci

Des de la Revolució Industrial, el progrés científic i tecnològic han suposat una millora pel benestar de bona part de la població, com a conseqüència de l'augment de la producció d'aliments, la prestació d'assistència sanitària i el confort. Tot i que moltes persones encara viuen en la pobresa i l'escassetat a causa de la distribució injusta de riquesa i recursos, la ciència i la tecnologia són percebudes com motors per millorar la qualitat de vida humana.

Tanmateix, aquesta industrialització ha creat **greus problemes mediambientals**. La immensa demanda i ús d'energies no renovables impliquen la degradació dels ecosistemes i el canvi climàtic a una escala sense precedents. A més, l'extracció, ús, transformació i distribució humana de nombrosos productes químics freqüentment modifiquen de forma important la composició del sòl, l'aigua i l'aire. L'abast global d'aquests problemes ambientals es constata per l'impacte habitual d'aquests productes químics en llocs i poblacions situades molt més enllà del seu lloc de producció o ús, ja que la superfície terrestre i l'atmosfera estan interconnectades. A més, la indústria química ha augmentat la fabricació d'una àmplia gamma de compostos, amb diverses utilitats, però que són tòxics per a l'ésser humà, per a la vida silvestre o per ambdues.

Les substàncies que provoquen aquests problemes es defineixen com a contaminants a escala global i inclouen el diòxid de carboni i altres gasos amb efecte hivernacle, els radioisòtops, determinats metalls i els compostos orgànics persistents (COPs o POPs segons el seu acrònim en anglès, *Persistent Organic Pollutants*). Aquesta tesi doctoral s'ha centrat en l'estudi d'aquests tipus de compostos orgànics persistents, concretament els compostos organoclorats (OCs), i en metalls traça.

Pel que fa als **compostos orgànics persistents**, aquests foren creats pels humans, produïts amb finalitats agrícoles i industrials i, un cop utilitzats, una part d'ells entren als ecosistemes i cadenes tròfiques i queden en el medi ambient. Es transporten llargues distàncies a través dels cicles naturals, arribant a regions on mai no han estat utilitzats ni produïts. Així, els COPs són compostos tòxics amb un impacte mediambiental generalitzat. D'altra banda, els **metalls**, formen part de l'escorça terrestre i es troben a l'aire, l'aigua, el sòl i els materials domèstics. D'aquesta manera, els éssers humans hi estem exposats de forma natural. No obstant això, l'activitat humana ha incrementat els seus nivells en el medi ambient degut a una intensa activitat minera i industrial. Un dels aspectes més interessants dels metalls en humans és que alguns són tòxics sense cap funcionalitat metabòlica però altres són essencials per alguns processos de l'organisme i poden esdevenir tòxics a concentracions altes.

L'exposició humana a OCs i metalls traça pot comportar greus problemes de salut, inclòs el càncer, fins i tot a nivells aparentment insignificants. A més, a causa de la seva capacitat de bioacumulació en els organismes, poden fins i tot arribar a biomagnificar-se a través de la xarxa alimentària, tot representant una important amenaça tant per a la salut de la vida silvestre com per a les persones. Dintre de la població, els **infants són molt més vulnerables** a l'exposició als contaminants ambientals que els adults per la immaduresa del seu metabolisme i els seus òrgans en formació. Per tant, la contaminació per aquests compostos és potencialment més tòxica en la població infantil. Aquest és un tema rellevant de salut pública i requereix la seva investigació i regulació.

Aquesta tesi representa una contribució al coneixement de les vies d'exposició d'una àmplia gama d'OCs i metalls traça. La recerca s'ha centrat en tres poblacions infantils localitzades al sud d'Europa: Menorca, Tarragona

i Astúries. Aquestes tres cohorts han servit de model poblacional per avaluar algunes de les rutes principals d'exposició durant la infància: la dieta, la transferència mare-nen durant l'embaràs i l'exposició ambiental, respectivament.

La dissertació està estructurada en **set capítols** i comprèn **cinc articles de recerca** (com a autor principal). El **capítol 1** introdueix el context de la recerca, tot incloent-hi una visió general dels COPs i metalls traça, la vulnerabilitat dels infants i les principals fonts d'exposició a aquests contaminants. El **capítol 2** presenta l'objectiu principal del doctorat i els objectius específics que s'han abordat. El **capítol 3** descriu la metodologia emprada al llarg de les diferents avaluacions, tot incloent el disseny de l'estudi, les formes de determinar els OCs i els metalls i l'anàlisi estadística. El **capítol 4**, els resultats, és un compendi de cinc articles, dos dels quals ja estan publicats, un altre enviat a revista per ser publicat i dos més en les últimes fases de preparació, de la següent manera:

- una avaluació de l'exposició als OCs i mercuri a través de la dieta en la població infantil de Menorca.
- un examen específic dels determinants en l'acumulació d'OCs i mercuri en peix blanc del mar Mediterrani i la seva rellevància en la dieta.
- una anàlisi de l'exposició ambiental a metalls traça i de factors determinants en la seva acumulació en la població infantil d'Astúries.
- una anàlisi dels processos d'acumulació de cobalt en nens en les primeres etapes de creixement, i amb atenció especial als que pateixen anèmia per dèficit de ferro.

- un estudi dels canvis i factors determinats en les concentracions d'OCs en sèrum matern durant l'embaràs i comparació amb la composició de sang de cordó en la població de Tarragona.

Els **capítols 5 i 6** contenen la discussió i les conclusions, respectivament, del treball de recerca esmentat. Combinen tots els resultats i proporcionen una visió global de la contaminació ambiental i la salut infantil. El **capítol 7** detalla la bibliografia consultada.

La investigació s'ha realitzat a l'**Institut de Diagnòstic Ambiental i Estudis de l'Aigua (IDÆA)** de Barcelona, que pertany al **Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC)**. Al mateix temps, es troba dins del programa de Ph.D. en Biomedicina del Departament de Ciències Experimentals i de la Salut de la **Universitat Pompeu Fabra (UPF)**, a Barcelona.

Aquest tipus de recerca no només serveix per augmentar el coneixement científic global, sinó també per sensibilitzar la societat en matèria mediambiental i de salut, i també per proporcionar informació als organismes responsables de les polítiques públiques, de regulació i de seguiment ambiental.

Resum

En aquest estudi s'avaluen algunes de les vies d'exposició principals a diversos contaminants, concretament als compostos organoclorats (OCs) i metalls traça, en infants. La recerca se centra en tres poblacions localitzades al sud d'Europa: Menorca, Astúries i Tarragona. Aquestes tres cohorts han servit de model poblacional per avaluar l'exposició a través de la dieta, l'exposició ambiental i la transferència mare-nen durant l'embaràs, respectivament.

S'ha realitzat una anàlisi química en més de 600 mostres humanes, concretament en sèrum i orina, i de productes alimentaris per determinar un ampli ventall d'OCs i metalls traça, tot emprant Cromatografia de Gasos amb Detector de Captura d'Electrons (GC-ECD) i Espectrometria de Masses per Plasma d'Acoblament Inductiu (ICP-MS), respectivament.

Els resultats més destacables d'aquesta tesi es descriuen a continuació. La meitat dels peixos capturats al mar Mediterrani han sobrepassat els nivells de mercuri establerts per la Unió Europea pel consum humà. Així mateix, les ingestes estimades de mercuri en la cohort de Menorca també han sobrepassat les ingestes tolerables establertes per l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA), essent el peix la principal font d'incorporació d'aquest metall (entorn el 80%). Per contra, les concentracions d'OCs en els aliments han estat molt per sota dels límits establerts. S'ha observat que el pes i el nivell tròfic dels peixos són factors clau per descriure els patrons d'acumulació d'aquests compostos, degut als processos de bioacumulació i biomagnificació.

D'altra banda, els nivells de metalls traça en la població infantil d'Astúries han estat més alts que els trobats en estudis previs, probablement com a conseqüència de l'elevada activitat industrial i minera de la zona. En aquesta

cohort, també s'han relacionat les concentracions altes d'arsènic en orina amb el consum de peix, tot i que aquest arsènic està en forma química no tòxica. Tanmateix, s'ha observat una correlació inversament significativa entre els nivells de cobalt en orina i de ferritina en sang. En situacions d'alta demanda de ferro, com en l'època de creixement en la que es troben aquests nens, l'organisme augmenta l'expressió del transportador d'ions divalent DMT1, que també incorpora cobalt. També s'ha observat una concentració de cobalt molt més alta en els nens amb anèmia per dèficit de ferro.

Finalment, a la cohort de Tarragona, s'ha vist per primera vegada un augment significatiu de les concentracions dels OCs en sèrum matern entre el primer trimestre de l'embaràs i el part, probablement degut a una mobilització de les reserves de greix i a l'augment del volum de sang durant aquest període. Els nivells d'OCs mesurats en sang de cordó s'han correlacionat significativament amb les concentracions d'aquests composts en sèrum matern. Aquesta distribució resulta d'una font materna predominant que transfereix els contaminants al fetus. S'ha determinat l'edat i l'índex de massa corporal de les mares com els factors principals que determinen les concentracions d'OCs en el cos humà.

Des d'un punt de vista de salut pública i de la regulació ambiental, cal dedicar una atenció especial a aquests contaminants, per la seva persistència en el medi ambient i facilitat d'incorporar-se al cos humà, particularment mitjançant l'alimentació i la respiració. Tot i que una part dels compostos estudiats estan prohibits o regulats, aquest estudi confirma la presència d'aquests contaminants ja en les primeres etapes de la vida infantil i, per tant, posa de manifest la necessitat d'ampliar la recerca sobre els factors que en determinen la distribució ambiental i exposició humana. Això permetrà millorar la informació disponible a l'hora de millorar la salut de la població des de les accions de la política sanitària.

Abstract

The present research assesses some of the main routes of exposure to various pollutants, specifically organochlorine compounds (OCs) and trace metals, in infants. It focuses on three populations, located in southern Europe: Menorca, Asturias and Tarragona. These three cohorts have served as a population model to evaluate exposure through diet, environment and mother-child transfer during pregnancy, respectively.

A chemical analysis has been carried out in more than 600 serum and urine human samples, along with food products to determine a wide range of OCs and trace metals. This was undertaken using Gas Chromatography with Electron Capture Detector (GC- ECD) and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS), respectively.

The most remarkable results of this Ph.D. are described below. Half of the fish caught in the Mediterranean Sea have exceeded the levels of mercury established by the European Union for human consumption. Likewise, the estimated ingestion of mercury in the cohort of Menorca has also exceeded tolerable intakes established by the European Food Safety Authority (EFSA), with being the main source of incorporation of this metal (approximately 80%). Conversely, concentrations of OCs in foods have been well below the established limits. It has been observed that weight and trophic level of fish are key factors in the accumulation patterns of these compounds, due to the bioaccumulation and biomagnification processes.

On the other hand, the levels of trace metals in the population of Asturias have been higher than those found in previous studies. This is likely a result of the high industrial and mining activity in the area. In this cohort, the high concentrations of arsenic in urine with fish consumption has also been identified. This form of arsenic, though, is not toxic. An inversely significant

correlation, however, between levels of urinary cobalt and ferritin in the blood has been observed. In situations of higher iron demand -as occurring during the growth stage in which these children are - the body increases the expression of the DMT1 divalent ion transporter, which also incorporates cobalt. It has also been observed that cobalt concentrations are much higher in children with iron deficiency anaemia.

Finally, in the cohort of Tarragona, a significant increase in OC concentrations in maternal serum has been found for the first time between the first trimester of pregnancy and childbirth. This is likely due to a mobilization of the fat reserves and the increase in blood volume during this period. The levels of OCs measured in cord blood have been significantly correlated with the concentrations of these compounds in maternal serum. This distribution is the result of a predominantly maternal source that transfers contaminants to the foetus. The age and the body mass index of mothers have been determined as the main factors that determine the concentrations of OCs in the human body.

From a point of view of public health and environmental regulation, special attention must be given to these pollutants; due to their persistence in the environment and the ease of incorporation into the human body - mostly through the diet and respiration. Despite most of the studied compounds currently being banned or strictly controlled, this study confirms the presence of these pollutants already in the early stages of childhood life. This highlights the need to expand research on the factors that determine the environmental distribution and human exposure. Through this, it is anticipated that there will be an improvement in the health of the population; as a result of the advances in available information.

Continguts

Prefaci	vii
Resum / Abstract	xi
Abreviacions i acrònims	xxi
Llista de Figures	xxiii
Llista de Taules	xxix
1 INTRODUCCIÓ	1
1.1 Contaminació ambiental.....	1
1.2 Vulnerabilitat del fetus i dels infants a la contaminació ambiental	3
1.3 Compostos orgànics persistents	5
Els compostos organoclorats	8
El pentaclorobenzè (PeCB) i l'hexaclorobenzè (HCB).....	9
L'hexaclorociclohexà (HCH).....	10
El diclordifeniltricloroetà (DDT) i els seus metabòlits.....	12
Els policlorobifenils (PCBs)	14
Exposició humana a COPs.....	17
Biomonitoratge de COPs en mostres humanes.....	18

1.4 Metalls traça	19
Breu història de les emissions de metalls	20
Essencialitat vs toxicitat.....	22
Els metalls estudiats	24
El mercuri (Hg)	25
El mercuri en els mars i els oceans	28
El cas de la Mediterrània	29
El vanadi (V).....	33
El cobalt (Co).....	34
El níquel (Ni)	36
El coure (Cu)	37
El zinc (Zn).....	39
L'arsènic (As)	40
L'arsènic orgànic en el peix i el marisc	42
El seleni (Se).....	43
El molibdè (Mo)	44
El cadmi (Cd).....	46
L'antimoni (Sb)	48
El cesi (Cs)	49
El bari (Ba)	50
El tal·li (Tl).....	51
El plom (Pb)	52
Exposició humana a metalls.....	54
Biomonitoratge de metalls traça en mostres humanes	56

2 OBJECTIUS

57

3 METODOLOGIA	59
3.1 Poblacions d'estudi	59
Projecte Infància i Medi Ambient	61
Cohort de Menorca	62
Cohort d'Astúries	64
Cohort de Reus	65
3.2 Mostres analitzades	67
Mostres d'orina	67
Mostres de sèrum	67
Mostres d'aliments	68
3.3. Qüestionaris	71
3.4. Estimació de la ingesta de contaminants a través de la dieta	72
3.5. Anàlisi química	73
Anàlisi química de COPs	74
Materials, dissolvents, reactius i estàndards	74
Neteja del material	74
Dissolvents i reactius	75
Estàndards	75
Procediment experimental	76
Extracció per Soxhlet en mostres d'aliments	76
Extracció líquid-líquid en mostres de sèrum	79
Anàlisi instrumental	81
Condicions cromatogràfiques per a l'anàlisi d'OCs	81
Control de qualitat de les anàlisis	83
Blancs analítics	83
Recuperació dels estàndards analítics	83
Programa d'intercalibratge AMAP	84
Límits de detecció i quantificació	85

CONTINGUTS

Anàlisi química de metalls traça	86
Materials, dissolvents, reactius i estàndards	86
Neteja del material	86
Dissolvents i reactius	86
Procediment experimental	87
Protocol de digestió en mostres d'aliments	87
Protocol de digestió en mostres d'orina	87
Anàlisi instrumental	88
ICP-MS	88
Control de qualitat de les anàlisis	89
Blancs analítics.....	89
Material de referència	89
Límits de detecció	90
Anàlisi de creatinina.....	90
3.6 Anàlisi estadística	91

4 RESULTATS 93

ARTICLE 1

Integrated assessment of infant exposure to persistent organic pollutants and mercury via dietary intake in a central western Mediterranean site (Menorca Island)	95
---	----

ARTICLE 2

Drivers of the accumulation of mercury and organochlorine pollutants in Mediterranean lean fish and dietary significance	109
--	-----

ARTICLE 3

Environmental and population determinants of exposure to metals in four-years-old children in Aviles (Asturias, Spain).....	123
---	-----

ARTICLE 4

Urinary cobalt and ferritin in four-years-old children.....153

ARTICLE 5

Changes of organochlorine compound concentrations in maternal serum during pregnancy and comparison to serum cord blood composition.....173

5 DISCUSSIÓ 209

5.1 Exposició a través de la dieta.....209

Nivells d'OCs i Hg 210

Influència de la ingesta de peix en l'exposició als compostos organoclorats i mercuri212

Altres estudis fets en la cohort INMA de Menorca215

5.2 Exposició ambiental.....220

Nivells de metalls221

Influència de la ingesta de peix i l'exposició a l'arsènic222

Influència dels nivells de ferro en les concentracions de cobalt durant la infància223

Altres estudis fets a la cohort INMA d'Astúries226

5.3 Exposició perinatal.....231

Nivells d'OCs232

Característiques maternes que modulen les concentracions d'OCs ..234

Transferència d'OCs durant l'embaràs.....236

Estudis INMA de transferència materna237

6 CONCLUSIONS 241

7 BIBLIOGRAFIA 245

Abreviacions i acrònims

ADN	Àcid desoxiribonucleic
AESA	<i>Agencia Española de Seguridad Alimentaria</i>
AESAN	<i>Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición</i>
AMAP	<i>Arctic Monitoring and Assessment Programme</i>
ATSDR	Agència per a Substàncies Tòxiques i el Registre de Malalties
BOE	<i>Boletín Oficial del Estado</i>
COP	Contaminant orgànic persistent
DDD	Diclorodifenildicloroetà
DDE	Diclorodifenildicloroetilè
DDT	Diclorodifenitricloroetà
EC	<i>European Commission</i>
ECHA	<i>European Chemicals Agency</i>
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>
EUA	Estats Units d'Amèrica
GC-ECD	Cromatògraf de gasos amb detector de captura d'electrons
GerES	<i>German Environmental Surveys</i>
HCB	Hexaclorobenzè
HCH	Hexaclorociclohexà

IARC	Agència Internacional per a la Recerca del Càncer
ICP-MS	Espectrometria de Masses per Plasma d'Acoblament Inductiu
Ig E	Immunoglobulina E
Ig G	Immunoglobulina G
IMC	Índex de massa corporal
LD	Límit de detecció
LQ	Límit de quantificació
MG	Mitjana geomètrica
MP	Matèria particulada
NHANES	<i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
OC	Compostos organoclorats
OMS	Organització Mundial de la Salut
ONU	Organització de les Nacions Unides
PCB	Policlorobifenil
PeCB	Pentaclorobenzè
POP	<i>Persistent organic pollutants</i>
rpm	revolucions per minut
TBB	Tetrabromobenzé
UE	Unió Europea
UNEP	<i>United Nations Environment Programme</i>
UNESCO	<i>United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization</i>

Llista de Figures

1 Introducció

- 1.1. Esquema dels processos de bioacumulació i biomagnificació 5
- 1.2 Transport dels COPs a llarga distància. 1) En temperatures càlides els COPs s'evaporen. 2) Els COPs es desplacen per l'atmosfera a través de l'aire cap a llocs més freds com els pols i els cims de les muntanyes. 3) A temperatures baixes, els COPs es condensen i cauen a terra 6
- 1.3 Fotografia de Rachel Carson (esquerra) i títol del seu llibre *Silent Spring* (dreta) 7
- 1.4 Estructura química del pentaclorobenzè (esquerra) i l'hexaclorobenzè (dreta) 9
- 1.5 Estructura química de quatre isòmers de l'hexaclorociclohexà, d'esquerra a dreta: α -HCH, β -HCH, γ -HCH i δ -HCH..... 10
- 1.6 Estructures químiques del 4,4'-DDT, 4,4'-DDE i 4,4'-DDD 12
- 1.7 Publicitat de l'ús domèstic del DDT 13
- 1.8 Polvorització de DDT pel control de mosquits a les regions amb incidència de malària 13
- 1.9 Estructura química general dels PCBs 14

1.10 Exemple dels congèneres principals estudiats en aquesta tesi doctoral. D'esquerra a dreta: PCB-118 (5 Cl), PCB-138 (6 Cl), PCB-153 (6 Cl), PCB-180 (7 Cl)	15
1.11 Imatges de la malaltia de <i>Yusho</i> : cloracne (esquerra) o hiperpigmentació (dreta).....	16
1.12 Producció i emissions de Cu, Pb i Zn a Europa des de la Revolució Industrial fins al 1990 (Järup, 2003).....	21
1.13 Tendència de les emissions de Cd, Pb i Hg a Europa des de la Revolució Industrial fins al 2016 (European Environment Agency, 2018)	21
1.14 Concepte de l'OMS de deficiència i toxicitat per excés d'ingesta de metalls traça essencials, atenent els percentatges de població en risc segons la dosi (Verougstraete <i>et al.</i> , 2018)	23
1.15 Cicle global del mercuri. Deposició es refereix al procés de re-emissió del mercuri gasós des de superfícies com el sòl o l'aigua	27
1.16 Principals formes del mercuri en el medi ambient.....	28
1.17 Representació de la conca Mediterrània amb la subdivisió de les deu subconques (UNEP/FAO/WHO/IAEA 1990). Les fletxes indiquen les trajectòries principals dels corrents advectionals superficials (UNEP/MAP/MED POL 2005). (ALB: mar d'Alboran; ADR: mar Adriàtica; AEG: mar Egeu; CEN: zona central; ION: mar Jònica; NLE: zona del Llevant nord; NWE: zona nord-occidental; SLE: zona del Llevant sud; SWE: zona sud occidental; TYR: mar Tirrena).....	30
1.18 Retalls dels diaris “El Periódico” (esquerra) i “La Vanguardia” (dreta) dels dies 18 i 14 de Setembre del 2016, respectivament.....	32
1.19 Estructures químiques d'algunes formes de l'arsènic	41
1.20 Espècies d'arsènic trobades en l'anàlisi d'orina després del consum de peix i marisc i associacions metabòliques entre elles (Navas-Acien <i>et al.</i> , 2011).	43

1.21	Exemples de grups prostètics de Mo: a) Cofactor de FeMo; b) Mo-bis-MGD bacterià; c) Sulfit deshidrogenasa i d) xantina oxidasa (Schwarz <i>et al.</i> , 2009)	45
1.22	Emissions de cadmi reportades a la regió de l'EMEP (24 països) (World Health Organization, 2007)	46
1.23	Canvis en les emissions de cadmi procedents de fonts antropogèniques entre el 1990 i el 2003 (World Health Organization, 2007)	47
1.24	Ús de plom i nivells mitjans de sang als nens als EUA (Järup, 2003) .	53

3 Metodologia

3.1	Localització geogràfica de les poblacions estudiades a Europa (esquerra) i en vermell les comunitats autònomes d'Astúries, Tarragona i Menorca, marcat amb groc les ciutats d'Avilés i Reus (dreta)	59
3.2.	Períodes de seguiment de les cohorts INMA	61
3.3	Localització geogràfica dels municipis de l'Illa de Menorca.....	62
3.4	Localització geogràfica dels municipis d'Astúries i en blau la ciutat d'Avilés.....	64
3.5	Localització geogràfica de les comarques de Tarragona i en blau la ciutat de Reus.....	66
3.6	Exemples de mostres d'aliments agafades a l'Illa de Menorca.....	68
3.7	Localització geogràfica de la presa de mostra de peix blanc	70
3.8	Esquema del procés analític d'OCs en les mostres d'aliments (excepte per formatge i ous)	78
3.9	Esquema del procés analític d'OCs en mostres de sèrum.....	80
3.10	Cromatògraf de gasos acoblat amb detector de captura d'electrons (GC-ECD).....	81
3.11	Cromatograma d'una mescla d'OCs analitzada amb GC-ECD amb els compostos d'interès (PeCB, α -HCH, HCB, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH,	

PCB-28, PCB-52, 2,4'-DDE, PCB-101, 4,4'-DDE, 2,4'-DDD, PCB-118, 4,4'-DDD, 2,4'-DDT, PCB-153, 4,4'-DDT, PCB-138, PCB-180) els patrons de recuperació (TBB i PCB-209) i el patró intern (PCB-142). L'eix d'abscisses mesura el temps d'elució (en min) i l'eix d'ordenades mostra la resposta (en Hz) 82

3.12 Espectrometria de Masses per Plasma d'Acoblament Inductiu (ICP-MS)..... 88

5 Discussió

5.1 Concentracions de mercuri dels peixos capturats al Mediterrani (en mg/Kg). En vermell les concentracions per sobre dels límits recomanats per la Unió Europea (EC, 2006)..... 212

5.2 Percentatge de les mitjanes dels nivells de mercuri en cabell de mares d'Europa. Basat en l'estudi de DEMOCOPHES, Den Hond *et al.*, 2015 214

5.3 Concentracions mitjanes de compostos organoclorats en sang de cordó i en infants de 4 anys que han estat alimentats amb llet materna o amb fórmula. Els intervals representen l'error estàndard ($p < 0.05$) i mostren els valors corresponents a tots els conjunts de dades i al subconjunt de mostres comunes per als nadons i als nens de quatre anys, respectivament. Els asteriscs indiquen diferències significatives entre els mitjanes dels infants alimentats amb llet materna o amb fórmula (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$) (Carrizo *et al.*, 2006) 217

5.4 Distribució de les concentracions de mercuri en cabell a la població infantil de Menorca. El nivell establert per la OMS s'indica com a referència (Garí *et al.*, 2013)..... 218

5.5	Representació gràfica del Model Additiu Generalitzat (GAM) mo­strant l'associació (i un 95% de nivells de confiança) entre la diferència de cobalt entre els trimestres en orina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) i la disminució de l'hemoglobina en sang materna entre etapes (g/dL) (Fort <i>et al.</i> , 2015).....	224
5.6	Esquema del model teòric proposat que explica l'augment del cobalt urinari que es produeix durant la infància	226
5.7	Contribució del 2,4'-DDT, 4,4'-DDT i els seus metabòlits (2,4'-DDD, 4,4'-DDD, 2,4'-DDE i 4,4'-DDE) a la suma total de DDT's en sang venosa materna recollida durant el primer trimestre d'embaràs i el part i en sang de cordó umbilical a la població de Tarragona	232
5.8	Contribució dels diferents congèneres dels PCBs a la suma total de PCBs en el primer trimestre d'embaràs, al part i en cordó umbilical a la població de Tarragona.....	233
5.9	Mitjana del percentatge de distribució dels compostos orgànics persistents entre el sèrum materna, la placenta i el sèrum fetal. Concentracions expressades en ng/mL (a) i ajustades per lípid (b). Les barres corresponen al 95 % dels intervals de confiança	239

Llista de Taules

1 Introducció

- 1.1 Classificació d'una sèrie de metalls atenent a la seva essencialitat i toxicitat. ^aNo s'han descrit efectes tòxics (veure seccions següents); ^bL'Organització Mundial de la Salut (OMS) els ha classificat com a probable essencial per humans.....23
- 1.2 Enzims que contenen Cu i les seves funcions principals38

3 Metodologia

- 3.1 Mostres d'aliments de l'Illa de Menorca. En cursiva el nom científic de les espècies de peix i marisc.....69
- 3.2 Mostres de peix blanc recollides al mar Mediterrani i a l'Oceà Atlàntic agrupades per nivell tròfic. En cursiva el nom científic de les espècies de peix.71

5 Discussió

- 3.1 5.1 Concentracions de As, Cd, Hg, Mn i Pb en placenta (ng/g pes fresc). P25, P75: percentils 25 i 75; LD (límit de detecció) = As: 0.0038 ng/g;

	Cd: 0.23494 ng/g; Hg: 0.0156627; Mn: 0.939759 ng/g; Pb: 6.500 ng/g (Freire <i>et al.</i> , 2018).	227
5.2	Concentracions de Pb en sang de cordó ($\mu\text{g}/\text{dL}$). LQ: límit de quantificació (2 $\mu\text{g}/\text{dL}$), IC: interval de confiança, MA: mitjana aritmètica, DS: desviació estàndard, MG: mitjana geomètrica, ^a nivells no detectats es reporten com la meitat del LQ (Llop <i>et al.</i> , 2011).....	227
5.3	Concentracions de Hg en sang de cordó ($\mu\text{g}/\text{L}$). T-Hg: mercuri total, MG: mitjana geomètrica, DL: límit de detecció, EPA: <i>Environmental Protection Agency</i> , RfD: dosi de referència. ^a 6.4 $\mu\text{g}/\text{L}$ com el T-Hg equivalent per la EPA RfD pel metilmercuri (5.8 $\mu\text{g}/\text{L}$) tenint en compte que representa el 90 % T-Hg (Ramon <i>et al.</i> , 2012)	228
5.4	Mediana de les concentracions de As, Cd i Pb en la cohort d'Astúries en orina d'infants, placenta i cordó umbilical. *=mitjana geomètrica, LD= límit de detecció	228
5.5	Concentracions de metalls en orina en infants de 4 anys de la cohort INMA d'Astúries (n=334) i en mares embarassades de la cohort INMA de Sabadell (n=489) (en $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina).....	231
5.6	Concentració dels compostos organoclorats en sèrum de cordó (N=303), placenta (N=49) i sèrum matern (N=308), parelles, INMA-cohort Astúries 2004-2008. ¹ LD: límit de detecció, ² RIQ=rang interquartílic	238

1 Introducció

1.1 Contaminació ambiental

L'home ha interaccionat amb el medi ambient des dels inicis de la seva existència a la Terra. L'home primitiu era recol·lector i caçador. Les seves activitats s'integraven en el medi natural i, per tant, l'impacte ambiental era mínim. Amb el descobriment de l'agricultura i la ramaderia, els efectes de l'home a l'ecosistema van començar a ser més significatius. El desenvolupament de la mineria, la tala d'arbres, la crema de fusta i la selecció d'espècies van representar una modificació de l'entorn i un augment de les emissions de contaminants a l'atmosfera. Tot i així, aquests efectes representaven problemes relativament locals.

L'arribada de la Revolució Industrial va suposar un punt d'inflexió per l'impacte humà sobre el medi ambient. La indústria va generar un munt de recursos. Entre altres, la síntesi inorgànica de l'amoníac (síntesi de Haber) obrí la porta a la fabricació d'adobs nitrogenats i a un augment espectacular de la producció agrícola i la capacitat de generar aliments. Aquest i altres factors van generar un creixement exponencial de la població. Aquest increment ha generat una sobreexplotació de matèries primeres de gran

1 INTRODUCCIÓ

escala. Molts compostos nous es van començar a utilitzar àmpliament per a diverses aplicacions com insecticides, fungicides, retardants de flama o aïllants tèrmics, entre d'altres. Amb el pas del temps, es va descobrir que una part important d'ells són tòxics i químicament estables. Així, un cop introduïts a l'entorn, no es transformen de manera significativa i s'acumulen en la xarxa tròfica i en els teixits humans. A més a més, s'ha incrementat de manera molt important la contaminació atmosfèrica. La presència d'aquests compostos nous ha suposat un nou paradigma de toxicitat que han de tractar les ciències ambientals i de salut.

Així, els humans estem exposats crònicament als contaminants ambientals, des de la concepció fins als últims dies de la vida. Actualment, existeixen 143.000 substàncies registrades per l'Agència Europea de Substàncies Químiques (ECHA, 2017), 85.000 d'aquestes s'inclouen en la Llei de Control de Substàncies Tòxiques de la EPA (USEPA, 2016). Aquests compostos es troben presents a l'aire, a l'aigua i als aliments. L'impacte de l'activitat humana sobre el medi ambient ha provocat pèrdues de biodiversitat, el canvi climàtic, la destrucció de la capa d'ozó i la desforestació, entre d'altres.

Els compostos químics i els seus productes de transformació, poden generar efectes perjudicials per a la salut de les persones donant lloc a malalties, tant en àrees desenvolupades com en vies de desenvolupament. A Barcelona, s'ha associat l'augment de les concentracions de partícules de l'aire amb l'augment de la mortalitat diària (Tobías *et al.*, 2018). Alguns contaminants es poden transportar a llargues distàncies a través de l'atmosfera tot arribant als llocs més remots. Viure en llocs aïllats dels centres urbans o industrials no garanteix la manca d'exposició a aquests compostos. En alguns casos, com per exemple en els entorns àrtics, els humans estan exposats a dosis altes de compostos organoclorats a causa de l'efecte global

de destil·lació, una forma de transport atmosfèric que depèn del clima, i als processos de bioacumulació i biomagnificació a la cadena tròfica.

Les substàncies que provoquen aquests problemes es defineixen com a contaminants a escala global i inclouen el diòxid de carbó, els gasos amb efecte hivernacle, els radioisòtops, determinats metalls i els compostos orgànics persistents (COPs o POPs segons el seu acrònim en anglès, *Persistent Organic Pollutants*). Aquests dos últims grups de compostos són en els que s'ha centrat la present tesi doctoral.

1.2 Vulnerabilitat del fetus i dels infants a la contaminació ambiental

Els éssers humans estem exposats als contaminants ambientals des de la concepció. La majoria de les substàncies químiques travessen la placenta per difusió passiva i poden arribar fins el fetus (Vizcaino *et al.*, 2014a). Cada cop hi ha més evidències que les exposicions durant la vida fetal i infantil poden tenir conseqüències en la vida adulta.

El risc a l'exposició als contaminants ambientals no només depèn de la dosi, sinó del moment en que es produeix, essent especialment crític el període perinatal i els primers anys de vida. Els infants són especialment vulnerables als agents ambientals tòxics, perquè els seus òrgans i el seu metabolisme encara estan en formació i molts processos de desintoxicació no estan completament desenvolupats. A més, en proporció amb la seva mida, ingereixen més menjar, beuen més aigua i respiren més que els adults. Tanmateix, altres conductes com ficar-se les mans a la boca i jugar en terra i a l'aire lliure poden augmentar l'exposició dels infants als contaminants.

1 INTRODUCCIÓ

D'aquesta manera, els nens són més susceptibles als factors ambientals com la contaminació atmosfèrica per trànsit, el fum del tabac, les radiacions o la ingesta d'aliments i aigua contaminats.

Malgrat aquests problemes ambientals, també s'ha de dir que la incidència de malalties infantils ha canviat radicalment en el darrer segle. S'han controlat les malalties infeccioses i la supervivència en els primers anys de vida és molt més alta que en el període preindustrial. Avui en dia, els infants pateixen malalties cròniques, com malalties pulmonars, trastorns cardiovasculars, càncer o diabetis. S'estima que el 40 % de les malalties atribuïbles al medi ambient recauen sobre els nens menors de 5 anys (World Health Organization, 2016; Perera *et al.*, 2019). Òbviament, interessa disminuir la incidència d'aquestes malalties.

Encara s'han d'esbrinar molts aspectes sobre les rutes d'exposició, la càrrega corporal, els mecanismes metabòlics i els impactes de l'exposició ambiental en la salut de les persones durant les primeres etapes de la vida. La investigació per abordar aquests problemes és de gran importància per poder anticipar possibles efectes sobre la salut en el futur.

La present tesi doctoral té per objectiu avaluar l'exposició en dones embarassades i en infants a dos grups de contaminants químicament estables, és a dir, els compostos organoclorats i metalls. S'han dut a terme mètodes analítics i s'ha fet una anàlisi intensiva per tal de contribuir a entendre els mecanismes i formes d'exposició a aquests compostos. Els resultats obtinguts ajudaran a identificar quines podrien ser les polítiques més adequades per evitar o, almenys reduir, els efectes nocius que aquests contaminants poden implicar en la població general i, especialment, durant les primeres etapes de desenvolupament dels nens.

1.3 Compostos orgànics persistents

Els Contaminants Orgànics Persistents (COPs), són un grup de compostos químics d'origen antropogènic que es van produir amb finalitats agrícoles o industrials, encara que alguns també poden ser subproductes de la síntesi d'altres compostos químics. Es defineixen per quatre característiques principals:

- *Persistència* en el medi ambient, degut a la seva estabilitat química que els fa resistents a la degradació química, física i biològica i comporta que es mantinguin gairebé inalterats en el medi ambient durant períodes de temps llargs.

- Tendència a *bioconcentrar-se* i a *biomagnificar-se* degut a la seva alta lipofilitat que els emmagatzema en els teixits lipídics dels éssers vius i els permet augmentar la seva concentració al llarg de la cadena tròfica (Junqué *et al.*, 2018) (Figura 1.1).

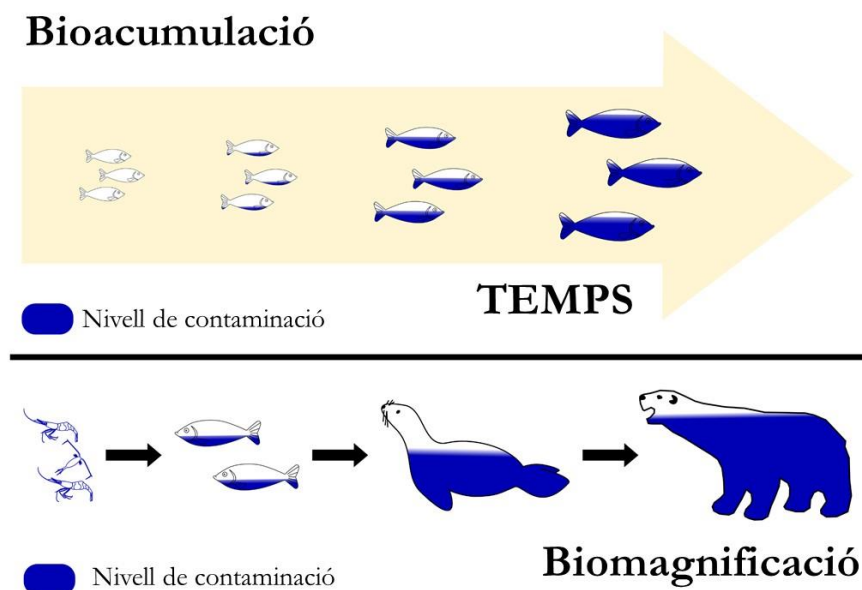


Figura 1.1 Esquema dels processos de bioacumulació i biomagnificació.

1 INTRODUCCIÓ

- *Semi-volatilitat* i capacitat de *transport de llarg abast*, a causa de la destil·lació global (Simonich i Hites, 1995) que els volatilitzen en latituds càlides per condensar-les en regions fredes (Figura 1.2). Com a resultat, es poden trobar a regions remotes allunyades dels llocs on es van utilitzar o es van fabricar (Grimalt *et al.*, 2001; Bravo *et al.*, 2017).

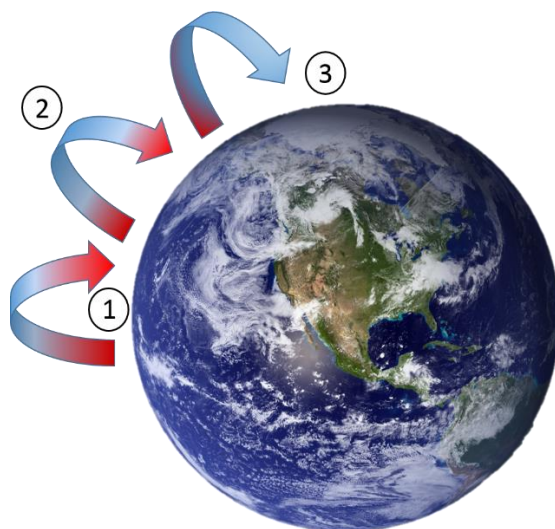


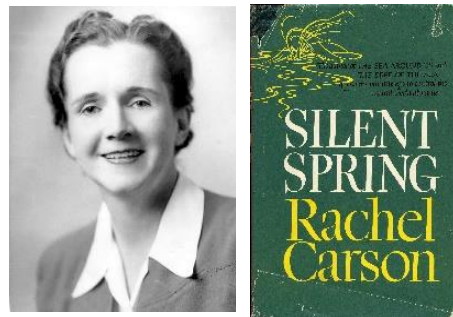
Figura 1.2 Transport dels COPs a llarga distància. 1) En temperatures càlides els COPs s'evaporen. 2) Els COPs es desplacen per l'atmosfera a través de l'aire cap a llocs més freds com els pols i els cims de les muntanyes. 3) A temperatures baixes, els COPs es condensen i cauen a terra.

- Alta *toxicitat* amb efectes nocius demostrats tant en la salut humana com en el medi ambient. L'exposició humana als COPs pot provocar problemes greus de salut, incloent càncer, defectes en el naixement, disfuncions del sistema immune i reproductiu, major susceptibilitat a malalties i disminució de la intel·ligència, entre d'altres (Turyk *et al.*, 2007; Junqué *et al.*, 2017; Cabrera-Rodríguez *et al.*, 2019).

La producció i l'ús massiu de la majoria d'aquests compostos es va iniciar durant la dècada del 1940. No obstant, diversos accidents toxicològics de contaminació aguda en humans, com el cas de Yusho (Japó) amb els PCBs,

el del Kurdistan Turc amb l'hexaclorobencè (HCH) o el de Seveso (Itàlia) amb les dioxines, juntament amb les evidències dels possibles efectes del DDT en la vida salvatge que va revelar la biòloga Rachel Carson al seu llibre *Silent Spring* (Carson, 1962) (Figura 1.3) van crear una consciència global sobre els efectes nocius d'aquests compostos tant per al medi ambient com per a la salut humana. En conseqüència, es va produir una retirada progressiva i la prohibició del seu ús i producció als països occidentals des dels anys setanta fins als nostres dies.

Figura 1.3 Fotografia de Rachel Carson (esquerra) i títol del seu llibre *Silent Spring* (dreta).



Entre totes aquestes restriccions, l'ONU es va veure compromesa amb la regulació i el control d'aquestes substàncies donant lloc al Conveni d'Estocolm l'any 2001, signat per 120 països, inclosos tots aquells de la Unió Europea. Aquesta convenció es va implementar l'any 2004 i el seu objectiu principal era protegir el medi ambient i la salut humana eliminant o reduint l'ús dels COPs i les emissions globals. A la llista de prohibició es van incloure dotze compostos inicials (els “*dirty dozen*”), és a dir, pesticides com l'aldrín, el clordà, el diclorodifeniltricloroetà (DDT), la dieldrina, l'endrina, l'heptaclor, l'HCB, el mirex i el toxafè; productes químics industrials com els PCB i subproductes com les dibenzo-p-dioxines policlorades i els dibenzofurans policlorats (PCDD / PCDF). A l'agost del 2009, la llista es va estendre amb l' α i el β -hexaclorociclohexà (HCH), el lindà, la clordecona, el pentaclorobencè (PeCB), les barreges comercials d'octabromodifenil i pentabromodifenil èters, l'àcid perfluorooctà sulfònic i el sulfonil de perfluorooctà. L'endosulfà

també es va incloure l'octubre del 2011 i l'hexabromociclododecà (HBCD) el novembre del 2014.

Aquestes restriccions i prohibicions mundials han contribuït a disminuir les càrregues de la majoria d'aquests COPs al medi ambient, a la vida silvestre i en els éssers humans. No obstant això, en alguns països es permet per a propòsits específics (com el control de la malària a Àfrica) l'ús d'alguns compostos com el DDT. Aquests usos, la influència dels abocadors de residus antics i un emmagatzematge inadequat, donen lloc a fonts potencials per a la incorporació d'aquests compostos en humans.

Els compostos organoclorats

Els compostos organoclorats són un grup de molècules orgàniques amb àtoms de clor en la seva estructura. Tot i que tenen propietats físico-químiques similars, tenen estructures i usos diferents. El nombre d'àtoms de clor i la seva posició en la molècula determinen la seva persistència i toxicitat; aquells que en tenen un nombre més elevat són generalment més estables, lipofílics i resistents a la degradació. En general, la seva presència en el medi ambient és una herència del passat, siguin els que es van utilitzar com a pesticides i fungicides (el DDT, l'HCH, i l'HCB), o els d'origen industrial (els PCBs) o subproductes de síntesi com l'HCB.

En els apartats següents es fa una descripció dels compostos organoclorats analitzats a la present tesi doctoral.

El pentaclorobenzè (PeCB) i l'hexaclorobenzè (HCB)

El pentaclorobenzè (PeCB) i l'hexaclorobenzè (HCB) pertanyen al grup dels clorobenzens. Estan constituïts per un anell de benzè amb 5 i 6 substituents de clor, respectivament (Figura 1.4). Ambdós han estat utilitzats com a fungicides en el passat i també són subproductes de la producció química d'altres pesticides i dissolvents.

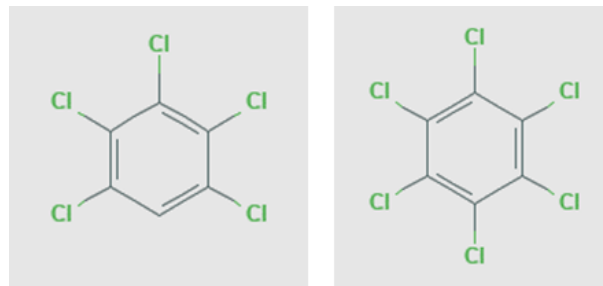


Figura 1.4 Estructura química del pentaclorobenzè (esquerra) i l'hexaclorobenzè (dreta).

En el passat, el PeCB s'utilitzava com a fungicida, com a agent retardant de flama, en acceleradors de tints i en combinació amb policlorobifenils en fluids dielèctrics. També es va fer servir com a intermedi en la producció d'altres compostos. El PeCB també està present com a impuresa química en dissolvents o pesticides i s'emet al medi ambient com a resultat de la incineració de residus domèstics, entre d'altres processos. És moderadament tòxic per als humans i molt tòxic per als organismes aquàtics.

L'HCB es va utilitzar per primera vegada durant els anys 30 com a fungicida per a la conservació de llavors de cereals. Entre el 1956 i el 1958, l'HCB va protagonitzar una terrible intoxicació al Kurdistan Turc quan, degut a l'escassetat d'aliments, la població va emprar blat tractat directament amb aquest compost per a la fabricació de pa. Aquest esdeveniment va causar greus efectes sobre la salut a la població tals com malformacions congènites, porfíria cutània tarda i alta mortalitat entre els nadons (Peters, 1976).

1 INTRODUCCIÓ

Tot i que el seu ús es va prohibir a Europa a partir del anys setanta, el generen diversos processos químics, com la fabricació de diversos dissolvents clorats o en la incineració de residus amb clor. A més, degut a la seves propietats, és molt probable que s'alliberi a l'ambient en quantitats acumulades en sòls i sediments a causa de processos de deposició, remobilització a l'atmosfera i re-deposició (Barber *et al.*, 2005). Dintre dels COPs, aquest és un dels compostos més volàtils. Diversos estudis han demostrat que l'exposició crònica a l'HCB està associada a efecte negatius sobre la reproducció (Ribas-Fitó *et al.*, 2005; Robledo *et al.*, 2015), i major risc de càncer (Grimalt *et al.*, 1994; Ploteau *et al.*, 2017).

L'hexaclorociclohexà (HCH)

L'hexaclorociclohexà té formula molecular $C_6H_6Cl_6$. Hi ha 8 isòmers possibles però els que es troben en el medi ambient són quatre: l'alfa (α), el beta (β), el gamma (γ) i el delta (δ), que també són els únics isòmers de rellevància comercial (Figura 1.5).

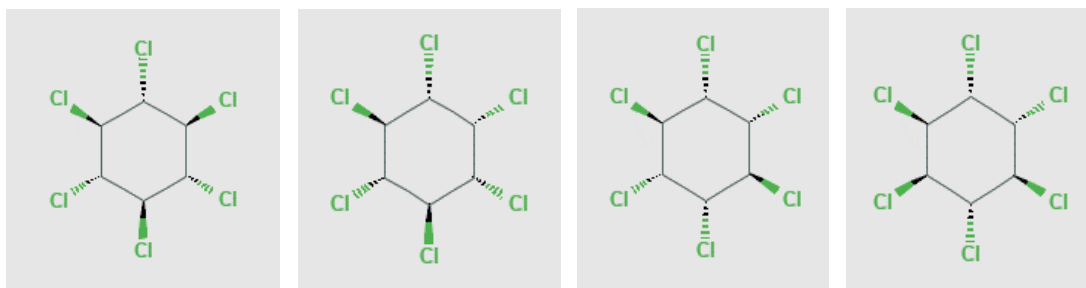


Figura 1.5 Estructura química de quatre isòmers de l'hexaclorociclohexà, d'esquerra a dreta: α -HCH, β -HCH, γ -HCH i δ -HCH.

D'entre tots els isòmers, l'únic actiu com a insecticida és el lindà (γ -HCH). Tot i així es van comercialitzar barreges tècniques de diversos d'ells. La barreja tècnica d'HCH consisteix, aproximadament, en 60-70% d' α -HCH, 5-

12% de β -HCH, 10-15% de γ -HCH, 6-10% de δ -HCH i 3-4% de ϵ -HCH (Kutz *et al.*, 1991).

Els HCHs es van sintetitzar per primera vegada per Michael Faraday l'any 1825, però les propietats insecticides de l'isòmer gamma no es van descobrir fins l'any 1942 (Willett *et al.*, 1998). A partir de llavors, el lindà, que conté un 90% de l'isòmer γ , es va començar a utilitzar com a plaguicida. Era comú en productes agrícoles, i en molts sabons i xampús per al tractament de polls i àcars.

Aquests compostos presenten una alta capacitat de volatilització fet que els ha estès àmpliament pel medi ambient. Els isòmers difereixen en les seves propietats químiques. Mentre que l'isòmer γ és soluble en aigua i fàcilment degradable, les formes α i β són més liofíliques i persistents. L'isòmer β té una vida mitjana en sang humana de 7.2 anys i, per tant, és l'isòmer més abundant en les mostres humanes (Carrizo *et al.*, 2007).

Tots els isòmers d'HCH són tòxics per als mamífers i l'Agència Internacional per a la Recerca del Càncer (IARC) va classificar el γ -HCH i les barreges tècniques del lindà com a possible carcinogen humà al grup 2B. Una exposició crònica a aquest compost també s'ha associat a efectes neurològics, reproductius i hepatotòxics (Bhatt i Bano, 2009; Saeedi Saravi i Dehpour, 2016; Fang *et al.*, 2019).

El diclorodifeniltricloroetà (DDT) i els seus metabòlits

El DDT (diclorodifeniltricloroetà) es va sintetitzar per primera vegada l'any 1874, però les seves propietats com a insecticida no es van descriure fins als anys 1930. El químic Paul Müller va descobrir que aquest compost interferia en els mecanismes de transmissió nerviosa dels insectes tot provocant la seva mort immediata. Aquest descobriment i els resultats positius en l'eliminació de la malària donaren lloc a que se li otorgués el premi Nobel de Medicina l'any 1948.

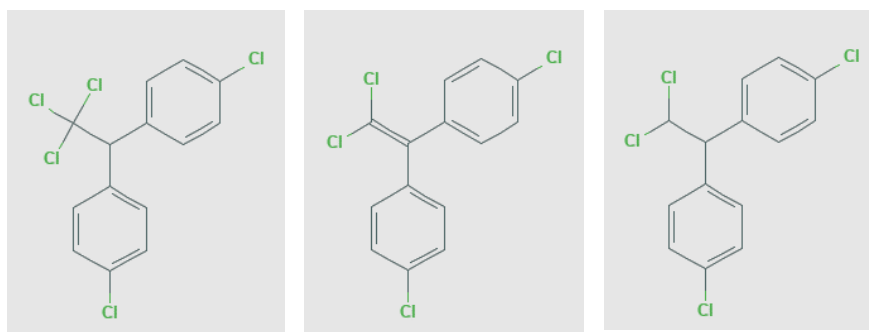


Figura 1.6 Estructures químiques del 4,4'-DDT, 4,4'-DDE i 4,4'-DDD.

Des de la dècada del 1940, aquest insecticida es va fer popular per la seva eficàcia en el control de plagues agrícoles i domèstiques i pel seu baix cost (Figura 1.7). No obstant això, l'any 1964, Rachel Carson va publicar el llibre *Silent spring*, on va anunciar els efectes nocius greus del DDT en la vida silvestre i els humans. Aquesta publicació va tenir un gran impacte social i científic i va representar l'inici d'una consciència global sobre el perill potencial dels pesticides i, en concret, el DDT. També va conduir a una prohibició progressiva de l'ús d'aquest insecticida a molts països durant els anys 1970 i principis del 1980.



Figura 1.7 Publicitat de l'ús domèstic del DDT.

No obstant això, durant l'última dècada l'Organització Mundial de la Salut ha recomanat l'ús controlat de DDT per combatre els vectors de la malària en zones amb alta incidència d'aquesta malaltia, com és el cas de l'Àfrica Tropical (Figura 1.8).



Figura 1.8 Polvorització de DDT pel control de mosquits a les regions amb incidència de malària.

El component principal de les barreges tècniques del DDT és el 4,4'-DDT. Aquest compost representa el 85% de la barreja, mentre que el 15% és el 2,4'-DDT i el 4% és el 4,4'-DDE. El 4,4'-DDT es metabolitza principalment a 4,4'-DDE i 4,4'-DDD en condicions aeròbiques i anaeròbiques, respectivament (Figura 1.6). El 4,4'-DDE és el congènere principal en els organismes, tot acumulant-se en els teixits lipídics i transferint-se al llarg de la cadena tròfica i de la mare al fill. El 4,4'-DDE té una vida mitjana de 7 a 11 anys en els éssers humans. Si el coeficient DDE/DDT és alt, acostuma a indicar una exposició antiga al DDT i, per contra, un coeficient baix suggereix una exposició recent.

1 INTRODUCCIÓ

L'efecte tòxic més conegut del DDT és l'aprimament de les closques dels ous, que dóna lloc a la pèrdua d'embrions i la reducció de les poblacions d'aus. En humans, l'exposició crònica al DDT i als seus derivats s'ha associat amb una varietat d'efectes negatius àmplia per a la salut humana, tot incloent-hi desordres reproductius, cardiovasculars, metabòlics i neurotòxics (Porta *et al.*, 1999; Ribas-Fitó *et al.*, 2006; Arrebola *et al.*, 2016).

Els policlorobifenils (PCBs)

Els policlorobifenils (PCBs) són un grup de productes químics produïts per la cloració del bifenil. Els constituents de les mescles, els congèneres, són nomenats per la IUPAC segons el seu nombre i posició dels àtoms de clor (Figura 1.9).

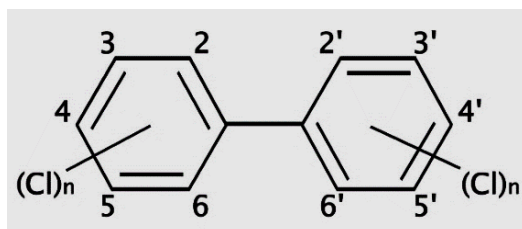


Figura 1.9 Estructura química general dels PCBs.

Hi ha un total 209 combinacions diferents. La posició i el nombre de clors donen a cada congènere propietats tòxiques i químiques diferents. Així, com més gran sigui el nombre d'àtoms de clor del congènere, serà més estable, lipofílic i persistent. Els congèneres amb menor nombre de clors es degraden i es dispersen més fàcilment a l'atmosfera, mentre que aquells amb un nombre més gran d'àtoms de clor es bioacumulen en major proporció. La vida mitjana d'aquests compostos en els organismes sol ésser de 10 a 15 anys.

Els congèneres de PCB estudiats en aquesta tesi han estat els 28, 52, 101, 118, 138, 153 i 180, que són els més abundants en matrius mediambientals i humanes (Figura 1.10).



Figura 1.10 Exemple dels congèneres principals estudiats en aquesta tesi doctoral. D'esquerra a dreta: PCB-118 (5 Cl), PCB-138 (6 Cl), PCB-153 (6 Cl), PCB-180 (7 Cl).

Els PCBs es van sintetitzar per primera vegada l'any 1881 a Alemanya. Degut a les seves excel·lents propietats tals com l'estabilitat química, la ignífugació, la resistència a la calor, el bon aïllament elèctric i la resistència alta als òxids i als àcids, entre d'altres, es van començar a utilitzar des de la dècada del 1920 amb diferents finalitats comercials i industrials. Alguns dels seus usos van ser en intercanviadors de calor, en equips elèctrics, en sistemes de transferència hidràulica o en additius en plàstics, papers i pintures (Hutzinger *et al.*, 1974).

Durant la dècada del 1960 va créixer la preocupació per la seva persistència mediambiental i capacitat de bioacumulació. A la localitat de Yusho (Japó), l'any 1968, hi va haver un episodi d'intoxicació per olis contaminats amb PCBs. Aquest esdeveniment va donar lloc a una malaltia estranya, anomenada *Yusho*, caracteritzada per l'aparició d'erupcions tipus acne (cloracne), hiperpigmentació de la pell i secreció dels ulls (Figura 1.11) fent saltar l'alarma sobre la seva repercussió sobre la salut humana a llarg termini.

1 INTRODUCCIÓ

Durant els anys 1970 i 1980 la regulació del seu ús i la seva producció va tenir lloc a Japó, a EUA i a alguns països europeus, inclòs l'Estat Espanyol. Avui en dia les barreges de PCB estan prohibides als països industrialitzats, però la seva emissió ambiental continua a partir de fonts secundàries com sòls, accidents, abocadors de residus, equips elèctrics antics o una gestió inadequada dels residus.



Figura 1.11 Imatges de la malaltia de *Yusho*: cloracne (esquerra) o hiperpigmentació (dreta).

Els PCB són tòxics pels peixos, matant-los a altes dosis i afectant la seva capacitat de reproducció a dosis baixes. Els nens de mares que van menjar grans quantitats de peixos contaminats del llac Michigan (EUA) van resultar tenir pitjor memòria a curt termini. A més, l'exposició humana als PCB s'ha associat a diversos problemes de salut, com ara la disrupció endocrina, la immunotoxicitat o la neurotoxicitat en nens. Estudis recents han mostrat un major risc de càncer associat amb el PCB153 en teixit adipós en homes (Arrebola *et al.*, 2014), així com associacions entre el risc de càncer de mama en dones postmenopàusiques i PCBs totals en sèrum (Recio-Vega *et al.*, 2011). Els PCBs estan classificats com a probables carcinògens humans (IARC, Grup 2A).

Exposició humana a COPs

Els compostos organoclorats descrits anteriorment s'utilitzaren habitualment en molts productes i, com a conseqüència, estan presents en diversos teixits i fluids humans. L'exposició humana als COPs es pot produir de diverses maneres. La dieta és sens dubte la via d'exposició principal (representant un 90 % de l'exposició total) i, especialment, a través del consum d'aliments contaminats amb un contingut alt de lípids com el peix gras, la carn vermella o les aus, entre d'altres (Junqué *et al.*, 2018). No obstant, un cop ingerits, aquests compostos es poden excretar parcialment per la femta (To-Figueras *et al.*, 2000), ja que no sempre s'absorbeixen totalment en el tracte intestinal (Kreuzer *et al.*, 1997; Moser i McLachlan, 2001).

Altres vies menors d'incorporació de COPs al cos humà són mitjançant la inhalació, tant en ambients interiors com en exteriors, i per contacte dèrmic. Com a exemple trobem la població de Flix, que va estar exposada a grans quantitats d'OCs emeses per una planta clor-àlcali, concretament HCB, subproducte de la síntesi de dissolvents organoclorats. Alguns estudis van mostrar que la població de Flix presentava els nivells més alts trobats d'aquest compost en poblacions humanes, tot indicant la seva incorporació a través de la respiració (Sala *et al.*, 1999).

El metabolisme hepàtic té un paper important en l'eliminació de molts productes químics (Dayton *et al.*, 1983). La transformació metabòlica dels COPs permet l'alliberament d'aquests compostos i dels seus metabòlits a la bilis o al plasma, tot permetent la seva eliminació parcial per l'orina o la femta (Moser i McLachlan, 2001; Jandacek i Tso 2007).

Degut al seu caràcter lipofílic i la seva resistència a la degradació, aquests compostos s'acumulen als teixits grassos i es biomagnifiquen al llarg de la

xarxa tròfica. Els éssers humans els acumulen de manera important perquè viuen més anys que la resta d'animals i, per tant, el temps d'exposició és major. Així, l'acumulació d'aquests compostos mostra la ineficiència del metabolisme humà en l'eliminació dels COPs tot acumulant-se amb l'edat.

Un dels aspectes més destacables de l'exposició als COP és la seva transmissió transgeneracional. S'ha demostrat que els COP travessen la barrera placentària i es troben en mostres de sang de cordó (Vizcaino *et al.*, 2014a). A més, degut a la seva lipofilitat, s'acumulen a la llet materna com a resultat de la remobilització de lípids durant l'embaràs i la lactància. En conseqüència, l'embaràs, el part i la lactància constitueixen una via de transferència de COPs de la dona al nen.

No obstant això, els efectes a llarg termini a l'exposició a dosis baixes d'aquests compostos no està prou caracteritzada i cal una atenció especial a aquest fenomen, sobretot en la població infantil per la seva vulnerabilitat.

Biomonitoratge de COPs en mostres humanes

La biomonitorització en humans als COPs ha estat àmpliament estudiada mitjançant l'anàlisi de diverses matrius humanes, principalment sèrum, però també teixit en adipós, placenta i llet materna. En el cas de l'exposició prenatal el mostreig es pot realitzar en les mares (mostres biològiques durant els diferents trimestres d'embaràs) o en el fetus, generalment s'utilitza el cordó umbilical.

Les concentracions d'aquests contaminants descriuen les condicions generals d'exposició de la població, tot i que les característiques individuals, especialment l'edat però també l'índex de massa corporal (IMC) o el sexe,

influeixen en la variabilitat individual de les concentracions dels COPs. Per tant, les persones més grans generalment presenten quantitats més elevades de compostos organoclorats, no només a causa de les propietats de bioacumulació d'aquests contaminants, sinó també com a conseqüència d'una exposició més intensa en el passat.

1.4 Metalls traça

Els éssers humans estem constantment exposats als metalls que es troben a l'aire, l'aigua, el sòl i els materials domèstics. Aquests elements formen part de l'escorça terrestre i, per tant, hi estem exposats de forma natural. No obstant això, l'activitat humana ha incrementat la seva concentració en el medi ambient degut a la activitat minera i industrial intensa. Les fonts principals d'exposició en humans són mitjançant la dieta, la inhalació i el contacte directe.

Els metalls generalment es troben en forma sòlida a temperatura ambient i tenen una alta conductivitat elèctrica, brillantor i mal·leabilitat. També es poden convertir en ions positius perdent electrons, propietat que els fa útils per participar en la majoria de les reaccions de radicals lliures com a elements pro-oxidants i antioxidants. El seu paper dependrà de la seva estructura química i de la seva molècula quelant.

Els metalls normalment es troben com a barreges en el medi ambient (Green i Planchart, 2018). Una vegada han entrat en els sistemes biològics, normalment es conjuguen o lliguen a altres molècules. Aquestes poden constituir estructures quelants petites (fosfats, fitats o polifenols) o proteïnes (metal·loproteïnes).

Aquesta tesi doctoral s'ha centrat en els metalls traça, definits per la IUPAC com aquells que es troben en concentracions inferiors a parts per milió (ppm) en mostres ambientals i biològiques.

Breu història de les emissions de metalls

Les primeres aportacions de metalls traça al medi ambient estan relacionades amb el domini del foc, a causa de petites quantitats alliberades durant la crema de llenya. Durant els inicis de l'economia, la mineria i el comerç de recursos minerals es van convertir en activitats clau pel desenvolupament i el progrés tecnològic en les cultures antigues. Per exemple, durant l'Imperi Romà, es necessitaren grans quantitats de plom (Pb), coure (Cu), zinc (Zn) i mercuri (Hg). Com a conseqüència, hi va haver emissions de metalls importants a l'atmosfera provinents de la fosa incontrolada de grans quantitats de minerals en focs oberts.

A Europa, l'activitat minera es va desenvolupar principalment durant el segle XVI amb l'extensió de l'ús de grans forns amb xemeneies altes. No obstant, va ser durant la Revolució Industrial quan la demanda de metalls va augmentar substancialment i va provocar un increment exponencial de les seves emissions. Aquestes es poden comparar amb les produccions mineres de cadmi (Cd), coure (Cu), plom (Pb), níquel (Ni) i zinc (Zn); entorn al 90 % de les extraccions mineres es van consumir durant aquest segle (Figura 1.12). Aquestes emissions van desbordar els cicles biogeoquímics naturals dels metalls en els ecosistemes, i es produí una contaminació per metalls de l'aire, sòl i aigua (Nriagu, 1996; Järup, 2003).

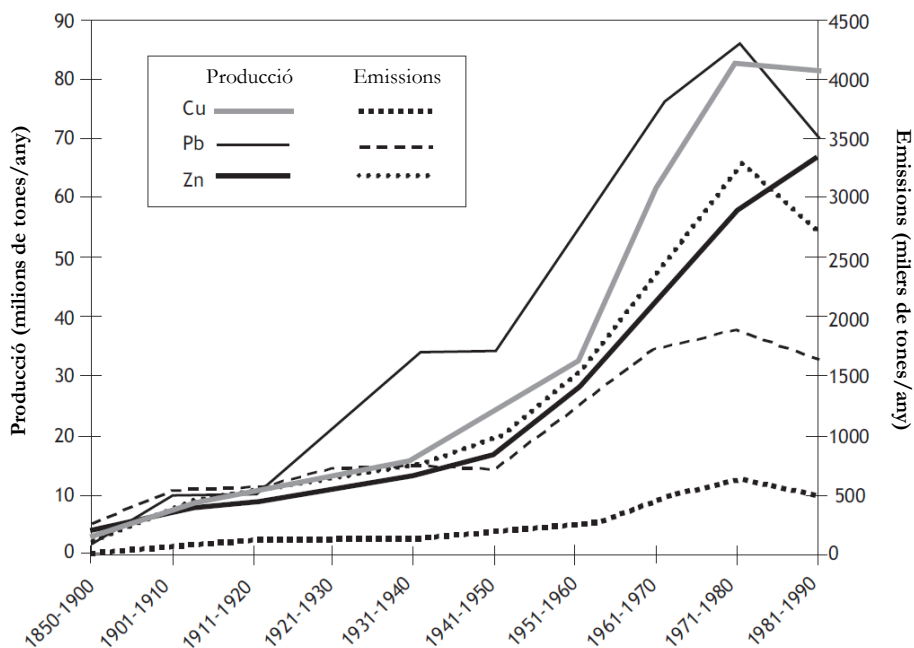


Figura 1.12 Producció i emissions de Cu, Pb i Zn a Europa des de la Revolució Industrial fins al 1990 (Järup, 2003).

Tot i això, a Europa, s'ha reduït la producció d'alguns metalls, com el Pb, el Cd i el Hg (Figura 1.13) (European Environment Agency, 2018).

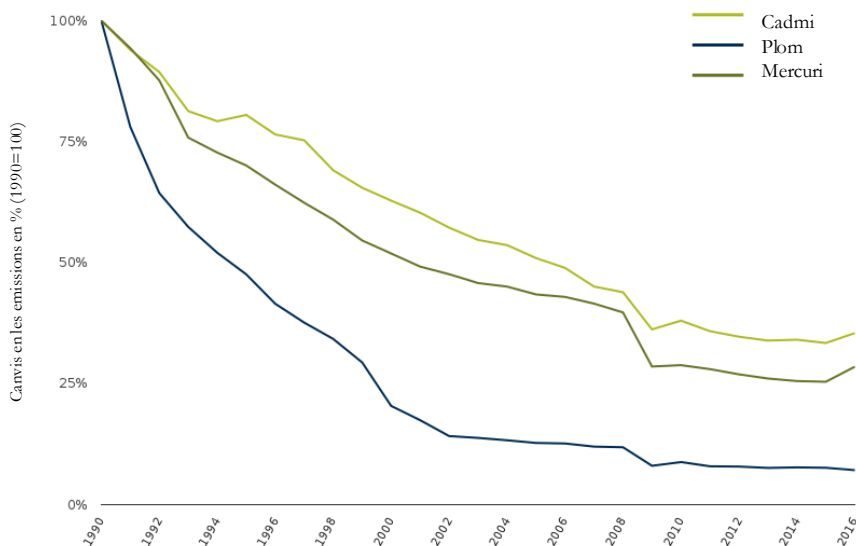


Figura 1.13 Tendència de les emissions de Cd, Pb i Hg a Europa des de la Revolució Industrial fins al 2016 (European Environment Agency, 2018).

1 INTRODUCCIÓ

Per contra, la producció i ús d'altres metalls com l'alumini (Al), el Cu, el molibdè (Mo), el tungstè (W), el vanadi (V) i el cobalt (Co) han augmentat (Apostoli, 2002).

Alguns metalls com el Cd, el Pb, el Cs i el Hg són contaminants freqüents de l'aire i, tot i que les seves concentracions a l'aire són baixes, es poden transportar a llocs remots i acumular-se en sòls degut a mecanismes de transport de llarg abast. La seva persistència els converteix en contaminants importants en sòls (World Health Organization, 2007; Lazo *et al.*, 2019).

Essencialitat vs toxicitat

Un dels aspectes més interessants dels metalls traça en humans és que alguns són tòxics i altres poden ser tòxics o essencials segons els seus nivells a l'organisme (Taula 1.4.1). Els metalls tòxics són aquells que no estan presents de forma natural a l'organisme humà, no tenen cap funció en ell i la seva exposició pot tenir efectes tòxics. L'abast i la intensitat d'aquests efectes dependrà de les seves propietats i concentracions.

D'altra banda, un metall es defineix com a essencial quan la seva absència o deficiència en la dieta genera anomalies funcionals o estructurals que es poden invertir per la presència del metall essencial. Els metalls traça definits com a essencials pertanyen a la categoria de micronutrients, necessaris per l'organisme en quantitats molt petites (generalment inferiors a 100 mg / dia). Els elements traça essencials actuen principalment en diferents processos corporals com a co-factors necessaris per a diversos enzims, on participen en processos catalítics formant part dels llocs actius, com estabilitzadors de l'estructura enzimàtica terciària o quaternària o associats en complexos de vinculació feble amb el substrat (Fraga, 2005).

Tòxic	Cd, Pb, Sb, Tl, Hg, Ba, Cs ^a
Essencial / Tòxic	Cu, Zn, Mo, Se, Co, Ni ^b , Fe, Mn ^b , Cr, V ^b

Taula 1.1 Classificació d'una sèrie de metalls atenent a la seva essencialitat i toxicitat.

^aNo s'han descrit efectes tòxics (veure seccions següents); ^bL'Organització Mundial de la Salut (OMS) els ha classificat com a probable essencial per humans.

Els sistemes biològics tracten aquesta dualitat essencialitat / toxicitat desenvolupant la capacitat de reconèixer un metall i lliurar-lo al seu destí sense permetre que participi en reaccions tòxiques. Les proteïnes són les principals molècules responsables d'aquests processos (Fraga, 2005). A més, els elements traça essencials estan subjectes a mecanismes de control homeostàtic que regulen l'absorció, excreció i retenció als teixits. La toxicitat es produeix quan l'exposició està per sobre o per sota del marge que poden acceptar aquests mecanismes (Figura 1.14).

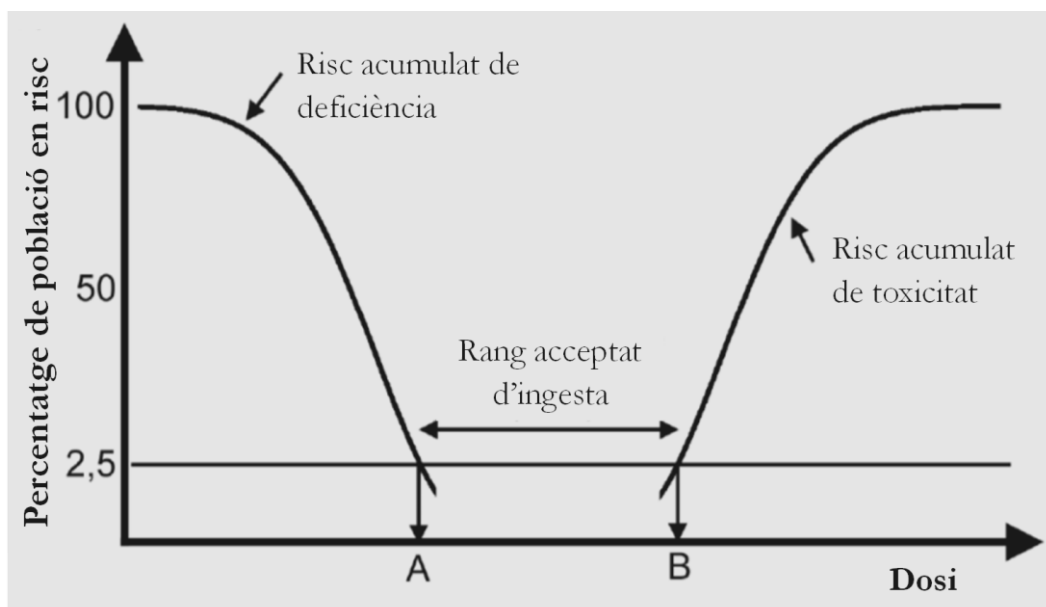


Figura 1.14 Concepte de l'OMS de deficiència i toxicitat per excés d'ingesta de metalls traça essencials, atenent els percentatges de població en risc segons la dosi (Verougstraete *et al.*, 2018).

1 INTRODUCCIÓ

Hi ha una correlació molt forta entre els pesos atòmics dels metalls i la seva toxicitat. En general, quan més pesat és el metall, més probable és que sigui tòxic, tot i que hi ha algunes excepcions (Briner, 2010). Per exemple, el Mo té una gran massa molecular i només és tòxic a concentracions molt altes, com es discutirà més endavant.

La toxicitat dels metalls pot estar relacionada amb la inhibició dels processos enzimàtics o mitjançant l'alteració directa dels equilibris iònics essencials que inhibeixen l'activitat biològica. Els efectes tòxics dels metalls poden ser aguts (irritants), crònics i sistèmics i poden implicar efectes teratogènics, mutàgens o carcinògens. Les dianes principals dels metalls tòxics, com ara el Pb, el Hg i el Cd, són els sistemes respiratori, gastrointestinal i nerviós. A més, la interacció entre diferents elements pot incrementar o disminuir els efectes en els individus (per exemple, la ingesta de Zn mitiga la intoxicació de Cu).

En les seccions següents es fa una descripció dels metalls traça estudiats en aquesta tesi doctoral. Es descriuen els seus usos principals, les vies d'exposició en humans i els efectes tòxics possibles.

Els metalls estudiats

En els apartats següents es fa una descripció dels metalls traça analitzats en aquesta tesi doctoral.

El mercuri (Hg)

El mercuri (Hg) es pot trobar, de manera natural, en molts minerals. Tant ell com la seva principal mena, el cinabri (HgS), han estat coneguts i utilitzats pels éssers humans des de fa més de 2300 anys (Schroeder i Munthe, 1998). El seu símbol Hg es va prendre del seu nom llatí *hydragyrum* que significa "plata líquida". És l'únic metall conegut que es troba en estat líquid sota condicions estàndard tan de pressió (1 atmosfera) com de temperatura (0°C).

Les seves propietats el fan molt versàtil per ser utilitzat per a molts propòsits diferents i encara avui en dia és utilitzat àmpliament. El mercuri s'ha utilitzat per processar minerals de plata i or, en equipaments militars com explosius durant la Segona Guerra Mundial, en la combustió del carbó i en la producció del clor, entre d'altres.

El mercuri és un element extremadament tòxic, tal i com es va posar de manifest en els incidents de Minamata (Yorifuji *et al.*, 2008; Ye *et al.*, 2016), Nigata (Maruyama *et al.*, 2012) i Irak (Bakir *et al.*, 1973). És un potent neurotòxic i a través de la inhalació i/o la ingestió, pot suposar un risc per la salut i pel medi ambient. La seva exposició s'ha relacionat amb efectes negatius en el desenvolupament del cervell i el sistema nerviós, la disminució de la fertilitat, un pitjor desenvolupament dels embrions, canvis en el comportament i efectes negatius en la química de la sang (NJ DEP, 2002). En els peixos, s'ha provat que el mercuri present en el medi aquàtic afecta negativament els temps d'eclosió i les taxes de supervivència de la descendència (Bridges *et al.*, 2016). En aquest context, amb l'objectiu de reduir les emissions de mercuri, l'any 2013 es va signar un tractat internacional on participaren 140 països que porta el nom de Convenció de Minamata (UNEP, 2017).

1 INTRODUCCIÓ

Durant els últims 500 anys, s'ha estimat que l'activitat humana ha donat lloc a l'alliberació d'entre 1 i 3 milions de tones de mercuri al medi ambient (Streets *et al.*, 2017). Les dades de la Unió Europea del 2015 mostren que l'ús major del mercuri ha estat en la fabricació de clor en les plantes clor-àlcali (85 tones consumides) (UNEP, 2017). No obstant, a la Unió Europea, l'ús de cel·les de mercuri per la fabricació del clor es va prohibir a finals de l'any 2017.

El mercuri, un cop alliberat, pot arribar a circular pel medi ambient fins a 3000 anys (Selin, 2009), tot movent-se a través de l'aigua, l'aire i el sòl de manera contínua en un procés anomenat com el "Cicle global del mercuri" (Figura 1.15).

Els essers humans hi estem exposats principalment a través de la dieta, especialment a través del consum de peix i marisc (Junqué *et al.*, 2018). La ingesta d'arròs o productes cultivats en sòls contaminats també poden ser fonts d'exposició importants (Rothenberg *et al.*, 2014).

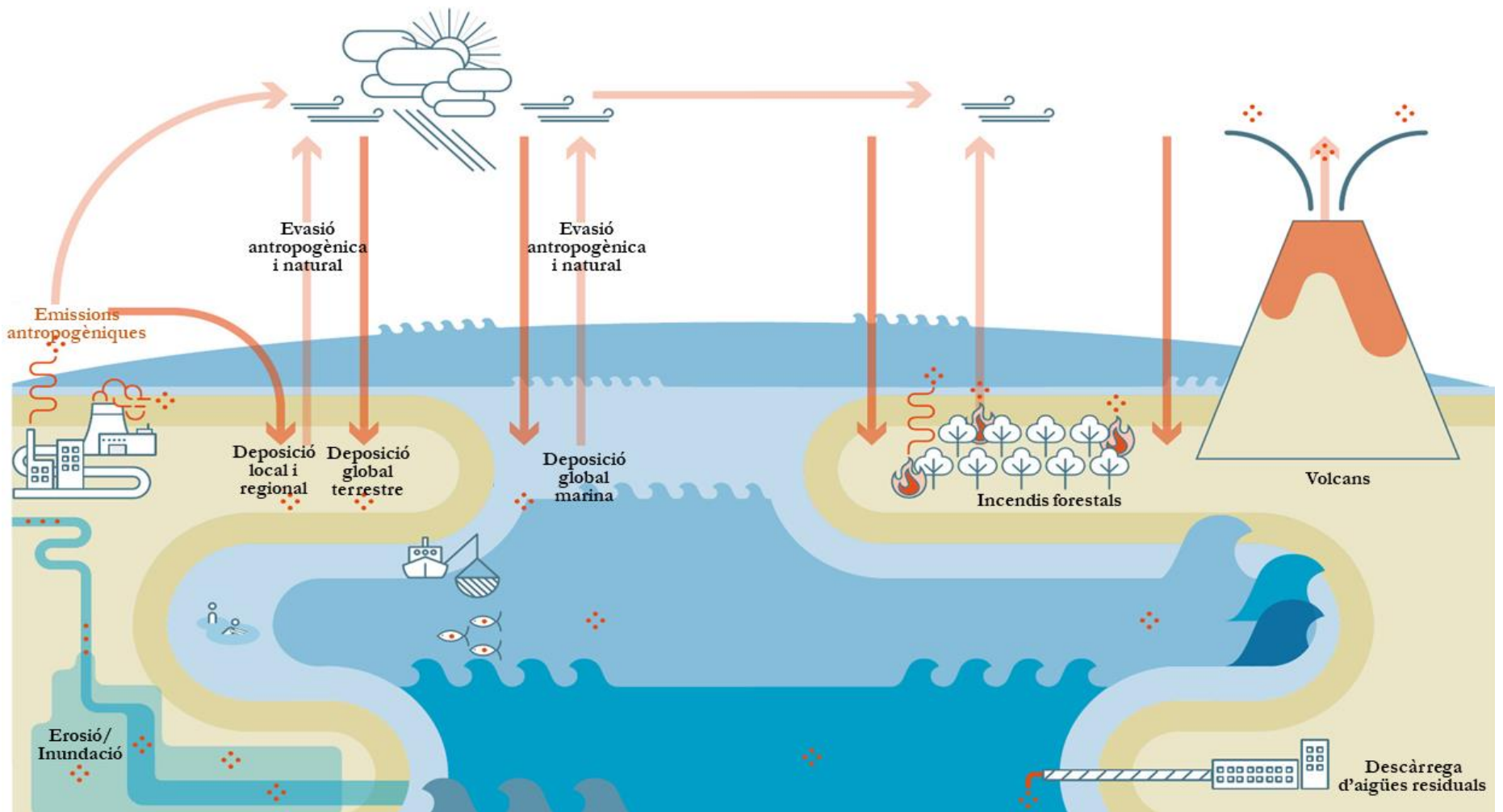


Figura 1.15 Cicle global del mercuri. Deposició es refereix al procés de re-emissió del mercuri gasós des de superfícies com el sòl o l'aigua.

El mercuri en els mars i els oceans

Per entendre els fluxos i processos ambientals del mercuri cal diferenciar entre les formes inorgàniques del metall i els complexos orgànics que pot formar. El mercuri en la seva forma inorgànica (Hg^0) es pot oxidar i convertir-se en Hg^{2+} , que es pot combinar amb altres anions i passar als mitjans aquàtics en forma de sal inorgànica. Aquests compostos queden retinguts als sediments de forma inactiva i no són perillosos per la biota. El problema sorgeix quan entren en contacte amb microorganismes que produeixen metilacions aeròbiques i anaeròbiques del metall, tot formant complexos orgànics que faciliten la seva dissolució en aigua. Els complexos principals són el metilmercuri (CH_3Hg^+) i el dimetilmercuri (CH_3HgCH_3). Aquest últim és molt volàtil i ràpidament s'escapa a l'atmosfera. En canvi, el metilmercuri es manté durant força temps en dissolució tot incorporant-se al metabolisme dels organismes aquàtics, tot bioacumulant-se i biomagnificant-se per la cadena tròfica. El metilmercuri és la forma més tòxica del mercuri i la forma orgànica més comuna en el medi ambient (Figura 1.16).

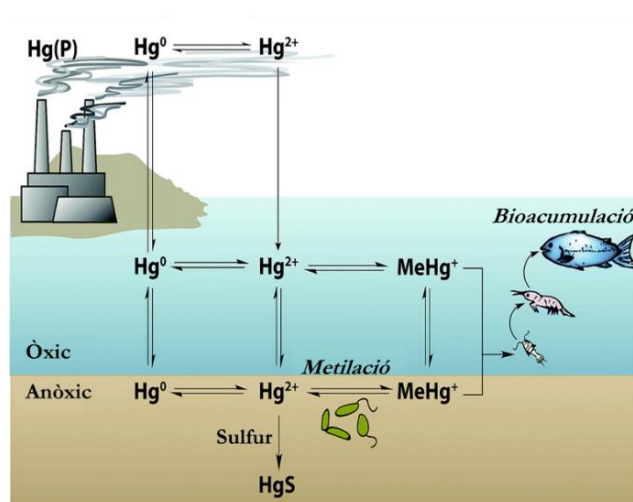


Figura 1.16 Principals formes del mercuri en el medi ambient.

S'estima que el mercuri pot romandre a l'oceà més de 30 anys, mentre que a l'oceà més profund hi pot romandre durant segles. Això significa que el mercuri alliberat per les activitats humanes fa centenars d'anys, encara es troba als oceans. El mercuri present a les aigües més superficials de l'oceà s'allibera novament a l'atmosfera, on en algun moment del futur tornarà a entrar a l'oceà (o es dipositarà a terra) (Figura 1.15). Donat que l'eliminació del mercuri a l'aigua és molt més lenta que a l'atmosfera, la reducció de les emissions a l'atmosfera no es veuran reflectides en les concentracions als oceans durant molts anys (UNEP, 2013). En els oceans de tot el món, s'estima que hi ha emmagatzemat fins a 350.000 tones de mercuri, al voltant de 60 vegades més que el total emmagatzemat a l'atmosfera (Sunderland i Mason, 2007). Prop de dos terços del mercuri present en els oceans és el resultat de les emissions degudes a activitats antropogèniques (Lamborg *et al.*, 2014).

El cas de la Mediterrània

El mar Mediterrani és el mar semitancat més gran d'Europa (Figura 1.17). Té una extensió aproximada de 2,5 milions de km² i una profunditat mitjana d'1,5 km. D'entre les seves característiques destaquen les temperatures altes de l'aigua, la salinitat elevada (36-39 ‰), la dinàmica de mareas dèbils i el règim oligotròfic (EFA, 2006).

Tot i estar connectat amb l'Oceà Atlàntic, la mar Roja i la mar Negra, l'intercanvi i renovació d'aigua a la Mediterrània és molt limitat. Degut a que l'evaporació supera les entrades d'aigua dolça provinents de precipitacions i riuades, el mar té un balanç d'aigua negatiu. Això provoca que les aigües del Mediterrani tinguin una major salinitat que les de l'Atlàntic, fet que genera

1 INTRODUCCIÓ

una sortida d'aigua mediterrània més densa i per sota a la zona de l'estret de Gibraltar, amb la subsegüent entrada d'aigua superficial atlàntica per sobre, amb una densitat menor (Hopkins, 1999). Aquest fenomen és conegut com a circulació anti-estuarina i és la principal via de renovació d'aigua a la Mediterrània, amb un temps de retorn aproximat entre els 80 i 200 anys (UNEP/MAP/MED POL 2005).

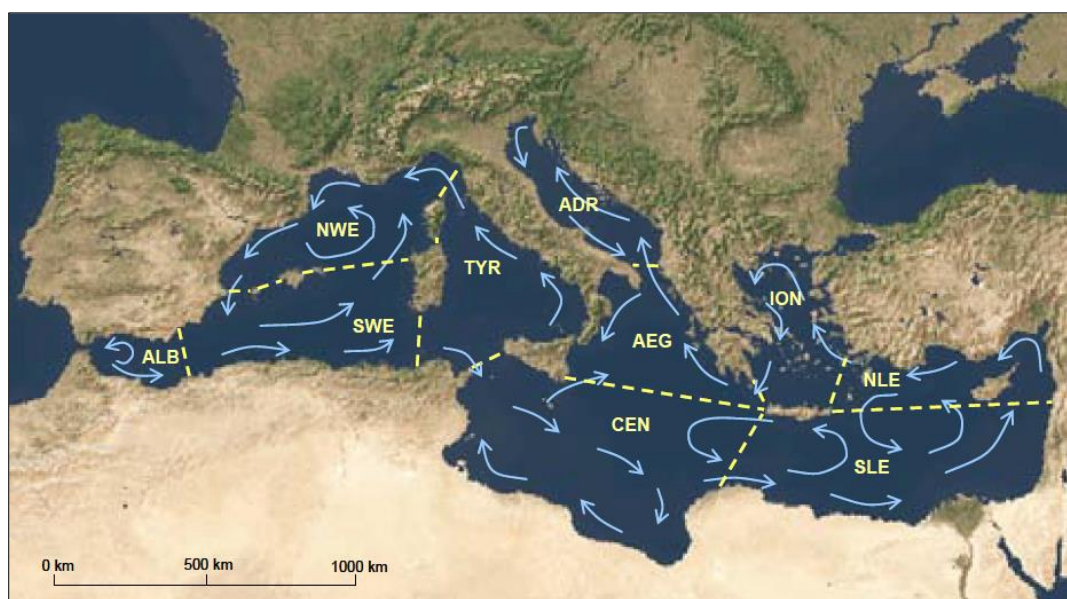


Figura 1.17 Representació de la conca Mediterrània amb la subdivisió de les deu subconques (UNEP/FAO/WHO/IAEA 1990). Les fletxes indiquen les trajectòries principals dels corrents advectionals superficials (UNEP/MAP/MED POL 2005). (ALB: mar d'Alboran; ADR: mar Adriàtica; AEG: mar Egeu; CEN: zona central; ION: mar Jònica; NLE: zona del Llevant nord; NWE: zona nord-occidental; SLE: zona del Llevant sud; SWE: zona sud occidental; TYR: mar Tirrena).

La poca profunditat de la conca i els intercanvis limitats d'aigua fan de la Mediterrània un entorn especialment vulnerable, on els contaminants tendeixen a concentrar-se (Swindlehurst *et al.*, 1995). A més, la falta de mareas i el règim dèbil dels corrents marins no afavoreixen la dispersió dels contaminants provinents de les zones litorals. Així, la gran concentració de població a les zones costaneres, la gran utilització de productes químics, les

activitats agrícoles i portuàries han provocat un fort impacte en el medi marí mediterrani.

A Europa, les concentracions més altes de mercuri en peix es troben en peixos capturats en el mar Mediterrani (Višnjevec *et al.*, 2014), i això és un tema de preocupació actual.

El Setembre del 2016 es va celebrar a Barcelona el congrés internacional INCHEES que tracta de la salut infantil i el medi ambient. Algunes entitats, com el Consell Superior d'Investigacions Científiques (CSIC) i el Govern de les Illes Balears, van presentar els resultats de diversos estudis on s'havien analitzat mercuri en peixos i marisc de la Mediterrània. Els resultats trobats en aquests estudis van posar de manifest l'existència d'una contaminació preocupant de mercuri en peixos i marisc provinents del Mediterrani i, com a conseqüència, les possibles implicacions en la salut de la població. Aquella mateixa setmana diversos diaris van començar a difondre la notícia.

S'entrevistà dos investigadors, el Prof. Joan Grimalt de l'IDAEA-CSIC i el Prof. Philippe Grandjean de la Universitat de Copenhaguen, que informaren del problema i donaren certes recomanacions sobre el consum de peix. (Figura 1.18).

1 INTRODUCCIÓ

el Periódico CIENCIA
MEDIO AMBIENTE

PORTADA | INTERNACIONAL | POLÍTICA | ECONOMÍA | SOCIEDAD | BARCELONA | DEPORTES | OJO Y CULTURA | EX

CONGRESO INCHES BARCELONA

Los niños españoles están expuestos a elevados niveles de mercurio

Los expertos advierten del consumo de pescado contaminado entre las embarazadas y en los primeros años de vida

185 2



Una embarcación dedicada a la pesca de bacalán

AP / ROBERT BLAKATY

Los españoles están expuestos a niveles de **mercurio** mucho más altos que los del resto de ciudadanos de la UE debido al mayor consumo de **pescado**, animales en los que el metal puede acumularse peligrosamente, y a la mayor concentración en las especies que viven en el Mediterráneo. Y en el caso de **mujeres embarazadas** y **niños**, particularmente los más pequeños, ello puede tener repercusiones muy negativas, como han advertido los participantes en el congreso **Inches**, encuentro internacional sobre salud infantil y medio ambiente que se clausuró el viernes en Barcelona.

“El hecho de que el metabolismo y los órganos de los niños todavía estén en formación los hace más vulnerables a los efectos tóxicos de los contaminantes”, comenta **Joan Grimalt**, investigador del **CSIC** en el **Instituto de Diagnóstico Ambiental y Estudio del Agua (IDAEA)** de Barcelona.

LA VANGUARDIA

Big Vang

Ciencia y Cultura | Cuerpo humano | Física y espacio | Planeta Tierra | Qué es Big Vang | Vanguardia de la Ciencia

Big Vang | Planeta Tierra

ALIMENTACIÓN

El mercurio acumulado en los grandes peces puede afectar al desarrollo neurológico de los niños

El consumo de pescado es necesario para el desarrollo, por lo que los expertos recomiendan priorizar la los peces pequeños



El mercurio se acumula en los eslabones altos de la cadena alimentaria, en peces depredadores como el atún (WWF Internacional)

La comunidad científica muestra preocupación por los efectos del mercurio, un metal que se acumula en el **pescado** y el **marisco**, sobre el desarrollo del sistema nervioso de los niños. Así lo han manifestado expertos de todo el mundo en un encuentro de la Red Internacional sobre Salud Infantil, Medio Ambiente y Seguridad (INCHES por sus siglas en inglés) en Barcelona, donde debaten sobre los efectos de la contaminación en la salud de los niños, desde hoy y hasta el próximo viernes.

Los efectos del mercurio: de la salud a la economía

“El mercurio es muy **tóxico para las células madre del cerebro**”, explica Philippe Grandjean, epidemiólogo de la Universidad de Copenhague (Dinamarca), que ha participado en el congreso. Por eso, el principal riesgo es la exposición de las madres durante el embarazo, y más tarde durante los primeros años de vida de los niños. “Provoca retraso mental y alteraciones en el comportamiento, que se traducen en una disminución en el cociente intelectual de la población, y a la larga en graves pérdidas económicas”, razona Grandjean. El investigador cifra las pérdidas en alrededor de 10.000 millones de euros anuales en Europa, con España a la cabeza.

Figura 1.18 Retalls dels diaris “El Periódico” (esquerra) i “La Vanguardia” (dreta) dels dies 18 i 14 de Setembre del 2016, respectivament.

Per protegir la salut humana, s’han definit uns límits de concentració de mercuri en peixos i marisc dedicat al consum humà. Aquests límits són de 0.5 mg/kg en la majoria d’espècies i de 1 mg/kg per algunes espècies depredadores com la tonyina i el peix espasa (European Commission, 2006). A més, les autoritats Europees i Estatals de seguretat alimentària donen una sèrie de recomanacions per tal de minimitzar el consum de peix i marisc, especialment en les poblacions més vulnerables com són els nens i les dones embarassades (AESAs 2006; EFSA 2012).

El vanadi (V)

El vanadi és un metall de transició que es troba en diversos minerals (com la vanadinita o la carnotita), les roques de fosfat, i el carbó (Moskalyk i Alfantazi, 2003).

Aquest metall s'utilitza àmpliament en indústries pesades en la fabricació de pesticides, de l'àcid sulfúric, en l'enduriment de l'acer i com a catalitzador en la producció de molts materials. Les activitats antropogèniques han contribuït significativament en l'augment de les seves concentracions a l'atmosfera. En no ésser un contaminant en els combustibles fòssils, l'alliberament de nivells alts de vanadi es produeix principalment a partir de vessaments de petroli cru, la combustió de gasos i els tubs d'escapament dels automòbils.

La dieta és la principal font d'exposició de vanadi per a la població general. Entre els aliments que contenen vanadi es troben el marisc, el blat, les llavors de gira-sol i l'oli d'oliva. L'exposició a vanadi també es pot produir per inhalació d'aire amb pentòxid de vanadi i acumular-se als pulmons (Mukherjee *et al.*, 2004).

No hi ha evidències que indiquin que el vanadi és un element essencial en els éssers humans. No obstant això, aquest element és conegut per la seva activitat *in vivo* i *in vitro* sobre el metabolisme dels carbohidrats i dels lípids com a agent que imita la insulina (Thompson i Orvig, 2004) i, degut a això, s'ha investigat pels seus beneficis terapèutics en el control de la diabetis mellitus.

El vanadi, en la forma de V_2O_5 , ha estat classificat per l'IARC com a carcinogen pels humans. L'exposició a compostos de vanadi pot provocar

immunotoxicitat. Per exemple, la contaminació atmosfèrica del vanadi es va associar amb una incidència major d'infeccions bacterianes i víriques en nens txecs (IARC, 2006). L'exposició laboral a la pols de V_2O_5 va generar inflamacions en les vies respiratòries en els treballadors, com ara rinitis, bronquitis i pneumonitis, així com asma bronquial (World Health Organization, 2000).

El cobalt (Co)

El cobalt és un metall de transició àmpliament distribuït pel medi ambient. És un component menor d'una gran quantitat de minerals (Kim *et al.*, 2006). Els seus usos principals estan relacionats amb la fabricació de superaliatges resistents a la corrosió a alta temperatura (per exemple, en motors d'aeronaus), aliatges magnètics amb Al, Cu, Ni o Ti (titani), acers d'alta resistència o aliatges electro-dipositats. També s'utilitzen com a components de bateries de liti i bateries híbrides de Ni / Cd o Ni-metall i com a agents de fixació per a carburats metàl·lics. Els compostos de cobalt també es poden trobar en pigments per a vidre, ceràmica i pintures, en catalitzadors per a la refinació de petroli o com a elements traça en additius en els camps de l'agricultura i la medicina, com en pròtesis ortopèdiques (Paustenbach *et al.*, 2013).

La font principal d'exposició de Co en humans és la dieta; especialment a través del consum de peix, carn, verdures verdes i cereals frescos. És un element essencial en els éssers humans, però en la forma de complex organometàl·lic de la vitamina B12, que representa el 85% de la quantitat total de cobalt en el cos humà (Leyssens *et al.*, 2017). La vitamina B12 té un ampli ventall de funcions en l'organisme i la seva deficiència presenta

manifestacions clíniques polimòrfiques com ara la fatiga, la neuropatia sensorial comuna o l'anèmia hemolítica. D'altra banda, el cobalt inorgànic no és necessari en la dieta de les persones i la seva deficiència no s'ha descrit en humans (Simonsen *et al.*, 2012).

No obstant això, el cobalt pot influir en alguns processos metabòlics. Pot induir una resposta similar a la hipòxia, tot estimulant els processos d'eritropoesi i d'angiogènesi i també és capaç de corregir l'excreció excessiva d'estrògens. Aquestes propietats l'han fet útil per a la suplementació terapèutica en l'estimulació de la producció de sang, perquè se sospita que s'utilitza com a agent dopant o durant la teràpia de reemplaçament hormonal femení.

A la sang, el cobalt inorgànic està lligat a l'albumina sèrica en un 90-95% i gran part del metall restant està lligat a altres petites biomolècules en equilibri amb el Co (II) lliure. Aquesta forma pot provocar efectes tòxics, tot produint espècies reactives d'oxigen, que interfereixen amb la funció mitocondrial i inhibeixen la captació de iode a la tiroide o alteren l'homeòstasi del calci. S'han descrit casos de dermatitis de contacte i asma laboral en treballadors exposats a pols de cobalt. Aquest metall també s'ha utilitzat com a estabilitzador d'escuma a la cervesa. A la ciutat de Quebec, al Canadà, un grup de forts bevedors de cervesa va patir una cardiopatia greu l'any 1966. En aquest cas, els nivells baixos d'albumina associats al consum d'alcohol, van fer augmentar els efectes tòxics del metall.

Algunes formes del cobalt també han estat classificades com a "possibles", "probables" o "conegudes" carcinògens humans per la IARC, però les evidències actuals només són consistents amb l'associació amb càncer de pulmó com a conseqüència d'exposicions professionals.

1 INTRODUCCIÓ

Fins ara, no s'han descrit efectes tòxics a l'exposició crònica a Co en poblacions no ocupacionals. Els estudis en pacients amb pròtesis amb una dosi d'exposició interna a cobalt no han presentat efectes associats directament a aquest metall. No obstant això, el seu potencial tòxic fa necessari que hi hagi més recerca sobre aquest metall.

El níquel (Ni)

El níquel és un metall de transició que s'utilitza en diferents compostos importants en la indústria moderna. S'utilitza en galvanoplàstia, electroconformat i en la producció de bateries Ni-Cd, equips electrònics, eines, maquinària, armes i electrodomèstics. La crema de combustibles fòssils produeix l'emissió més alta de compostos de níquel a l'aire. També està present en sòls i en alguns vegetals com els espinacs, el cacau i els fruits secs, que contenen quantitats altes d'aquest metall.

La inhalació és una via important d'exposició al níquel. Els pulmons tendeixen a retenir quantitats significatives d'aquest metall, independentment de la via d'exposició. També és important l'exposició cutània. Aquest metall també està present en alguns aliments de la dieta. No obstant, la seva absorció gastrointestinal és només del 10%.

El níquel és un constituent de diferents enzims bacterians, però la seva essencialitat en organismes superiors és qüestionable. És molt abundant a la natura i, per tant, gairebé no s'han trobat casos de deficiència. En el passat, l'exposició laboral a aquest metall es va associar amb una prevalença major de càncer de pulmó i de nas, encara que a nivells molt més alts que els que es troben actualment a les indústries de níquel. Aquest metall promou la formació de radicals lliures (Das *et al.*, 2010) i interactua fortament amb les

proteïnes (Denkhaus i Salnikow, 2002). Els efectes teratogènics i genotòxics només es produeixen a concentracions molt altes. Les sobredosis de níquel a través de la dieta també és molt rara.

El coure (Cu)

El coure és un metall molt abundant a la natura amb un important paper en els sistemes biològics. S'utilitza àmpliament en estris de cuina i sistemes de distribució d'aigua, així com en fertilitzants, bactericides, fungicides i algicides. També es troba en additius per a pinsos i promotors del creixement, en la producció de conservants de fusta, en la fabricació del colorant azoic i en la refinació de petroli. L'alliberament industrial més gran d'aquest metall és al sòl. Així, es bioacumula en alguns organismes com bivalves o plantes terrestres que creixen en sòls contaminats. També s'ha associat a matèria particulada provinent del trànsit de vehicles, a causa de la seva presència en el desgast dels folres dels frens (Charron *et al.*, 2019).

És un element essencial i està present en una àmplia varietat d'aliments. Les fonts dietètiques més riques d'aquest metall són el fetge, els crustacis i el marisc, però també està present en nous i llavors, en cereals altament proteics, en fruits secs i en carns, entre d'altres. La llet i els productes lactis tenen un contingut en Cu baix.

Aquest metall és un constituent essencial de diversos enzims del cos humà (Mason, 1979). A la Taula 1.2 es mostra un resum de les funcions metabòliques més importants.

1 INTRODUCCIÓ

<i>Enzim</i>	<i>Funcions principals</i>
Ceruloplasmina	Responsable del transport i la mobilització de ferro des dels llocs d'emmagatzematge. També actua com a transportador de coure a la sang.
Superòxid dismutasa	Catalitza la dismutació de superòxid en oxigen i peròxid d'hidrogen.
Citocrom c oxidasa	Últim enzim de la cadena transportadora d'electrons on l'oxigen es redueix a aigua. És un enzim vital en totes les formes de vida.
Lisil oxidasa	Participa en el primer pas de la reticulació de l'elastina immadura en fibril·les estables.

Taula 1.2 Enzims que contenen Cu i les seves funcions principals.

L'homeòstasi del coure a tot el cos està controlada per l'absorció duodenal i l'excreció biliar. Actualment, els éssers humans absorbeixen fins al 40-60% del coure provinent de la dieta. L'excreció a través de l'orina és gairebé insignificant i només representa aproximadament un 1-2% de la ingesta. La deficiència i la toxicitat del coure estan ben caracteritzades per dues malalties genètiques rares: la malaltia de Menkes i la malaltia de Wilson (de Romaña *et al.*, 2011). La primera es caracteritza per tenir poc cabell i pèls espinosos; un retràs en el pes i el creixement i el deteriorament del sistema nerviós; mentre que la segona implica danys greus en el fetge.

És més probable que es produeixi una deficiència de Cu als inicis de la vida i, especialment, en nens desnodrits provinents de zones on els sòls són pobres en coure. En els adults, la deficiència és rara a causa de l'extensa presència d'aquest metall en la dieta. La toxicitat en persones que no pateixen la malaltia de Wilson també és rara. Pot ocórrer en casos on hi ha un increment de les reserves de coure lliure, és a dir, no lligat a proteïnes, tal i com es va observar en els pacients amb la malaltia d'Alzheimer (Squitti *et al.*, 2005).

El zinc (Zn)

El zinc és el quart metall més utilitzat al món després del ferro, l'alumini i el coure. S'utilitza com a recobriments protector d'altres metalls, en la fosa de tint, en la indústria de la construcció i per fer aliatges. També és un additiu en el cultiu d'arròs. Es troba en equipaments d'automòbils, en bateries seques i d'acumulació, en aplicacions dentals, mèdiques i domèstiques, en fungicides, en antibiòtics tòpics i en lubricants. Altres fonts antropogèniques que alliberen Zn al medi ambient són els processos de combustió, d'eliminació de residus i d'incineració.

Al mateix temps, el zinc és un element essencial amb un ampli ventall de funcions en el metabolisme i està present en tots els teixits, òrgans i fluids. Quan s'uneix amb proteïnes, el Zn forma una estructura específica anomenada el dit de zinc, que regula, entre altres processos, la resposta cel·lular a la toxicitat dels metalls. Hi ha diversos metal·loenzims de zinc on el zinc participa directament en processos catalítics. Està present a les metal·lotioneïnes i també té un paper en la síntesi i l'emmagatzematge de la insulina i la neurotransmissió. Es considera essencial per a la divisió cel·lular i per a la síntesi d'ADN i proteïnes (Gupta i Gupta, 2014).

La font d'exposició principal en humans és la dieta. Per via cutània o per inhalació és poc freqüent en la població general. Els aliments amb més contingut són la carn, els ous, els cereals no refinats, els llegums i alguns mariscos (com les ostres); mentre que les fruites i les verdures el contenen en concentracions baixes. L'excreció es produeix principalment per defecació; només s'excreten quantitats petites mitjançant l'orina.

La deficiència de zinc està ben documentada. Pot causar alteracions neurofisiològiques, oligospermia, retard en el creixement, alteracions en la

reproducció, trastorns immunològics, dermatitis i alteració en la cicatrització de ferides. La toxicitat a llarg termini per excés de zinc pot interferir amb el metabolisme d'altres oligoelements i generar anèmia.

L'arsènic (As)

L'arsènic és un metal·loide àmpliament present a l'escorça terrestre. Es pot trobar en més de 200 espècies de minerals. S'utilitza principalment en el tractament de la fusta, però també en productes químics agrícoles, en vidre, en productes farmacèutics i en aliatges no fèrrics. Es troba de manera natural en concentracions altes en algunes regions com a Bangladesh o al nord de Xile, on la concentració en aigua és alta. Les principals fonts de contaminació antropogènica són la mineria, la fosa de metalls no fèrrics i la crema de combustibles fòssils.

Té molts estats de valència i per això forma diverses espècies químiques, inorgàniques i orgàniques. Les espècies inorgàniques comprenen l'arsenit (As (III)) i l'arsenat (As (V)) i les seves espècies metilades (monometilarsèniques i dimetilarsèniques - MMA i DMA respectivament), mentre que les espècies orgàniques principals són l'arsenobetaina, l'arsenocolina, el dimetilarsiniletanol, el trimetilarseoniopropionat i l'ió tetrametilarsoni (Figura 1.19).

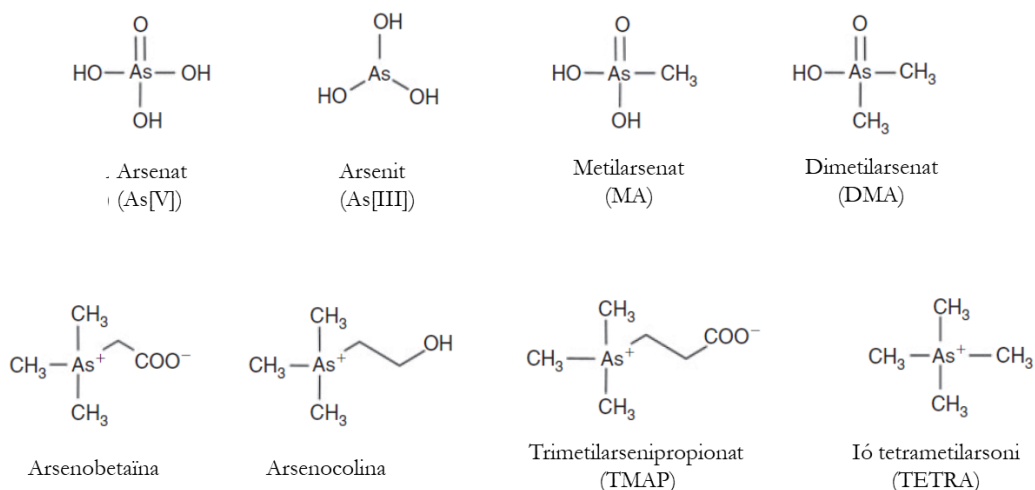


Figura 1.19 Estructures químiques d'algunes formes de l'arsènic.

La via principal d'exposició a l'arsènic és la dieta. El consum d'aigua també és una font rellevant en zones contaminades d'arsènic, on l'arròs pot ser una font important d'aquest element. Les espècies orgàniques són àmpliament presents en els productes del mar.

L'arsènic, especialment en les seves formes inorgàniques, pot tenir efectes tòxics. L'exposició a llarg termini en llocs contaminats s'ha associat amb lesions cutànies, neuropatia perifèrica, diabetis, efectes del sistema renal, depressió de la medul·la òssia, conjuntivitis i trastorns immunològics i cardiovasculars, entre d'altres. L'arsènic inorgànic ha estat classificat com a carcinogen pels humans (Grup I) per la IARC, tot associant-se a diversos càncers de pell, pulmó, bufeta i fetge. L'arsènic afecta als mecanismes epigenètics, principalment interferint en la metilació de l'ADN (Phetliap *et al.*, 2019), i també s'ha observat que provoca estrès oxidatiu neurotòxic per la disminució del glutatió, la superòxid dismutasa i la catalasa al cervell (Wright i Baccarelli, 2007). A més, l'exposició prenatal a l'arsènic també s'ha associat amb efectes en el desenvolupament neurològic, així com amb una reducció del pes en néixer. La metilació de l'arsènic és la principal forma de desintoxicació en el cos humà.

L'arsènic orgànic en el peix i el marisc

L'arsènic orgànic es troba en gairebé tots els peixos i marisc, principalment en forma d'arsenobetaina (Bolt i Hengstler, 2018). Aquest compost és metabòlicament inert, és excretat ràpidament per l'orina i no és tòxic, donat que no és coneix cap episodi d'enverinament atribuït a l'arsènic de peixos de mar.

L'elevat contingut d'arsènic orgànic en els organismes marins és, en primer lloc, a causa de l'alta concentració d'arsenat en els sediments del fons marí. Aquesta forma no està disponible per als organismes marins, però és ingerit pel fitoplàncton que ràpidament els desintoxica a arsenosucres i, en menor quantitat, a DMA i altres formes metilades (Borak i Hosgood, 2007). És probable que aquests organosucres s'alliberin als sediments després de la mort i la descomposició del fitoplàncton, on es transformen en arsenobetaina, que és ingerida pels organismes marins.

Tot i que l'arsenobetaina és majoritària, també es troben altres espècies d'arsènic en el peix i el marisc. A concentracions baixes, al voltant de l'1-4%, també es troba arsènic inorgànic, així com el MA, el DMA, l'arsenocolina i els arsenosucres.

No obstant això, estudis en humans han demostrat que el DMA i l'arsènic total en orina estan associats a la ingesta de productes del mar només en aquells subjectes amb arsenobetaina detectada en les mateixes mostres. En conseqüència, en aquests casos, el DMA s'ha generat per processos metabòlics dels arsenosucres i els arsenolípidis (Muñoz *et al.*, 2000), tot i que els processos metabòlics en humans són encara poc coneguts (Molin *et al.*, 2015). (Figura 1.20).

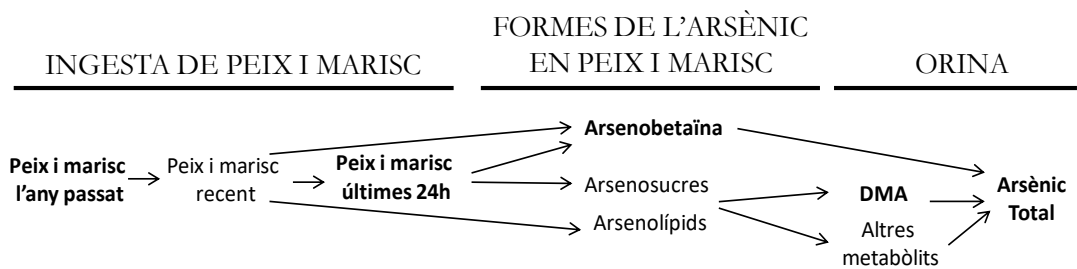


Figura 1.20 Espècies d'arsènic trobades en l'anàlisi d'orina després del consum de peix i marisc i associacions metabòliques entre elles (Navas-Acien *et al.*, 2011).

El seleni (Se)

El seleni és un element traça essencial amb funcions importants en el cos humà. És el constituent de 25 selenoproteïnes que tenen selenocisteïna o selenometionina al seu centre actiu. La ingesta de seleni a través de la dieta varia molt segons la concentració local. Els aliments més rics de seleni són les carns, els mariscs, els grans o les plantes cultivades en sòls rics en Se (Gupta i Gupta, 2014), tot i que les fruites i les verdures contenen generalment aquest metal·loide en quantitats baixes.

Els selenoenzims tenen un paper fonamental com a antioxidants a través de les peroxidases GSH, essent beneficioses, per tant, pel sistema cardiovascular. Altres selenoproteïnes són responsables de la producció de T3 a partir de la tiroxina i la glàndula tiroide, que té la concentració més alta de seleni de tots els teixits. El seleni també té un paper significatiu en el funcionament normal del sistema reproductiu (Pieczyńska i Grajeta, 2015). La deficiència de seleni pot causar una lesió cerebral irreversible i s'ha associat amb un augment del risc de certes malalties neoplàsiques. Durant l'embaràs, concentracions baixes de seleni s'han relacionat amb pes menor en néixer.

1 INTRODUCCIÓ

El seleni pot ser tòxic a nivells elevats. Hi ha un marge relativament estret entre la ingesta de seleni que provoca deficiència i la que provoca toxicitat. També depèn de la forma química i de l'aliment que es consumeix en dosi elevada. Tot i que els processos geofísics i biològics naturals són els responsables principals de la concentració de seleni en el medi ambient, algunes activitats antropogèniques com el refinament de coure, la producció de vidre, els equips electrònics o altres indústries metal·lúrgiques poden emetre seleni als voltants de les fàbriques implicades. La toxicitat del seleni pot causar alè d'all, pèrdua de cabell i ungles, trastorns del sistema nerviós i de la pell, salut dental baixa i paràlisi (Rayman, 2012).

El molibdè (Mo)

El molibdè és un element essencial essent les fonts dietètiques principals els llegums, els cereals, les verdures de fulla, la llet, les mongetes, el fetge i els ronyons, mentre que es troba en concentracions baixes a les fruites, la carn i les tiges i les arrels dels vegetals.

Està present en l'estructura de diversos grups prostètics (Figura 1.21), com en enzims amb activitat redox: la xantina oxidasa, l'aldehid deshidrogenasa i el sulfit deshidrogenasa (Rajagopalan, 1988). En alguns casos, el molibdè no és l'únic metall en l'estructura de l'enzim i es troba junt amb altres metalls com el Fe.

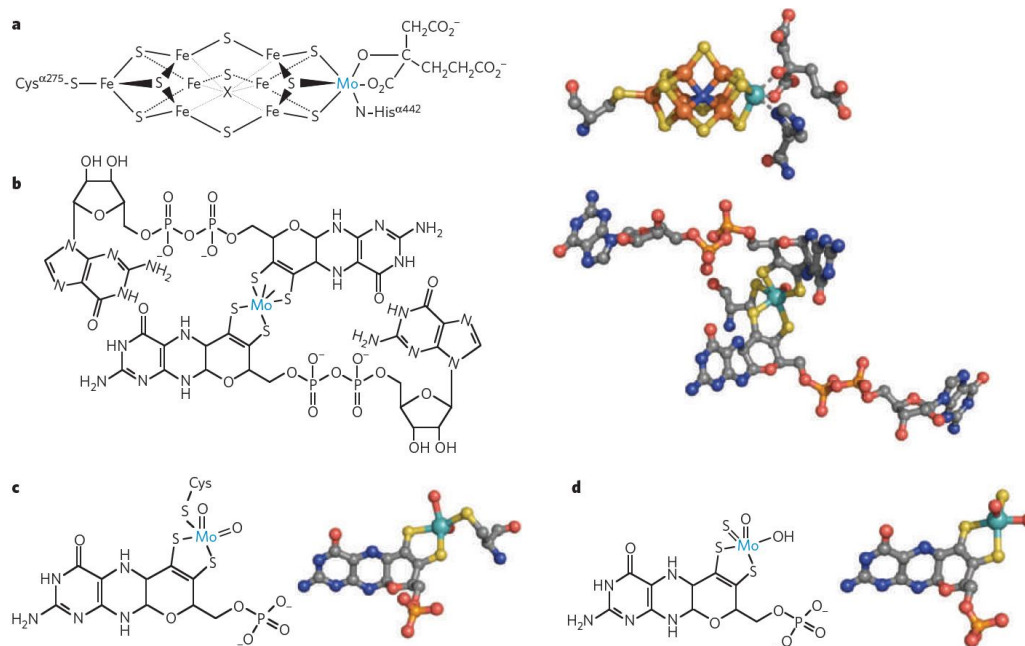


Figura 1.21 Exemples de grups prostètics de Mo: a) Cofactor de FeMo; b) Mo-bis-MGD bacterià; c) Sulfit deshidrogenasa i d) xantina oxidasa (Schwarz *et al.*, 2009).

L'absorció intestinal del molibdè és passiva i no saturable. L'únic mecanisme de regulació existent quan hi ha una retenció excessiva és l'excreció per l'orina; tot produint-se poc temps després de la ingestió, fet que comporta un ràpida circulació. La deficiència de Mo en adults és rara i gairebé insignificant. Els efectes de la seva deficiència no es poden distingir dels de la deficiència del cofactor. No obstant, la deficiència durant el període fetal és important i pot generar retard mental (Sardesai VM, 1993).

Les emissions procedents de plantes de processament de molibdè poden augmentar la concentració d'aquest element en sòls i cultius. En poques ocasions s'ha observat toxicitat del molibdè en humans, per exemple treballadors exposats a la pols de molibdè en una planta d'oxidació de molibdenita no van informar de queixes físiques específiques (Rajagopalan, 1988). D'altra banda, s'ha observat una incidència alta de gota en regions amb concentracions altes d'aquest metall en els sòls (Turnlund *et al.*, 1995). Les

1 INTRODUCCIÓ

incerteses sobre la toxicitat d'aquest metall juntament amb els efectes potencials de la deficiència de molibdè, recomanen la necessitat de més investigacions sobre els efectes tòxics d'aquest metall en els éssers humans.

El cadmi (Cd)

El cadmi és un dels metalls més tòxics. Es troba en productes de policlorovinil, pigments, diversos aliatges, agents anticorrosius, fertilitzants fosfatats i, principalment, en bateries de níquel-cadmi. També s'emet al medi ambient mitjançant residus, especialment si s'incineren. No obstant això, l'ús i les emissions d'aquest metall han disminuït substancialment en els últims anys (Figures 1.22 i 1.23).

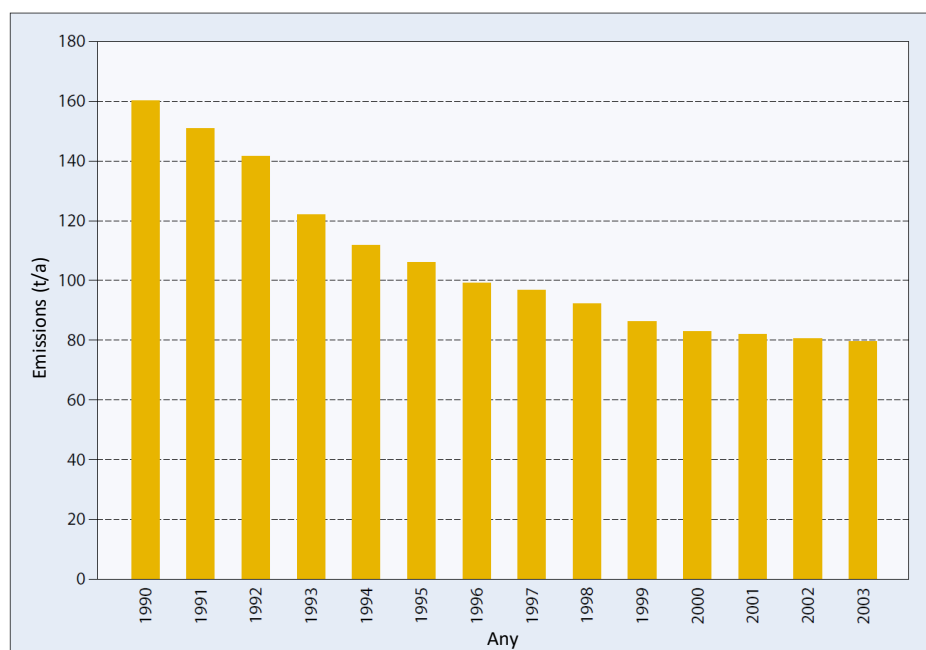


Figura 1.22 Emissions de cadmi reportades a la regió de l'EMEP (24 països) (World Health Organization, 2007).

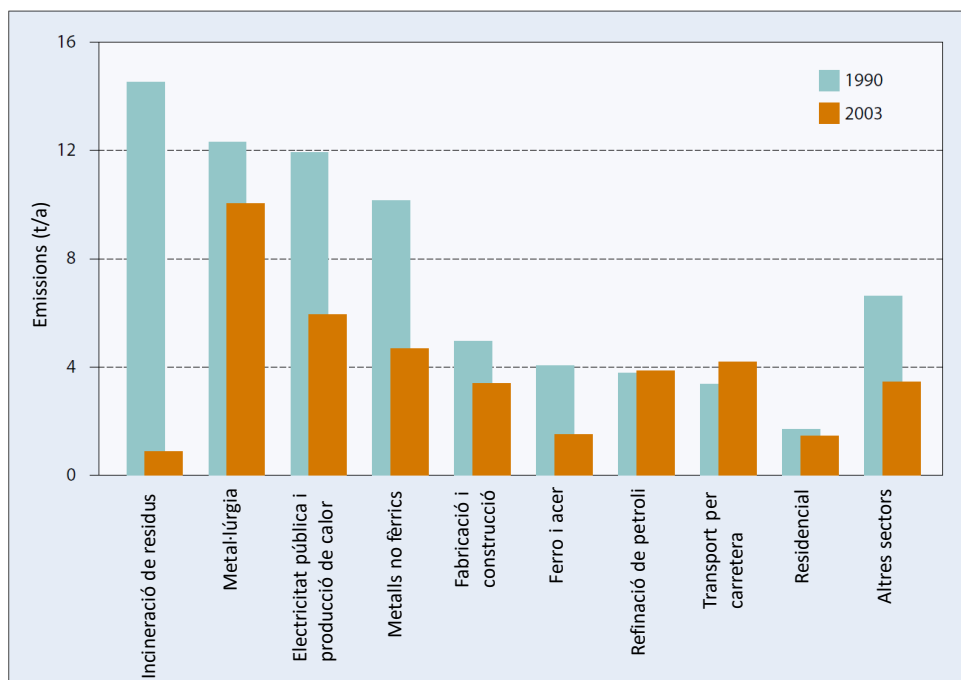


Figura 1.23 Canvis en les emissions de cadmi procedents de fonts antropogèniques entre el 1990 i el 2003 (World Health Organization, 2007).

El cadmi es pot trobar en els sòls, d'on passa als cultius, especialment a pH baix. Les plantes del tabac poden acumular Cd en concentracions elevades, fent que el tabac sigui la principal via d'exposició en persones fumadores. Per a la resta de la població, la principal font d'exposició és mitjançant la dieta. Els mol·luscs i els crustacis acumulen Cd, essent els aliments més rics juntament amb el ronyó i el fetge d'animals alimentats amb dietes riques en cadmi. Els fongs també poden acumular aquest metall, com també l'arròs cultivat en sòls contaminats. Per contra, les hortalisses, els cereals i les arrels emmidonades tenen concentracions baixes de cadmi.

El ronyó és l'òrgan crític per aquest metall. El cadmi s'excreta preferentment per l'orina i els ronyons l'acumulen al llarg de la vida, fet que pot acabar provocant una disfunció tubular renal irreversible (Nordberg *et al.*, 2007). Aquest és el principal efecte tòxic del cadmi en exposicions a

períodes llargs de temps. S'han descrit altres efectes en treballadors exposats, com un alt risc d'emfisema i de càncer de pulmó.

L'antimoni (Sb)

L'antimoni és un metall que es va utilitzar en el passat pels tractaments antiparasitaris de la leishmaniosi. Es troba principalment en dues formes químiques, el triòxid d'antimoni (Sb_2O_3) i el trisulfur d'antimoni (Sb_2S_3). El primer s'utilitza principalment en formulacions de retardants de flama per a diversos materials com plàstics, cautxús, tèxtils, paper i pintures. També s'utilitza com a catalitzador en la indústria química i com a additiu en productes de vidre i ceràmica. El trisulfur d'antimoni es troba en explosius, pigments, sals d'antimoni i vidre de robí.

S'ha demostrat que el triòxid d'antimoni és tòxic pels humans. Estudis en treballadors exposats a antimoni van presentar danys a l'ADN (Cavallo *et al.*, 2002) i concentracions més baixes d'immunoglobulina E (IgE), d'algunes immunoglobulines G (IgG), d'interleucina-2 i d'interferó gamma respecte poblacions no exposades. L'exposició a llarg termini pot provocar infecció per pneumococs. L'antimoni pot estar en dos estats iònics, el Sb (III) i el Sb (V), sent el primer més tòxic que el segon, a causa de la seva major afinitat pels glòbuls vermells i els compostos de tiol de les cèl·lules, mentre que el Sb (V) s'excreta més fàcilment.

A diferència de la majoria dels metalls, l'aportació dietètica de l'antimoni és escassa. Tot i que es lixiviat al sòl, no està disponible biològicament en un ampli marge de valors de pH (Natasha *et al.*, 2019). A més, s'absorbeix al tracte gastrointestinal més lentament que a les vies respiratòries. La inhalació és, per tant, la principal via d'administració.

Un dels principals usos d'aquest metall és en els folres dels frens, en forma de trisulfur d'antimoni. A causa d'una intensa activitat de frenat, s'envien a l'atmosfera urbana partícules de pols que contenen antimoni. Aquest es presenta llavors com a matèria particulada (MP), tant en les fraccions de 2.5 com de 10 μm . S'han trobat concentracions elevades d'aquest metall en MP5.5 i MP10 a Palerm, on no hi han fonts industrials significatives d'antimoni (Varrica *et al.*, 2013) i l'anàlisi de MP en diferents localitzacions de l'Estat Espanyol ha mostrat concentracions altes d'aquest metall en zones urbanes amb trànsit intens (Querol *et al.*, 2007). Estudis sobre factors d'enriquiment han trobat que el 99% de l'antimoni aerotransportat està associat al desgast dels folres dels frens (Thorpe i Harrison 2008).

Segons les simulacions de frenada amb dinamòmetre, el 90% de les partícules emeses són inferiors a 10 μm , de manera que són inspirables. En experiments fets en el laboratori, s'ha vist que el trisulfur d'antimoni s'oxida a la forma més tòxica del triòxid d'antimoni a 380 °C, temperatura que s'aconsegueix fàcilment en els frens (Von Uexküll *et al.*, 2005). Aquests antecedents documenten que la major part de l'exposició humana actual a antimoni prové de la inhalació de partícules d'aire urbà provinents dels folres dels frens.

El cesi (Cs)

El cesi és un metall alcalí, del mateix grup químic que el liti, el sodi, el potassi, el rubidi i el franci. Es troba en diversos productes industrials i comercials, com ara en tubs de buit de ràdio i televisió, en cèl·lules fotoelèctriques i en pantalles fluorescents de raigs X. També s'utilitza en la quimioteràpia del càncer, però els efectes cardiovasculars secundaris observats amb sals de

1 INTRODUCCIÓ

clorur de cesi limiten el marge d'aplicació (Concha *et al.*, 2010). Un cop emès, pot recórrer distàncies llargues abans de tornar al sòl.

Les concentracions de cesi a l'entorn són baixes i gairebé mai no s'ha vist la toxicitat en animals. Només s'han observat efectes tòxics en un home que patia de càncer quan ingerí repetidament quantitats d'aquest metall, tot presentant diversos símptomes típics d'intoxicació com ara nàusees o diarrea; o en pacients amb arítmies cardíques després del tractament amb remeis homeopàtics que contenen clorur de cesi. La major font d'exposició en humans es produeix a través de la dieta i el metall s'excreta principalment per l'orina (Melnikov i Zanoni, 2010). Només la població que viu al voltant de mines i indústries de producció de cesi pot estar exposada a nivells elevats.

El cesi té importants propietats radioactives pel seu isòtop de ^{137}Cs . Durant l'accident nuclear de Txernòbil, es va produir l'enverinament amb aquest isòtop, però aquests perills són diferents dels de cesi estable.

El bari (Ba)

El bari es un metall que es troba a la natura en moltes formes diferents, principalment en forma de sulfat i carbonat de bari.

Els compostos de bari tenen un marge ample d'aplicacions. Fonamentalment a la indústria de gas i petroli per fabricar llots de perforació. També s'utilitza per la fabricació de materials diferents com pintures, maons, rajoles, vidre, cautxú, entre d'altres. També s'empra en la fabricació d'insecticides, com a component de substàncies per a segellar i per radiografies.

El bari no es considera un element essencial per la nutrició de les persones. La via d'exposició principal és mitjançant la dieta. Aquest element es troba en molts grups d'aliments. Tot i això, el seu contingut és relativament baix (<3 mg/100g), excepte en fruits secs del Brasil, on es troba en un contingut alt. El pa és la major font dietètica principal de bari, tot contribuint en un 20% de la ingesta total (US EPA, 2005). També es troba en algunes algues, peixos i certes plantes.

Els efectes relacionats amb la salut a l'exposició al bari inclouen malalties cardiovasculars i renals, trastorns metabòlics, neurològics i mentals (Kravchenko *et al.*, 2014). L'excreció per la femta i l'orina són les vies d'eliminació principal del bari.

El tal·li (Tl)

El tal·li és un dels metalls més tòxics. En mamífers és més tòxic que el Hg, el Cd, el Pb, el Cu o el Zn. Les principals fonts antropogèniques d'aquest metall són les emissions i els residus sòlids de la combustió del carbó i la fosa ferrosa i no ferrosa. La seva principal aplicació és per equips de recerca electrònica especialitzats (Cvjetko *et al.*, 2010). En el passat també es feia servir en medicina; per exemple, pel tractament de la malària, de malalties venèries o de la tuberculosi, entre d'altres.

Una vegada abocat al sòl, és fàcilment assimilat pels cultius. A la zona minera de Hg-Tl de Lanmuchang, (al sud-oest de Guizhou, Xina) es van reportar nivells elevats de Tl en orina humana que es van atribuir a la seva acumulació en hortalisses cultivades localment (Xiao *et al.*, 2007). També es pot absorbir ràpidament a través de la pell i les membranes mucoses, així com per inhalació. S'acumula en ossos, medul·la renal i, finalment, en el

sistema nerviós central (Queirolo *et al.*, 2009). S'excreta principalment per l'orina.

Hi ha hagut centenars de casos d'intoxicació aguda i crònica de tal·li en humans, però només s'han documentat alguns casos d'exposicions industrials. Un estudi sobre treballadors exposats durant anys va informar d'efectes en el sistema nerviós, com ara entumiment dels dits de les mans i els peus (Hirata *et al.*, 1998). A l'esmentada zona minera xinesa, la intoxicació per tal·li crònica es va associar a anorèxia, mal de cap i dolor a l'abdomen, a la part superior dels braços o a les cuixes. No s'ha demostrat cap teratogenicitat o mutagenicitat del tal·li. Les exposicions cròniques s'han relacionat amb afectacions d'esperma, alteracions del cicle menstrual, la libido i la potència masculina (EPA, 2009).

Hi ha una demanda creixent d'aquest metall en el camp de l'alta tecnologia. Això demana un control acurat de les aigües residuals i dels gasos de pila que sempre s'ha de fer en instal·lacions industrials.

El plom (Pb)

El plom ha estat un dels metalls tòxics més estudiats. En el passat s'utilitzà com a additiu a la benzina i això va ésser la causa principal d'una exposició elevada de la població general que mostrà una àmplia gamma d'efectes en la salut, especialment en els nens. Aquestes evidències van provocar una retirada de la benzina amb plom i l'eliminació de diverses aplicacions on es feia servir com en canonades o en pigments. Aquestes mesures van donar lloc a una disminució significativa en pocs anys dels nivells de plom en poblacions humanes (Figura 1.24).

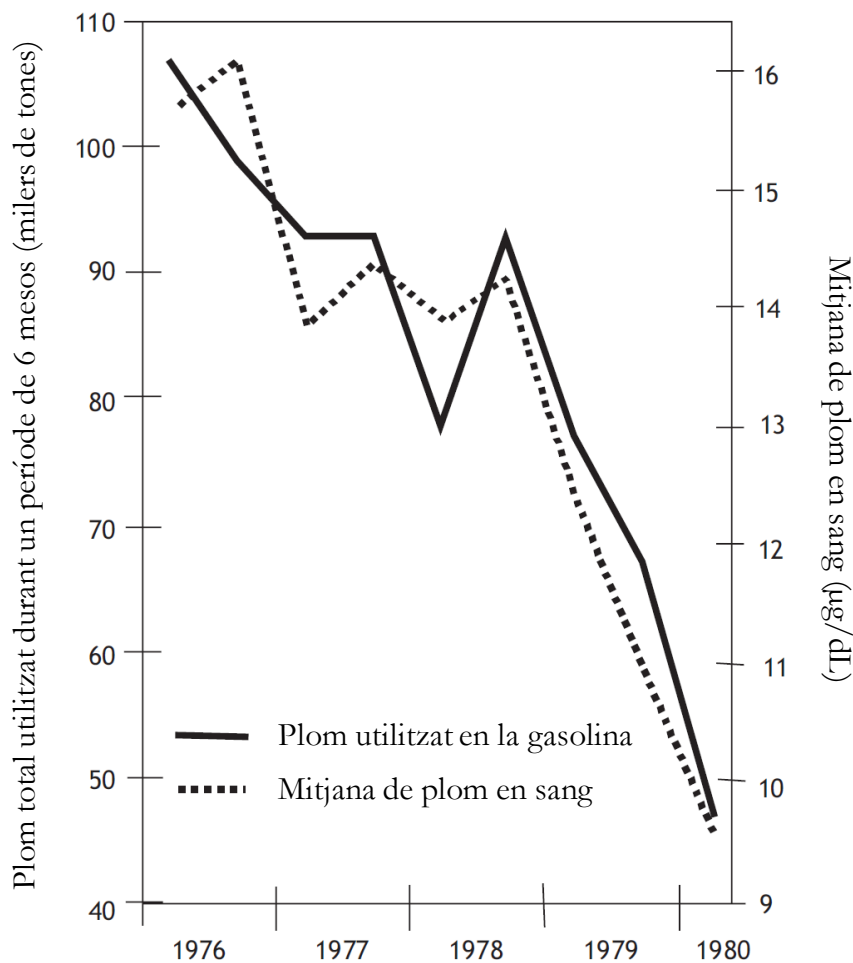


Figura 1.24 Ús de plom i nivells mitjans de sang als nens als EUA (Järup, 2003).

Malgrat la disminució de l'ús de plom als països desenvolupats, el processament no regulat i el reciclatge de residus electrònics en poden ser una font potencial d'exposició. Als països en vies de desenvolupament, poden romandre fonts d'exposició significatives d'aquest metall. A més, el Pb persisteix en el medi ambient i pot ser transportat a través de l'atmosfera, tot arribant a regions remotes. L'exposició al plom en la població general prové del menjar i de l'aire en proporció semblant. Un cop el plom entra al cos humà, s'acumula a l'esquelet, on té una vida mitjana de 20-30 anys (Järup, 2003).

1 INTRODUCCIÓ

Els efectes del plom en la salut són particularment importants en els nens degut a la seva vulnerabilitat. Aquests poden absorbir gastrointestinalment el 50% d'aquest metall, mentre que en adults aquest percentatge es redueix al 10-15%. A més, en adults, el plom només penetra la barrera hematoencefàlica en les seves formes orgàniques; en canvi, en els infants, el plom inorgànic pot afectar el cervell. És en aquest òrgan on el plom mostra els seus efectes més tòxics. La neurotoxicitat del plom pot interferir en la senyalització i la diferenciació tant del sistema nerviós central com de la neurotransmissió (ATSDR, 2019). Aquest metall també pot travessar la barrera placentària, interferint així en el desenvolupament fetal amb conseqüències greus en el futur rendiment intel·lectual del nen.

Exposició humana a metalls

Cada dos anys, l'Agència per a Substàncies Tòxiques i el Registre de Malalties (ATSDR) fa un inventari dels perills químics presents en llocs amb residus tòxics segons la seva prevalença i toxicitat. El primer, segon, tercer i setè lloc de la llista són metalls: arsènic, plom, mercuri i cadmi, respectivament (ATSDR, 2017).

L'exposició humana als metalls es pot produir de diverses maneres. Per a la majoria de les persones, la principal via d'exposició a traces de metalls és a través de la dieta, que representa el 90% en comparació amb altres formes d'exposició. La quantitat absorbida pel tracte digestiu pot variar àmpliament, tot depenent de la forma química del metall, de l'edat i l'estat nutritiu de l'individu. Altres fonts d'exposició són a través de la contaminació atmosfèrica, el contacte directe, l'aigua potable i el tabaquisme (Tchounwou *et al.*, 2012; Horton *et al.*, 2013). L'exposició a cada metall depèn tant de les

seves fonts específiques com de les seves vies d'absorció, tal i com s'ha descrit en les seccions anteriors.

L'excreció es produeix principalment a través dels ronyons i del tracte digestiu, però els metalls tendeixen a acumular-se en algunes parts del cos, majoritàriament en els òrgans, així com la pell, el cabell i els ossos (Mohmand *et al.*, 2015).

El grau de toxicitat dels metalls depèn de diferents factors com la dosi, la ruta i el mode d'exposició (aguda o crònica), l'espècie química (inorgàniques o orgàniques), així com l'edat, el sexe, la genètica i estat nutricional dels individus exposats (Tchounwou *et al.*, 2012).

La toxicitat dels metalls és especialment rellevant durant el període prenatal i durant els primers anys d'infància. Dosis baixes d'aquests elements poden suposar efectes tòxics greus, especialment pels grup més vulnerables de la població, tals com els infants i les dones embarassades. Els éssers humans hi estem exposats des de l'etapa prenatal, perquè aquests elements poden penetrar a través de la placenta. Estudis previs han mostrat concentracions semblants de metalls en nounats i les seves mares (Baeyens *et al.*, 2014). Donada la seva toxicitat i recurrència l'avaluació del risc que representen aquests elements durant la infància és important.

Biomonitoratge de metalls traça en mostres humanes

Els metalls traça es poden analitzar en diversos tipus de mostres humanes; sang, sèrum, cabell, ungles o orina són matrius comunes per al biomonitoratge. No obstant això, algunes matrius poden proporcionar registres d'exposició diferents per a alguns metalls.

En aquesta memòria doctoral s'han analitzat mostres d'orina. Aquesta matriu s'ha utilitzat àmpliament per a aquest propòsit en estudis d'exposició d'un gran nombre d'individus; en són exemple el *German Environmental Surveys* (GerES) i el *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES). Els models toxicològics han demostrat que aquest fluid és un indicador adequat de la ingesta per gairebé tots els metalls. Per a la majoria d'aquests elements, l'excreció a través de l'orina és la principal ruta de depuració. A més, la seva recollida no és invasiva i és fàcil, cosa que la fa útil per a l'anàlisi metalls traça, especialment en infants.

No obstant això, alguns metalls mostren particularitats en l'anàlisi d'orina que cal tenir en compte. Per exemple, el Cd en orina no només correspon a l'exposició recent sinó també a l'acumulació d'aquest metall en els ronyons, mentre que el Pb en orina només reflecteix l'exposició recent i no els efectes de dipòsit en els ossos a llarg termini. D'altra banda, cal tenir en compte que la lesió renal pot incrementar els nivells normals de metalls i, en aquest cas, les mesures analítiques proporcionarien resultats que no són comparables a altres estudis amb persones sanes.

2 Objectius

OBJECTIU PRINCIPAL

Tot i el progrés en la regulació dels agents contaminants i la conscienciació de la població, la salut mediambiental és encara un dels reptes de la societat del segle XXI. Aquest problema és especialment rellevant pels infants perquè són més vulnerables al seu entorn.

L'objectiu principal d'aquesta tesi és estudiar algunes de les principals vies d'exposició en la població infantil, tals com la dieta, l'exposició ambiental i la transferència mare-nen durant l'embaràs, a dos grans grups de contaminants, els compostos organoclorats i els metalls. També es pretén avaluar alguns dels factors que determinen l'acumulació d'aquests compostos en els organismes.

2 OBJECTIUS

OBJECTIUS ESPECÍFICS

L'estudi combina varies línies de recerca interrelacionades i engloba els següents objectius específics:

1. Avaluar l'exposició a OCs i mercuri a través de la dieta en la població infantil de Menorca mitjançant l'anàlisi de mostres d'aliments i enquestes de dieta.
2. Examinar els patrons d'acumulació dels OCs i el mercuri en peix blanc del mar Mediterrani i la seva rellevància en la dieta.
3. Descriure el grau d'exposició a metalls i analitzar els factors determinants d'aquests nivells en la població infantil d'Astúries mitjançant l'anàlisi de mostres d'orina.
4. Estudiar la transferència d'OCs durant l'embaràs en la població infantil de Tarragona mitjançant l'anàlisi de mostres de sèrum de les mares i els seus nounats.

3 Metodologia

3.1 Poblacions d'estudi

Aquest treball s'ha centrat en 3 poblacions infantils: Menorca, Tarragona i Astúries (Figura 3.1). Aquestes 3 cohorts han servit de model poblacional per avaluar algunes de les rutes principals d'exposició durant la infància: la dieta, la transferència mare-nen durant l'embaràs i l'exposició ambiental, respectivament.

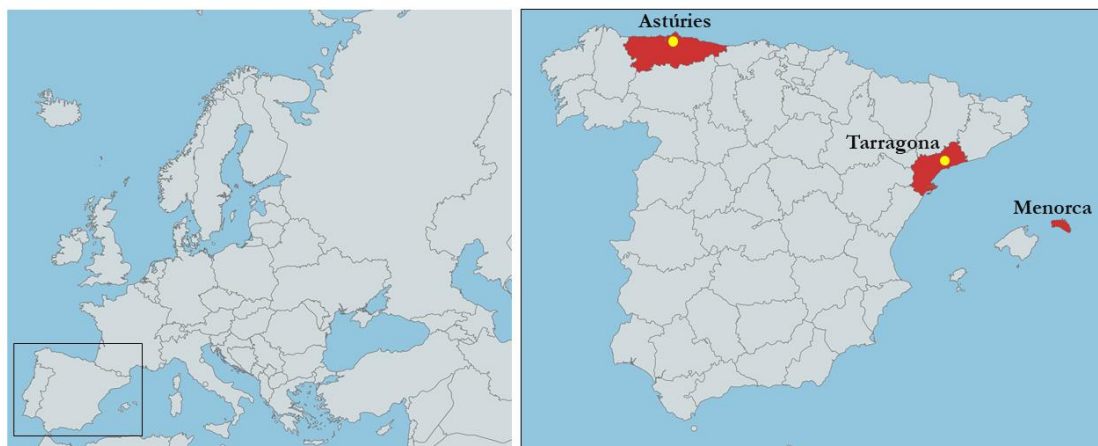


Figura 3.1 Localització geogràfica de les poblacions estudiades a Europa (esquerra) i en vermell les comunitats autònomes d'Astúries, Tarragona i Menorca, marcat amb groc les ciutats d'Avilés i Reus (dreta).

3 METODOLOGIA

La cohort de Menorca ha servit per estimar la ingesta d'OCs i Hg en infants de 4 anys a partir dels resultats obtinguts en les anàlisi de diversos aliments i les enquestes de dieta realitzades a les mares.

D'altra banda, la cohort d'Astúries, localitzada a Avilés, una ciutat altament industrialitzada, ha servit de model per avaluar l'exposició ambiental a diversos metalls en infants de 4 anys residents en zones amb contaminació alta, a partir de les anàlisi d'orina per aquests compostos.

Finalment, la cohort de Tarragona, localitzada a Reus, ha permès avaluar la transferència d'OCs de la mare al fill durant l'embaràs a partir de les anàlisi d'aquests compostos en sèrum de la mare al llarg de l'embaràs i en sèrum de cordó umbilical en el moment del part.

Dues d'aquestes cohorts, la de Menorca i la d'Astúries, s'emmarquen dintre la xarxa Infància i Medi Ambient, un projecte que es detalla en la secció següent.

Projecte Infància i Medi Ambient

La xarxa Infància i Medi Ambient és un projecte multicèntric i multidisciplinari que inclou diversos grups de recerca (INMA; www.proyectoinma.org). El seu objectiu principal és estudiar el grau d'exposició individual a contaminants ambientals durant el període prenatal i les primeres etapes de la infantesa; avaluar l'impacte de les exposicions i la dieta en el desenvolupament fetal i infantil i estudiar la interacció entre contaminants, nutrients i factors genètics. (Guxens *et al.*, 2012).

El projecte INMA es va iniciar el 1997 i actualment segueix de forma prospectiva el desenvolupament d'uns 5000 infants en 7 àrees geogràfiques distribuïdes per tot l'estat: Ribera d'Ebre, Menorca, Granada, València, Sabadell, Astúries i Guipúscoa. A la Figura 3.2 es presenta el seguiment actual i passat de cada cohort.

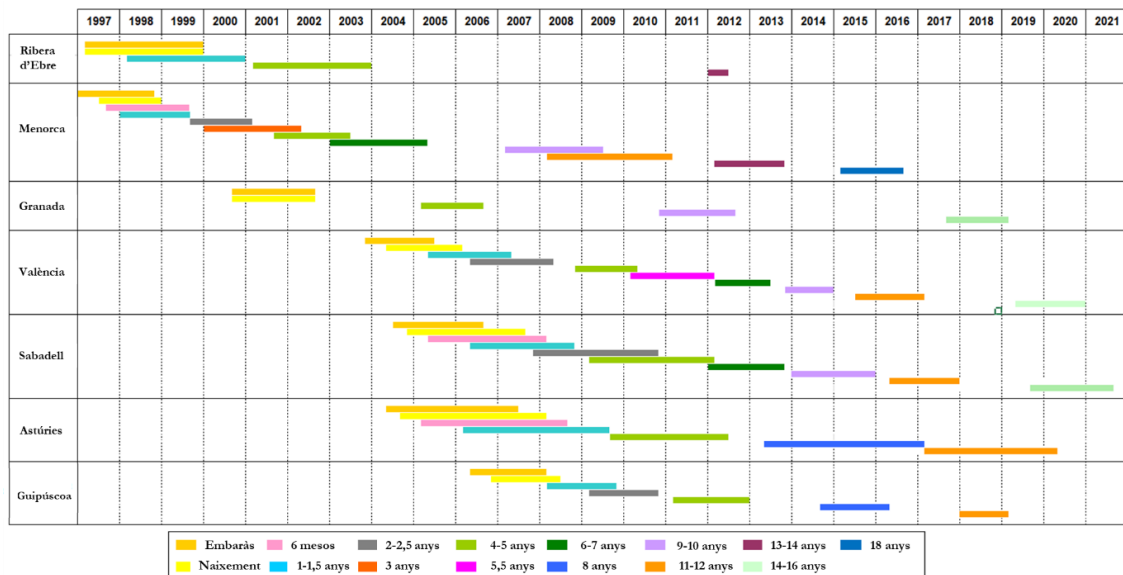


Figura 3.2. Períodes de seguiment de les cohorts INMA.

Les mares dels nens es reclutaren durant la visita mèdica de les 12 setmanes d'embaràs, i es pretén realitzar el seguiment dels nadons fins a l'adolescència. Els criteris generals d'inclusió a l'estudi van ser: pertànyer a l'àrea d'estudi (específic de cada cohort), edat materna de 16 anys o més, tenir un embaràs únic, no haver seguit cap programa de reproducció assistida, donar llum a l'hospital de referència, no tenir discapacitat comunicativa i no patir cap malaltia crònica abans de l'embaràs.

Cohort de Menorca

La cohort de Menorca engloba tota l'illa de Menorca, que pertany a l'Arxipèlag Balear, localitzat a la part nord-oest del mar Mediterrani. L'illa té una extensió de 700 Km² i uns 94.000 habitants. La capital de la ciutat és Maó i, juntament amb Ciutadella, són les principals ciutats. Menorca està dividida administrativament en 8 municipis (Figura 3.3).

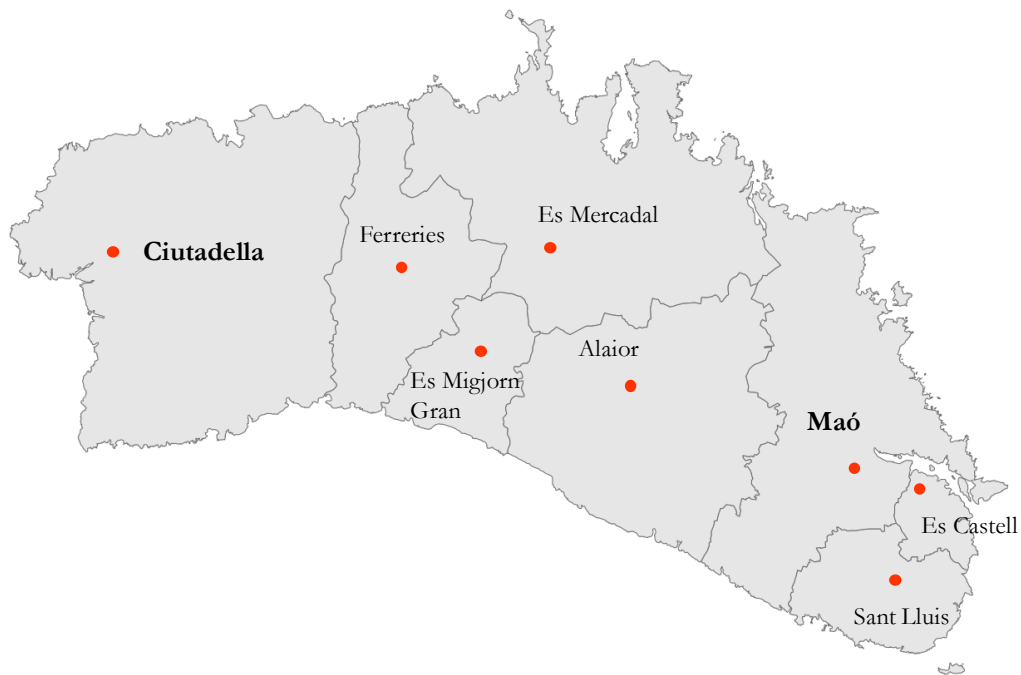


Figura 3.3 Localització geogràfica dels municipis de l'Illa de Menorca.

Fins als anys 70, els sectors econòmics més importants de l'illa de Menorca eren el ramader i l'industrial, tot destacant la producció de llet i formatge, i la fabricació de calçat, marroquineria i pell en general. A partir dels anys 80 i 90, el turisme es va convertir en el sector econòmic principal de l'illa, tot proporcionant una població visitant que supera amb escreix la població resident. Actualment, Menorca també manté una tradició agrícola, ramadera i pesquera, però amb poca indústria.

El 1993, l'illa de Menorca va ser designada com a Reserva de la Biosfera per la UNESCO per reconèixer la seva biodiversitat, on s'hi troben gairebé tots els ecosistemes insulars mediterranis en un estat de conservació força bo (UNESCO, 1993).

Per la seva condició d'illa, la població de Menorca representa un cas típic d'entorn mediterrani, on el consum d'aliments locals és important. Aquests comporten diversos cultius vegetals, carn, formatge i pesca en les aigües properes a l'illa. En el present estudi s'han analitzat 17 compostos organoclorats i mercuri en una gran varietat d'aliments, amb una atenció especial a les mostres de peix, tal i com es descriu en els apartats següents.

Les mares de la cohort es reclutaren en el període 1997-1998 i durant els anys 2001-2002 van ser enquestades sobre els hàbits de dieta dels seus fills de 4 anys. També es van prendre i analitzar mostres de cabell (n=302; Garí *et al.*, 2013) i de sèrum (n=285; Carrizo *et al.*, 2006) als infants de 4 anys de la cohort, això permeté associar els nivells dels contaminants en els infants amb les ingestes dels aliments.

Cohort d'Astúries

La cohort d'Astúries està localitzada a la ciutat d'Avilès, al nord de la Península Ibèrica limitant amb el mar Cantàbric. Aquesta ciutat té una extensió de 27 km² i uns 79.000 habitants (Figura 3.4).



Figura 3.4 Localització geogràfica dels municipis d'Astúries i en blau la ciutat d'Avilès.

Avilès i rodalies és una de les àrees més contaminades d'Espanya (Gallego *et al.*, 2002). Les múltiples indústries (principalment metal·lúrgiques) han tingut un impacte en la qualitat de l'aire, l'aigua i el sòl. A més, la densitat del trànsit urbà i l'elevada densitat d'habitants han promogut múltiples fonts potencials de contaminació. En la llista següent es descriuen les principals activitats generadores de pol·lució a la zona d'Avilès:

- Activitats metal·lúrgiques: dues plantes de producció hidrometal·lúrgia de zinc, una de producció d'alumini i una de producció d'acer.
- Diversos enderroc i pedreres a celobert (amb la conseqüent resuspensió de partícules de gra fi) relacionats amb les activitats industrials i mineres.

- Emissions urbanes relacionades principalment amb les calefaccions i el trànsit.

Aquesta cohort proporciona un model de ciutat altament industrialitzada amb un potencial important d'avaluació de l'exposició a metalls de la població infantil. Les mares de la cohort es reclutaren en el període 2004-2007 a l'Hospital San Agustín d'Avilés i durant els anys 2009-2011 es va prendre mostres d'orina dels seus fills de 4 anys (n=334). En aquestes mostres s'han analitzat 14 metalls.

Cohort de Reus

La cohort de Tarragona està localitzada al municipi de Reus, al nord-est de la Península Ibèrica. La seva població és d'uns 103.000 habitants que es concentren en una àrea de 53 km². Reus és la capital de la comarca del Baix Camp, es troba a 14 km de Tarragona i a uns 10 km de la mar Mediterrània (Figura 3.5).

Tarragona és una ciutat que s'estén al llarg de gairebé 14 km de litoral mediterrani. És considerada Patrimoni de la Humanitat per la UNESCO des de l'any 2000 pel conjunt arqueològic de l'antiga ciutat romana de Tàrraco.

Pel que fa a les possibles fonts de contaminació, no hi ha molta activitat agrícola, com a possible causa d'exposició als pesticides. La superfície agrícola del municipi és de 1.089 hectàrees, un 18.81 % de l'àrea de la ciutat. Els conreus predominants són les oliveres, els cereals, els fruiters de fruita seca, els cítrics, les hortalisses i les vinyes.

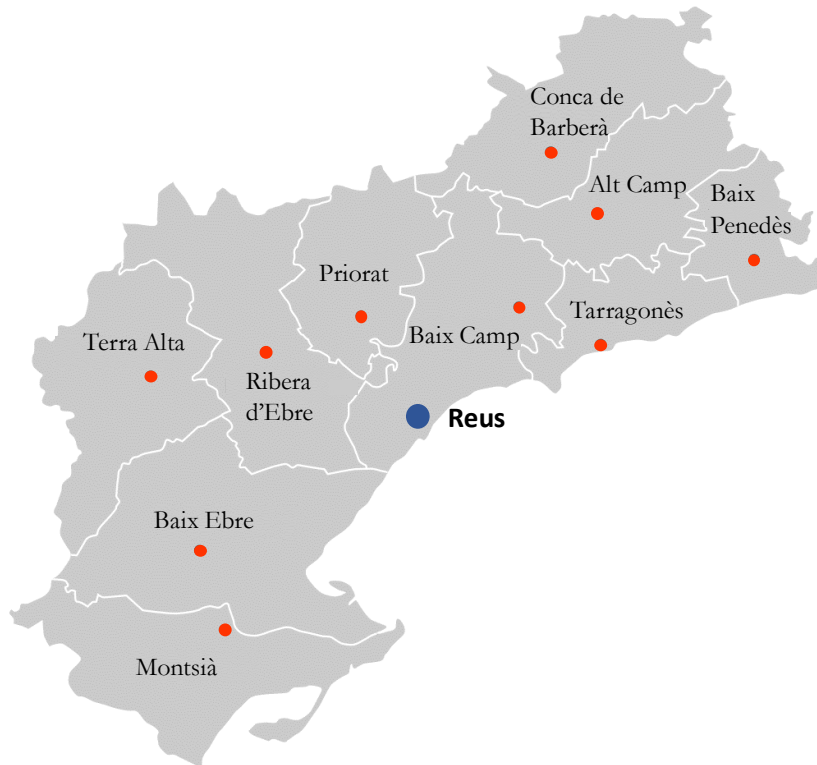


Figura 3.5 Localització geogràfica de les comarques de Tarragona i en blau la ciutat de Reus.

D'altra banda, en el sector de la indústria destaca la petroquímica, on es troba el complex petroquímic més important de l'Estat Espanyol. A finals de la dècada dels cinquanta s'hi van començar a instal·lar indústries químiques i a l'any 1975 va entrar en funcionament el que ara es coneix com el Complex Industrial de Repsol a Tarragona, fet que va impulsar el creixement econòmic i laboral a la zona. Tanmateix, aquesta activitat ha ocasionat un augment de la contaminació de l'ambient, com per exemple l'excés d'emissió d'1,3-butadiè i benzè, entre d'altres substàncies químiques contaminants.

La cohort estudiada en aquest cas consta de 50 dones i 36 nounats, nascuts a l'Hospital Universitari Sant Joan de Reus. La cohort de Reus representa un cas de població general en una zona mediterrània. Les concentracions d'OCs

s'han mesurat en sèrum matern durant el primer trimestre de l'embaràs, durant el part i en cordó umbilical en 50 mostres emparellades mare-nadó.

3.2 Mostres analitzades

En aquest treball s'han pres dos tipus de mostres biològiques diferents, orina i sèrum, i mostres d'aliments.

Mostres d'orina

Les mostres d'orina dels infants de 4 anys es recolliren durant una visita mèdica a l'Hospital San Agustín (Astúries) per a l'anàlisi de metalls traça. L'orina es va auto-mostrejar en contenidors de plàstic, preferentment en volums de 80 ml i després es van posar les mostres en alíquotes de plàstic de 10 ml amb finalitats analítiques diferents. Aquestes alíquotes es van emmagatzemar a -23 °C fins a l'anàlisi.

Mostres de sèrum

Les mostres de sèrum matern es recolliren a l'Hospital Universitari de Sant Joan de Reus per a l'anàlisi de compostos organoclorats. Es van recollir mostres de sèrum matern durant tres moments diferents: el primer trimestre d'embaràs, el part i sèrum de cordó umbilical. Aquestes es van conservar congelades a -23°C fins el moment d'analitzar-les.

Mostres d'aliments

Les mostres d'aliment es van adquirir als mercats locals i als grans magatzems de les dues principals ciutats de Menorca: Maó i Ciutadella. La tria dels aliments es va basar en qüestionaris de freqüència alimentària dels nens de 4 anys de la cohort de Menorca i entrevistes amb experts locals. Sempre es consideren aliments produïts a l'illa.



Figura 3.6 Exemples de mostres d'aliments agafades a l'Illa de Menorca.

Les mostres d'aliments inclouen espècies de marisc i de peix de diferents nivells tròfics i contingut de greix, tots ells capturats als voltants de l'illa i representatius del consum local (Figura 3.6, Taula 3.1). També es van agafar mostres de carn, fruites, verdura i ous de pollastre, tots ells productes

elaborats localment (Figura 3.6, Taula 3.1). Cada aliment es va separar en dues mostres per a l'anàlisi d'OCs i Hg. Per la primera anàlisi, les mostres es va embolicar amb paper d'alumini i per la segona es van guardar en bosses de plàstic, per evitar contaminació. Tot seguit es van congelar a -23°C. En totes les mostres només s'ha analitzat la part comestible.

Peix		Marisc	
Anfós	<i>Epinephelus marginatus</i>	Musclo	<i>Mytilus galloprovincialis</i>
Besuc	<i>Pagellus acarne</i>	Calamar	<i>Loligo vulgaris</i>
Càntera	<i>Spondylisoma cantharus</i>	Escamarlà	<i>Nephrops norvegicus</i>
Cap-roig	<i>Scorpaena scrofa</i>	Gamba	<i>Aristeus antennatus</i>
Déntol	<i>Dentex dentex</i>	Carn	
Gató	<i>Scyliorhinus canicula</i>	Pollastre	
Lluç	<i>Merluccius merluccius</i>	Vedella	
Moll de fang	<i>Mullus barbatus</i>	Xai	
Mòllera roquera	<i>Phycis phycis</i>	Fruita i verdura	
Moll vermell	<i>Mullus surmuletus</i>	Carbassó	
Morena	<i>Muraena helena</i>	Mongeta verda	
Pagell	<i>Pagellus erythrinus</i>	Poma	
Pagre	<i>Pagrus pagrus</i>	Formatge	
Rajada	<i>Raja clavata</i>	Semicurat	
Rap	<i>Lophius piscatorius</i>	Semicurat 15% greix	
		Ous de gallina	
		Ous de gallina	

Taula 3.1 Mostres d'aliments de l'Illa de Menorca. En cursiva el nom científic de les espècies de peix i marisc.

3 METODOLOGIA

Per tal d'aprofundir en el coneixement de la distribució de mercuri i els compostos organoclorats en peixos de la Mediterrània, es van analitzar 104 mostres de peix de tota la conca Mediterrània (Menorca, n=17; Mallorca, n=66; Eivissa, n=18; Tunísia, n=2 i Egipte, n=1) i algunes de l'Oceà Atlàntic (Mauritània, n=10 i Senegal, n=1) (Figura 3.7 i Taula 3.2). Les mostres de Tunísia, Egipte i les de l'Oceà Atlàntic pertanyen totes a l'espècie anfós. En tots els casos, els peixos s'obtingueren de mercats i llotges, és a dir, destinats al consum humà. L'estudi se centrà en peix blanc perquè el blau, per les seves característiques, ja es donava per descomptat que tenia més concentració d'aquests compostos. Les espècies de peixos estudiats es van agrupar en dos nivells tròfics: (i) els que s'alimenten de peixos petits i crustacis (nivell tròfic 2, que engloba 31 exemplars d'onze espècies); i (ii) espècies piscívores que s'alimenten de peixos i cefalòpodes (nivell tròfic 3, que engloba 87 exemplars de deu espècies) (Riera *et al.*, 1995).



Figura 3.7 Localització geogràfica de la presa de mostra de peix blanc.

Peix blanc			
Segon nivell tròfic		Tercer nivell tròfic	
Donzella	<i>Coris julis</i>	Anfós	<i>Epinephelus marginatus</i>
Esparall	<i>Diplodus annularis</i>	Cap roig	<i>Scorpaena scrofa</i>
Gató	<i>Scyliorhinus canicula</i>	Congre	<i>Conger conger</i>
Pagell	<i>Pagellus erythrinus</i>	Déntol	<i>Dentex dentex</i>
Palaia bruixa	<i>Lepidorhombus bosci</i>	Gall de Sant Pere	<i>Zeus faber</i>
Raor	<i>Xyrichtys novacula</i>	Llampuga	<i>Coryphaena hippurus</i>
Sard	<i>Diplodus sargus</i>	Lluç	<i>Merluccius merluccius</i>
Serra	<i>Serranus cabrilla</i>	Morena	<i>Muraena helena</i>
Sorell	<i>Trachurus trachurus</i>	Rap	<i>Lophius piscatorius</i>
Vaca	<i>Serranus scriba</i>	Sirviola	<i>Seriola dumerili</i>
Variada	<i>Diplodus vulgaris</i>		

Taula 3.2 Mostres de peix blanc recollides al mar Mediterrani i a l'Oceà Atlàntic agrupades per nivell tròfic. En cursiva el nom científic de les espècies de peix.

3.3 Qüestionaris

Les participants de les diferents cohorts foren entrevistades per personal entrenat durant l'embaràs (en el cas de la cohort de Tarragona) i quan els seus fills van tenir l'edat de 4 anys (en el cas de les cohorts de Menorca i Astúries). Aquests qüestionaris proporcionen informació sobre les seves característiques físiques, mèdiques i sociodemogràfiques, així com hàbits (exercici físic, consum de tabac, ús de cosmètics,...) i aspectes ambientals (soroll, trànsit de vehicles, característiques de l'habitatge,...). També es van implementar qüestionaris de freqüència d'alimentària. Finalment, es van obtenir mesures clíniques addicionals com els nivells de ferritina en sèrum o els de creatinina en orina durant les visites mèdiques.

3.4 Estimació de la ingesta de contaminants a través de la dieta

L'estimació de la ingesta diària de contaminants a través del consum dels aliments seleccionats es va calcular multiplicant la concentració mitjana de cada contaminant en cada aliment (expressat en ng/g pes fresc) per la mitjana de la taxa de consum d'aquell aliment (expressat en grams/dies). L'estimació de la ingesta total es va obtenir sumant aquests productes per cada contaminant i normalitzant-lo pel pes dels individus.

Les taxes de consum dels nens de 4 anys residents a Menorca es van obtenir per combinació de la informació de les enquestes de dieta (expressades en vegades/setmana) i les racions de cada aliment en nens de 4 anys, definides per AESAN (expressat en grams; verdures=130 g, carn=53 g, marisc=73 g, peix=73 g, ous=50 g, formatge=27 g i fruita=87 g). Les enquestes de dieta de la cohort INMA de Menorca es van basar en una mostra representativa que inclou 302 nens (pes mitjà=18.5 kg). Només es va seleccionar per a aquesta memòria de tesi doctoral la part dels aliments que coincideixen amb els analitzats (Taula 3.1)

D'altra banda, es va calcular la ingesta de contaminants mitjançant el consum de les mostres recollides de peix blanc (Taula 3.2), tant en la població infantil (7-12 anys; pes mitjà= 34.5 kg) com en l'adult (majors de 17 anys; pes mitjà=68.5 kg), resident a l'Estat Espanyol. Les taxes de consum de la població es van obtenir a partir de l'Agencia Española de Seguridad Alimentaria (AESAN, 2006). Totes les espècies de peixos considerades en aquesta memòria de tesi doctoral són generalment consumides per la població espanyola (BOE, 2015). A més, cinc de les espècies analitzades (*Conger conger*, *Lepidorhombus boscai*, *Lophius piscatorius*, *Merluccius merluccius* i

Trachurus trachurus) es troben en les 30 principals espècies pesqueres d'interès comercial (Ministeri Espanyol d'Agricultura i Pesca; Govern d'Espanya, 2012).

3.5 Anàlisi química

L'estudi de les concentracions de COPs i Hg en els diferents aliments ha comportat l'anàlisi de matrius molt diverses i amb característiques molt concretes. Malgrat això, s'ha intentat mantenir l'ús de protocols de laboratori el més semblants possible entre ells per facilitar la comparació dels resultats entre aliments. A tots els aliments, només s'ha analitzat la part comestible a fi d'avaluar l'exposició dels contaminants en humans a través de la dieta. D'aquesta manera, en el cas de la carn, el peix i el marisc, s'ha analitzat el teixit muscular que, a part d'uniformitzar matrius, dóna una estimació de la contaminació acumulada a llarg termini dins de l'organisme. Per a les altres matrius, l'orina i el sèrum, s'han emprat tècniques d'extracció específiques de les seves propietats.

En estudiar concentracions molt baixes (de l'ordre dels nanograms/gram) s'ha seguit un rigorós exercici de bones pràctiques de laboratori per evitar contaminacions externes. En tots els protocols, que es detallen a continuació, s'han emprat els següent materials i processos de neteja.

Anàlisi química de COPs

Materials, dissolvents, reactius i estàndards

Neteja del material

El material de vidre de laboratori es neteja primerament amb aigua i sabó, tant per les parets exteriors com per les interiors amb l'ajut d'un escovilló. A continuació, se submergeix en un bany d'ultrasons durant 15 minuts, amb aigua destil·lada i un 5–10 % de detergent alcalí Extran® AP 13 (Merck, Darmstadt, Alemanya). Després, s'esbandeix amb aigua destil·lada abundant seguit d'aigua Mili-Q i es deixa assecar. Finalment, s'embolcalla el material amb paper d'alumini (incloent aquell que no es pot rentar, com les pipetes Pasteur), i se sotmet a 400 °C durant 12 hores en una mufla.

Els septes per als vials es netegen amb diclorometà durant 24–48 hores per eliminar la silicona que contenen. Passat aquest temps, es canvia el diclorometà i es repeteix el procés tantes vegades com faci falta fins que no es formi escuma. Finalment, es deixen assecar sota una llum infraroja.

La llana de vidre, el sulfat de sodi, la sílica, els cartutxos de cel·lulosa i el carborundum es netegen mitjançant una extracció amb Soxhlet durant 6 hores amb una solució de n-hexà:DCM (4:1,v/v). Posteriorment s'assequen sota una llum infraroja. El sulfat de sodi es deixa tota la nit a la mufla a 400 °C.

Dissolvents i reactius

Els dissolvents utilitzats, n-hexà, isooctà, diclorometà i acetona, són de la categoria per a l'anàlisi a nivell traça de compostos orgànics de Merck (Darmstakt, Alemanya). L'àcid sulfúric concentrat 95-97 %, el sulfat de sodi i la sílica són també de Merck (Darmstackt, Alemanya). La llana de vidre i el carborundum són de Panreac (Barcelona, Catalunya). Els cartutxos de cel·lulosa (22 mm x80 mm) són de Whatman Ltd (UK).

Estàndards

Els estàndards de recuperació tetrabromobenzè (TBB) i PCB-209 permeten mesurar les pèrdues d'analit que hi pot haver durant el procés d'extracció. Tots dos compostos són de Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemanya).

L'estàndard intern PCB-142 permet controlar la injecció al cromatògraf de gasos. Aquest compost també es va adquirir a Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemanya).

La solució amb la mescla dels estàndards dels OCs es prepara a concentracions diferents per obtenir les rectes de calibratge. Per a l'anàlisi dels OCs, s'utilitzen els estàndards de pentaclorobenzè (PeCB), hexaclorobenzè (HCB), hexaclorociclohexans (α -, β -, γ -, δ -HCHs), 2,4'-DDT, 4,4'-DDT i els seus metabòlits (2,4'-DDD, 4,4'-DDD, 2,4'-DDE i 4,4'-DDE), i policlorobifenils (congèneres de PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 i 180), tots ells de Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Alemanya).

Procediment experimental

Extracció per Soxhlet en mostres d'aliments

Els mètodes d'extracció i de neteja en l'anàlisi d'OCs en les mostres de peix, carn, vegetals i fruita estan basats en processos analítics previs (Berdie i Grimalt, 1998; Vives i Grimalt, 2002). Primer, les mostres es descongelen i es pesen 3-4 gr de cadascuna que es traspassen a un morter per barrejar-los amb sulfat de sodi. Seguidament, s'aixafa fins aconseguir una barreja homogènia en forma de pols que s'introdueix en un cartutx de cel·lulosa tot tancant-lo amb llana de vidre. Aquestes barreges s'extrauen amb Soxhlets emprant 100 mL de n-hexà:diclorometà (4:1, v/v) durant 6 hores. En aquest pas, s'afegeixen 25 µL de la solució d'estàndards de recuperació que conté TBB i PCB-209 (50 ng/mL).

Posteriorment, l'extracte es concentra emprant l'evaporació en rotació per buit fins a un volum de 2 mL. A continuació, s'afegeixen 3 mL de H₂SO₄. Després de barrejar amb el vòrtex (1.500 rpm, 2 min), la mostra es centrifuga (4.000 rpm, 5 min) per eliminar qualsevol emulsió de la interfase creada i es descarta la fase del H₂SO₄. Aquest procés es repeteix fins que s'aconsegueix una fase d'àcid transparent (3-5 vegades).

El n-hexà sobrenedant es passa a través d'una columna amb 1 gr de sulfat de sodi i sílica (1:1 per pes). Els extractes s'evaporen gairebé fins a sequedat sota una corrent de nitrogen ultra pur i es transfereixen a un vial de cromatografia amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur i 200 µL d'isooctà. Abans de l'anàlisi instrumental, les mostres s'evaporen a sequedat i s'afegeixen 100 µL de l'estàndard intern PCB-142 en isooctà (10 ng/mL).

Les mostres de formatge i ous es van extreure seguint mètodes analítics previs, amb breus modificacions (Kalantzi et al., 2001). Primer, les mostres es descongelen i es pesen 1-2 gr de cadascuna que s'homogeneïtzen amb 5 g de sulfat de sodi. Aquestes barreges s'extrauen amb Soxhlets emprant 50 mL de n-hexà i s'afegeixen 25 µL de la solució d'estàndards de recuperació que conté TBB i PCB-209 (50 ng/mL).

Posteriorment, l'extracte es concentra emprant l'evaporació en rotació per buit fins a un volum de 5 mL. La mostra es passa a través d'una columna de 1.9 cm de diàmetre intern que conté 15 g de sílica gel acidificada (2:1 sílica gel:àcid per pes) i s'elueix amb 60 mL de n-hexà. A continuació, els extractes s'evaporen fins a 1 mL sota una corrent de nitrogen ultra pur i s'introdueixen a una columna de 0.6 cm de diàmetre intern que conté 3 g de sílica activada. La mostra s'elueix amb 33 mL d'n-hexà (pels PCBs) i amb 15 mL d'n-hexà:diclorometà (1:1, v/v; per la resta d'OCs). Abans de l'anàlisi instrumental, les mostres s'evaporen a sequedat i s'afegeixen 100 µL de l'estàndard intern PCB-142 en isooctà (10 ng/mL).



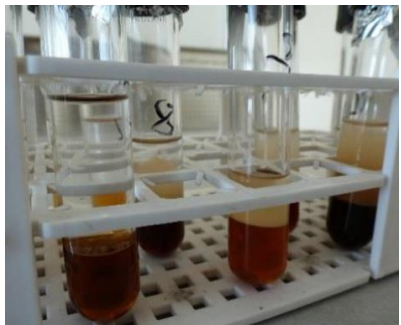
3-4 g de mostra
Homogeneïtzació amb sulfat de sodi



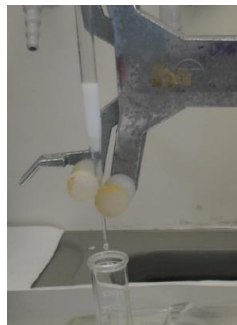
Extracció amb Soxhlet (100 mL *n*-hexà:DCM, 4:1)
25 µL de TBB/PCB 209 (50 ng/mL)



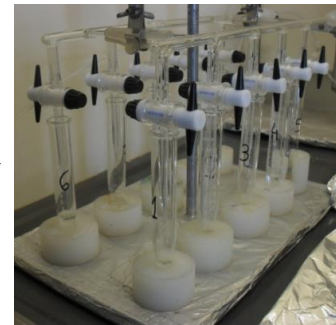
Evaporació en rotació per buit fins 2 mL



3 mL de H₂SO₄
Vòrtex i centrifugació + descartar fase H₂SO₄
Repetició del procés (3-5 vegades)



n-hexà sobrenedant
Columna sulfat de sodi:sílca



Evaporació amb N₂



Vial de cromatografia
100 µL PCB142
(10 ng/mL)

Figura 3.8 Esquema del procés analític d'OCs en les mostres d'aliments (excepte per formatge i ous).

Extracció líquid-líquid en mostres de sèrum

El procés d'extracció es va basar en un protocol prèviament desenvolupat (Grimalt *et al.*, 2010). Primer, les mostres de sèrum es descongelen i s'homogeneïtzen amb un vòrtex. De cada mostra s'agafa una alíquota d'1 mL que s'introdueix en un tub de centrifuga de 10 mL i s'afegeixen 25 µL de la solució d'estàndards de recuperació que conté TBB i PCB-209 (50 ng/mL). A continuació, s'afegeixen 3 mL de n-hexà i 3 mL d'H₂SO₄, es barregen amb l'ajuda d'un vòrtex (1,500 rpm, 30 s) i se centrifuguen (3,500 rpm, 10 min). La centrifugació forma dues fases: una superior on hi ha l'n-hexà amb els compostos a analitzar i una inferior amb el sèrum i l'àcid sulfúric.

L'n-hexà sobrenedant es transfereix a un segon tub de centrifuga amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur. Al tub amb la barreja de H₂SO₄/mostra s'afegeixen 2 mL més de n-hexà, es barreja i se centrifuga. Aquest darrer pas es repeteix de nou tot obtenint-se un extracte total de 7 mL de n-hexà, al que s'afegeixen 3 mL d'H₂SO₄. A continuació, la suspensió es barreja amb el vòrtex (1.500 rpm, 90 s) i se centrifuga (3.500 rpm, 10 min). Amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur s'elimina la fase d' H₂SO₄ i s'afegeixen 2 mL d'H₂SO₄. L'n-hexà sobrenedant es passa a través d'una columna amb 1 g de sulfat de sodi i llana de vidre a un tub cònic. El sulfat de sodi reté traces d'àcid sulfúric que podrien perjudicar la resta del procés i fer malbé la columna capil·lar cromatogràfica. Els extractes de n-hexà recollits al tub cònic s'evaporen gairebé fins a sequedat sota un corrent de nitrogen ultra pur i es transfereixen a un vial de cromatografia amb l'ajuda d'una pipeta Pasteur i 3 esbandits de 25 µL d'isooctà per les parets del tub cònic. Abans de l'anàlisi instrumental, les mostres s'evaporen a sequedat i s'afegeixen 100 µL de l'estàndard intern PCB-142 en isooctà (10 ng/mL).

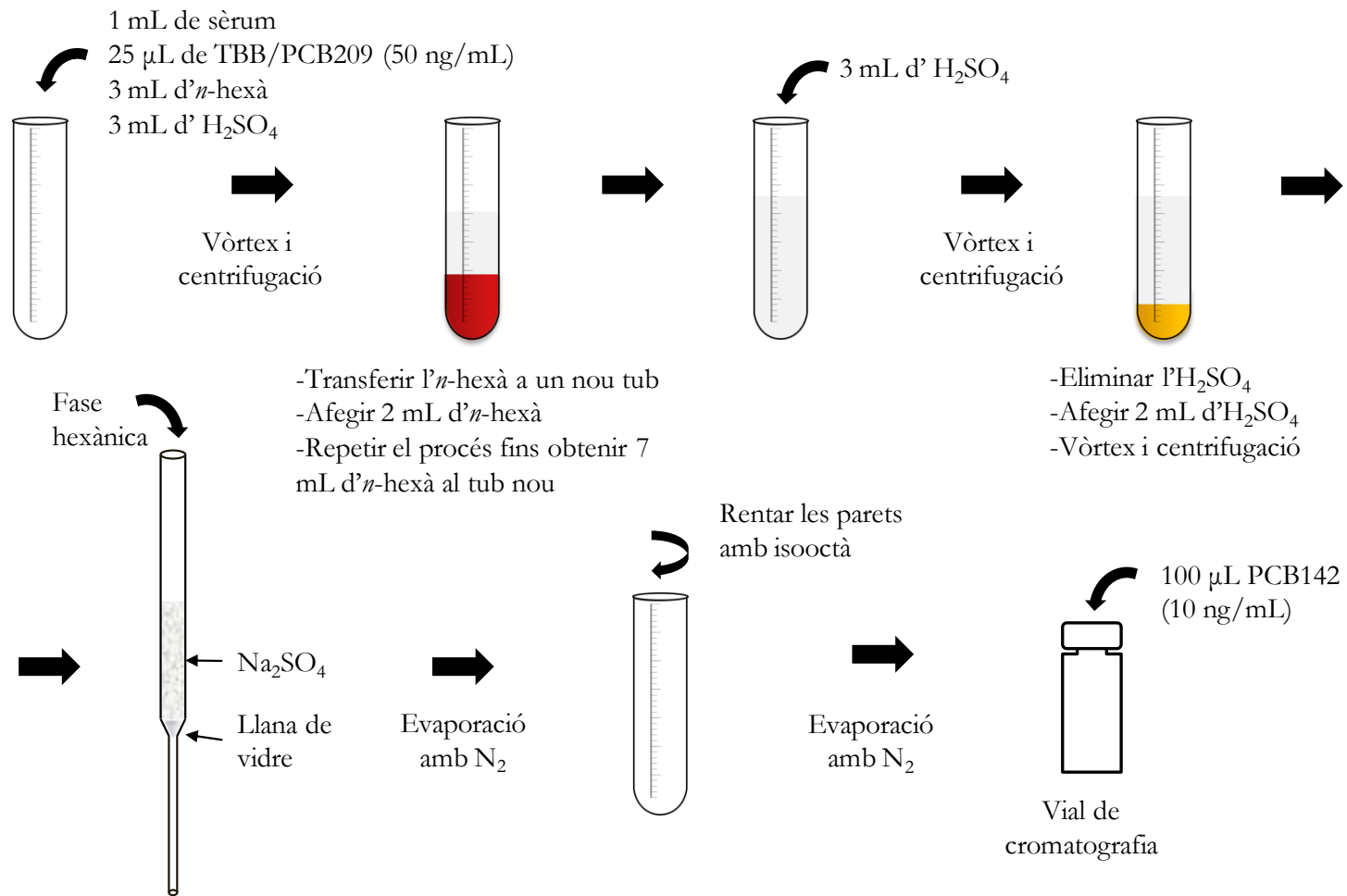


Figura 3.9 Esquema del procés analític d'OCs en mostres de sèrum.

Anàlisi instrumental

Condicions cromatogràfiques per a l'anàlisi d'OCs

Les anàlisi dels compostos organoclorats s'han realitzat per cromatografia de gasos amb detector de captura d'electrons (GC-ECD, Agilent Technologies 7890A, Palo Alto, Califòrnia, EUA). La columna capil·lar utilitzada ha estat una HP-5MS de 60 metres de longitud i 0.25 mm de diàmetre intern amb paret recoberta per la fase estacionària de 0.25 μm de gruix (J&W Scientific, Folsom, EUA).



Figura 3.10 Cromatògraf de gasos acoblat amb detector de captura d'electrons (GC-ECD).

El procés s'ha realitzat amb injecció automàtica de 2 μL en mode splitless i temperatura de l'injector de 250 $^{\circ}\text{C}$. La temperatura del detector ha estat de 320 $^{\circ}\text{C}$. La rampa de temperatura del forn ha començat a 90 $^{\circ}\text{C}$ que s'han mantingut 5 minuts. A continuació, s'ha realitzat una rampa de 15 $^{\circ}\text{C}$ per minut fins assolir els 130 $^{\circ}\text{C}$ i s'ha acabat amb una rampa nova de 4 $^{\circ}\text{C}$ per minut fins arribar als 290 $^{\circ}\text{C}$ finals, que s'han mantingut durant 15 minuts. El gas portador ha estat l'heli amb un cabal de 1.5 mL per minut i el nitrogen com a gas auxiliar pel detector a un cabal de 60 mL per minut. A la Figura 3.11 es mostra un cromatograma obtingut després de la injecció del patró de la mescla de tots els compostos que s'han analitzat amb les condicions descrites. Els compostos s'identifiquen segons el seu temps de retenció (TR).

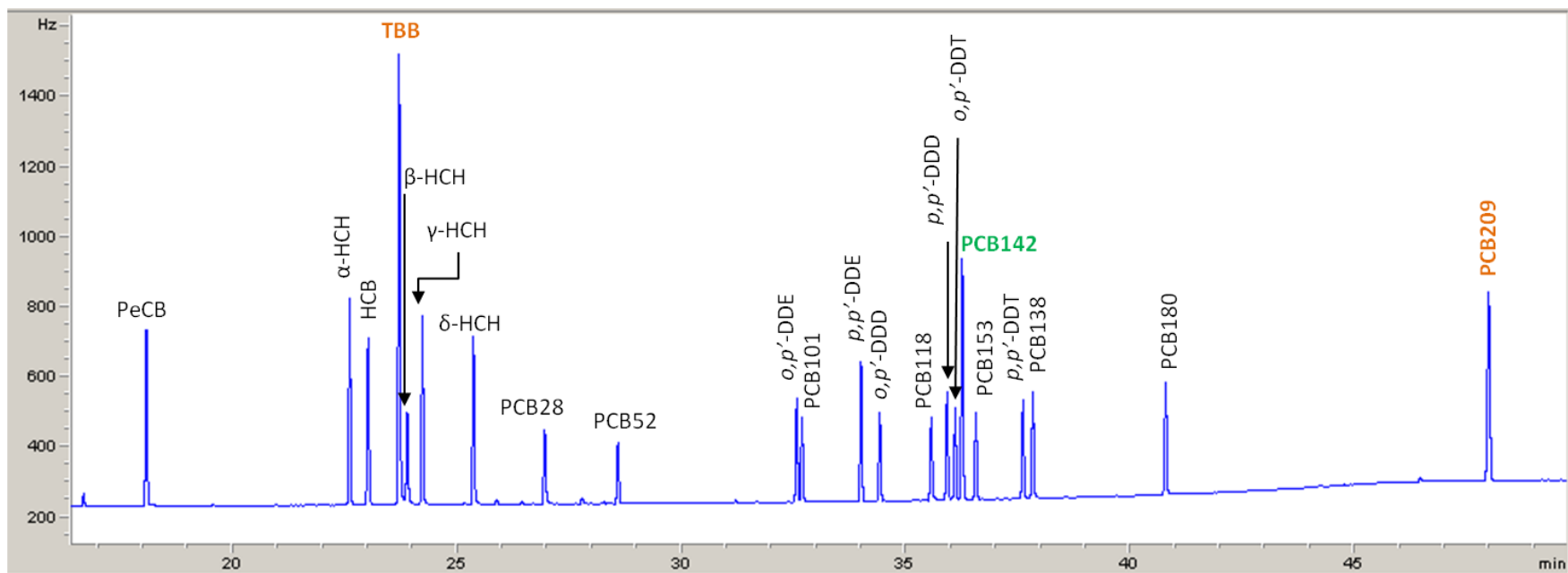


Figura 3.11 Cromatograma d'una mescla d'OCs analitzada amb GC-ECD amb els compostos d'interès (PeCB, α -HCH, HCB, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, PCB-28, PCB-52, 2,4'-DDE, PCB-101, 4,4'-DDE, 2,4'-DDD, PCB-118, 4,4'-DDD, 2,4'-DDT, PCB-153, 4,4'-DDT, PCB-138, PCB-180) els patrons de recuperació (TBB i PCB-209) i el patró intern (PCB-142). L'eix d'abscisses mesura el temps d'elució (en min) i l'eix d'ordenades mostra la resposta (en Hz).

Control de qualitat de les anàlisis

Per tal d'assegurar la qualitat de l'anàlisi, es duen a terme certs controls que permeten valorar l'efectivitat de tot el procés: el protocol d'extracció, la preparació dels estàndards, la metodologia analítica i la neteja del material. D'aquesta manera, es poden tenir en compte les pèrdues de mostra durant el procés d'extracció, contaminacions possibles i els errors de detecció i quantificació.

Blancs analítics

S'han realitzat blancs analítics de procediment per cada sèrie de mostres, és a dir, una solució que s'analitza amb el mateix procediment que les mostres tret que aquesta no té l'aliment o el sèrum sanguini. D'aquesta manera, es poden valorar els efectes causats per alguns constituents diferents de l'analit, com possibles contaminacions provinents del material, dels dissolvents o de l'ambient. Aquests blancs també s'utilitzen pel càlcul dels límits de detecció i quantificació dels OCs. En general, les concentracions d'OCs que s'han trobat als blancs corresponen a una contaminació mínima del procés analític i no esbiaixen els resultats finals.

Recuperació dels estàndards analítics

Com s'ha explicat anteriorment, al inici del procés analític s'afegeix una concentració coneguda dels estàndards de recuperació. El càlcul de recuperació no només es fa per avaluar la precisió del mètode sinó també per corregir les pèrdues d'analits que hi pugui haver durant tot el procediment.

És important doncs, que aquests compostos tinguin unes característiques físiques i químiques semblants als compostos que es volen estudiar i que no es trobin presents a les mostres.

En l'anàlisi dels compostos organoclorats, les recuperacions mitjanes ($\pm\sigma$) del TBB i del PCB-209 van ser del $65\pm 19\%$ i $90\pm 20\%$, respectivament. Les respostes relatives del PCB-142 es van utilitzar per corregir la variabilitat instrumental de cada injecció i aquest valor també es va corregir amb el valor de recuperació.

Programa d'intercalibratge AMAP

El protocol analític s'ha validat gràcies a l'anàlisi de materials de referència proporcionats mitjançant la participació en el Programa de Monitoratge i Avaluació de l'Àrtic (AMAP, per les sigles en anglès) de compostos orgànics persistents en sèrum humà.

Des del 1991, aquest programa organitza una vigilància integral de la sang materna a l'Àrtic, basat en estudis amb protocols estandarditzats per a la recollida i anàlisi de mostres, per garantir la comparabilitat dels resultats entre diferents centres (AMAP, 2018). Els laboratoris participants reben 3 cops l'any unes mostres, amb concentracions de contaminants conegudes, que han d'analitzar amb el mateix protocol de treball que utilitzen habitualment al laboratori. Òbviament, els laboratoris participants no coneixen les concentracions de les mostres abans de les anàlisis. A partir dels resultats obtinguts, es pot valorar la qualitat de l'anàlisi de cadascun dels compostos estudiats. El programa està obert a tots els laboratoris interessats i el de l'IDAEA-CSIC hi participa des del 1999. El mètode analític per a la determinació de compostos organoclorats s'ha anat realitzant

satisfactòriament sota els estàndards d'AMAP, ja que els resultats solen situar-se dins del 20% dels valors de consens. El criteri de l'IDAEA-CSIC és que les anàlisis d'intercalibració les facin els estudiants que treballen amb les mostres.

Límits de detecció i quantificació

Els límits de quantificació i els límits de detecció es defineixen de la manera següent:

- Límit de detecció (LD): Valor per sota del qual no és possible trobar l'analit.
- Límit de quantificació (LQ): Valor per sota del qual és possible detectar l'analit, però no quantificar la concentració exacta.

Els compostos que estan per sota del LD se solen especificar com a "no detectats" (nd o $<LD$) i se'ls hi assigna la meitat del valor d'aquest límit. Quan es detecta la concentració d'un compost per sota dels límits de quantificació (és a dir, entre el LD i el LQ), aquests es consideren "no quantificables" (nq o $<LQ$) per la seva concentració baixa i se'ls hi s'assigna la meitat del valor del límit de detecció.

La quantificació dels blancs s'ha fet servir per calcular els límits de detecció i de quantificació. El LD correspon a la suma de la concentració mitjana ($\overline{[x]}$) més tres vegades la desviació estàndard (σ). El LQ és el resultat de la suma de la concentració mitjana més cinc vegades la desviació estàndard.

$$LD = \overline{[x]} \pm 3\sigma$$

$$LQ = \overline{[x]} \pm 5\sigma$$

En l'anàlisi d'OCs, els límits de detecció en les mostres de sèrum i d'aliments han variat entre 0.001 i 0.0079 ng/mL i entre 0.0050 i 0.095 ng/g, respectivament. Els límits de quantificació en les mostres de sèrum i d'aliments han estat entre 0.008 i 0.083 ng/mL i entre 0.038 i 0.14 ng/g, respectivament.

Anàlisi química de metalls traça

Materials, dissolvents, reactius i estàndards

Neteja del material

Els recipients de Tefló es netegen inicialment amb un rentat de HNO₃ 7% després de cada ús. A continuació, s'omplen amb HNO₃ 7% i es deixen al forn a 90 °C durant tota la nit. Finalment, s'esbandeixen amb aigua Milli-Q abundant.

Tot el material de plàstic i de vidre es neteja amb HNO₃ al 7% i es deixa amb aquesta dissolució 48 hores. A continuació, s'esbandeixen amb aigua Milli-Q abundant.

Dissolvents i reactius

Els dissolvents emprats han estat HNO₃ Instra-analysed al 60%, H₂O₂ Instra-analysed al 30%, ambdós de Merck (Darmstadt, Alemanya) i aigua Milli-Q. Els recipients de Tefló de 60 mL són de Savillex (Minnesota, EUA). Les ampolles de polipropilè i les pipetes serològiques de poliestirè de 2 mL es compraren a Labbox Labware (Barcelona, Catalunya).

Procediment experimental

Protocol de digestió en mostres d'aliments

El protocol de digestió per a l'anàlisi de Hg en les mostres d'aliments es va basar en un mètode validat proporcionat pel Servei Científicotècnic de la Universitat de Barcelona, on es va dur a terme l'anàlisi instrumental.

Les mostres d'aliments es descongelen, es pesen 5 gr de cadascuna i es liofilitzen durant 12 hores. A continuació, s'homogeneïtzen i s'introdueixen 100 mg en un recipient de Tefló junt amb 3 mL de HNO_3 i 1 mL de H_2O_2 . La barreja es deixa al forn a 90 °C durant tota la nit. Després, un cop s'ha refredat, la mostra es dissol amb 40 mL d'aigua Milli-Q. Finalment, la mostra es traspassa a un tub de vidre.

Protocol de digestió en mostres d'orina

El protocol de digestió per a l'anàlisi de V, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sb, Cs, Ba, Tl i Pb en les mostres d'orina es va basar en mètodes ja descrits (Krachler, 1996; Castillo *et al.*, 2008).

Les mostres es descongelen i s'homogeneïtzen en un vòrtex. De cada mostra s'agafa una alíquota de 2 mL que s'introdueix en un recipient de Tefló junt amb 1 mL de HNO_3 i 0.5 mL de H_2O_2 . La barreja es deixa al forn a 90 °C durant tota la nit. Després, un cop s'ha refredat, la mostra es dissol amb 16.5 mL d'una dissolució de HNO_3 1%. Finalment, la mostra es traspassa a un tub de plàstic.

Anàlisi instrumental

ICP-MS

Les anàlisi de Hg es s'han realitzat per Espectrometria de Masses per Plasma d'Acoblament Inductiu (ICP-MS; Elan 6000, PerkinElmer SCIEX, Wellesley, EUA i Agilent Technologies 7900, Agilent Palo Alto, EUA).

Les anàlisi de V, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sb, Cs, Ba, Tl i Pb també s'han realitzat per ICP-MS (X-SERIES II, Thermo Fisher Scientific, Texas, EUA).

L'anàlisi instrumental de les mostres d'aliments de Menorca (Taula 3.1) es van realitzar al Parc Científicotècnic de Barcelona, les de peix blanc (Taula 3.2) al Laboratori de Salut Pública de Palma i les d'orina a l'IDAECSIC. Abans de l'anàlisi instrumental, es va afegir l'estàndard intern, que ha estat de rodi o indi, segons l'estudi.



Figura 3.12 Espectrometria de Masses per Plasma d'Acoblament Inductiu (ICP-MS).

Control de qualitat de les anàlisis

Blancs analítics

Es van processar blancs amb aigua Milli-Q a cada tanda per controlar la possible contaminació del laboratori. Quan hi ha hagut alguna contaminació, es fa una neteja minuciosa de tot el material i es repeteix la digestió de tota la tanda.

Material de referència

Els mètodes analítics desenvolupats s'han provat amb mostres de referència.

Per l'anàlisi de les mostres d'aliments es va utilitzar múscle de peix liofilitzat ERM-BB422 (Institute for Reference Materials and Measurements, Geel, Belgium). Aquest material va proporcionar valors certificats de Hg.

Per l'anàlisi de les mostres d'orina es va utilitzar orina de referència de Bio-Rad Nivell 1 (Lyphochek Urine Metals Control 4770-03; Marnes-la-Coquette, França). Aquest material de referència va proporcionar valors certificats de As, Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Sb, Tl, Zn i Se. Abans de la digestió, tal i com recomana el fabricant, el material de referència de les mostres d'orina es va reconstituir amb aigua Milli-Q.

Els valors mitjans obtinguts a les mostres de referència es troben a dins del 20 % del marge acceptat de les concentracions certificades.

Límits de detecció

El límit instrumental de detecció (LD) es va calcular a partir del punt de calibració més fiable, fou de 0.2 ng/mL en tots els metalls. Es va assignar un valor de 0.1 ng/mL a aquells valors de les mostres amb concentracions inferiors a 0.2 ng/mL.

Anàlisi de creatinina

Les concentracions de metalls de les mostres d'orina s'han ajustat per creatinina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) per controlar la dilució d'orina durant el dia. Aquesta determinació es realitzà als Laboratoris Echevarne a Barcelona mitjançant el mètode Jaffe, un mètode colorimètric cinètic, amb un Beckman Coulter C-Reactiu AU5400 (IZASA; Barcelona, Catalunya, Espanya). La normalització per creatinina comporta que les persones no tenen problemes de ronyons i, per tant, les concentracions d'aquests compostos estan dins d'un marge.

3.6 Anàlisi estadística

El tractament estadístic de les dades per a cada estudi particular es recull de manera detallada en cada un dels articles. S'ha fet una anàlisi descriptiva de les concentracions dels OCs i dels metalls per calcular les tendències i les distribucions dels compostos. Es va estudiar la normalitat de les distribucions de les concentracions de tots els contaminants estudiats i, quan la distribució no era normal, es va utilitzar una transformació logarítmica de les mostres. L'anàlisi de dades i els gràfics es realitzà amb els programes estadístics R (R Development Core Team, 2018) i STATA 12.0.

4 Resultats

Com s'ha mencionat anteriorment, aquesta tesi doctoral és un compendi d'investigació sobre les principals vies d'exposició en infants als OCs i metalls en la població de Menorca, Astúries i Tarragona. Els resultats comprenen les següents investigacions:

- Integrated assessment of infant exposure to persistent organic pollutants and mercury via dietary intake in a central western Mediterranean site (Menorca Island) (Article 1 – Publicat a *Environmental Research*, 2017)
- Drivers of the accumulation of mercury and organochlorine pollutants in Mediterranean lean fish and dietary significance (Article 2 – Publicat a *Science of the Total Environment*, 2018)
- Environmental and population determinants of exposure to metals in four-years-old children in Aviles (Asturias, Spain) (Article 3 – Pendent d'enviar a *Science of the Total Environment*)
- Urinary cobalt and ferritin in four years old children (Article 4– Pendent d'enviar a *Environmental Research*)
- Changes of organochlorine compound concentrations in maternal serum during pregnancy and comparison to serum cord blood composition (Article 5 –Enviat a *Environmental Research*, 2019)

ARTICLE 1

Integrated assessment of infant exposure to persistent organic pollutants and mercury via dietary intake in a central western Mediterranean site (Menorca Island)

Eva Junqué, Mercè Garí, Anna Arce, Maties Torrent, Jordi Sunyer i Joan O. Grimalt

Environmental Research 156:714–724 (2017)

DOI: 10.1016/j.envres.2017.04.030

ARTICLE 2

Drivers of the accumulation of mercury and organochlorine pollutants in Mediterranean lean fish and dietary significance

Eva Junqué, Mercè Garí, Rosa Maria Lull i Joan O. Grimalt

Science of the Total Environment 634:170–180 (2018)

DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.03.335](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.335)

ARTICLE 3

Environmental and population determinants of exposure to metals in four-years-old children in Aviles (Asturias, Spain)

Eva Junqué, Adonina Tardón, Ana Fernandez-Somoano i Joan O. Grimalt

Pendent d'enviar

Environmental and population determinants of exposure to metals in four-years-old children in Aviles (Asturias, Spain)

Eva Junqué^a, Adonina Tardón^b, Ana Fernandez-Somoano and Joan O. Grimalt^{a*}

^aInstitute of Environmental Assessment and Water Research (IDAEA-CSIC), Barcelona, Catalonia, Spain.

^bDepartment of Preventive Medicine and Public Health. University of Oviedo. Oviedo, Asturias, Spain.

*Corresponding author phone:+34934006118; fax:+34932045904; e-mail: joan.grimalt@idaea.csic.es

Abstract

Urine samples from four-years-old children located in a heavily industrialized city, Avilés, were collected between 2009-2012 (n = 334). Vanadium (V), cobalt (Co), nickel (Ni), copper (Cu), zinc (Zn), arsenic (As), selenium (Se), molybdenum (Mo), cadmium (Cd), antimony (Sb), cesium (Cs), barium (Ba), thallium Tl and lead (Pb) were analyzed.

Zn showed the highest median concentration (588 µg/g creatinine), followed by Mo (110 µg/g creatinine) and As (64 µg/g creatinine). Cd concentration was particularly low, close to the limit of detection.

In general, the observed concentrations of metals were higher than in previous infant population studies probably due to the industrial and mineral activity in the area. Diet was the main source of most metals according to the univariate and multivariate analyses. All metals presented significant positive associations with several food items, except Zn and Cs in univariate analysis and Tl in multivariate analysis. Traffic pollution showed a significant positive association with Pb, Co, Ni, and Ba levels in both analyses. Tobacco consumption showed a significant negative association with Se levels.

The As concentrations were 32 times higher than other infant populations. These high arsenic concentrations have been observed in coastal populations due to elevated seafood consumption. A positive significant association between urine arsenic and seafood consumption was observed, especially for lean and fatty fish. Arsenic from seafood is present in organic form and non-toxic for the population.

Keywords

Metals in urine; Infant exposure; Arsenic and seafood

1. Introduction

Humans are constantly exposed to metals as they are naturally present in the environment such as in air, food, water and soil. However, these elements have a wide range of industrial, mining and consumer applications which have increased their occurrence in the environment (Centers for Disease Control and Prevention, 2009; World Health Organization, 1996).

Heavy metals are emitted to the environment via a wide range of pathways, including the air (e.g. combustion), surface water (e.g. runoff) and soil. Atmospheric emissions tend to be the greatest concern to human health because of the quantities involved and the widespread dispersion (Jarüp et al., 2003).

The most common sources of exposure to toxic metals in the general population are diet and drinking water (Tchounwou et al., 2012), although smoking and vehicle traffic may also be important exposure sources (ATSDR, 2008; Horton et al., 2012).

Even low doses of these elements may involve deleterious health effects, especially in children and pregnant woman as they are the most vulnerable population groups (Guxens et al., 2012).

Some metals are toxic, e.g. lead (Pb), cadmium (Cd), antimony (Sb), and others are both toxic and essential, such as zinc (Zn), copper (Cu) and nickel (Ni), depending on concentration levels. Some metals are known neurotoxicants, e.g. Pb and mercury (Hg), and others human carcinogens, e.g. arsenic (As) and Cd (Junqué et al., 2018; Andrade et al., 2017; Villareal and Castro 2016). The severity of metal toxicity depends on dose, route and mode of exposure (acute or chronic), chemical species (inorganic or organic), as

well as age, gender, genetics and nutritional status of the exposed individuals (Tchounwou et al., 2012).

Urine samples are the most widely used matrix for biomonitoring trace metal exposure. It has been repeatedly sampled in biomonitoring studies such as the German Environmental Survey for Children (GerES) and the National Health and Nutrition Examination (NHANES report, 2013).

Avilés (Asturias) and the surrounding area represent one of the most industrialized areas in Spain as there are two hydrometallurgical plants for Zn production, one aluminium factory, one steel production plant, several spoil heaps and open-pit quarries related to industrial and mining activities and urban emissions mainly related with heating systems and traffic (Gallego et al., 2002). The Avilés estuary crosses the town where many industries have been discharging their waste for years. These industries have impacted on the quality of the air, water and soil. In addition, dense urban traffic and heating systems of more than 100,000 inhabitants have increased the pollution sources.

The present study is aimed to assess the levels of several metals in four-years-old children living in this strongly industrialized area. The contribution of the main determinants to body burden metal levels, such as diet (including seafood, meat, vegetables, dairy products, etc), tobacco and traffic exposure have been assessed using univariate and multivariate statistical methods.

2. Materials and methods

2.1. Population and study design

Four-years old children were recruited in the Hospital San Agustín and 334 urine samples were collected. Parents were asked to complete a questionnaire describing demographic and dietary information, including family smoking habits and distance between home and traffic areas. Written informed consent was obtained from the parents of each child before the study, which was approved by the Asturias Regional Ethics Committee.

2.2. Laboratory analytical methods

Fourteen trace metals or metalloids including vanadium (V), cobalt (Co), nickel (Ni), copper (Cu), zinc (Zn), arsenic (As), selenium (Se), molybdenum (Mo), cadmium (Cd), antimony (Sb), cesium (Cs), barium (Ba), thallium (Tl) and lead (Pb) by Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Prior to instrumental analysis, digestion and dilution of the samples was performed to oxidize and remove organic matter and to keep the concentrations of inorganic solids to a minimum (Castillo et al., 2008; Krachler et al., 2009). Teflon vessels were cleaned after every use by rinsing with 7% HNO₃. Then, they were filled with 7% HNO₃, leaved in the oven overnight and finally rinsing with abundant MilliQ water. All polypropylene material was cleaned by soaking 7% HNO₃ for 48 hours, followed by rinsing with abundant MilliQ water.

2 mL of each urine sample were introduced in Teflon vessels, together with 1 mL 60 % HNO₃ (Merck; Darmstadt, Germany) and 0.5 mL H₂O₂ (Merck). They were then left in an oven at 90 °C overnight. After cooling, vessels were opened and samples were dissolved with 16.5 mL of 1% HNO₃

dilution. Finally, samples were placed in plastic tubes and stored in a refrigerator until instrumental analysis. Before analysis, an internal standard indium (10 ppb) was introduced and depending on sample density, they were diluted with MilliQ water to 30mL or 60mL to avoid spectral interferences. Instrumental analysis was performed by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) using a X-SERIES II device from Thermo Fisher Scientific.

One MilliQ water blank was processed in each batch of samples for control of possible contamination. The analytical protocol was validated by processing a Bio-Rad Level 1 urine reference sample (Lyphochek Urine Metals Control 4770-03; Marnes-la-Coquette, France). Instrumental limit of detection (LOD) for all metals was 0.2 ng/mL. Metal urine concentrations were standardized to creatinine content.

2.3. Data analysis

The normality of each trace metals was examined by Kolmogorov-Smirnov test. The levels of studied analytes were not normally distributed, with the exception of Se and Mo. Consequently, metal concentrations were log-transformed to normalize their distribution (except for Se and Mo). Spearman correlations were calculated in order to define possible associations between different variables. Kruskal-Wallis and Dunn test were used to compare between categorical variables.

Associations of parental and infant variables with metal concentrations were examined by univariate linear regression analysis. Those showing a significant association at $p < 0.20$ were entered in a multivariate regression

model. A value equal to half limit of detection was used for non-detected concentrations. All statistics were performed by Stata 10.0.

3. Results

The main socio-demographic characteristics of children included in the study are shown in Table 1. The mean (SD) of weight and height of four-years-old children were 18 (2.9) kg and 1.0 (4.5) m, respectively. More than a half of the population were male (52%). Forty-six percent belonged to medium-low class, 22% to medium class and the remaining 32% to high and high-medium class. Half of the cohort had one brother, 45% were the only children and the remaining 4% and 1 % had 2 and 3 brothers, respectively. Regarding family smoking habits, 35% had at least one parent who was smoking. Most of the families lived close to high traffic areas.

Metal detection levels ranged between 69 and 100%, with the exception of Cd that was only detected in 20% of the samples (Table 2). Zn, As, Mo and V were the metals found in higher concentrations, 643, 137, 123 and 70 $\mu\text{g/g}$ creatinine, respectively. Sb, Co, Tl and Cd were those found in lowest concentrations, 1.3, 1.7, 0.72 and 0.33 $\mu\text{g/g}$ creatinine, respectively.

Table 3 reports the results of the univariate analysis for metal concentration in urine and several potential predictor variables encompassing food items, tobacco consumption and traffic pollution, among others. Diet was the main metal exposure source. Significant positive associations were found between metal concentrations, e.g. V, Ni and As, and food components, especially red meat, lean fish and shellfish. Zn and Cs were the only metals that not showing significant associations with any food item. Traffic exposure was statistically significant associated with Co, Ni, Ba

4 RESULTATS

and Pb urine levels. Shorter distance of home to a street with continuous traffic involved higher levels of those metals. Tobacco consumption showed a significant positive association with Se.

Table 4 shows the results of the multiple regression analysis of the urine metal concentrations. All models were adjusted for body mass index and sex as well as different predictor variables depending on each metal. Except Tl, all metals presented statistically significant associations with food items, namely seafood consumption. Increased urine levels of Co, Ni, Ba and Pb were observed in children living near to streets with dense traffic. Tobacco consumption showed significant positive associations with V.

Table 1 Socio-demographic characteristics of the Asturias cohort.

Variables	N (%)	Total
<i>Sex</i>		
Boys	52	254
Girls	48	231
<i>Social class</i>		
I+II	32	156
III	22	107
IV+V	46	221
<i>Number of brothers</i>		
0	45	181
1	50	200
2	4	17
3	1	3
<i>Physical exercise</i>		
Sedentary	5	18
Moderately active	77	246
Very active	18	57
<i>Tobacco use in the family</i>		
No smokers	65	299
Mother or father smoking	35	157
<i>Urban traffic intensity</i>		
Continuous high traffic	38	120
Episodic high traffic	15	49
Low	47	148

Table 2 Descriptive statistics of metal concentrations in urine (a, ng/mL; b, µg/g creatinine).

Metal	N	% detection	Mean (SD)	P50	P25	P90	Range (min-max)
V	319	98	27 (19) ^a	23 ^a	12 ^a	56 ^a	nd-90 ^a
			70 (63) ^b	54 ^b	26 ^b	150 ^b	nd-490 ^b
Co	334	84	0.66 (0.66)	0.48	0.27	1.4	0.10-5.8
			1.3 (0.96)	1.0	0.67	2.4	0.15-7.5
Ni	299	97	2.3 (1.9)	1.7	1.0	4.3	0.030-12
			4.9 (4.9)	3.8	2.5	9.6	0.13-48
Cu	334	99	12 (14)	11	7.0	19	0.070-230
			26 (25)	22	18	36	0.29-323
Zn	334	100	308 (208)	262	173	560	2.7-1421
			643 (378)	588	410	1062	16-2878
As	334	99	61 (155)	29	17	104	0.10-1924
			137 (384)	64	35	226	0.65-4985
Se	334	99	25 (14)	23	14	41	0.10-135
			51 (26)	49	37	76	0.83-291
Mo	334	100	60 (37)	56	28	110	0.45-281
			123 (69)	110	77	195	3.8-600
Cd	334	22	0.14 (0.073)	0.10	0.10	0.25	0.10-0.53
			0.33 (0.22)	0.27	0.19	0.60	0.069-1.5
Sb	254	98	0.62 (1.1)	0.51	0.35	1.0	nd-17
			1.7 (6.0)	1.0	0.77	2.6	nd-95
Cs	334	100	7.8 (7.3)	6.8	4.6	13	0.80-108
			17 (14)	14	11	27	1.5-168
Ba	334	80	1.9 (5.1)	1.3	0.32	3.3	0.06-85
			3.8 (6.8)	2.6	1.0	7.4	0.069-99
Tl	334	69	0.32 (0.29)	0.26	0.10	0.52	0.10-2.21
			0.72 (0.76)	0.55	0.39	1.1	0.069-7.4
Pb	334	99	1.0 (0.77)	0.87	0.54	1.8	nd-6.2
			2.4 (2.5)	1.9	1.2	3.7	nd-22

Table 3 Univariate modelling of the studied metal concentrations in urine of 4 year old children with different covariates.

	V	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se
<i>Food items</i>							
Dairy products	-0.024 (-0.00027, 0.00018)	0.10 (-0.000057, 0.00023)	0.012 (-0.00013, 0.00016)	-0.087 (-0.00020, 0.000022)	0.015 (-0.000091, 0.00012)	-0.14 (-0.00042, -0.000056)**	-0.032 (-0.013, 0.0072)
Eggs	0.052 (-0.0057, 0.016)	-0.016 (-0.0063, 0.0047)	-0.024 (-0.0079, 0.0052)	-0.014 (-0.0060, 0.0046)	0.018 (-0.0042, 0.0058)	0.061 (-0.0037, 0.013)	0.033 (-0.34, 0.63)
White meat	0.083 (-0.0017, 0.012)	0.015 (-0.0032, 0.0042)	0.048 (-0.0025, 0.0061)	0.045 (-0.0021, 0.0050)	-0.050 (-0.0048, 0.0018)	-0.061 (-0.0088, 0.0025)	0.016 (-0.27, 0.37)
Red meat	0.12 (0.00044, 0.010)*	-0.024 (-0.0032, 0.0021)	0.18 (0.0019, 0.0081)**	-0.011 (-0.0028, 0.0023)	-0.063 (-0.0038, 0.0010)	0.043 (-0.0025, 0.0057)	-0.036 (-0.31, 0.16)
Lean fish	0.17 (0.0026, 0.13)**	0.0087 (-0.0022, 0.0026)	0.027 (-0.0021, 0.0034)	0.0034 (-0.0022, 0.0024)	0.021 (-0.0017, 0.0026)	0.15 (0.0014, 0.0087)**	-0.018 (-0.24, 0.17)
Fatty fish	0.0093 (-0.0054, 0.0064)	-0.032 (-0.0041, 0.0022)	-0.00058 (-0.0038, 0.0037)	0.014 (-0.0027, 0.0034)	0.012 (-0.0026, 0.0032)	0.16 (0.0025, 0.012)**	-0.011 (-0.31, 0.25)
Shellfish	0.16 (0.0047, 0.026)**	0.091 (-0.00096, 0.011)	0.13 (0.00091, 0.015)*	-0.0096 (-0.0061, 0.0051)	0.024 (-0.0041, 0.0065)	0.10 (-0.00050, 0.017)	0.058 (-0.24, 0.78)
Vegetables	0.069 (-0.00057, 0.0024)	0.083 (-0.00019, 0.0014)	0.055 (-0.00050, 0.0014)	-0.090 (-0.0014, 0.00013)	-0.040 (-0.0010, 0.00046)	0.047 (-0.00071, 0.0018)	-0.13 (-0.15, -0.013)*
Fruit	-0.032 (-0.00067, 0.00037)	-0.084 (-0.00049, 0.000064)	0.11 (-0.000026, 0.00063)	-0.13 (-0.00060, -0.000064)*	0.018 (-0.00021, 0.00029)	0.042 (-0.00026, 0.0006)	-0.10 (-0.047, 0.0019)
Nuts	-0.010 (-0.015, 0.012)	0.12 (0.00096, 0.015)*	0.089 (-0.0020, 0.016)	-0.032 (-0.0090, 0.0050)	-0.042 (-0.0091, 0.0041)	0.037 (-0.0074, 0.015)	-0.085 (-1.1, 0.14)
Legumes	0.074 (-0.0016, 0.0081)	0.041 (-0.0016, 0.0035)	-0.022 (-0.0036, 0.0025)	-0.11 (-0.0048, 0.000038)	-0.087 (-0.0041, 0.00045)	-0.018 (-0.0046, 0.0033)	-0.17 (-0.57, -0.14)**
Pasta/cereal	-0.057 (-0.0040, 0.0013)	0.079 (-0.00040, 0.0025)	0.13 (0.00020, 0.0036)*	0.079 (-0.00095, 0.0018)	0.034 (-0.00095, 0.0018)	0.055 (-0.0011, 0.0034)	-0.045 (-0.18, 0.074)
Potatoes	0.055 (-0.0016, 0.0046)	0.059 (-0.00077, 0.0026)	0.086 (-0.00050, 0.0034)	0.0054 (-0.0015, 0.0017)	-0.048 (-0.0022, 0.00085)	-0.027 (-0.0023, 0.0020)	0.017 (-0.12, 0.17)
Bread	0.027 (-0.0011, 0.0018)	-0.026 (-0.00094, 0.00058)	-0.066 (-0.0014, 0.00040)	0.037 (-0.00048, 0.00097)	0.015 (-0.00059, 0.00078)	-0.021 (-0.0014, 0.00095)	0.010 (-0.060, 0.073)
Sweets	-0.017 (-0.0030, 0.0022)	0.16 (0.00066, 0.0034)**	-0.040 (-0.0023, 0.0011)	0.10 (-0.000085, 0.0030)	0.087 (-0.00026, 0.0023)	-0.011 (-0.0024, 0.0020)	0.037 (-0.081, 0.17)
<i>Tobacco consumption</i>							
Parents smoke	0.11 (-0.0083, 0.25)	-0.025 (-0.085, 0.054)	0.066 (-0.037, 0.13)	-0.030 (-0.092, 0.053)	-0.044 (-0.088, 0.038)	-0.080 (-0.19, 0.030)	-0.11 (-0.12, -0.081)*
<i>Traffic</i>							
Distance between home to streets with constant high traffic	-0.065 (-0.00024, 0.000068)	-0.13 (-0.00018, -0.000015)*	-0.15 (-0.00057, -0.00007)*	0.024 (-0.000071, 0.00011)	-0.082 (-0.00013, 0.000021)	-0.079 (-0.00023, 0.000041)	0.087 (-0.0019, 0.014)

Beta coefficients (95 % confidence interval) between log-transformed concentrations of each metal

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

Table 3 continued. Univariate modelling of the studied metal concentrations in urine of 4 year old children with different covariates.

Predictor variable	Mo	Cd	Sb	Cs	Ba	Tl	Pb
<i>Food items</i>							
Dairy products	0.050 (-0.014, 0.039)	0.017 (-0.000082, 0.00011)	0.059 (-0.000071, 0.00020)	-0.043 (-0.00012, 0.00052)	-0.0052 (-0.00024, 0.00022)	-0.019 (-0.00014, 0.000099)	-0.014 (-0.00015, 0.000011)
Eggs	0.15 (0.50, 3.0)**	0.17 (0.0024, 0.011)**	0.087 (-0.0020, 0.011)	0.098 (-0.00038, 0.0077)	0.044 (-0.0063, 0.015)	0.032 (-0.0039, 0.0072)	-0.046 (-0.0087, 0.0036)
White meat	0.024 (-0.66, 1.0)	-0.0093 (-0.0033, 0.0028)	-0.097 (-0.0074, 0.00095)	0.023 (-0.0021, 0.0033)	-0.024 (-0.0086, 0.0055)	-0.070 (-0.0061, 0.0013)	-0.020 (-0.0048, 0.0033)
Red meat	0.039 (-0.39, 0.82)	0.081 (-0.00056, 0.0038)	0.070 (-0.0013, 0.0047)	0.024 (-0.0015, 0.0024)	0.13 (0.0012, 0.011)*	0.0039 (-0.0026, 0.0028)	0.067 (-0.0011, 0.0048)
Lean fish	0.024 (-0.42, 0.66)	-0.083 (-0.0035, 0.00046)	-0.060 (-0.0049, 0.0017)	0.0021 (-0.0017, 0.0018)	0.023 (-0.0036, 0.0055)	-0.013 (-0.0027, 0.0021)	-0.18 (-0.0069, -0.0016)**
Fatty fish	0.050 (-0.39, 1.1)	0.049 (-0.0015, 0.0038)	0.067 (-0.0017, 0.0055)	-0.0016 (-0.0024, 0.0023)	0.095 (-0.00075, 0.011)	0.095 (-0.00041, 0.0060)	0.030 (-0.0026, 0.0045)
Shellfish	-0.0082 (-1.4, 1.23)	0.063 (-0.0021, 0.0076)	0.11 (-0.00082, 0.013)	0.088 (-0.00080, 0.0078)	0.19 (0.0080, 0.030)**	0.097 (-0.00064, 0.011)	0.093 (-0.00093, 0.012)
Vegetables	-0.031 (-0.24, 0.13)	0.021 (-0.00054, 0.00080)	0.17 (0.00032, 0.0021)**	0.024 (-0.00046, 0.00073)	0.13 (0.0026, 0.0033)*	0.063 (-0.00035, 0.0013)	0.039 (-0.00058, 0.0012)
Fruit	-0.055 (-0.096, 0.032)	0.017 (-0.00020, 0.00027)	-0.058 (-0.00049, 0.00018)	-0.00049 (-0.00021, 0.00020)	0.059 (-0.00024, 0.00083)	0.0049 (-0.00027, 0.00030)	-0.069 (-0.00051, 0.00011)
Nuts	-0.029 (-2.1, 1.2)	-0.070 (-0.0099, 0.0022)	0.025 (-0.0065, 0.0097)	-0.050 (-0.0078, 0.0029)	0.052 (-0.0073, 0.021)	-0.0088 (-0.0080, 0.0068)	0.052 (-0.0043, 0.012)
Legumes	-0.014 (-0.65, 0.51)	-0.039 (-0.0029, 0.0014)	-0.058 (-0.0044, 0.0016)	-0.076 (-0.0032, 0.00056)	0.0058 (-0.0046, 0.0051)	-0.016 (-0.0029, 0.0022)	-0.15 (-0.0066, -0.00097)**
Pasta/cereal	0.12 (0.044, 0.70)*	0.0088 (-0.0011, 0.0013)	-0.042 (-0.0022, 0.0011)	-0.021 (-0.0013, 0.00086)	0.0067 (-0.0026, 0.0029)	0.0065 (-0.0014, 0.0016)	0.049 (-0.00089, 0.0023)
Potatoes	0.0080 (-0.35, 0.41)	-0.062 (-0.0022, 0.0006)	-0.020 (-0.0024, 0.0018)	-0.013 (-0.0014, 0.0011)	0.082 (-0.00080, 0.0056)	0.022 (-0.0014, 0.0020)	-0.0025 (-0.0019, 0.0018)
Bread	0.040 (-0.11, 0.24)	0.029 (-0.00046, 0.00080)	0.052 (-0.00051, 0.0012)	-0.057 (-0.00085, 0.00027)	-0.010 (-0.0020, 0.0013)	-0.098 (-0.0015, 0.000072)	-0.049 (-0.0012, 0.00047)
Sweets	-0.000041 (-0.32, 0.32)	-0.00084 (-0.0012, 0.0012)	-0.019 (-0.0018, 0.0013)	0.026 (-0.00079, 0.0013)	-0.030 (-0.0034, 0.0020)	0.012 (-0.0013, 0.0016)	0.023 (-0.0012, 0.0019)
<i>Tobacco consumption</i>							
Parents smoke	-0.033 (-21, 11)	0.039 (-0.037, 0.078)	0.0047 (-0.078, 0.084)	-0.054 (-0.078, 0.027)	-0.056 (-0.20, 0.066)	-0.0049 (-0.075, 0.069)	0.025 (-0.061, 0.097)
<i>Traffic exposure</i>							
Distance between home to streets with constant high traffic	-0.036 (-0.026, 0.014)	-0.036 (-0.000092, 0.000048)	-0.081 (-0.00014, 0.000034)	0.034 (-0.000045, 0.000084)	-0.17 (-0.00040, 0.000078)**	-0.032 (-0.00011, 0.000063)	-0.14 (-0.00020, -0.000019)*

Beta coefficients (95 % confidence interval) between log-transformed concentrations of each metal

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

Table 4 Multivariate modelling of the urine metal concentrations in 4 year old children and different variables of exposure.

Metal	Predictor variable		Metal	Predictor variable		
V	White meat	0.063 (-0.0034, 0.011)	Se	Vegetables	-0.089 (-0.14, 0.019)	
	Red meat	0.047 (-0.0032, 0.0074)		Fruit	-0.070 (-0.043, 0.011)	
	Lean fish	0.14 (0.00084, 0.012)*		Legumes	-0.16 (-0.57, -0.094)**	
	Fatty fish	-0.041 (-0.0082, 0.0039)		Parents smoke	-0.088 (-12, 1.6)	
	Shellfish	0.14 (0.0028, 0.025)*		Traffic exposure ^a	0.084 (-0.0021, 0.013)	
	Legumes	0.024 (-0.0040, 0.0061)		Mo	Eggs	0.15 (0.51, 3.0)**
	Parents smoke	0.12 (0.0067, 0.27)*			Pasta/cereal	0.11 (-0.017, 0.67)*
Co	Dairy products	0.032 (-0.000099, 0.00016)	Cd	Eggs	0.18 (0.0031, 0.012)***	
	Seafood	0.18 (0.0024, 0.014)**		Red meat	0.067 (-0.00082, 0.0035)	
	Vegetables	0.066 (-0.00045, 0.0014)		Lean fish	-0.11 (-0.0039, 0.0000083)	
	Fruit	-0.051 (-0.00043, 0.00018)	Sb	Eggs	0.11 (-0.0017, 0.013)	
	Nuts	0.10 (-0.0014, 0.015)		White meat	-0.14 (-0.0098, -0.00011)*	
	Pasta/cereal	0.079 (-0.00059, 0.0026)	Shellfish	0.071 (-0.0034, 0.011)		
	Sweets	0.13 (0.00014, 0.0033)*	Vegetables	0.12 (-0.000098, 0.0018)		
Traffic exposure ^a	-0.13 (-0.00016, 0.000055)*	Traffic exposure ^a	-0.042 (-0.00012, 0.000061)			
Ni	Red meat	0.16 (0.00088, 0.0076)*	Cs	Eggs	0.11 (0.00023, 0.0082)*	
	Fruit	0.028 (-0.00025, 0.00041)		Shellfish	0.11 (-0.000069, 0.0085)	
	Nuts	0.011 (-0.0086, 0.010)		Legumes	-0.11 (-0.0037, 0.000042)	
	Pasta/cereal	0.17 (0.00062, 0.0041)**	Ba	Red meat	0.091 (-0.0013, 0.010)	
	Potatoes	0.060 (-0.0011, 0.0030)		Fatty fish	0.049 (-0.0037, 0.0091)	
	Parents smoke	0.059 (-0.043, 0.13)	Shellfish	0.16 (0.0050, 0.028)**		
	Traffic exposure ^a	-0.14 (-0.00052, -0.000037)*	Vegetables	0.073 (-0.00060, 0.0026)		
Cu	Dairy products	-0.088 (-0.00021, 0.000023)	Potatoes	0.083 (-0.00097, 0.0058)		
	Vegetables	-0.032 (-0.0010, 0.00058)	Traffic exposure ^a	-0.14 (-0.00035, -0.000033)*		
	Fruit	-0.12 (-0.00058, -0.000034)*	Tl	Fatty fish	0.073 (-0.0011, 0.0053)	
	Legumes	-0.090 (-0.0045, 0.00042)		Seafood	0.088 (-0.0012, 0.011)	
	Sweets	0.10 (-0.000097, 0.0026)	Bread	-0.094 (-0.0014, 0.00010)		
Zn	Legumes	-0.088 (-0.0040, 0.00054)	Pb	Lean fish	-0.15 (-0.0063, -0.00083)*	
	Pasta/cereal	0.15 (0.00043, 0.0031)**		Shellfish	0.14 (0.0014, 0.015)*	
	Sweets	0.13 (0.00015, 0.0027)*		Legumes	-0.091 (-0.0052, 0.00070)	
	Traffic exposure ^a	-0.087 (-0.00013, 0.000018)		Traffic exposure ^a	-0.14 (-0.00020, -0.000021)*	
As	Dairy products	-0.16 (-0.00048, -0.000079)**				
	Lean fish	0.12 (0.000036, 0.0079)*				
	Fatty fish	0.14 (0.0010, 0.012)*				
	Shellfish	0.075 (-0.0033, 0.016)				
	Nuts	0.042 (-0.0080, 0.017)				
	Parents smoke	-0.059 (-0.17, 0.055)				
	Traffic exposure ^a	-0.061 (-0.00020, 0.000063)				

Beta coefficients (95 % confidence interval) between log-transformed concentrations of each metal (concentrations in mg/l creatinine). All models were adjusted by body mass index and sex.

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

a= Distance from home to a street with constant high traffic

Table 5 Comparison of the concentrations of urinary metals in children from the present study with others reported worldwide. Data expressed in median, [$\mu\text{g/g}$ creatinine] or ng/mL .

Location	Age	Year	N	V	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Mo	Cd	Sb	Cs	Ba
This study	4 years	2009-2012	334	[54] 23	[1.0] 0.48	[3.8] 1.7	[22] 11	[588] 262	[64] 29	[49] 23	[110] 56	[0.27] 0.10	[1.0] 0.51	[14] 6.8	[2.6] 1.3
Mexico	8-14 years	2010	250		0.78	8.7		403	14.5		52	0.14			2.9
Uruguay	6-8 years	2009-2013	211						9.6			0.06			
Iran	6-9 years	2015	184	[0.06]		[0.66]			[2.0]			[0.32]			
China	2-12 years	-	210	[1.8]					[12]						[27]
Italy	5-11 years	2007-2008	110	0.78	0.96	6.84	38	572				0.35	0.074	3.0	
Valencia region	6-11 years	2010	125	[0.25]	[1.4]	[3.8]	[34]	[522]	[28]	[56]	[65]	[0.18]	[0.092]	[5.1]	[2.1]
Huelva (Spain)	5-17 years	2003-2004	227			[1.5]	[12]		[1.8]			[0.49]			
United States	6-11 years	2009-2010	378		[0.57]				[7.4]		[89]	[0.080]	[0.090]	[5.6]	[2.0]

4. Discussion

4.1. Metal distribution

The concentrations of urine metals in the Avilés children were found in the following descending order: Zn, Mo, As, V, Se, Cu, Cs, Ni, Ba, Pb, Sb, Co, Tl and Cd (Table 2). Overall, the observed trace metal levels were higher than in some previous studies on children populations, such as in 6-9 year old children from Iran (Kafaei et al., 2017), 6-11 year old children from United States (NHANES report, 2013) but similar than those reported in 8-14 year old children from Mexico (Lewis et al., 2014) and 6-11 year old children from Spain (Roca et al., 2016) (Table 5). The main differences were found in As levels, that were 32, 9 and 5 times higher than those observed in Iran (Kafaei et al., 2017), the United States (NHANES report, 2013) and China (Zhang et al., 2017), respectively.

It is known that the main sources of metal exposure are diet, atmospheric pollution originated from vehicle traffic or industry, drinking water and smoking. The contribution of these potential variables are described in the following sections. Drinking water was examined and no statistically significant associations were found in our population. Therefore, was not included as a predictor variable.

4.2. Diet

Exposure to vanadium has been associated with numerous adverse health outcomes, such as carcinogenicity, neurotoxicity and immunotoxicity (Zwolak et a., 2014) being diet its main exposure source. Their safe and adequate limit of intake is still unknown (Imtiaz et al., 2015). In the present

study higher consumption of red meat has been significant associated in univariate analysis with higher V levels while consumption of lean fish and shellfish was significantly associated in both analyses. This in accordance with another study conducted in Spain in children (6-11 year old) which also found a relation between urine V and consumption of fish (Pérez et al., 2018).

Cobalt is an essential element of the human body and a component of vitamin B12. This vitamin has several functions in the body and its deficiency causes a wide range of hematological, gastrointestinal, psychiatric and neurological disorders (Briani et al., 2013). The main source of Co exposure for humans is diet. In the present study the Co concentrations were correlated with nuts and sweets in the univariate analysis (Table 3) and sweets and seafood in multivariate analyses (Table 4).

Nickel is also an essential trace metal for at least several animal species and microorganisms but no requirement for this metal has been demonstrated in humans (Cempel and Nikel, 2006). Dietary sources are considered to be the primary route of Ni exposure for the non-smoking general population. In animals, only 1-10 % of the dietary Ni is absorbed by the gastrointestinal tract (Cempel and Nikel, 2006). Rich food sources of Ni include oat meal, dried beans, dried peas, nuts, dark chocolate and soya products. In the present study, a positive correlation was found between red meat, pasta, cereals (in both analyses) and shellfish (in univariate analysis) and urine Ni levels (Table 3 and 4).

Copper is an essential element and it is present in a seafood, cereal and meat (ATSDR, 2004). However, the present study no positive significant association was observed between urine Cu concentrations and food item consumption.

Zinc is an essential element. Among other functions it is required for cell division and the synthesis of DNA and protein (Gupta and Gupta, 2014). In the present study, the main dietary sources of this metal were pasta, cereal and sweets (Table 4). It has been described that a wide variety of foods are sources of Zn including cereals, nuts and meats (IOM, 2001).

The main route of exposure to arsenic is diet, specially seafood consumption. The two types of fish considered in the present study (lean and fatty fish) were significantly associated with higher urinary arsenic concentrations in both analyses (Table 3 and 4). Conversely, dairy products showed a significant negative association with As levels also in both analysis (Table 3 and 4).

Selenium is an essential trace metal in humans and the constituent of several selenoproteins. Deficiency of Se in human diet causes growth retardation, impaired bone metabolism and abnormalities in thyroid function (Reeves and Hoffman, 2009). Dietary intake of Se varies depending on the local concentration. The richest sources of Se are seafood, meats, grains or plants grown in rich-Se soils (Gupta and Gupta 2017). Fruits and vegetables contain this metal in low quantities. In the present study, higher consumption of legumes (in both analyses) and vegetables (in the univariate analyses) were significantly correlated with a negative significant association of this element (Table 3 and 4) which may be explained by the low Se content in the soils where these consumed vegetables were grown.

Molybdenum is an essential element whose main source is diet. Legumes such as beans, lentils and peas are the richest sources of this metal. Conversely, animal products, fruits and many vegetables are generally low in Mo (Osorio-Yáñez et al., 2018). In the present study, positive significant

correlations between the consumption of pasta, cereal and eggs were observed for the concentrations of this metal (Table 3 and 4).

Cadmium is one of the most toxic metals. This metal is a well-known human carcinogen and it is widely distributed at low levels in the environment. The two main sources of Cd exposure of the general population are diet and smoking. In the present study, positive significant association with consumption of eggs was found. This is in accordance with a previous study where they found detectable levels of Cd in this food item (Zhang et al., 2019).

Antimony is mainly present in two forms, antimony trioxide (Sb_2O_3) and antimony trisulfide (Sb_2S_3) being the first toxic for humans. Exposure to Sb has been associated with DNA damage in occupational studies (Cavallo et al., 2002). In contrast to most metals, dietary apportion of Sb is scarce. Furthermore, the absorption in the gastrointestinal tract is slower than in the respiratory tract. Therefore, inhalation is the main route. This is in accordance with the results of the present study in which no dietary constituent was positively associated with Sb levels. Conversely, significant negative associations between Sb levels and consumption of vegetables and white meat were observed in the univariate and multivariate analyses, respectively (Table 3 and 4).

Cesium toxicity has been rarely reported in animals. Its levels in the environment are low and therefore only population living close to a Cs production industry or mines are exposed to high levels. In the present study only eggs consumption showed a significant positive association with Cs levels in multivariate analysis (Table 4).

Barium is not considered an essential human nutrition element. General population is exposed to Ba through consumption of drinking water and food. However, its content in most foods is relatively low (<3 mg/100 g), being bread the largest source of dietary Ba for the general population (US EPA, 2005). In the univariate model of the present study, significant positive associations between red meat, shellfish and vegetables and Ba levels were found but only an association with shellfish was retained in the multivariate analysis (Table 3 and 4).

Thallium is one of the most toxic metals for mammals. However, the current limited industrial uses of this metal are unlikely to pose a threat to the human health. In the present study, Tl was not associated with any food item.

Exposure to Pb is associated with learning disability, reduced growth or height in children and delayed puberty (Watanabe et al., 2000; NTP, 2012). In the present study, the dietary associations of this metal are ambiguous as in the multivariate model is negatively associated with lean fish consumption but positively with consumption of shellfish (Table 4).

4.2.1. Influence of seafood consumption in arsenic exposure

Descriptive statistics of arsenic is shown in Table 2. Arsenic median concentration was 64 µg/g creatinine and it was above the limit of detection in 99% of the urine samples (Table 2). The arithmetic mean values (standard deviation, SD) of seafood consumption in children included in the study were: 18 (13) g/day for lean fish, 14 (10) g/day for fatty fish and 5.9 (5.5) g/day for shellfish.

In the univariate models, significant positive associations to arsenic levels with lean and fatty fish consumption were observed ($p < 0.001$; Table 5). No significant associations were found for shellfish ($p = 0.064$). The results of multivariate models considering maternal characteristics, diet and environmental exposures also found a positive relation between arsenic levels and lean and fatty fish consumption ($p < 0.05$; Table 4).

The As urine levels found in the children of the Asturias cohort were much higher than those reported in most previous studies worldwide in children, such as from Mexico (Lewis et al., 2018), Uruguay (Kordas et al., 2018), Iran (Kfaei et al., 2017), China (Zhang et al., 2017) and United States (NHANES report, 2013) (Table 5).

Arsenic can be found in both organic and inorganic forms. Inorganic arsenic has been classified as carcinogenic to humans (Group I). The major form of seafood arsenic is arsenobetaine $[(\text{CH}_3)_3\text{As}+\text{CH}_2\text{COO}^-]$. This compound is harmless, metabolically inert and rapidly excreted by urine after seafood ingestion (Fort et al., 2013). The observed As levels are unlikely to pose a threat for children health.

4.3. Tobacco consumption

As, Cd, Co, Pb, Ni and Se are included in the FDA list of harmful and potentially harmful constituents (HPHCs) in tobacco products and tobacco smoke (FDA, 2017). Other elements have also been considered toxic by the Agency for Toxic Substances and Disease Registry such as V, Zn and Cu (ASTDR, 2016).

In the present study, the only significant positive relation between parent's smoking habits and metal urine concentration in children has been observed

for V (Table 4). This association was also found in a multiple regression analysis in a previous study in children (5-11 years old) when cohabitants smoked at home (Protano et al., 2016).

A significant association between Se and tobacco consumption of children's parents has also been observed in the regression univariate analysis (Table 3). Higher exposure to tobacco involved lower levels of Se. Although tobacco plants and cigarette smoke contain Se, smoking has been shown to reduce blood Se levels (Kafai and Ganji, 2003; Lloyd et al., 1983). Interestingly, Se has been reported to act as a protective agent for cancers and heart disease.

4.4. Traffic

Emissions related from traffic encompass a wide range of metals that originate on vehicles, and also on the road infrastructure, including asphalt (Ni, Cd, Cr, Cu, Pb, Zn and V), battery corrosion and leakage (Ni, Hg, and Pb), fuel (Ni, As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb and Zn), brake wear (Ba, Cu, Pb, and Zn), engine oil (Cd, Cr, Cu, Ni and Zn), corrosion of galvanized structures (Cd, Cu, and Zn), interior lighting and headlights (Hg) and tire wear (Co, Ni, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb and Zn; Bernardino et al., 2019; Kumar et al., 2018). In the present study, children living near street with dense traffic showed significant positive associations with Co, Ni, Ba and Pb in univariate and multivariate analysis (Table 3 and 4). Most previous studies have focused on the influence of traffic intensity and Pb exposure (Bai et al., 2019). The observed associations in Aviles suggest that lead is still related with traffic emissions despite the banning of this metal as additive to gasoline.

5. Conclusions

The results of the present study suggest that the industrial and human activity in the area have increased the trace metal exposure in the infant population. According to the univariate and multivariate models, dietary intake was the main source of metals exposure followed by traffic emissions.

Exposure to arsenic was basically related to seafood intake. Lean and fatty fish consumption were significantly associated with total urinary arsenic levels in both models, which is consistent with a lack of toxicity due to this metal as in fish it is in the form of organic constituents.

Acknowledgements

The authors would particularly like to thank all the participants for their generous collaboration and the staff from Hospital San Agustín in Avilés for their effort. This study was funded by grants from CIBERESP, FIS-FEDER (PI04/2018, PI09/02311, PI13/02429, PI18/00909), Obra Social Cajastur/Fundación Liberbank and Oviedo University. This paper was also supported by funding from the European Union projects: Neurosome (H2020-MSCA-ITN-2017_SEP-210411486) and EDC-MET (H2020-HEALTH/0490-825762).

References

Aguilera, I., Daponte, A., Gil, F., Hernández, A.F., Godoy, P., Pla, A., Ramos, J.L.; DASAHU group, Daponte, A., Aguilera, I., Fernández-Ajuria, A., Toro, S., Martín-Olmedo, P., Lacasaña, M., Mayoral, J.M., Pla, A., Gil, F., Hernández, A., Villanueva,

- E., Rodrigo, L., de Santiago, E., López, O., Ramos, J.L., Godoy, P., Sánchez-Parra, F. 2010. Urinary levels of arsenic and heavy metals in children and adolescents living in the industrialised area of Ria of Huelva (SW Spain). *Environ Int.* 36,563-9.
- Andrade, V.M., Aschner, M., Marreilha dos Santos, A.P. 2017. Neurotoxicity of metal mixtures. *Adv Neurobiol.* 18, 227–265.
- ATSDR, 2016. ATSDR's Substance Priority List.
- ATSDR, 2008. Toxicological Profile for Cadmium (Draft). Agency for Toxic Substances and Disease Registry; U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA.
- ATSDR. 2004. Toxicological Profile for Copper, Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Public Health Service.
- Bai, Y., Laenen, A., Haufroid, V., Nawrot, T.S., Nemery, B. Urinary lead in relation to combustion-derived air pollution in urban environments. A longitudinal study of an international panel. *Environ Int.* 125, 75–81.
- Briani, C., Torre, C. D., Citton, V., Manara, R., Pompanin, S., Binotto, G., Adami, F. 2013. Cobalamin Deficiency: Clinical Picture and Radiological Findings. *Nutrients.* 5, 4521-4539.
- Bernardino, C.A.R, Mahler, C.F., Santelli, R.E., Aline, Freire, A.S., Braz, B.F., Novo, L.A.B. 2019. Metal accumulation in roadside soils of Rio de Janeiro, Brazil: impact of traffic volume, road age, and urbanization level. *Environ Monit Assess.* 191, 156.
- Castillo, S., Moreno, T., Querol, X., Alastuey, A., Cuevas, E., Herrmann, L., Mounkaila., M., Gibbons, W. 2008. Trace element variation in size-fractionated African desert dusts. *J. Arid Environ.* 72,1034–1045.
- Cavallo, D., Iavicoli, I., Setini, A., Marinaccio, A., Perniconi, B., Carelli, G., Iavicoli, S. 2002. Genotoxic Risk and Oxidative DNA Damage in

- Workers Exposed to Antimony Trioxide. *Environ Mol Mutagen.* 40, 184–189.
- Cempel, M., Nickel, G. 2006. Nickel: A Review of Its Sources and Environmental Toxicology. *Polish J of Environ Stud.* 15, 375–382.
- Centers for Disease Control and Prevention, 2009. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals (February). U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA.
- FDA. 2017. U.S. Food & Drug Administration - Harmful and Potentially Harmful Constituents (HPHCs). U.S. Food & Drug Administration.
- Fort, M. Grimalt, J.O., Casas, M., Sunyer, S., 2014. Food sources of arsenic in pregnant Mediterranean women with high urine concentrations of this metalloid. *Environ Sci Pollut Res.* 21, 11689–11698.
- Gallego, J., L.R. Ordóñez, A., Loredó, J. 2002. Investigation of trace element sources from an industrialized area (Avilés, northern Spain) using multivariate statistical methods. *Environ Int.* 27, 589–596.
- Gupta, U.C. and Gupta, S.C. 2014. Sources and Deficiency Diseases of Mineral Nutrients in Human Health and Nutrition: A Review. *Pedosphere.* 24, 13–8.
- Gupta, M and Gupta, S. 2017. An overview of Selenium uptake, metabolism, and toxicity in Plants. *Front Plant Sci.* 7, 2014.
- Guxens, M., Ballester, F., Espada, M., Fernandez, M.F., Grimalt, J.O., Ibarluzea, J., Olea, N., Rebagliato, M., Tardon, A., Torrent, M., Vioque, J., Vrijheid, M., Sunyer J. on behalf of the INMA Project. 2012. Cohort Profile: The INMA—INfancia y Medio Ambiente—(Environment and Childhood) Project. *Int. J. Epidemiol.* 41, 930–940.
- Horton, L. M., Mortensen, M. E., Iossifova, Y., Wald, M. M., Burgess, P. 2012. What Do We Know of Childhood Exposures to Metals (Arsenic,

- Cadmium, Lead, and Mercury) in Emerging Market Countries?. *Int J Pediatr.* 2013, 872596.
- Imtiaz, M., Rizwan, M., S., Ziong, S., Li, H., Ashraf, M., Shahzad, S. M., Rizwan, M., Tu, S. 2015. Vanadium, recent advancements and research prospects: A review. *Environ Int.* 80, 79–88.
- IOM (Institute of Medicine). 2001. Dietary Reference Intakes for Vitamin a, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc: a Report of the Panel on Micronutrients. National Academy Press, Washington. 290–501.
- Järup, L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull.* 68, 167–182.
- Junqué, E., Garí, M., Llull, R.M., Grimalt, J. O. 2018. Drivers of the accumulation of mercury and organochlorine pollutants in Mediterranean lean fish and dietary significance. *Sci Total Environ.* 634, 170–180.
- Kafai, M., R. and Ganji, V. 2003. Sex, age, geographical location, smoking and alcohol consumption influence serum selenium concentrations in the USA: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *J Trace Elem Med Biol* Vol 17, 13–18.
- Kafaei, R., Tahmasbi, R., Ravanipour, M., Vakilabadi, D.R., Ahmadi, M., Omrani, A., Ramavandi, B. 2017. Urinary arsenic, cadmium, manganese, nickel, and vanadium levels of schoolchildren in the vicinity of the industrialised area of Asaluyeh, Iran. *Environ Sci Pollut Res Int.* 24, 23498-23507.
- Kordas, K., Roy, A., Vahter, M., Ravenscroft, J., Mañay, N., Peregalli, F., Martínez, G., Queirolo, EI. 2018. Multiple-metal exposure, diet,

- and oxidative stress in Uruguayan school children. *Environ Res.* 166,507-515.
- Krachler, M., Heisel, C., Kretzer, J.P. 2009. Validation of ultratrace analysis of Co, Cr, Mo and Ni in whole blood, serum and urine using ICPSMS. *J Anal At Spectrom.* 24, 605–610.
- Kumar, A., Elumalai, S.P. 2018. Influence of Road Paving on Particulate Matter Emission and Fingerprinting of Elements of Road Dust. *Arch Environ Contam Toxicol.* 75, 424–435.
- Lewis R.C., Meeker J.D., Basu N., Gauthier A.M., Cantoral A., Mercado-García A., Peterson K.E., Téllez-Rojo M.M., Watkins D.J. 2018. Urinary metal concentrations among mothers and children in a Mexico City birth cohort study. *Int J Hyg Environ Health.* 221, 609-615.
- Lloyd, B., Lloyd, R.S., Clayton, B.E. 1983. Effect of smoking, alcohol, and other factors on the selenium status of a healthy population. *J Epidemiol Community Health.* 37, 213–217.
- NHANES report. 2013. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals.
- NTP. 2012. Monograph on Health Effects of Low-level Lead. National Toxicology Program. U.S. Department of Health and Human Services.
- Osorio-Yáñez, C., Gelaye, B., Enquobahrie, D., A., Qiu, C., Williams, M., A. 2018. Dietary intake and urinary metals among pregnant women in the Pacific Northwest. *Environ Pollut.* 236, 680–688.
- Pérez. R., Doménech, E., Conchado, A., Sanchez, A., Coscollà, C., Yusà, V. 2018. Influence of diet in urinary levels of metals in a biomonitoring study of a child population of the Valencian region (Spain). *Sci Total Environ.* 618, 1647–1657.

- Protano, C., Astolfi, M. L., Canepari, S., Vitali, M. 2016. Urinary levels of trace elements among primary school-aged children from Italy: The contribution of smoking habits of family members. *Sci Total Environ.* 557–558, 378–385.
- Reeves, M.A., and Hoffman, P.R. 2009. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation. *Cell Mol Life Sci.* 66,2457–2478.
- Roca, M., Sánchez, A., Pérez, R., Pardo, O., Yusà, V. 2016. Biomonitoring of 20 elements in urine of children. Levels and predictors of exposure. *Chemosphere.* 144:1698–705.
- Tchounwou, P.B., Yedjou, C.G., Patlolla, A.K., Sutton, D.J. 2012. Heavy metals toxicity and the environment. *EXS* 101, 133–164.
- United States Environmental Protection Agency. 2005. Toxicological Review of Barium and Compounds. US EPA, EPA/635/R-05/001.
- Villarreal, V., Castro, M.J., 2016. Exposure to lead and other heavy metals: child development outcomes. *Pediatric Neurotoxicology.* 143–165.
- Watanabe, T., Zhang, Z.W., Qu, J.B., Gao, W.P., Jian, Z.K., Shimbo, S., Nakatsuka, H., Matsuda-Inoguchi, N., Higashikawa, K., Ikeda M. 2000. Background lead and cadmium exposure of adult women in Xian City and two farming villages in Shaanxi Province, China. *Sci Total Environ.* 247, 1–13.
- World Health Organization, 1996. Trace Elements in Human Nutrition and Health. World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland.
- Zhang, X. , Cui, X. , Lin, C. , Ma, J. , Liu, X. , Zhu, Y. 2017. Reference levels and relationships of nine elements in first-spot morning urine and 24-h urine from 210 Chinese children. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 220, 227-234.

Zhang, T., Ruan, J., Zhang, B., Lu, S., Gao, C., Huang, L., Bai, X., Xie, L., Gui, M., Qiu, R.L. 2019. Heavy metals in human urine, foods and drinking water from an e-waste dismantling area: Identification of exposure sources and metal-induced health risk. *Ecotoxicol Environ Saf.* 169, 707-713.

Zwolak, I., 2014. Vanadium carcinogenic, immunotoxic and neurotoxic effects: a review of in vitro studies. *Toxicol Mech Method.* 24, 1–12.

ARTICLE 4

Urinary cobalt and ferritin in four-years-old children

Eva Junqué, Joan O. Grimalt, Ana Fernández-Somoano i Adonina

Tardón

Environ Res. 2020 Apr 1;183. DOI: [10.1016/j.envres.2020.109147](https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109147)

ARTICLE 5

Changes of organochlorine compound concentrations in maternal serum during pregnancy and comparison to serum cord blood composition

Eva Junqué, Sergi Garcia, Maria Angeles Martinez, Joaquim Rovira, Marta Schuhmacher i Joan O. Grimalt

Environ Res. 2020 Mar 1;182. DOI: 10.1016/j.envres.2019.108994

5 Discussió

Els resultats d'aquesta tesi doctoral s'han discutit en els apartats de resultats i discussió corresponents a cada article. A continuació, es comenten els resultats més rellevants. Aquests s'amplien i s'integren per proporcionar una visió global dels resultats trobats en aquesta tesi sobre les vies d'exposició a compostos organoclorats i metalls durant la infància.

5.1 Exposició a través de la dieta

S'ha vist que la dieta és la font principal d'exposició en humans a la majoria dels contaminants ambientals. Per tant, és imprescindible una bona determinació i caracterització de les concentracions d'aquests compostos en els aliments si és vol avaluar el risc d'exposició.

A l'ARTICLE 1 i 2 s'han descrit i avaluat les concentracions de compostos organoclorats i mercuri en una àmplia varietat d'aliments, principalment en peixos del mar Mediterrani, però també en marisc, carn, fruita, vegetals, formatge i ous procedents de l'Illa de Menorca.

Nivells d'OCs i Hg

En les mostres de peix i marisc, la distribució dels compostos organoclorats ha estat dominada pel PCB-153, el 4,4'-DDE, el PCB-138 i el PCB-118 (amb medianes de 0.50, 0.36, 0.35 i 0.18 ng/g, respectivament) i deteccions del 100, 75, 95 i 91%, respectivament. Pel que fa al Hg, s'ha trobat en totes les mostres amb una mediana de 0.43 mg/kg.

En les mostres de carn, els compostos majoritaris han estat el PCB-118, el PCB-138, el PCB-153 i el 4,4'-DDE (medianes de 0.14, 0.14, 0.11 i 0.04, respectivament) detectats en totes les mostres excepte el 4,4'-DDE, que s'ha trobat en el 20%. El Hg s'ha detectat en el 40 % de les mostres amb una mediana de 0.10 mg/kg.

Els compostos predominants en les fruites i verdures han estat el PCB-138, PCB-118, PCB153 i 2,4'-DDE (medianes de 0.13, 0.12, 0.041 i 0.04, respectivament), que s'han trobat en totes les mostres. Per contra, el Hg no s'ha detectat en cap mostra.

Pel que fa als formatges, els compostos majoritaris han estat el PCB-138, el PCB-153, el PCB-118 i el PCB-180 (medianes de 0.22, 0.19, 0.12 i 0.07 ng/g, respectivament), trobats a totes les mostres, excepte el PCB-118 que s'ha trobat en el 67%. El Hg ha presentat una mediana de 0.15 mg/kg i s'ha detectat en totes les mostres.

Finalment, els compostos majoritaris en els ous han estat el PCB-153, PCB-138, PCB-118 i 4,4'-DDT (medianes de 0.14, 0.12, 0.12 i 0.04 ng/g, respectivament) detectats en el 50% de les mostres, excepte el 4,4'-DDT que s'ha trobat a totes (100%). El Hg no s'ha detectat en cap mostra.

En avaluar aquests components de la dieta destaquen els nivells alts de compostos organoclorats i, especialment de mercuri, en les mostres de peix en

comparació a la resta. Això posa en evidència que aquest aliment és una font potencial d'entrada d'aquests contaminants en els éssers humans. Aquesta dominància del peix respecte la resta d'aliments concorda amb resultats obtinguts en altres investigacions fetes a Europa, com per exemple a Suècia (Törnkvist *et al.*, 2011).

En general, les concentracions de compostos organoclorats trobades en els aliments d'aquest estudi han estat més baixes que les descrites en altres estudis arreu del món, tan a nivell català, p.e. a Tarragona (Martí-Cid *et al.*, 2010) com a nivell internacional, p.e. a Rússia (Polder *et al.*, 2010). Aquestes diferències poden ser conseqüència de l'aplicació del Conveni d'Estocolm, per la disminució de les emissions d'aquests compostos al medi ambient. La Unió Europea ha establert uns nivells màxims de PCBs (sent la suma total de PCB28, PCB52, PCB101, PCB138, PCB153 i PCB180) en peix (de 75 ng/g) i en carn (40 ng/g lípid) pel consum humà (EC, 2011). Totes les mostres de peix i carn analitzades per aquests compostos han estat molt per sota del límit establert.

Respecte al mercuri, els nivells trobats han estat semblants als descrits en els mateixos organismes del mar Adriàtic (Storelli i Barone, 2013), a la costa de Líbia (Banana *et al.*, 2016) i al mar Egeu (Yabanli i Alparslan, 2015). La Unió Europea també ha establert uns nivells màxims de mercuri en peix recomanats pel consum humà, de 0.5 mg/kg i de 1 mg/kg, depenent l'espècie de peix (EC, 2006). Del total de peixos capturats al mar Mediterrani en aquesta tesi doctoral (ARTICLE 1 i 2), el 50 % de les mostres han sobrepassat aquest límit (Figura 5.1). Els nivells més alts s'han trobat en mostres peix de gató, rap, anfós, rajada i déntol (3.8, 3.1, 3.0, 2.1, 2.0 mg/kg, respectivament).

En general, els estudis previs han focalitzat l'atenció en els peixos grans, migratoris i de tipus blau (p.e. la tonyina vermella, els taurons i el peix espasa) i les agències de seguretat alimentària han establert recomanacions sobre el consum d'aquestes espècies per minimitzar l'exposició al mercuri en infants. A

la literatura científica hi ha pocs estudis sobre el paper potencial dels peixos petits, no migratoris i de tipus blanc que consumeixen regularment els humans. Els resultats d'aquesta tesi posen en evidència que els peixos locals i blancs del mar Mediterrani també tenen concentracions altes de mercuri, superant alguns d'ells els límits màxims recomanats pel seu consum (Figura 5.1).

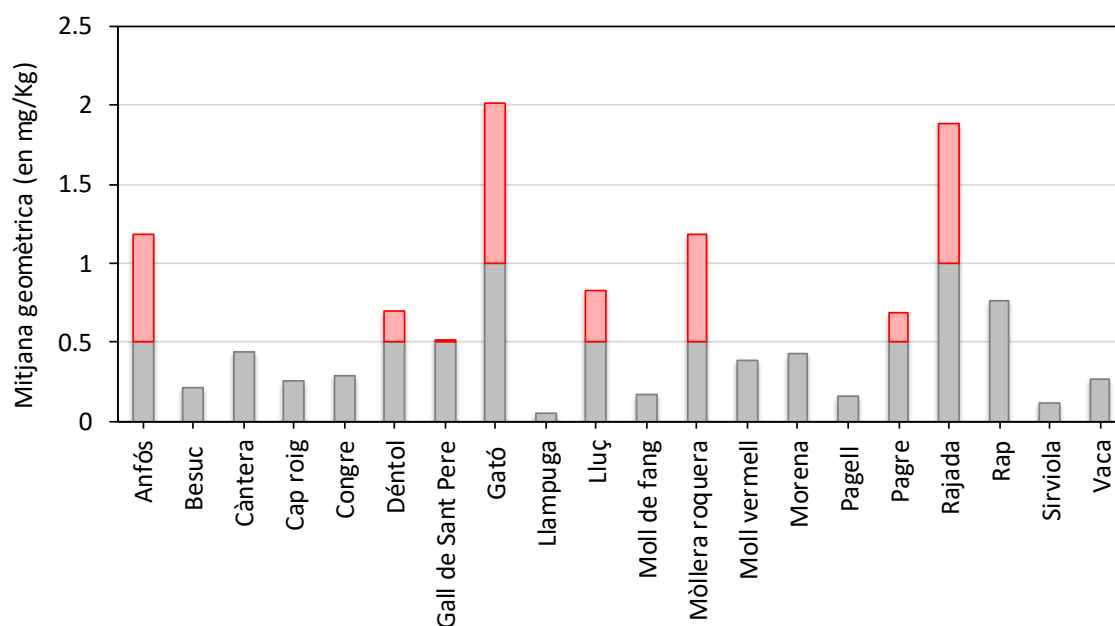


Figura 5.1 Concentracions de mercuri dels peixos capturats al Mediterrani (en mg/Kg). En vermell les concentracions per sobre dels límits recomanats per la Unió Europea (EC, 2006).

Influència de la ingesta de peix en l'exposició als compostos organoclorats i mercuri

Un dels objectius principals d'aquesta tesi ha estat avaluar les contribucions de cada grup d'aliments a la ingesta total de compostos organoclorats i de mercuri. A l'ARTICLE 1 s'han fet les estimacions per cada grup d'aliments en la cohort de Menorca dels infants de 4 anys. Pel que fa als compostos organoclorats, tal i com es pot observar a la Figura 3 d'aquest article, la via d'entrada principal és a través de la ingesta de peix, sobretot en el cas dels DDT's, PCBs i HCB (representant un 55, 32 i 32%, respectivament) seguit del consum de fruita,

especialment pels HCHs i el HCB (representant un 54 i 37%, respectivament). En el cas del mercuri, gairebé la totalitat prové de la ingesta de peix i marisc (representant un 76 i 17%, respectivament).

Als l'ARTICLEs 1 i 2 s'han comparat les estimacions d'ingesta d'aquests contaminants en poblacions diferents amb les ingestes tolerables establertes per l'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària pel mercuri i l'Organització Mundial de la Salut pels compostos organoclorats. En els dos estudis, els nivells de tots els compostos organoclorats ha estat molt per sota dels establerts (JMPR, 2000). Per contra, en el cas del mercuri, les estimacions a través dels diversos grups d'aliments fetes al infants de 4 anys de la cohort de Menorca (de 11 µg/kg, amb el 76% provinent del peix) agafat com a referència el consum de peix de la població de 7-12 anys (de 5.7 µg/kg) i adulta resident a Espanya (de 4.4 µg/kg), han sobrepassat el límit d'ingesta setmanal tolerable de 4 µg/kg (EFSA, 2012) per aquest metall. No obstant, s'ha de tenir en compte que aquestes estimacions s'han fet considerant que la població només consumeix peix provinent del mar Mediterrani. Actualment, la gran importació i venda de peixos capturats a altres oceans, com p.e. l'Atlàntic, juntament amb una major tendència a comprar en grans supermercats enlloc dels mercats locals, fa que la població consumeixi peix de diversos orígens.

Des d'un punt de vista internacional, entre els anys 2010 i 2012, es van biomonitoritzar els nivells de mercuri en mares de 17 països Europeus, mitjançant l'anàlisi de mostres de cabell (Figura 5.2) (basat en l'estudi DEMOCOPHES, Den Hond *et al.*, 2015). Els nivells de mercuri de les mares participants van indicar que les dones dels països amb una ingesta mitjana més elevada de peix tenen nivells més elevats de mercuri en el seu cos. Les mares espanyoles i portugueses van presentar els nivells més alts; entre cinc i set vegades per sobre de la mitjana en la majoria dels casos. Curiosament, els resultats van indicar que altres països amb un nivell elevat de consum de peix,

5 DISCUSSIÓ

p.e. a Xipre, tenen nivells més baixos de mercuri, ja que les persones d'allà tendeixen a menjar menys peixos predadors.

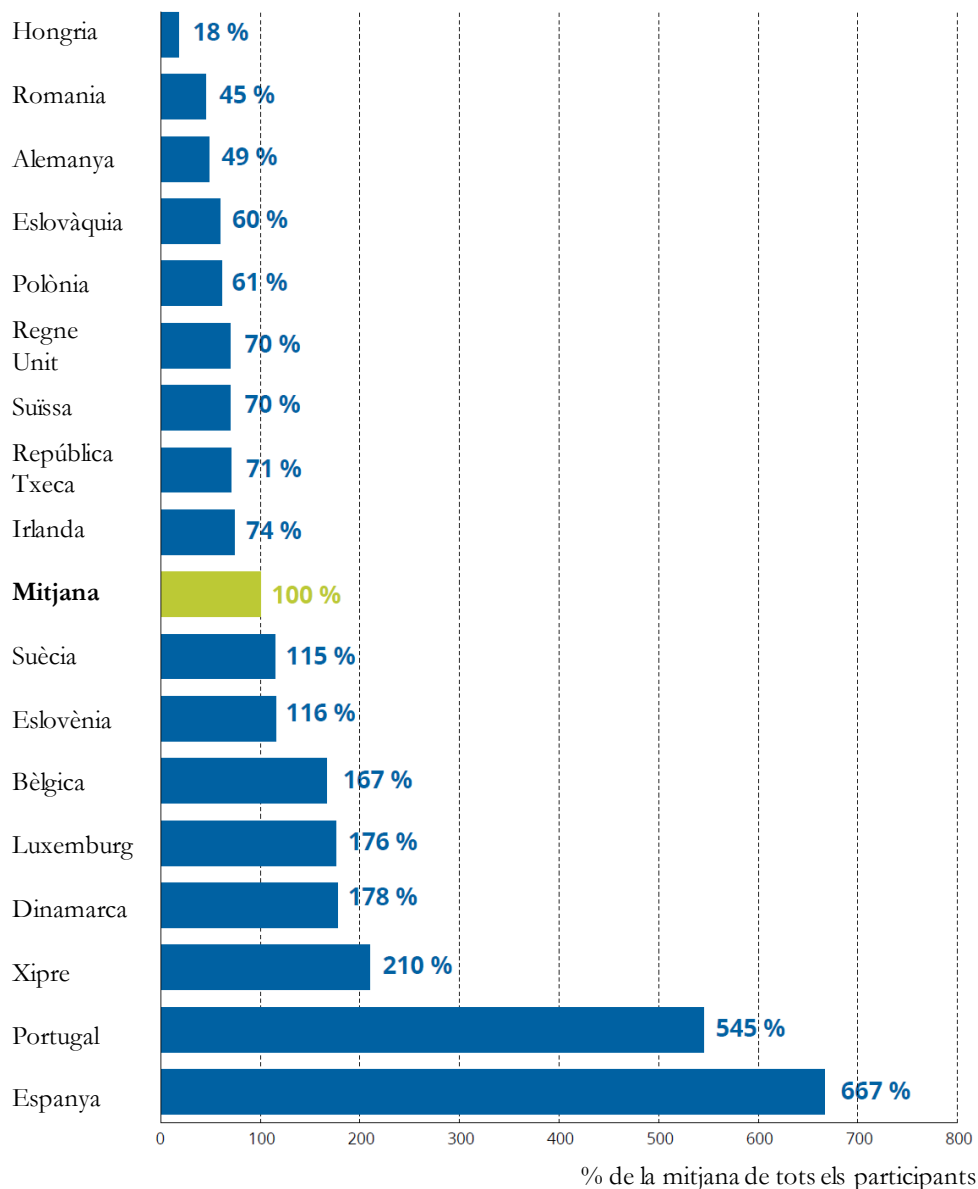


Figura 5.2 Percentatge de les mitjanes dels nivells de mercuri en cabell de mares d'Europa. Basat en l'estudi de DEMOCOPHES, Den Hond *et al.*, 2015.

Altres estudis fets en la cohort INMA de Menorca

Estudis anteriors fets a la cohort INMA de Menorca (any de naixement 1997-1998), han descrit la càrrega corporal de compostos organoclorats (Carrizo *et al.*, 2006) i de mercuri (Garí *et al.*, 2013) en els infants de 4 anys, a partir de l'anàlisi de mostres de sang i cabell, respectivament.

En el primer estudi, es van analitzar un total de 410 mostres de sang de cordó umbilical i 285 mostres de sang dels mateixos infants, a l'edat de 4 anys (Carrizo *et al.*, 2006). En els dos tipus de mostra, el compost més abundant va ser el 4,4'-DDE amb una mitjana de 1.6 ng/mL, en ambdós casos. Les concentracions del 4,4'-DDT (mitjanes de 0.18 i 0.073 ng/mL, respectivament) van ser molt més baixes que les del 4,4'-DDE. En les anàlisi dels aliments de Menorca per compostos organoclorats, el 4,4'-DDE també ha mostrat les concentracions més altes en el peix, i entre les més altes en el marisc i la carn (mitjanes de 1.2, 0.47 i 0.089 ng/g, respectivament). Les concentracions del 4,4'-DDT (mitjanes entre 0.066 a 0.0079 ng/g) també han mostrat concentracions molt més baixes que el 4,4'-DDE i, excepte en les fruites i els vegetals, tots els aliments es trobaven en nivells detectables per aquest compost (entre el 60 al 100 %). Ambdós estudis reflecteixen que els inputs del DDT corresponen a fonts antigues d'exposició, degut a que el 4,4'-DDT inicialment introduït al medi ambient s'ha transformat en 4,4'-DDE.

A la Figura 4 de l'ARTICLE 1 es presenten models de regressió multivariants amb les concentracions trobades de compostos organoclorats en els aliments i en els infants de 4 anys en sang, ajustats per variables socio-demogràfiques (p.e. sexe dels infants, el nombre de germans, l'edat materna, etc). En aquest estudi, s'ha trobat una associació significativa i positiva entre les concentracions del 4,4'-DDT amb la ingesta de peix i carn. Les mostres amb nivells detectables del 4,4'-DDT en aquests aliments han estat del 87 i 60 %, respectivament. Curiosament, no s'ha trobat cap associació amb el 4,4'-DDE.

5 DISCUSSIÓ

El segon compost predominant en les anàlisi de sang en cordó i als infants de 4 anys va ser l'HCB, amb mitjanes de 0.75 i 0.42 ng/mL, respectivament. En els aliments, aquest compost s'ha trobat entorn a un 50 % en les mostres de peix, marisc i carn.

Pel que fa als PCBs, les concentracions en cordó i en els infants de 4 anys tenien mitjanes de 0.7 i 1 ng/mL, respectivament. Les distribucions dels PCBs estaven dominades pel PCB-153 en ambdós casos. Aquesta dominància també s'ha trobat en les mostres de peix, marisc i ous i aquest congènere era un dels tres PCBs majoritaris en la resta d'aliments. En els models de regressió lineal, s'ha trobat una associació significativa i negativa entre el consum de vegetals i les concentracions del PCB-138, el PCB-153 i el PCB-180. Novament, aquesta relació podria ser deguda a una disminució de la ingesta d'altres aliments amb tendència major d'acumular aquests compostos que els vegetals.

Els isòmers α -, γ - i δ -HCH, han presentat deteccions inferiors al 5% tant en les mostres de sang com en les d'aliments. Per contra, el β -HCH tenia una mitjana de 0.21 i 0.28 ng/mL en sang de cordó i venosa als 4 anys, respectivament, però no s'ha detectat en cap tipus d'aliment.

Finalment, el PeCB va ser el compost organoclorat trobat en la concentració més baixa tant en sang de cordó com en sang als 4 anys, amb mitjanes de 0.081 i 0.023 ng/mL, respectivament. Aquest compost no s'ha detectat en cap mostra d'aliment.

Carrizo *et al.*, 2006 també va avaluar altres factors que poden jugar un paper determinant en la càrrega corporal dels compostos organoclorats. Van demostrar que la transferència a l'úter de la majoria d'aquests compostos en els infants, està estretament relacionada amb l'edat de la mare i, en el cas del HCB, el 4,4'-DDE i el 4,4'-DDT, també amb l'índex de massa corporal. Així, a edats més avançades i índex corporals més alts en la mare, corresponen a

concentracions més altes en els seus fills. Les concentracions en sang a l'edat de 4 anys només van presentar una associació positiva significativa amb l'edat de la mare en el cas de l'HCB i el 4,4'-DDT. La incorporació de compostos organoclorats nous a través de la dieta probablement fan disminuir la importància d'incorporació d'aquests compostos durant l'etapa uterina, excepte en el cas dels dos compostos esmentats anteriorment. Pel que fa l'índex de massa corporal a l'edat de 4 anys, només l'HCB va mostrar una associació significativa.

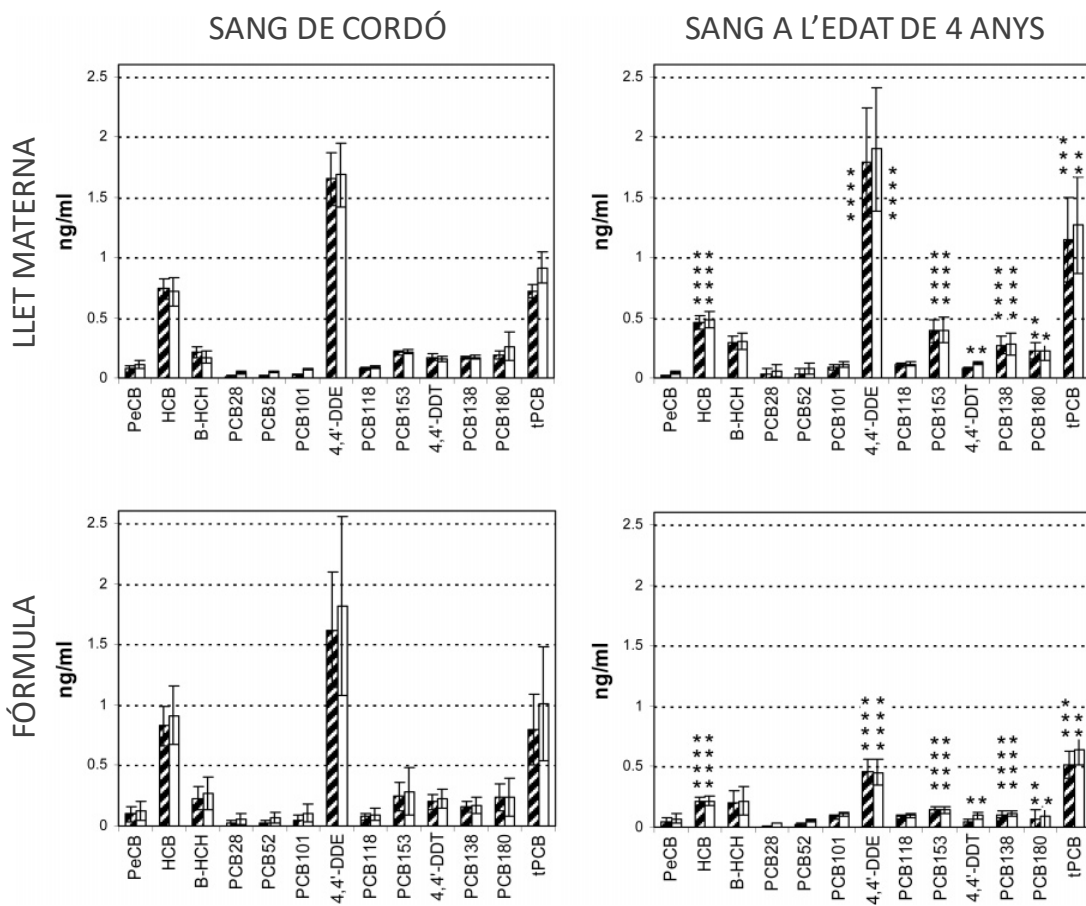


Figura 5.3 Concentracions mitjanes d'OCs en sang de cordó i en infants de 4 anys que han estat alimentats amb llet materna o amb fórmula. Els intervals representen l'error estàndard ($p < 0.05$) i mostren els valors corresponents a tots els conjunts de dades i al subconjunt de mostres comunes per als nadons i als nens de quatre anys, respectivament. Els asteriscs indiquen diferències significatives entre els mitjanes dels infants alimentats amb llet materna o amb fórmula (* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$) (Carrizo *et al.*, 2006).

5 DISCUSSIÓ

A l'edat de 4 anys, els factors que es veié que influïen més en la càrrega de compostos organoclorats van ser el tipus i la durada de la lactància materna. Així, la lactància materna implica concentracions més altes de compostos organoclorats que aquella basada en fórmules artificials, amb un grau alt de significació per la majoria dels compostos ($p < 0.0001$) (Carrizo *et al.*, 2006) (Figura 5.3). D'acord amb aquesta observació, la durada de la lactància també es va correlacionar amb les concentracions d'aquests compostos a l'edat dels 4 anys. En tots els casos, quan més llarga fou la durada de la lactància, més altes són les concentracions de compostos organoclorats en la sang dels infants.

D'altra banda, Garí *et al.*, 2013 va determinar les concentracions de mercuri en 302 mostres de cabell dels infants de 4 anys de la cohort de Menorca. Tots ells van presentar concentracions detectables en cabell, oscil·lant entre 0.040 i 10 $\mu\text{g/g}$, i amb una concentració mitjana de 1.4 $\mu\text{g/g}$. El 20% dels infants mostraren nivells per sobre dels valors recomanats per l'Organització Mundial de la Salut (OMS) en els cabells humans per a l'exclusió de dany apreciable (2 $\mu\text{g/g}$) (Garí *et al.*, 2013) (Figura 5.4).

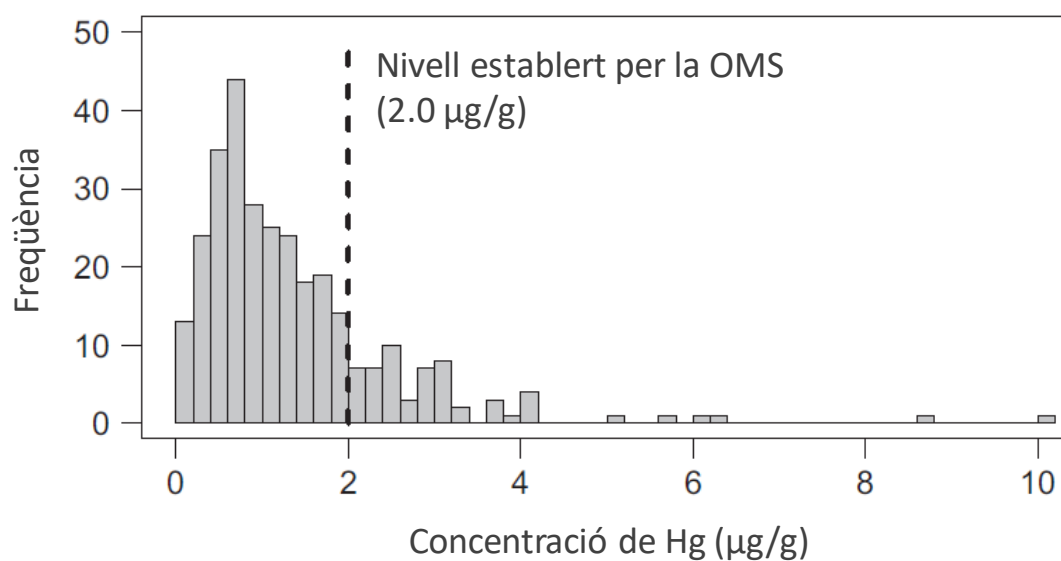


Figura 5.4 Distribució de les concentracions de mercuri en cabell a la població infantil de Menorca. El nivell establert per la OMS s'indica com a referència (Garí *et al.*, 2013).

En aquest treball es van estudiar múltiples possibles causes d'aportació de mercuri en aquest col·lectiu d'infants. Per aquest propòsit es van fer models multivariants de regressió lineal. Es va veure que la relació de més rellevància era el consum de peix. Els infants que consumeixen peix de manera freqüent (més de 3 racions/setmana de peix) presentaven nivells significativament més alts (mitjana geomètrica de 1.4 µg/g) que els infants que consumeixen 2-3 racions/setmana (mitjana geomètrica de 0.96 µg/g) i aquests més de dos vegades més elevats que aquells que consumeixen menys de 2 racions/setmana (mitjana geomètrica de 0.62 µg/g). En estudiar com els diferents tipus de peix afecten a les concentracions de mercuri, es va observar que la principal font d'exposició a aquest metall és a través del consum de peix blau.

La present tesi doctoral ha permès confirmar que la principal via d'exposició al mercuri és a través del consum de peix gràcies a l'anàlisi directe dels aliments. A més, s'ha demostrat que no només s'ha de tenir en compte el peix blau com a font important a l'exposició al mercuri, sinó que també ho és el peix blanc. La meitat de les mostres de peix blanc analitzades en aquest treball han presentat valors per sobre dels recomanats pel consum humà. A més, les estimacions de dieta basades en la informació dels nivells de mercuri trobats en els aliments i en les enquestes de dieta, han indicat que el peix (76 %) i el marisc (17 %) són les principals fonts d'entrada d'aquest metall en els infants de Menorca. No obstant, mentre que Garí *et al.*, 2013 no va trobar cap relació significativa amb altres grups d'aliments (p.e. pollastre, vegetals, fruita, etc.), a la Figura 3 de l'ARTICLE 1 podem veure que el formatge i la carn també contribueixen (en un 5 i 2 %, respectivament) a la incorporació d'aquest metall, donat que es van trobar concentracions detectables de mercuri en aquests aliments (ARTICLE 1, Taula 2 i 3).

Garí *et al.*, 2013 també va avaluar variables socio-demogràfiques que poden modular la càrrega de mercuri. Es va trobar que els infants amb dos o més

germans presentaven concentracions significativament més baixes que els que no en tenien cap. La gestació i el part del infant poden representar una via d'excreció d'aquest contaminant per a les dones, tot disminuint la seva càrrega de mercuri. La lactància, no va presentar cap relació significativa amb la ingesta de mercuri. D'aquesta manera, en aquest cas, sembla més important la transferència de la mare al fetus que la lactància. D'altra banda, les concentracions de mercuri van ser significativament més altes en les mares amb un estat ocupacional qualificat. Això pot ser degut a diferències en el tipus de dieta, donat que la població amb un estatus econòmic més alt acostuma a consumir més peix.

Aquest tipus d'informació sobre els nivells de mercuri en població infantil ajudarà a desenvolupar estratègies per minimitzar la seva exposició.

5.2 Exposició ambiental

Els éssers humans estem en contacte permanent amb els contaminants ambientals com a conseqüència de viure en un entorn contaminat. A fi d'avaluar aquest tipus d'exposició durant la infància, s'han analitzat les concentracions de metalls en nens residents en una àrea altament industrialitzada.

A l'ARTICLE 3 s'han estudiat fonts dietètiques de metalls juntament amb altres relacionades amb el tràfic i el consum de tabac dels pares en infants de 4 anys d'Avilés, Astúries. A més, s'han avaluat característiques físiques i metabòliques que es produeixen durant la infància i que també poden modular l'absorció i excreció d'aquests compostos. Tots aquests aspectes es poden reflectir en les concentracions individuals de metalls a l'orina. En el present estudi de doctorat, s'han fet models univariants i multivariants per a cada metall estudiat. Les dues troballes més significatives es discuteixen en les properes seccions.

Nivells de metalls

A la Taula 2 de l'ARTICLE 3 es presenten les concentracions de 14 metalls en orina dels infants de la cohort d'Avilés, Astúries (n=334). Aquests valors corresponen a una exposició recent als metalls i proporciona una visió general de la seva exposició.

Tots els metalls estudiats, tret del Cd, s'han trobat en més del 70% de les mostres recollides. El Zn, Mo i Cs s'han trobat en totes les mostres mentre que el V, Ni, Cu, As, Se, Sb i Pb en més del 97 %. Les concentracions mitjanes dels metalls traça en les mostres d'orina han oscil·lat entre 0.33 i 643 µg/g creatinina (corresponent al Cd i al Zn, respectivament).

En general, els nivells dels metalls en la població infantil d'Astúries han estat més elevats que els trobats en altres estudis realitzats, com per exemple en la població infantil d'Iran (Kafaei *et al.*, 2017) i d'Estats Units (NHANES report, 2013), tot i que altres estudis han reportat concentracions semblants, com en la població infantil de Mèxic (Lewis *et al.*, 2018). Això pot ser degut a la gran activitat industrial i minera de la zona, generadores d'una important font de contaminació en el medi ambient.

En el cas de l'As s'han obtingut medianes que són 32, 9 i 5 vegades superiors que les trobades a Iran (Kafaei *et al.*, 2017), als Estats Units (NHANES report, 2013) i a la Xina (Zhang *et al.*, 2017), respectivament. El consum elevat de peixos típic de les poblacions espanyoles en pot ser responsable.

En referència al V, Co, Ni, Sb i Pb, la població infantil d'Astúries també ha mostrat concentracions medianes més altes (54, 1.0, 3.8, 1.0 i 1.9 µg/g creatinina, respectivament) en relació a altres estudis en població general infantil, com els trobats a Xina, Estats Units, Iran i Espanya 1.8, 0.57, 0.66, 0.092 i 0.58 µg/g creatinina, respectivament, (Zhang *et al.*, 2017, NHANES report, 2013, Kafaei *et al.*, 2017, Roca *et al.*, 2016). Aquests compostos també es

generen durant processos industrials i miners. La seva presència en aquestes concentracions és coherent amb activitats antropogèniques com a font principal important de contaminació en aquesta zona.

Influència de la ingesta de peix i l'exposició a l'arsènic

A la Taula 2 de l'ARTICLE 3 es presenta la mediana de les concentracions d'arsènic en les mostres d'orina dels infants de 4 anys d'Astúries (64 µg/g creatinina). Aquesta és superior a les indicades en estudis anteriors, com en infants d'Iran (2.0 µg/g creatinina; Kafaie *et al.*, 2017) i d'Estats Units (7.4 µg/g creatinina; NHANES report, 2013), però més propera a les trobades en infants de zones mediterrànies (28 µg/g creatinina; Roca *et al.*, 2016). En aquesta tesi doctoral, s'ha atribuït aquesta diferència el consum de peix alt. Les mitjanes aritmètiques (desv.est.) del consum de peix blanc, peix blau i marisc a la cohort d'Astúries han estat de 18(13), 14(10) i 5.9(5.5) g/dia, respectivament.

L'arsènic del peix i del marisc és majoritàriament orgànic, principalment en forma d'arsenobetaina, i s'excreta ràpidament després del consum de peix i marisc. Les persones amb un consum recent d'aquests productes mostren un augment de l'arsenobetaina a l'orina, juntament amb l'arsènic total i altres formes d'arsènic que també s'associen al consum d'aquests productes (Navas-Acien *et al.*, 2011). Les formes orgàniques de l'arsènic presents en el peix i el marisc es consideren no tòxiques donat que mai se n'ha reportat un episodi d'enverinament (Edmonds i Francesconi, 1993). Actualment, la Unió Europea no restringeix els nivells d'arsènic total en productes de peix i marisc. En conseqüència, si es demostra que les concentracions observades d'arsènic estan associades al consum d'aquests productes, es pot estimar que no comporten un risc toxicològic per la població.

A Astúries, el consum de peix blanc i blau s'ha associat significativament amb els nivells d'arsènic a l'orina, tant en el model univariant com en el multivariant. Altres estudis també han reportat evidències entre l'associació de les concentracions d'As i el consum de peix i marisc, com a França, on el 50 % dels subjectes consumien peix entre una vegada a la setmana i dues vegades per mes (Saoudi *et al.*, 2012), mentre que als Estats Units el 57.2% de la població consumia peix d'una a quatre vegades al mes (Caldwell *et al.*, 2009). En general, s'ha demostrat que l'arsènic inorgànic correspon a menys de l'1% del total del contingut d'arsènic en peix (Fontcuberta *et al.*, 2011), tot confirmant que les concentracions d'aquest metal·loide no són motiu de risc per la població.

Pel que fa al marisc, a la cohort d'Astúries no s'ha trobat una associació amb el seu consum. Altres estudis han reportat una associació forta entre el consum de marisc amb els nivells de As en orina (Navas-Acien *et al.*, 2011), però en altres la influència d'aquest aliment ha estat molt menys important (Saoudi *et al.*, 2012).

Tot i que no s'han quantificat les diferents espècies d'arsènic, perquè un estudi com aquest requereix protocols analítics i mitjans no disponibles, els resultats actuals corresponen a un predomini d'espècies d'arsènic orgànic, tret característic de les poblacions costaneres.

Influència dels nivells de ferro en les concentracions de cobalt durant la infància

Tal i com es mostra a la Taula 2 de l'ARTICLE 4, la concentració mitjana de cobalt en les mostres d'orina ha estat de 1.3 µg/g de creatinina, oscil·lant entre 0.15 i 7.5 µg/g de creatinina.

Un dels canvis més rellevants que es produeixen al llarg de la infància és la demanda de ferro. A la nostra població, s'ha analitzat la ferritina com a

5 DISCUSSIÓ

marcador de l'estat de ferro en mostres de sang. Els infants anèmics, aquells amb $<12 \mu\text{g/L}$ de ferritina en sang, han presentat una mediana de cobalt en orina de $1.9 \mu\text{g/g}$ creatinina, representant el 8 % de la població, mentre que els infants no anèmics han presentat una mediana de $1.0 \mu\text{g/g}$ creatinina.

Un estudi realitzat a la cohort de INMA de Sabadell va avaluar l'exposició a metalls en dones embarassades, durant el 1r i 3r trimestre de l'embaràs ($n=391$) (Fort *et al.*, 2015). Els nivells de cobalt en orina van ser més elevats durant el 3r trimestre que durant el 1r trimestre en el 84% de les dones (concentracions mitjanes de 1.6 i de $0.73 \mu\text{g/g}$ de creatinina, respectivament). Durant les últimes etapes de l'embaràs, es va produir una disminució de la concentració de ferro. En aquest estudi, es va associar l'augment de cobalt en orina amb la disminució de l'hemoglobina en sang entre els diferents moments ($p<0.05$) (Fort *et al.*, 2015) (Figura 5.5).

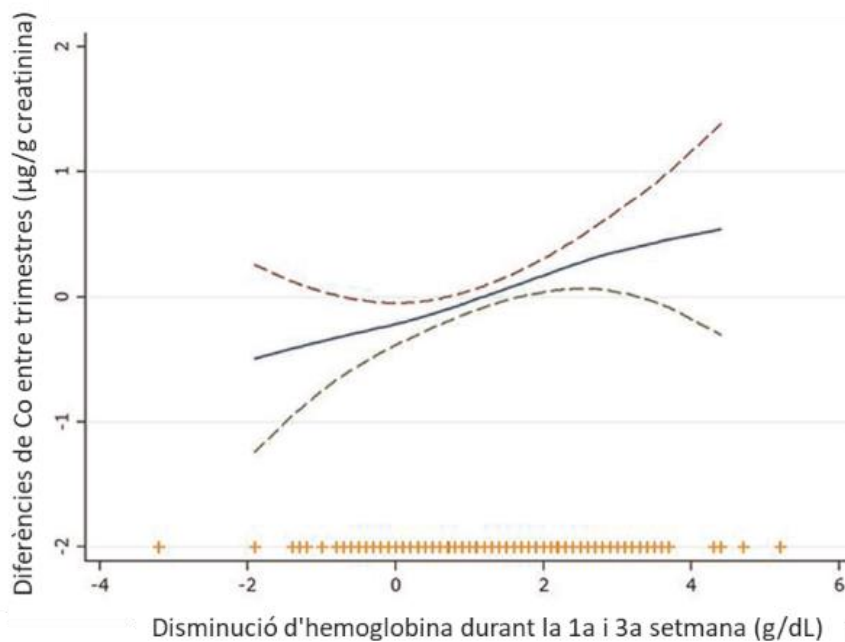


Figura 5.5 Representació gràfica del Model Additiu Generalitzat (GAM) mostrant l'associació (i un 95% de nivells de confiança) entre la diferència de cobalt entre els trimestres en orina ($\mu\text{g/g}$ creatinina) i la disminució de l'hemoglobina en sang materna entre etapes (g/dL) (Fort *et al.*, 2015).

Altres estudis anteriors fets en adolescents (Bárány *et al.*, 2005) i dones durant el període menstrual (Metlzer *et al.*, 2010) van mostrar una relació inversa entre els nivells de cobalt en sang i ferritina. Flanagan *et al.*, 1980 va presentar troballes similars en estudis fets en animals. D'acord amb això, a la nostra cohort s'ha trobat una associació inversa significativa entre els nivells de ferritina i les concentracions de cobalt a l'orina, tant en el model de regressió lineal univariant com multivariant. Els infants anèmics per dèficit de ferro han presentat nivells significativament més elevats de cobalt a l'orina que els infants no anèmics ($p < 0.001$, Taula 2, ARTICLE 4).

L'augment observat de cobalt s'ha atribuït a un augment de l'absorció intestinal d'aquest metall quan hi ha un estat baix de ferro. Així, la pujada de l'absorció es podria deure a un increment de l'expressió dels transportadors que absorbeixen ferro. Aquest canvi metabòlic es donaria no només en situacions d'esgotament de ferro sinó també d'alta demanda d'aquest metall (Bárány *et al.*, 2005). En els períodes de la infància i l'adolescència, així com durant les últimes etapes de l'embaràs, la demanda de ferro afavoreix l'expressió dels transportadors intestinals, que també poden transportar altres ions divalents com el cobalt, i augmentar la seva absorció.

En alguns dels estudis anteriorment esmentats, s'ha atribuït al transportador de metalls divalent I (DMT1) el mecanisme responsable d'aquests canvis d'absorció. Es tracta d'un transportador intestinal de ferro (Fe (II)) que també és capaç de transportar altres ions divalents com el Co (II), Cu (II), Mn (II), Zn (II) o Cd (II) (Gunshin *et al.*, 1997). Aquest transportador, situat a la superfície apical de l'enteròcit del duodè, està regulat per restriccions dietètiques de ferro baixes o per increments de la demanda de ferro (Mackenzie i Garrick, 2005). Entre els metalls transportats, Garrick *et al.*, 2003 va veure que el Co s'uneix al DMT1 amb una afinitat més alta que el Cu i Zn, mentre que cap d'aquests metalls competia amb el Fe. En aquest estudi, també s'ha comprovat l'associació entre la ferritina i els nivells de Cu i Zn a l'orina, i no s'ha trobat cap associació

significativa, el que és coherent amb les observacions esmentades i en concordança amb estudis anteriors (Bárány *et al.*, 2005).

Així, es proposa que l'augment de la demanda de ferro que es produeix durant la infància comporta una disminució de la ferritina en sang, fet que augmenta l'expressió del transportador intestinal de metall divalent DMT1 per compensar. Això condueix a una absorció major de Fe, però també de Co, tot augmentant els seus nivells en orina. Aquest procés proposat es resumeix a la Figura 5.6.

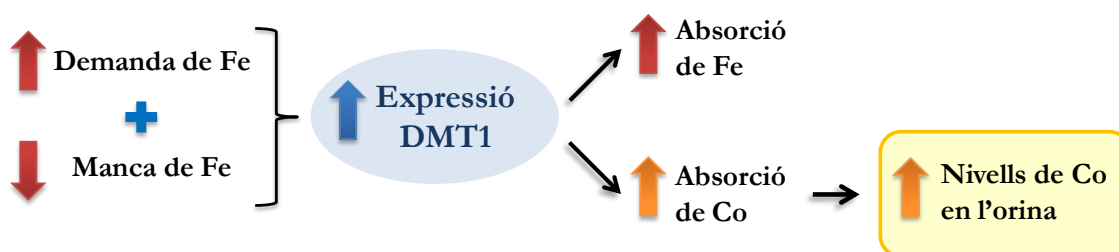


Figura 5.6 Esquema del model teòric proposat que explica l'augment del cobalt urinari que es produeix durant la infància.

La toxicitat per cobalt es produeix a nivells alts d'exposició, a concentracions substancialment superiors a les indicades en el present estudi. Tot i això, en poblacions ambientalment exposades a aquest metall, s'han d'aplicar mesures dietètiques i de control de l'estat del ferro durant la infància per evitar un augment excessiu de cobalt i, per tant, una major exposició d'aquest metall, per evitar possibles efectes en el desenvolupament dels nens.

Altres estudis fets a la cohort INMA d'Astúries

Estudis anteriors fets a la cohort d'Astúries d'INMA (any de naixement 2004-2007), han mostrat la concentració de metalls traça en les mares i els seus infants al moment de néixer (Llop *et al.*, 2011; Ramon *et al.*, 2012; Freire *et al.*, 2018).

Freire *et al.*, 2018 va descriure les concentracions d'As, Cd, Hg, Mn (manganès) i Pb en mostres de placenta en les mares de la cohort d'Astúries juntament amb les trobades a les cohorts d'INMA de Guipúscoa, Granada, Sabadell i València (Taula 5.1). D'altra banda, Llop *et al.*, 2011 i Ramon *et al.*, 2012 van descriure les concentracions de Pb (Taula 5.2) i Hg (Taula 5.3) en mostres de cordó umbilical en els infants de la cohort d'interès i també en les de Guipúscoa, Sabadell i València.

	N	As			Cd			Hg		
		%>LD	Mediana	P25-P75	%>LD	Mediana	P25-P75	%>LD	Mediana	P25-P75
Total cohorts	302	22.2	<0.235	<0.235	98.7	4.100	2.600-6.490	57.6	0.025	<0.016-12.953
Astúries	44	38.6	<0.235	<0.235-2.146	97.7	5.394	3.557-8.259	61.4	6.402	<0.016-10.847
Guipúscoa	40	55.0	0.520	<0.235-4.971	92.5	3.832	2.128-7.227	72.5	8.637	<0.016-12.968
Granada	128	0.0	<0.235	<0.235	100	3.750	2.100-5.675	30.5	<0.016	<0.016-0.017
Sabadell	61	16.4	<0.235	<0.235	100	4.332	2.956-6.145	88.5	16.703	8.477-23.881
València	29	62.1	1.474	<0.235-5.692	100	6.168	3.980-8.010	86.2	21.563	9.952-26.916

	N	Mn			Pb		
		%>LD	Mediana	P25-P75	%>LD	Mediana	P25-P75
Total cohorts	302	100	64.831	50.975-82.274	16.6	<6.500	<6.500
Astúries	44	100	61.058	50.057-76.558	2.3	<6.500	<6.500
Guipúscoa	40	100	63.130	53.122-84.729	7.5	<6.500	<6.500
Granada	128	100	67.200	49.400-84.375	34.4	<6.500	<6.500-27.700
Sabadell	61	100	65.986	53.016-80.111	3.3	<6.500	<6.500
València	29	100	63.638	43.496-71.810	0.0	<6.500	<6.500

Taula 5.1 Concentracions d'As, Cd, Hg, Mn i Pb en placenta (ng/g pes fresc). P25, P75: percentils 25 i 75; LD (límit de detecció) = As: 0.0038 ng/g; Cd: 0.23494 ng/g; Hg: 0.0156627; Mn: 0.939759 ng/g; Pb: 6.500 ng/g (Freire *et al.*, 2018).

	N	N>LQ (2µg/dL)	%>LQ (IC)	MA ^a	DS ^a	GM ^a	Màxim
Astúries	341	14	4.1 (2.3-6.8)	1.12	1.06	1.05	19.0
Guipúscoa	527	46	8.7 (6.5-11.5)	1.14	0.50	1.08	5.0
Sabadell	297	7	2.3 (0.9-4.8)	1.04	0.26	1.02	4.0
València	301	20	6.6 (4.1-10.1)	1.13	0.61	1.07	7.0
Total cohorts	1466	87	5.9 (4.8-7.3)	1.11	0.67	1.06	19.0

Taula 5.2 Concentracions de Pb en sang de cordó (µg/dL). LQ: límit de quantificació (2 µg/dL), IC: interval de confiança, MA: mitjana aritmètica, DS: desviació estàndard, MG: mitjana geomètrica, a nivells no detectats es reporten com la meitat del LQ (Llop *et al.*, 2011).

5 DISCUSSIÓ

T-Hg ($\mu\text{g/L}$)	N	Mitjana	MG	%<DL = 2 $\mu\text{g/L}$	%> EPA RfD ^a	Percentils				Max
						25	50	75	90	
València	554	13.1	9.5	4.2	68.4	5.3	9.5	18.0	26.5	66.0
Sabadell	460	8.2	6.3	7.6	49.1	4.1	6.4	10.0	16.0	60.0
Astúries	340	13.9	10.8	3.2	75.6	6.6	12.0	18.8	25.9	69.0
Guipúscoa	529	9.3	7.5	3.8	64.7	5.1	8.1	12.0	17.0	50.0
Total cohorts	1883	11.0	8.2	4.7	63.9	5.0	8.5	14.0	22.0	69.0

Taula 5.3 Concentracions de Hg en sang de cordó ($\mu\text{g/L}$). T-Hg: mercuri total, MG: mitjana geomètrica, DL: límit de detecció, EPA: *Environmental Protection Agency*, RfD: dosi de referència. ^a6.4 $\mu\text{g/L}$ com el T-Hg equivalent per la EPA RfD pel metilmercuri (5.8 $\mu\text{g/L}$) tenint en compte que representa el 90 % T-Hg (Ramon *et al.*, 2012).

Les concentracions de metalls en els diferents estudis s'han presentat en $\mu\text{g/g}$ creatinina i en ng/mL en les mostres d'orina, en ng/g en les de placenta i en $\mu\text{g/dL}$ en les de cordó umbilical. Per tal de facilitar la comparació entre els metalls detectats en els tres tipus de mostra, a la Taula 5.4 es presenten les concentracions homogeneïtzant els estadístics i les unitats en la mesura del possible.

	As	Cd	Pb	
Orina	29	0.1	0.87	ng/mL orina
	64000	270	1900	ng/g creatinina
Placenta	<LD	5.4	<LD	ng/g placenta
Cordó	-	-	10.5	ng/mL sang*

Taula 5.4 Mediana de les concentracions d'As, Cd i Pb en la cohort d'Astúries en orina d'infants, placenta i cordó umbilical. *=mitjana geomètrica, LD= límit de detecció.

En tractar-se de matrius tan diferents, la comparació és fa difícil. No obstant, podem observar que l'As i el Pb no s'ha trobat en la placenta però sí en l'orina. Per contra, el Cd ha mostrat concentracions més altes en placenta que en orina (5.4 ng/g vs 0.1 ng/mL). El Pb s'ha trobat en les concentracions més altes en cordó.

A nivell global, si es comparen les concentracions trobades en placenta en les diferents cohorts d'INMA, veiem que el Mn es trobà a totes les mostres i el Cd en gairebé totes (entre el 93 i el 100 %, tot depenent de la cohort). Les freqüències de detecció de l'As, Hg i Pb van oscil·lar entre el 0 % (Granada) i el 62 % (València), entre el 30 % (Granada) i el 88 % (Sabadell) i entre el 0 % (València) i el 34 % (Granada), respectivament (Taula 5.1).

En general, les concentracions d'As, Cd, Hg i Pb en placenta van ser semblants a les trobades en estudis previs a Europa i més baixes que les observades a Àsia i a l'Orient Mitjà (Esteban-Vasallo *et al.*, 2012; Amaya *et al.*, 2013; Al-Saleh *et al.*, 2014). Les concentracions d'As, Hg i Pb van ser molt diferents entre les diferents cohorts (Taula 5.1). Així, les mares de València i Sabadell van presentar les concentracions més altes de mercuri, regions on hi ha un alt consum de peix. D'altra banda, les concentracions més altes d'As les van presentar les cohorts de València, Guipúscoa i Astúries, també amb València amb un consum alt de peix. Finalment, les concentracions tan elevades de Pb trobades en les placentes de Granada van ser atribuïdes al període primerenc de reclutament, durant el 2000-2002, abans de la prohibició de gasolina amb plom a Espanya durant l'any 2001 (Real Decreto 1728/199).

Pel que fa als nivells de Pb en cordó umbilical, els percentatges de detecció foren molt baixos (4.1 % a Sabadell, 8.7 % a Guipúscoa, 4.1 % a Astúries i 6.6 % a València). Les concentracions trobades a les quatre cohorts van ser molt similars (Taula 5.2). No obstant, només la cohort d'Astúries va presentar nivells de Pb en els recent nascuts per sobre del llindar segur establert per la OMS (de 10 µg/dL) (Llop *et al.*, 2011).

Els nivells de Pb en sang de cordó han estat semblants als reportats a altres estudis Europeus realitzats després de l'any 2000 (Koppen *et al.*, 2009) però molt més baixos que els fets en anys anteriors (Carbone *et al.*, 1998),

probablement com a conseqüència de la prohibició de gasolina amb Pb per la Unió Europea l'any 2000 (Directive 98/70/EC).

D'altra banda, les concentracions de Hg en cordó umbilical es trobaren en gairebé el 95 % de les mostres en totes les cohorts (Taula 5.3). Les mitjanes geomètriques van variar de 6.3 µg/L a Sabadell a 10.8 µg/L a Astúries. La mitjana de la ingesta de consum de peix va ser de 78 g/dia essent la ingesta més alta la de la cohort d'Astúries (91 g/dia) (Ramon *et al.*, 2012). Novament, les concentracions de Hg en cordó umbilical van ser associades al consum de peix de la mare, sent el peix blau la major font d'exposició.

D'altra banda, Fort *et al.*, 2014 va determinar les concentracions de metalls en orina en mares embarassades de la cohort INMA de Sabadell. Els nivells trobats s'han comparat amb els del present estudi (Taula 5.5). El Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cs i Pb es van detectar en més del 79 % en les dues cohorts, mentre que el Sb va presentar deteccions un poc més baixes en les mares respecte els infants (69 i 98%, respectivament). Pel que fa al Cd i Tl les deteccions entre els dos estudis van ser molt diferents, sent de 22 i 89 % pel Cd i de 69 i 18 % pel Tl en els infants i les mares, respectivament. La mediana del Cd va ser més alta en les mares que en els infants (0.58 vs 0.27 µg/g creatinina, respectivament), al contrari que el Tl (0.55 µg/g creatinina vs <LD, respectivament). El consum de tabac en la població adulta podria explicar aquesta diferència, mentre que el Tl pot reflectir aportacions de diferents tipus d'indústries. En ambdós estudis, els nivells d'arsènic s'han atribuït al consum de peix. Les medianes del Co, Ni, Cu, Sb han estat semblants, mentre que la del Pb ha estat més alta en les mares de Sabadell que en els infants d'Astúries (3.9 vs 1.9, respectivament).

	Infants			Mares		
	cohort Astúries			cohort Sabadell		
	% detecció	Mediana	P90	% detecció	Mediana	P90
Co	84	1	2.4	79	0.88	2.9
Ni	97	3.8	9.6	98	3.9	8.8
Cu	99	22	36	100	13.5	27
Zn	100	588	1062	100	273	592
As	99	64	226	99	34	142
Se	99	49	76	99	9.4	18
Mo	100	110	195	100	50	94
Cd	22	0.27	0.6	89	0.58	1.3
Sb	98	1	2.6	69	0.64	1.1
Cs	100	14	27	100	7.4	12
Tl	69	0.55	1.1	18	<LD	0.3
Pb	99	1.9	3.7	99	3.9	8.5

Taula 5.5 Concentracions de metalls en orina en infants de 4 anys de la cohort INMA d'Astúries (n=334) i en mares embarassades de la cohort INMA de Sabadell (n=489) (en µg/g creatinina).

5.3 Exposició perinatal

Des de la concepció, els éssers humans estem exposats als contaminants ambientals donat que molts tenen la capacitat de travessar la placenta i arribar fins els fetus.

A l'ARTICLE 5 s'ha avaluat i descrit, per primera vegada, les concentracions de diversos compostos organoclorats en diferent moments de l'embaràs i en cordó umbilical en una cohort de mares i els seus nounats de Tarragona.

Nivells d'OCs

Entre els pesticides organoclorats, el compost predominant ha estat el 4-4'-DDE en tots els casos (medianes de 0.47, 0.62 i 0.26 ng/mL en sang venosa del primer trimestre d'embaràs, durant el part i en cordó umbilical, respectivament) seguit del HCB (medianes de 0.014, 0.045 i 0.014 ng/mL, respectivament). Pel que fa als PCBs, compostos organoclorats d'origen industrial, el congènere més abundant ha estat el PCB-153 (medianes de 0.11, 0.24 i 0.033 ng/mL en el primer trimestre d'embaràs, durant el part i en cordó umbilical, respectivament), seguit del PCB-180 (medianes de 0.073, 0.13 i 0.011, ng/mL, respectivament).

La distribució dels DDTs a la població de Tarragona ha estat notablement dominada pel 4,4'-DDE (Figura 5.7). Això indica que no hi ha hagut una exposició recent d'aquest insecticida, fet que és coherent amb la prohibició del DDT com a pesticida per a l'agricultura des de la dècada del 1970.

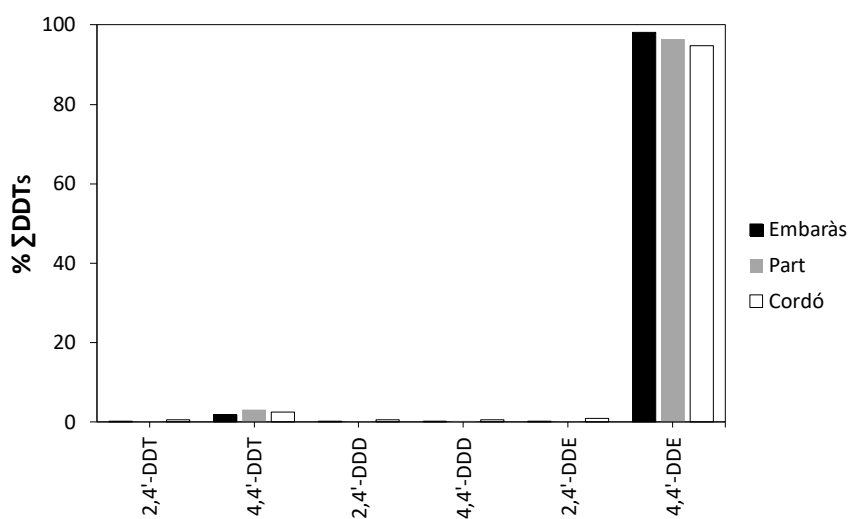


Figura 5.7 Contribució del 2,4'-DDT, 4,4'-DDT i els seus metabòlits (2,4'-DDD, 4,4'-DDD, 2,4'-DDE i 4,4'-DDE) a la suma total de DDTs en sang venosa materna recollida durant el primer trimestre d'embaràs i el part i en sang de cordó umbilical a la població de Tarragona.

El perfil de congèneres de PCB ha estat dominat pel PCB-153, contribuint en un percentatge del 40 - 60 % a la suma total (Figura 5.8). Els altres congèneres principals de PCB (PCB-138 i PCB-180 hi contribueixen en

proporció inferior (sobre un 20 % i 30 %), i la resta de PCB (28, 52, 101, 118) contribueixen en menys del 10 % (Figura 5.8).

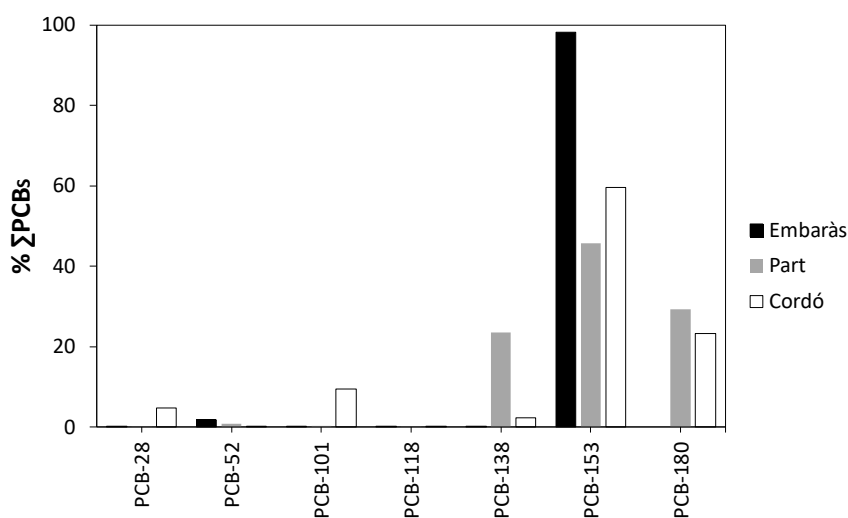


Figura 5.8 Contribució dels diferents congèneres dels PCBs a la suma total de PCBs en el primer trimestre d'embaràs, al part i en cordó umbilical a la població de Tarragona.

En general, les concentracions dels compostos organoclorats de les mares i nounats de la cohort de Tarragona han estat més baixes que les descrites en altres llocs del món. Si es comparen les concentracions trobades a la cohort de Tarragona amb altres estudis realitzats a la Península, es pot concloure que aquestes són inferiors als de les cohorts de Menorca, València, Granada i Ribera d'Ebre (Taula 3, ARTICLE 5). En les cohorts esmentades, la presa de mostra es va fer fa més de 10 anys en tots el casos, mentre que les mares de la cohort de Tarragona van ser reclutades entre els anys 2016 i 2017. Aquestes diferències poden indicar una disminució de les concentracions en el medi ambient i consegüentment en les poblacions humanes per l'aplicació de mesures legals per reduir les emissions d'aquests compostos.

En un context internacional, les concentracions de Tarragona han estat superiors a les descrites a l'Argentina i Aràbia Saudí i similars a les de Grècia. Les diferències en els nivells d'OCs poden justificar-se, en part, pels hàbits dietètics de les diferents regions i països. Les regions Mediterrànies presenten

un consum de peix elevat, en comparació amb altres països Europeus (Welch *et al.*, 2002). En canvi, aquest consum és més moderat que en països asiàtics (Grandjean *et al.*, 1997). Com s'ha comentat i demostrat en els apartats anteriors, el consum de peix es considera un determinant importat a l'hora de predir les concentracions dels compostos organoclorats. A major consum de peix en principi es produiria un augment de la càrrega corporal d'OCs. D'altra banda, a Tarragona, hi ha un important complex petroquímic i una forta tradició agrícola. L'activitat de la indústria i l'ús de pesticides en el passat poden justificar la presència d'aquests compostos en el nostre estudi.

Malgrat que tots els compostos organoclorats estudiats es troben actualment prohibits, tots els nadons de la cohort n'han presentat nivells detectables. L'estabilitat química i hidrofobicitat d'aquests compostos, juntament amb la seva emissió com a subproductes en processos industrials, la gestió inadequada dels residus i el seu ús en algunes parts del món, fan que aquests contaminants encara es trobin en el medi ambient. Degut a la seva persistència ambiental, aquests compostos passen de l'alimentació de les mares als nadons durant l'etapa de formació intrauterina. Un cop els nadons han nascut, els segueixen acumulant degut a l'absència de mecanismes eficients d'excreció en el seu metabolisme.

Característiques maternes que modulen les concentracions d'OCs

En aquesta tesi s'han avaluat com les característiques individuals i socio-demogràfiques maternes que determinen el nivell d'exposició a compostos organoclorats.

En l'anàlisi multivariant s'ha trobat una associació directa entre l'edat i gairebé tots els contaminants estudiats durant el primer trimestre i el part, i

només amb el 4,4'-DDE en cordó umbilical. A major edat de la mare es troben concentracions d'OCs superiors en sèrum. Les mares d'edats més avançades han estat exposades durant més temps als OCs i, per tant, han acumulat més compostos.

Amb l'índex de massa corporal (IMC) s'observa una tendència semblant, més càrrega de contaminants a major massa corporal. Aquesta associació només s'ha trobat amb el 4'-DDE, fet consistent amb a les propietats fisico-químiques d'aquest compost com l'alta persistència i hidrofobicitat. L'índex de massa corporal és una mesura indirecta de la quantitat de greix del cos. Donat que els OCs s'emmagatzemen en el teixit adipós, un IMC més alt correspondria a una major càrrega de contaminants. No obstant, alguns estudis han trobat una associació negativa o manca d'associació, que podria ser explicada per una dilució dels compostos (James *et al.*, 2002). Una altra explicació a les variacions de l'associació entre el IMS i els nivells d'OCs són les diferències metabòliques entre persones (Wolff *et al.*, 2005).

S'ha trobat una associació negativa entre la paritat i les concentracions d'HCB durant el primer trimestre d'embaràs, però no en la resta de casos. La paritat també és un altre factor que influeix en les concentracions d'OCs en les dones, donat la transferència d'aquests contaminants al fetus.

Tot i que en aquest estudi l'associació no ha estat molt forta, la classe social i el nivell d'educació són factors que també poden modular les concentracions. Les diferències en la dieta de les mares de classe social més alta i amb més estudis acostuma a ser diferent (Tarasuk *et al.*, 2010). Aquestes segueixen una dieta més equilibrada i amb més consum de peix.

No s'ha trobat cap associació entre les concentracions de compostos organoclorats i l'hàbit de fumar.

Transferència d'OCs durant l'embaràs

Un dels objectius principals d'aquesta tesi ha estat estudiar la transferència de compostos organoclorats durant l'embaràs. Per aquest propòsit, s'han estudiat les distribucions de compostos organoclorats en les parelles mare-infant en diferents moments de l'embaràs i en cordó umbilical.

Els nivells de la majoria de compostos han estat estadísticament més alts en el moment del part que durant el primer trimestre d'embaràs i en cordó umbilical. Això pot ser degut a una mobilització de les reserves de greix i a l'augment del volum de sang durant l'embaràs (Verner *et al.*, 2008; Vizcaino *et al.*, 2014b; Gentry *et al.*, 2002; 2003). Els primers tendeixen a augmentar les concentracions en sang dels contaminants químicament estables emmagatzemats en els greixos però l'augment de volum de sang pot implicar una dilució quan les concentracions s'expressen en ng/mL.

Els resultats de la cohort estudiada demostren que hi ha un augment estadísticament significatiu entre les concentracions venoses maternes entre el primer trimestre i el part, i una disminució estadísticament significativa entre les concentracions venoses en el part i les de cordó (Figura 1, ARTICLE 5).

En els models de regressió lineal (Taula 4, ARTICLE 5), s'ha trobat una associació significativa entre les concentracions en cordó umbilical i les concentracions de la mare pel HCB, el β -HCH i els PCBs. Pel que fa al 4,4-DDT i el 4,4'-DDE en sèrum de cordó i sèrum matern, només han presentat una correlació significativa pel 4,4'-DDT en el moment del part. Aquests resultats són coherents degut a la immaduresa del sistema enzimàtic dels nadons (Gentry *et al.*, 2002; 2003), que els fa incapaç de metabolitzar el 4,4'-DDT a 4,4'-DDE. A més, només s'ha trobat una correlació significativa entre les concentracions en sèrum de cordó i sèrum matern en el moment del part pel 4,4'-DDT, fet coherent amb la baixa capacitat del nou-nat per metabolitzar

aquest compost. Aquesta permanència del 4,4'-DDT en la transferència de la mare al fetus també es va observar en un altre estudi fet a la cohort INMA d'Astúries (Vizcaino *et al.*, 2014a).

Estudis INMA de transferència materna

Un altre exemple d'estudi on s'investiga la transferència mare-infant durant l'embaràs és el fet en les mares i els nounats de la cohort INMA d'Astúries (Vizcaino *et al.*, 2014a).

Un dels objectius d'aquest treball va ser determinar i avaluar les concentracions de compostos organoclorats en mostres de sèrum matern i els seus respectius cordons umbilicals i placentes (Taula 5.6).

Tant en el present estudi com en el de Vizcaino *et al.*, 2014a, el 4,4'-DDE ha presentat les concentracions més altes en totes les matrius, sent detectat en gairebé en el 100% en tots els casos. La distribució de PCBs ha estat dominada pel PCB-153, seguit pel PCB-180 i PCB-138 en sèrum matern i de cordó i pel PCB-138 i PCB-28 en el cas de la placenta (Taula 5.6 i Taula 2, ARTICLE 5).

Vizcaino *et al.*, 2014a van descriure concentracions de compostos organoclorats més altes en el sèrum matern que en les de cordó i placenta, en concordança amb les troballes d'aquest estudi, on les concentracions de sèrum matern també han estat superiors a les de cordó. Aquesta distribució és resultat d'una font materna predominant que transfereix els contaminants a la placenta i al fetus. El β -HCH va ser l'únic compost que va presentar concentracions més altes en placenta que en cordó, fet que suggereix que aquesta membrana actua de semi-barrera per aquest compost (Vizcaino *et al.*, 2014a).

5 DISCUSSIÓ

	<u>%(>LD)¹</u>	<u>Mediana(RIQ)²</u>	<u>rang</u>	<u>%(>LD)¹</u>	<u>Mediana(RIQ)²</u>	<u>rang</u>	<u>%(>LD)¹</u>	<u>Mediana(RIQ)²</u>	<u>rang</u>
		Sèrum de cordó ng/mL [ng/g lípid]			Placenta ng/mL [ng/g lípid]			Sèrum matern ng/mL [ng/g lípid]	
4,4'-DDT	90	0.08 (0.09) [33.3 (40.6)]	nd-1.58 [nd-649]	92	0.07 (0.06) [7.1 (7.8)]	0.01-1.1 [0.75-76.94]	80	0.10 (0.09) [18.8 (17.8)]	nd-1.28 [nd-219]
4,4'-DDE	100	0.46 (0.6) [175 (233)]	0.003-5.9 [1.1-2022]	100	0.46 (0.48) [46.3 (52.4)]	0.08-7.5 [5.4-535]	100	1.34 (1.34) [243 (294)]	0.23-20.6 [35-3945]
HCB	98	0.13 (0.13) [49.5 (52.6)]	nd-1.1 [nd-434]	100	0.29 (0.36) [29.4 (32.4)]	0.04-1.1 [2.8-209.3]	100	0.33 (0.33) [69.5 (63.1)]	0.06-2.3 [12.1-433]
β-HCH	90	0.05 (0.07) [16.9 (26.3)]	0.01-0.68 [nd-236]	98	0.18 (0.17) [18.9 (21.2)]	nd-1.32 [nd-136.9]	98	0.13 (0.15) [25.4 (27.8)]	nd-1.8 [nd-326]
PCB 28	10	<0.007	nd-0.05 [nd-1.99]	27	<0.007	nd-0.4 [nd-75.9]	68	0.02 (0.04) [3.5 (0.65)]	nd-0.51 [nd-95]
PCB 118	37	<0.01	nd-0.29 [nd-99]	59	0.03 (0.03) [3.1 (2.6)]	nd-0.07 [nd-11.1]	89	0.06 (0.06) [10.2 (10.2)]	nd-0.22 [nd-42.4]
PCB 138	92	0.08 (0.056) [32.2 (25.3)]	nd-0.61 [nd-239]	92	0.11 (0.09) [10.9 (8.1)]	nd-1.2 [nd-192.2]	100	0.20 (0.12) [38.5(26.8)]	0.05-1.6 [9.05-307]
PCB 153	98	0.11 (0.078) [47.1 (35.3)]	nd-0.87 [nd-323]	100	0.15 (0.09) [16.3 (11.0)]	0.03-0.47 [2.2-49.8]	100	0.34 (0.19) [65.7 (40.3)]	0.08-2.4 [12.9-447]
PCB 180	97	0.07 (0.046) [27.8 (25.7)]	n-1.1 [nd-399]	100	0.12 (0.09) [10.3 (9.2)]	0.01-0.36 [0.73-35.1]	99	0.25 (0.16) [47.9 (31.8)]	nd-3.0 [nd-568]

Taula 5.6 Concentració dels compostos organoclorats en sèrum de cordó (N=303), placenta (N=49) i sèrum matern (N=308), parelles, INMA-cohort Astúries 2004-2008. ¹LD: límit de detecció, ²RIQ=rang interquartílic (Vizcaino *et al.*, 2014a).

Les concentracions de la majoria dels contaminants estaven correlacionades amb les trobades en sèrum matern vs cordó umbilical i les de sèrum matern vs placenta (Vizcaino *et al.*, 2014a); de forma paral·lela al tractament estadístic de les concentracions de sèrum matern vs cordó umbilical del present treball de tesi doctoral. En ambdós treballs, el HCB, β -HCH, 4,4'-DDT (excepte en placenta), PCB-153 i PCB-180 han mostrat una forta correlació entre les mostres emparellades. Pel que fa als PCBs, ambdós estudis han trobat una forta correlació en els congèneres més clorats. Per contra, els de menor nombre de clors no han presentat relació entre els diferents tipus de mostra. Aquests compostos són menys hidrofòbics i més difícils d'acumular en humans.

En el gràfic següent, es representa el percentatge relatiu de distribució de les concentracions de compostos organoclorats en sèrum matern, placenta i cordó (Vizcaino *et al.*, 2014a).

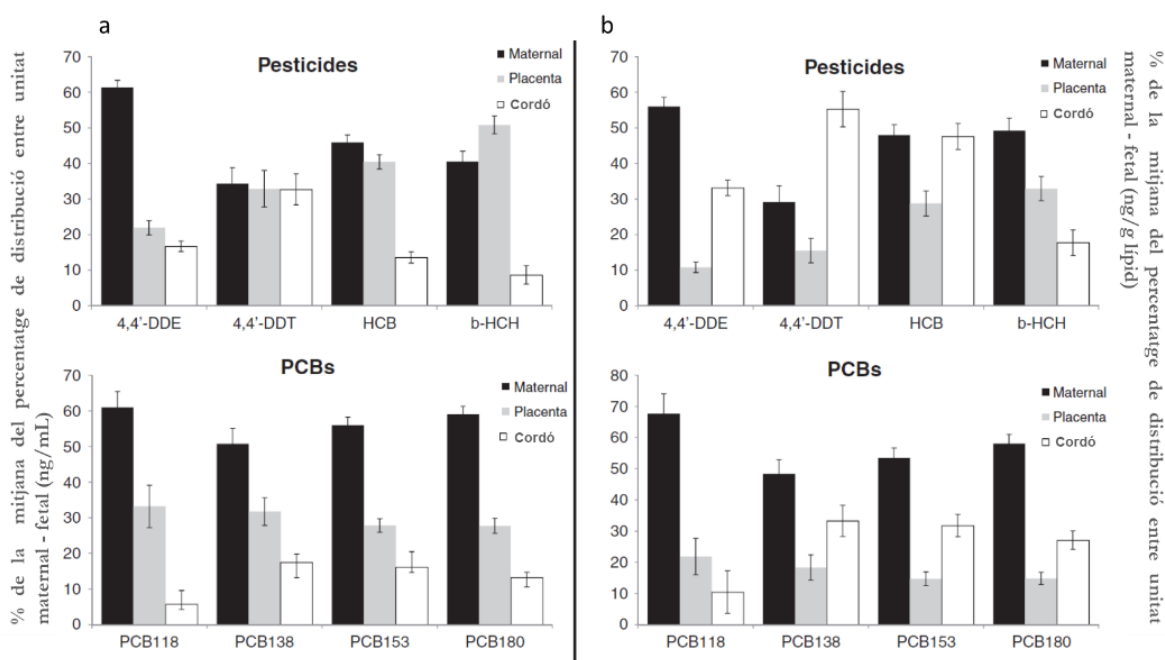


Figura 5.9 Mitjana del percentatge de distribució dels compostos orgànics persistents entre el sèrum materna, la placenta i el sèrum fetal. Concentracions expressades en ng/mL (a) i ajustades per lípid (b). Les barres corresponen al 95 % dels intervals de confiança (Vizcaino *et al.*, 2014a).

5 DISCUSSIÓ

Les correlacions trobades en aquests estudis mostren una relació directa positiva entre les concentracions de la mare i els nounats, a major càrrega de contaminants en les mares, nivells més elevats en els nounats, tot posant en evidència la transferència de contaminants de la mare al fetus.

El treball d'aquesta tesi doctoral aporta informació nova al coneixement del transport dels compostos organoclorats durant l'embaràs. Tot i això, aquest tema requereix més estudis on es monitoritzin aquests compostos en els compartiments fetals per tal d'arribar a un major coneixement dels mecanismes de transport.

6 Conclusions

Aquesta investigació sobre l'exposició a contaminants ha explorat les vies d'entrada principals d'OCs i metalls en els infants, ha analitzat alguns dels factors que determinen l'acumulació d'aquests compostos en els organismes i ha valorat certes hipòtesis per explicar la transferència d'aquests compostos als humans. A continuació es resumeix una síntesi dels resultats de la investigació.

Exposició a OCs i mercuri a través de la dieta en la població infantil de Menorca. Els resultats obtinguts indiquen que la principal font d'exposició a OCs i mercuri en els infants prové, majoritàriament, del consum de peix i marisc. El 60 % d'aquests productes alimentaris han presentat concentracions de mercuri per sobre del nivell màxim establert per la Unió Europea pel seu consum. Per contra, les concentracions d'OCs trobades en els aliments de Menorca són baixes en comparació amb altres estudis fets en regions Europees. Les estimacions d'ingesta dels OCs han estat molt per sota dels nivells d'ingesta tolerables establerts per les entitats responsables de la salut pública. No obstant, pel que fa l'estimació de la ingesta de mercuri, ha sobrepassat en més del doble el nivell tolerable establert per l'EFSA. Tot i això, aquesta situació es planteja només en el cas d'infants consumidors de peix provinent exclusivament de la zona del mar Mediterrani propera a Menorca. A més, s'ha trobat una relació positiva entre el consum de peix i marisc amb les concentracions de mercuri en

el cabell dels infants, i entre el consum de carn i peix amb les concentracions de 4,4'-DDT en la mateixa matriu. Per contra, s'ha associat el consum de verdures i de fruita com a protectors contra l'acumulació de PCBs i del 4,4'-DDT, respectivament.

Patrons d'acumulació dels OCs i mercuri en peix blanc del mar Mediterrani i implicacions en la dieta. El mercuri i els DDTs presenten major variabilitat entre les espècies de peix que els PCBs i el HCB. La distribució de PCBs en totes les mostres està dominada pels congèneres amb major pes molecular degut a un major potencial de bioacumulació d'aquests compostos, mentre que la distribució dels DDTs està dominada pel 4,4'-DDE, indicant una font antiga d'exposició. Les concentracions de mercuri trobades en peix del mar Mediterrani són més altes que les de l'Oceà Atlàntic. Les espècies de peix que ocupen nivells més alts en la cadena tròfica i de major pes, acumulen més contaminants degut als processos de biomagnificació i bioacumulació. No obstant, aquestes diferències només són significatives pels compostos amb major potencial de bioacumulació. Novament, més del 40 % de les espècies analitzades provinents del mar Mediterrani presenten concentracions per sobre de les establertes per la Unió Europea pel seu consum. Tant la població adulta com infantil de l'Estat Espanyol, està exposada a nivells d'incorporació de mercuri per sobre de les ingestes recomanades per l'EFSA.

Grau d'exposició a metalls i factors determinants d'aquests nivells en la població infantil d'Astúries. En general, els nivells de metalls analitzats en la població infantil d'Astúries són superiors als nivells trobats en estudis anteriors arreu del món, probablement a causa de l'elevada activitat industrial i minera de la zona. D'acord amb els models univariants i multivariants, la ingesta d'aliments és la principal font d'exposició a aquests compostos, seguit

de les emissions provinents del tràfic. S'ha trobat una associació significativa positiva entre els nivells d'arsènic en l'organisme i el consum de peix blanc i blau. L'arsènic del peix està present en forma orgànica i, per tant, no és tòxic per a la població. Així, els alts nivells d'arsènic en orina de la cohort d'Astúries, propers als reportats en altres poblacions mediterrànies, no són motiu de preocupació.

Per altra banda, s'ha trobat una relació significativa negativa entre les concentracions de cobalt i ferritina. Aquesta associació s'explica per situacions d'alta demanda de ferro, com durant el creixement infantil o anèmia per dèficit d'aquest metall, l'organisme sota aquesta necessitat intenta captar una major quantitat d'aquest element que té unes propietats semblants al ferro. Una de les respostes adaptatives d'aquest procés podria ser l'augment de l'expressió del DMT1, un transportador d'ions divalent, que en tenir la singularitat de no ser específic, captaria ferro però també un altre ions divalents, com el cobalt.

Transferència d'OCs durant l'embaràs en la població infantil de Tarragona. Les concentracions trobades en sèrum matern i en cordó umbilical són en general més baixes que les trobades en estudis anteriors arreu del món. No obstant, tots els nounats de la població de Tarragona presenten nivells detectables d'OCs. Les concentracions d'aquests compostos en el part són significativament més altes que durant el primer trimestre d'embaràs i en el cordó umbilical. Aquestes diferències poden ser conseqüència d'una mobilització de les reserves de greix i l'augment del volum de sang durant l'embaràs. L'associació entre mare-infant ha estat positiva i significativa per la gran majoria d'OCs. S'ha observat, per tant, que les dones més exposades transfereixen més OCs als seus fills. Les concentracions de la majoria dels OCs mostren una dependència forta amb l'edat, com a conseqüència d'un major

6 CONCLUSIONS

temps d'exposició a aquests compostos. En menor grau, també s'ha vist que l'índex de massa corporal és un determinant dels nivells d'OCs, degut a la capacitat d'emmagatzematge d'aquests compostos en el teixit adipós.

7 Bibliografía

- AESA (2006) Agencia Española de Seguridad Alimentaria. Modelo de dieta española para la determinación de la exposición del consumidor a sustancias químicas. Madrid, España
- AESAN Documento de consenso sobre la alimentación en los centros educativos. NIPO: 863-10-004-7
- Al-Saleh I, Shinwari N, Mashhour A i Rabah A (2014) Birth outcome measures and maternal exposure to heavy metals (lead, cadmium and mercury) in Saudi Arabian population. *Int J Hyg Environ Health* 217(2–3):205–18. doi: 10.1016/j.ijheh.2013.04.009
- AMAP (2018) Arctic Monitoring and Assessment Programme. <http://amap.no/>
- Amaya E, Gil F, Freire C, Olmedo P, Fernández-Rodríguez M, Fernández MF *et al.* (2013) Placental concentrations of heavy metals in a mother-child cohort. *Environ Res* 120:63–70. doi: 10.1016/j.envres.2012.09.009
- Apostoli P (2002) Elements in environmental and occupational medicine. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* 778(1–2):63–97. doi: 10.1016/S0378-4347(01)00442-X
- Arrebola JP, Cuellar M, Bonde JP *et al.* (2016) Associations of maternal o,p'-DDT and p,p'-DDE levels with birth outcomes in a Bolivian cohort. *Environ Res* 151:469–477. doi: 10.1016/j.envres.2016.08.008

- Arrebola JP, Fernández MF, Martín-Olmedo P, Molina-Molina JM, Sánchez-Pérez MJ, Sánchez-Cantalejo E *et al.* (2014) Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and total cancer risk in an adult cohort from Southern Spain: Preliminary data from year 9 of the follow-up. *Sci Total Environ* 500–501:243–9. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.08.043
- ATSDR (2019) Toxicological profile for lead <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>
- ATSDR (2017) The ATSDR 2017 Substance Priority List. <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/#2017spl>
- Baeyens W, Vrijens J, Gao Y, Croes K, Schoeters G, Den Hond E *et al.* (2014) Trace metals in blood and urine of newborn/mother pairs, adolescents and adults of the Flemish population (2007-2011). *Int J Hyg Environ Health* 217(8):878–90. doi: 10.1016/j.ijheh.2014.06.007
- Bakir F, Damluji SF, Amin-Zaki L, Murtadha M, Khalidi A, al-Rawi NY *et al.* (1973) Methylmercury poisoning in Iraq. *Science* 181(4096):230–41. doi: 10.1126/science.181.4096.230
- Banana AS, Radin MR, Mohamed i Al-Gheethi AA (2016) Mercury pollution for marine environment at Farwa Island, Libya. *J Environ Health Sci Eng.* 14:5. doi: 10.1186/s40201-016-0246-y
- Bárány E, Bergdahl IA, Bratteby LE, Lundh T, Samuelson G, Skerfving S *et al.* (2005) Iron status influences trace element levels in human blood and serum. *Environ Res* 98:215–223. doi: 10.1016/j.envres.2004.09.010
- Barber JL, Sweetman AJ, Van Wijk D i Jones KC (2005) Hexachlorobenzene in the global environment: Emissions, levels, distribution, trends and processes. *Sci Total Environ* 349(1–3):1–44. doi: 10.1016/j.scitotenv.2005.03.014
- Berdie L i Grimalt JO (1998) Assessment of the sample handling procedures in a laborsaving method for the analysis of organochlorine compounds in

- a large number of fish samples. *J Chromatogr* 823(1-2):373–380. doi: 10.1016/s0021-9673(98)00517-2
- Bhatt DK i Bano M (2009) Modulation of tricarboxylic acid cycle dehydrogenases during hepatocarcinogenesis induced by hexachlorocyclohexane in mice. *Exp Toxicol Pathol* 61:325–332. doi: 10.1016/j.etp.2008.09.004
- BOE (2015) Resolución de 26 de febrero de 2015, de la Secretaría General de Pesca, por la que se publica el listado de denominaciones comerciales de especies pesqueras y de acuicultura admitidas en España. <https://www.boe.es/boe/dias/2015/03/12/pdfs/BOE-A-2015-2653.pdf>
- Bolt HM i Hengstler JG (2018) Contemporary trends in toxicological research on arsenic. *Arch Toxicol* 82(11):3251–3253. doi: 10.1007/s00204-018-2311-z
- Borak J i Hosgood HD (2007) Seafood arsenic: Implications for human risk assessment. *Regul Toxicol Pharm* 47(2):204–212. doi: 10.1016/j.yrtph.2006.09.005
- Bravo N, Hansen S, Økland I, Garí M, Álvarez MV, Matioceovich S *et al.* (2017) Influence of maternal and sociodemographic characteristics on the accumulation of organohalogen compounds in Argentinian women. The EMASAR study. *Environ Res* 158:759767. doi: 10.1016/j.envres.2017.07.033
- Bridges KN, Soulen BK, Overturf CL, Drevnick PE i Roberts AP (2016) Embryotoxicity of maternally transferred methylmercury to fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environ Toxicol Chem* 35(6):1436–41. doi: 10.1002/etc.3282
- Briner W (2010) Toxicity from metals, old menaces and new threats. *Int J Environ Res Public Health* 7(12):4278–4280. doi: 10.3390/ijerph7124278

- Cabrera-Rodríguez R, Luzardo OP, Almeida-González M, Boada LD, Zumbado M, Acosta-Dacal A *et al.* (2019) Association between prenatal exposure to multiple persistent organic pollutants (POPs) and growth indicators in newborns. *Environ Res* 171:285–292. doi: 10.1016/j.envres.2018.12.064
- Caldwell KL, Jones RL, Verdon CP, Jarrett JM, Caudill SP i Osterloh JD (2009) Levels of urinary total and speciated arsenic in the US population: National Health and Nutrition Examination Survey 2003-2004. *J Expos Sci Environ Epidemiol* 19(1):59–68. doi: 10.1038/jes.2008.32
- Carbone R, Laforgia N, Crollo E, Mautone A i Iolascon A (1998) Maternal and neonatal lead exposure in southern Italy. *Biol Neonate* 73(6):362–6. doi: 10.1159/000013998
- Carrizo D, Grimalt JO, Ribas-Fito N, Sunyer J i Torrent M (2006) Physical–chemical and maternal determinants of the accumulation of organochlorine compounds in four-year-old children. *Environ Sci Technol* 40(5):1420–1426. doi: 10.1021/es0518427
- Carrizo D, Grimalt JO, Ribas-Fito N, Torrent M i Sunyer J (2007) In utero and post-natal accumulation of organochlorine compounds in children under different environmental conditions. *J Environ Monit* 9(6):523–529. doi: 10.1039/b700247e
- Carson R (1962) *Silent Sping*. Houghton Miffling, Boston, USA. doi: 10.1093/forestry/36.2.195
- Castillo S, Moreno T, Querol X, Alastuey A, Cuevas E, Herrmann L *et al.* 2008 Trace element variation in size-fractionated African desert dusts. *J Arid Environ* 72(6):1034–1045. doi: 10.1016/j.jaridenv.2007.12.007
- Cavallo D, Iavicoli I, Setini A, Marinaccio A, Perniconi B, Carelli, *et al.* (2002) Genotoxic risk and oxidative DNA damage in workers exposed to antimony trioxide. *Environ Mol Mutag* 40(3):184–189. doi: 10.1002/em.10102

- Charron A, Polo-Rehn L, Besombes J, Golly B, Buisson C, Chanut H *et al.* (2019) Identification and quantification of particulate tracers of exhaust and non-exhaust vehicle emissions. *Atmos Chem Phys* 19:5187–5207. doi: 10.5194/acp-19-5187-2019
- Concha G, Broberg K, Grandér M, Cardozo A, Palm B i Vahter M (2010) High-level exposure to lithium, boron, cesium, and arsenic via drinking water in the Andes of Northern Argentina. *Environ Sci Technol* 44(17):6875–6880. doi: 10.1021/es1010384
- Cvjetko P, Cvjetko I i Pavlica M (2010) Review: Thallium toxicity in humans. *Arb Hig Rada Toksikol* 61:111–119. doi: 10.2478/10004-1254-61-2010-1976
- Dayton PG, Israili ZH i Henderson JD (1983) Elimination of drugs by passive diffusion from blood to intestinal lumen: factors influencing nonbiliary excretion by the intestinal tract *Drug Metab Rev* 14(6):1193–1206. doi: 10.3109/03602538308991427
- Das KK, Das SN i Dhundasi SA (2010) Nickel: Molecular diversity, application, essentiality and toxicity in human health. *Biometals: Molecular Structures, Binding Properties and Applications*
- Den Hond E, Govarts E, Willems H, Smolders R, Casteleyn L, Kolossa-Gehring M *et al.* (2015) First steps toward harmonized human biomonitoring in Europe: demonstration project to perform human biomonitoring on a European scale. *Environ Health Perspect* 123(3):255–63. doi: 10.1289/ehp.1408616
- Denkhaus E i Salnikow K (2002) Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. *Crit Rev Oncol/Hematol* 42(1):35–56. doi: 10.1016/S1040-8428(01)00214-1
- de Romaña DL, Olivares M, Uauy R i Araya M (2011) Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. *J Trace Elem Med Biol* 25(1):3–13. doi: 10.1016/j.jtemb.2010.11.004

Directive 98/70/EC of the European Parliament and of the Council of 13 October 1998 relating to the quality of petrol and diesel fuels and amending Council Directive 93/12/EEC. https://www.epure.org/media/1453/celex_01998l0070-20151005_en_txt.pdf

ECHA (2017) Guidance for identification and naming of substances under REACH and CLP. Version 2.1, May 2017. Consultado el 7 de Junio de 2017.

https://echa.europa.eu/documents/10162/23036412/substance_id_en.pdf/ee696bad-49f6-4fec-b8b7-2c3706113c7d

Edmonds JS i Francesconi KA (1993) Arsenic in seafoods: Human health aspects and regulations. *Mar Pollut Bull* 26(12):665–674. doi: 10.1016/0025-326X(93)90549-Y

EFA (2006) Priority issues Mediterranean environment. European Environment Agency (EEA)/United Nations Environmental Programme (UNEP), Copenhagen

EFSA (2012) Scientific opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA J.* 10, 2985–3226

EPA (2009) Toxicological review of thallium and compounds

Esteban-Vasallo MD, Aragonés N, Pollan M, López-Abente G i Perez-Gomez B (2012) Mercury, cadmium, and lead levels in human placenta: a systematic review. *Environ Health Perspect* 120(10):1369–77. doi: 10.1289/ehp.1204952

European Comission (2006) Comission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.

European Comission (2011) Comission Regulation (EC) No 1259/2011 of 2 December 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards

maximum levels for dioxins, dioxin-like PCBs and non dioxin-like PCBs in foodstuffs

European Environment Agency (2018) Trends in emissions of heavy metals.

Fang J, Liu H, Zhao H, Wong M, Xu S i Cai Z (2019) Association of prenatal exposure to organochlorine pesticides and birth size. *Sci Total Environ* 654:678–683. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.10.384

Flanagan PR, Haist J i Valberg LS (1980) Comparative effects of iron deficiency induced by bleeding and a low-iron diet on the intestinal absorptive interactions of iron, cobalt, manganese, zinc, lead and cadmium. *J Nutr* 110:1754–1763. doi: 10.1093/jn/110.9.1754

Fontcuberta M, Calderon J, Villalbí JR, Centrich F, Portaña S, Espelt A, *et al.* (2011) Total and inorganic arsenic in marketed food and associated health risks for the Catalan (Spain) population. *J Agric Food Chem* 59:10013–10022. doi: 10.1021/jf2013502

Fort M, Grimalt JO, Casas M i Sunyer S (2015) Interdependence between cobalt concentrations and haemoglobin levels in pregnant women. *Environ Res* 136:148–154. doi: 10.1016/j.envres.2014.10.013

Fraga CG (2005) Relevance, essentiality and toxicity of trace elements in human health. *Mol Aspects Med* 26(4-5):235-244. doi: 10.1016/j.mam.2005.07.013

Freire C, Amaya E, Gil F, Fernández MF, Murcia M, Llop S *et al.* (2018) Prenatal co-exposure to neurotoxic metals and neurodevelopment in preschool children: The Environment and Childhood (INMA) Project. *Sci Total Environ* 621:340–351. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.11.273

Gallego J, Ordóñez A i Loredó J (2002) Investigation of trace element sources from an industrialized area (Avilés, northern Spain) using multivariate statistical methods. *Environ Int* 27(7):589–96. doi: 10.1016/S0160-4120(01)00115-5

Garí M, Grimalt JO, Torrent M i Sunyer J (2013) Influence of socio-demographic and diet determinants on the levels of mercury in preschool

- children from a Mediterranean island. *Environ Pollut.* 182, 291–29. doi: 10.1016/j.envpol.2013.07.022
- Garrick MD, Dolan KG, Horbinski C, Ghio AJ, Higgins D, Porubcin M *et al.* (2003) DMT1: A mammalian transporter for multiple metals. *Biometals* 16(1):41–54. doi: 10.1023/A:1020702213099
- Gentry PR, Covington TR, Andersen ME, Clewell HJ III (2002) Application of a physiologically based pharmacokinetic model for isopropanol in the derivation of a reference dose and reference concentration. *Regul Toxicol Pharmacol.* 36(1):51–68. doi: 10.1006/rtp.2002.1540
- Gentry PR, Covington TR, Clewell HJ III (2003) Evaluation of the potential impact of pharmacokinetic differences on tissue dosimetry in offspring during pregnancy and lactation. *Regul Toxicol Pharmacol* 38(1):1–16. doi: 10.1016/S0273-2300(03)00047-3
- Government of Spain (2012) Principales Especies Pesqueras de Interés Comercial.
http://www.alimentacion.es/imagenes/es/Cartel%2030_principales_especies_48x68%20_tcm8-19058.pdf
- Grandjean P, Weihe P, White RF, Debes F, Araki S, Yokoyama K *et al.* (1997) Cognitive deficit in 7-year-old children with prenatal exposure to methylmercury. *Neurotoxicol Teratol* 19(6):417–28
- Green AJ i Planchart A (2018) The neurological toxicity of heavy metals: A fish perspective. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 208:12–19. doi: 10.1016/j.cbpc.2017.11.008
- Grimalt JO, Fernandez P, Berdie L, Vilanova RM, Catalan J, Psenner R *et al.* (2001) Selective trapping of organochlorine compounds in mountain lakes of temperate areas. *Environ Sci Technol* 35(13):2690–2697. doi: 10.1021/es000278r
- Grimalt JO, Howsam M, Carrizo D, Otero R, de Marchi MR i Vizcaino E (2010) Integrated analysis of halogenated organic pollutants in sub-

- millilitre volumes of venous and umbilical cord blood sera. *Anal Bioanal Chem* 396(6):2265–2272. doi: 10.1007/s00216-010-3460-y
- Grimalt JO, Sunyer J, Moreno V, Amaral OC, Sala M, Rosell A *et al.* (1994) Risk excess of soft-tissue sarcoma and thyroid cancer in a community exposed to airborne organochlorinated compound mixtures with a high hexachlorobenzene content. *Int J Cancer* 56(2):200–203. doi: 10.1002/ijc.2910560209
- Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, *et al.* (1997) Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 388:482–488. doi: 10.1038/41343
- Gupta UC i Gupta SC (2014) Sources and Deficiency Diseases of Mineral Nutrients in Human Health and Nutrition: A Review. *Pedosphere* 24(1):13–38. doi: 10.1016/S1002-0160(13)60077-6
- Guxens M, Ballester F, Espada M, Fernández MF, Grimalt JO, Ibarluzea J *et al.* (2012) Cohort profile: The INMA-INfancia y Medio Ambiente- (Environment and Childhood) Project. *Int J Epidemiol* 41(4):930–940. doi: 10.1093/ije/dyr054
- Hirata M, Toada K, Ono-Ogasawara M, Takaya M i Hisanaga N (1998) A probable case of chronic occupational thallium poisoning in a glass factory. *Industrial Health* 36:300–303. doi: 10.2486/indhealth.36.300
- Hopkins TS (1999) The thermohaline forcing of the Gibraltar exchange. *J Mar Syst* 20 (1–4):1–31. doi: 10.1016/S0924-7963(98)00068-2
- Horton LM, Mortensen ME, Iossifova Y, Wald MM i Burgess P (2013) What Do We Know of Childhood Exposures to Metals (Arsenic, Cadmium, Lead, and Mercury) in Emerging Market Countries? *Int J Pediatr* 2013:1–13. doi: 10.1155/2013/872596
- Hutzinger O, Safe S i Zitko V (1974) The chemistry of PCB's. Cleveland, Ohio. CRC Press

- IARC, International Agency for Research on Cancer (2006) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Cobalt in hard metals and cobalt sulfate, gallium arsenide, indium phosphide and vanadium pentoxide. Vol. 86.
- James RA, Hertz-Picciotto I, Willman E, Keller JA i Charles MJ (2002) Determinants of serum polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides measured in women from the child health and development study cohort, 1963-1967. *Environ Health Perspect* 110(7):617–24. doi: 10.1289/ehp.02110617
- Jandacek RJ i Tso P (2007) Enterohepatic circulation of organochlorine compounds: a site for nutritional intervention. *J Nutr Biochem* 18(3):163–167. doi: 10.1016/j.jnutbio.2006.12.001
- Järup L (2003) Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull* 68:167–182. doi: 10.1093/bmb/ldg032
- JMPR (2000) Joint FAO/WHO meetings on pesticide residues 2000. Expert Committee on Food Additives, FAO Plant Production and Protection Paper 163/59, Rome, 2001Report NMRS 29/TRS 220-JECFA 5/28
- Junqué E, Garí M, Arce A, Torrent M, Sunyer J i Grimalt JO (2017) Integrated assessment of infant exposure to persistent organic pollutants and mercury via dietary intake in a central western Mediterranean site (Menorca Island). *Environ Res* 156:714–724. doi: 10.1016/j.envres.2017.04.030
- Junqué E, Garí M, Lull RM, Grimalt JO i Lull RM (2018) Drivers of the accumulation of mercury and organochlorine pollutants in Mediterranean lean fish and dietary significance. *Sci Total Environ* 634:170–180. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.335
- Kafaei R, Tahmasbi R, Ravanipour M, Vakilabadi DR, Ahmadi M, Omrani A *et al.* (2017) Urinary arsenic, cadmium, manganese, nickel, and vanadium levels of schoolchildren in the vicinity of the industrialised area of

- Asaluyeh, Iran. *Environ Sci Pollut Res Int* 24, 23498-23507. doi: 10.1007/s11356-017-9981-6
- Kalantzi OI, Alcock RE, Johnston PA, Santillo D, Stringer RL, Thomas GO *et al.* (2001) The Global distribution of PCBs and organochlorine pesticides in butter. *Environ Sci Technol* 35(6):1013–1018. doi: 10.1021/es0002464
- Kim JH, Gibb HJ I Howe PD (2006) Cobalt and inorganic cobalt compounds.
- Koppen G, Den Hond E, Nelen V, Van De Mierop E, Bruckers L, Bilau M *et al.* (2009) Organochlorine and heavy metals in newborns: results from the Flemish Environment and Health Survey (FLEHS 2002-2006). *Environ Int* 35(7):1015–22. doi: 10.1016/j.envint.2009.05.002
- Krachler M (1996) Microwave digestion methods for the determination of trace elements in brain and liver samples by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Fresenius J Anal Chem* 355(2):120–128. doi: 10.1007/s0021663550120
- Kravchenko J, Darrah TH, Miller RK, Lyerly HK i Vengosh A (2014) A review of the health impacts of barium from natural and anthropogenic exposure. *Environ Geochem Health* 36(4):797–8814. doi: 10.1007/s10653-014-9622-7
- Kreuzer PE, Csanády GA, Baur C, Kessler W, Pöpke O, Greim H *et al.* (1997) 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and congeners in infants. A toxicokinetic model of human lifetime body burden by TCDD with special emphasis on its uptake by nutrition. *Arch Toxicol* 71(6): 383–400. doi: 10.1007/s002040050402
- Kutz FW, Wood PH i Bottimore DP (1991) Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue. *Rev Environ Contam Toxicol* 120:1–82
- Lamborg CH, Hammerschmidt CR, Bowman KL, Swarr GJ, Munson KM, Ohnemus DC *et al.* (2014) A global ocean inventory of

- anthropogenic mercury based on water column measurements. *Nature* 512 (7512):65–68. doi: 10.1038/nature13563
- Lazo P, Stafilov T, Qarri F, Allajbeu S, Bekteshi, Frontasyeva M *et al.* Spatial distribution and temporal trend of airborne trace metal deposition in Albania studied by moss biomonitoring. *Ecological indicators* 101:1007–1017. doi: 10.1016/j.ecolind.2018.11.053
- Leyssens L, Vinck B, Van Der Straeten C, Wuyts F i Maes L (2017) Cobalt toxicity in humans-A review of the potential sources and systemic health effects. *Toxicology* 387:43–56. doi: 10.1016/j.tox.2017.05.015
- Llop S, Aguinagalde X, Vioque J, Ibarluzea J, Guxens M, Casas M *et al.* (2011) Prenatal exposure to lead in Spain: cord blood levels and associated factors. *Sci Total Environ* 409(11):2298–305. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.02.004
- Mackenzie B i Garrick MD (2005) Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289(6):G981-G986. doi: 10.1152/ajpgi.00363.2005
- Martí-Cid R, Huertas D, Nadal M, Linares V, Schuhmacher M, Grimalt JO *et al.*, (2010) Dietary exposure to organochlorine compounds in Tarragona Province (Catalonia, Spain): health risks. *Hum Eco Risk Assess* 16:588–602. doi: 10.1080/10807031003788832
- Maruyama K, Yorifuji T, Tsuda T, Sekikawa T, Nakadaira H i Saito H (2012) Methyl mercury exposure at Niigata, Japan: Results of neurological examinations of 103 adults. *J Biomed Biotechnol* 2012:1–7. doi: 10.1155/2012/635075
- Mason KE (1979) A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *J Nutr* 109(11): 1979-2066. doi: 10.1093/jn/109.11.1979
- Melnikov P i Zanoni LZ (2010) Clinical effects of cesium intake. *Biol Trace Elem Res* 135(1–3):1–9. doi: 10.1007/s12011-009-8486-7

- Meltzer HM, Brantster AL, Borch-Johnsen B, Ellingsen DG, Alexander J, Thomassen Y *et al.* (2010) Low iron stores are related to higher blood concentrations of manganese, cobalt and cadmium in non-smoking, Norwegian women in the HUNT2 study. *Environ Res* 110:497–504. doi: 10.1016/j.envres.2010.03.006
- Mohmand J, Eqani SA, Fasola M, Alamdar A, Mustafa I, Ali N *et al.* (2015) Human exposure to toxic metals via contaminated dust: Bio-accumulation trends and their potential risk estimation. *Chemosphere* 132:142–151. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.03.004
- Molin M, Ulven SM, Meltzer HM i Alexander J (2015) Arsenic in the human food chain, biotransformation and toxicology. Review focusing on seafood arsenic. *J Trace Elem Med Biol* 31:249–59. doi: 10.1016/j.jtemb.2015.01.010
- Moser GA i McLachlan MS (2001) The influence of dietary concentration on the absorption and excretion of persistent lipophilic organic pollutants in the human intestinal tract. *Chemosphere* 45(2):201–211. doi: 10.1016/S0045-6535(00)00551-8
- Moskalyk RR i Alfantazi AM (2003) Processing of vanadium: a review. *Miner Eng* 16:793–805. doi: 10.1016/S0892-6875(03)00213-9
- Mukherjee B, Patra B, Mahapatra S, Banerjee P, Tiwari A i Chatterjee M (2004) Vanadium-an element of atypical biological significance. *Toxicol Lett* 150:135–143. doi: 10.1016/j.toxlet.2004.01.009
- Natasha, Shahid M, Khalid S, Dumat C, Pierart A i Niazi NK (2019) Biogeochemistry of antimony in soil-plant system: Ecotoxicology and human health. *Appl Geochem* 106:45–59. doi: 10.1016/j.apgeochem.2019.04.006
- Navas-Acien A, Francesconi KA, Silbergeld EK i Guallar E (2011) Seafood intake and urine concentrations of total arsenic, dimethylarsinate and

- arsenobetaine in the US population. *Environ Res* 111(1):110-118. doi: 10.1016/j.envres.2010.10.009
- NHANES report. 2013. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control and Prevention.
- NJ DEP (2002) New Jersey Mercury Task Force Report Volume II Exposure and Impacts
- Nordberg GF, Nogawa K, Nordberg M i Friberg LT (2007) Cadmium. Handbook on the Toxicology of Metals
- Nriagu JO (1996) A history of global metal pollution. *Science* 272(5259):223–224. doi: 10.1126/science.272.5259.223
- Paustenbach DJ, Tvermoes BE, Unice KM, Finley BL i Kerger BD (2013) A review of the health hazards posed by cobalt. *Crit Rev Toxicol* 43(4):316–362. doi: 10.3109/10408444.2013.779633
- Perera F, Ashrafi A, Kinney P i Mills D (2019) Towards a fuller assessment of benefits to children's health of reducing air pollution and mitigating climate change due to fossil fuel combustion. *Environ Res* 172:55–72. doi:10.1016/j.envres.2018.12.016
- Peters HA (1976) Hexachlorobenzene poisoning in Turkey. *Fed Proc* 35(12):2400–2403
- Phetliap W, Geater A, Rozek L-S, Oshikawa S, Helmick K, Rentschler K *et al.* (2019) Global DNA methylation (LINE-1) associated with exposure to arsenic-contaminated environment and with type of arsenical skin lesions in Thailand. *Hum Ecol Risk Assess* 25(3):688–705. doi: 10.1080/10807039.2018.1448968
- Pieczynska J i Grajeta H (2015) The role of selenium in human conception and pregnancy. *J Trace Elem Med Biol* 29:31–38. doi: 10.1016/j.jtemb.2014.07.003

- Ploteau S, Cano-Sancho G, Volteau C, Legrand A, Vénisseau A, Vacher V *et al.* (2017) Associations between internal exposure levels of persistent organic pollutants in adipose tissue and deep infiltrating endometriosis with or without concurrent ovarian endometrioma. *Environ Int* 108:195–203. doi: 10.1016/j.envint.2017.08.019
- Polder A, Savinova TN, Tkachev A, Loken KB, Odland JO i Skaare JU (2010) Levels and patterns of Persistent Organic Pollutants (POPS) in selected food items from Northwest Russia (1998–2002) and implications for dietary exposure. *Sci Total Environ* 408(22):5352–5361. doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.07.036
- Porta M, Malats N, Jarrod M, Grimalt JO, Rifa J, Carrato A *et al.* (1999) Serum concentrations of organochlorine compounds and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. *Lancet* 354(9196):2125–2129. doi: 10.1016/S0140-6736(99)04232-4
- Queirolo F, Stegen S, Contreras-Ortega C, Ostapczuk P, Queirolo A i Paredes B (2009) Thallium levels and bioaccumulation in environmental samples of Northern Chile: Human health risks. *Journal of the Chilean Chemical Society* 54(4):464–469. doi: 10.4067/S0717-97072009000400031
- Querol X, Viana M, Alastuey A, Amato F, Moreno T, Castillo S, *et al.* (2007) Source origin of trace elements in PM from regional background, urban and industrial sites of Spain. *Atmos Environ* 41(34):7219–7231. doi: 10.1016/j.atmosenv.2007.05.022
- Rajagopalan KV (1988) Molybdenum: An essential trace element in human nutrition. *Annu Rev Nutr* 8:401–427. doi: 10.1146/annurev.nu.08.070188.002153
- Ramon R, Murcia M, Aguinagalde X, Amurrio A, Llop S, Ibarluzea J *et al.* (2011) Prenatal mercury exposure in a multicenter cohort study in Spain. *Environ Int* 37:597–604. doi: 10.1016/j.envint.2010.12.004

- Rayman, MP (2012) Selenium and human health. *The Lancet* 379(9822):1256–1268. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61452-9
- R Development Core Team (2018) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Real Decreto 1728/1999, d.BOE 272, 13 Noviembre 1999. <https://www.boe.es/boe/dias/1999/11/13/pdfs/A39659-39664.pdf>
- Recio-Vega R, Velazco-Rodriguez V, Ocampo-Gómez G, Hernandez-Gonzalez S, Ruiz-Flores P i Lopez-Marquez F (2011) Serum levels of polychlorinated biphenyls in Mexican women and breast cancer risk. *J Appl Toxicol* 31(3):270–278. doi: 10.1002/jat.1672
- Ribas-Fitó N, Grimalt JO, Marco E, Sala M, Mazón C i Sunyer J (2005) Breastfeeding and concentrations of HCB and p,p'-DDE at the age of 1 year. *Environ Res* 98(1):8–13. doi: 10.1016/j.envres.2004.05.017
- Ribas-Fitó N, Torrent M, Carrizo D, Muñoz-Ortiz L, Júlvez J, Grimalt JO *et al.* (2006) In utero exposure to background concentrations of DDT and cognitive functioning among preschoolers. *Am J Epidemiol* 164(10):955–962. doi: 10.1093/aje/kwj299
- Riera F, Oliver J i Terrassa J (1995) Peixos de Les Balears. Conselleria d'Obres Públiques i Ordenació del Territori, Palma de Mallorca (261 pp. Isbn 84-606-2604-0)
- Robledo CA, Yeung E, Mendola P, Sundaram R, Maisog J, Sweeney *et al.* (2015) Preconception maternal and paternal exposure to persistent organic pollutants and birth size: The LIFE study. *Environ Health Perspect* 123(1):88–94. doi: 10.1289/ehp.1308016
- Roca M, Sánchez A, Pérez R, Pardo O i Yusà V (2016) Biomonitoring of 20 elements in urine of children. Levels and predictors of exposure. *Chemosphere* 144:1698–705. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.10.008

- Rothenberg SE, Windham-Myers L i Creswell JE (2014) Rice methylmercury exposure and mitigation: A comprehensive review. *Environ Res* 133:407–423. doi: 10.1016/j.envres.2014.03.001
- Saeedi Saravi SS i Dehpour AR (2016) Potential role of organochlorine pesticides in the pathogenesis of neurodevelopmental, neurodegenerative, and neurobehavioral disorders: A review. *Life Sci* 145:255–264. doi: 10.1016/j.lfs.2015.11.006
- Sala M, Sunyer J, Otero R, Santiago-Silva M, Camps C i Grimalt J (1999) Organochlorine in the serum of inhabitants living near an electrochemical factory. *Occup Environ Med* 56(3):152–158. doi: 10.1136/oem.56.3.152
- Saoudi A, Zeghnoun A, Bidondo M-L, Garnier R, Cirimele V, Persoons R *et al.* (2012) Urinary arsenic levels in the French adult population: The French National Nutrition and Health Study, 2006-2007. *Sci Total Environ* 433(0):206–215. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.06.053
- Sardesai VM (1993) Molybdenum: an essential trace element. *Nutr Clin Pract* 8(6):277–81. doi: 10.1177/0115426593008006277
- Schroeder WH i Munthe J (1998) Atmospheric mercury - An overview. *Atmos Environ* 32:809–22. doi: 10.1016/S1352-2310(97)00293-8
- Selin NE (2010) Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annu Rev Environ Resour* 34:43–63. doi: 10.1146/annurev.environ.051308.084314
- Simonich SL i Hites RA (1995) Global distribution of persistent organochlorine compounds. *Science* 269(5232):1851–1854. doi: 10.1126/science.7569923
- Simonsen LO, Harbak H i Bennekou P (2012) Cobalt metabolism and toxicology-A brief update. *Sci Total Environ* 432: 210–215. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.06.009
- Squitti R, Pasqualetti P, Dal Forno G, Moffa F, Cassetta E, Lupoi D *et al.* (2005) Excess of serum copper not related to ceruloplasmin in Alzheimer

- disease. *Neurology* 64(6):1040–1046. doi: 10.1212/01.WNL.0000154531.79362.23
- Storelli MM i Barone G (2013) Toxic Metals (Hg, Pb, and Cd) in Commercially Important Demersal Fish from Mediterranean Sea: Contamination Levels and Dietary Exposure Assessment. *J Food Sci* 78(2):T362–T366. doi: 10.1111/j.1750-3841.2012.02976.x
- Streets DG, Horowitz HM, Jacob DJ, Lu Z, Levin L, Ter Schure AFH *et al.* (2017) Total Mercury Released to the Environment by Human Activities. *Environ Sci Technol* 51(11):5969–5977. doi: 10.1021/acs.est.7b00451
- Sunderland EM i Mason RP (2007) Human impacts on open ocean mercury concentrations. *Global Biogeochem Cycles* 21:1–15. doi: 10.1029/2006GB002876
- Schwarz G, Mendel RR i Ribbe MW (2009) Molybdenum cofactors, enzymes and pathways. *Nature* 460(7257):839–847. doi: 10.1038/nature08302
- Swindlehurst RJ, Johnston PA, Tröndle S, Stringer RL, Stephenson AD i Stone IM (1995) Regulation of toxic chemicals in the Mediterranean: the need for an adequate strategy. *Sci Total Environ* 171(1):243–264. doi: 10.1016/0048-9697(95)04719-X
- Tarasuk V, Fitzpatrick S i Ward H (2010) Nutrition inequities in Canada. *Appl Physiol Nutr Metab* 35(2):172–9. doi: 10.1139/H10-002
- Tchounwou PB, Yedjou CG, Patlolla AK i Sutton DJ (2012) Heavy metal toxicity and the environment. *Exp Suppl* 101:133–64. doi: 10.1007/978-3-7643-8340-4_6
- Thompson KH i Orvig C (2004) Vanadium compounds in the treatment of diabetes. *Met Ions Biol Syst* 41:221–52. doi: 10.1016/j.fct.2016.07.005
- Thorpe A i Harrison RM (2008) Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. *Sci Total Environ* 400(3):270–282. doi: 10.1016/j.scitotenv.2008.06.007

- Tobías A, Rivas I, Reche C, Alastuey A, Rodríguez S, Fernández-Camacho R *et al.* (2018) Short-term effects of ultrafine particles on daily mortality by primary vehicle exhaust versus secondary origin in three Spanish cities. *Environ Int* 111:144–151. doi: 10.1016/j.envint.2017.11.015
- To-Figueras J, Barrot C, Sala M, Otero R, Silva M, Ozalla MD *et al.* (2000) Excretion of hexachlorobenzene and metabolites in feces in a highly exposed human population. *Environ Health Perspect* 108(7):595–598. doi: 10.1289/ehp.00108595
- Törnkvist A, Glynn A, Aune M, Darnerud PO i Ankarberg EH (2011) PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005--levels and dietary intake estimations. *Chemosphere* 83(2):193–199. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.12.042
- Turnlund JR, Keyes WR i Peiffer GL (1995) Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men at five intakes of dietary molybdenum. *Am J Clin Nutr* 62(4):790–796. doi: 10.1093/ajcn/62.4.790
- Turyk ME, Anderson HA i Persky VW (2007) Relationships of thyroid hormones with polychlorinated biphenyls, dioxins, furans, and DDE in adults. *Environ Health Perspect* 115(8):1197–1203. doi: 10.1289/ehp.10179
- UNEP/FAO/WHO/IAEA (1990) Assessment of the State of Pollution of the Mediterranean Sea by Organohalogen Compounds. MAP Technical Reports Series. No 39. United Nations Environmental Programme, Athens
- UNEP/MAP/MED POL (2005) Transboundary Diagnostic Analysis (TDA) for the Mediterranean Sea. United Nations Environmental Programme. Mediterranean Action Plan, Athens
- UNEP (2013) Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases, and Environmental Transport. UNEP Chemicals Branch, Geneva, Switzerland

- UNEP (2017) Minamata Convention on Mercury. United Nations Environment Programme, Geneva, Switzerland
- UNESCO (1993) Biosphere Reserve. <http://www.unesco.org/mabdb/br/brdir/directory/biores.asp?mode=all&code=spa+13>
- US EPA (2005) United States Environmental Protection Agency. Toxicological Review of Barium and Compounds. EPA/635/R-05/001
- US EPA (2016) About the TSCA Chemical Substance Inventory. Consultado el 25 de Octubre de 2017. <https://www.epa.gov/tsca-inventory/about-tsca-chemicalsubstance-inventory>
- Varrica D, Bardelli F, Dongarrà G i Tamburo E (2013) Speciation of Sb in airborne particulate matter, vehicle brake linings, and brake pad wear residues. *Atmos Environ* 64:18–24. doi: 10.1016/j.atmosenv.2012.08.067
- Verner MA, Charbonneau M, López-Carrillo L i Haddad S (2008) Physiologically based pharmacokinetic modeling of persistent organic pollutants for lifetime exposure assessment: a new tool in breast cancer epidemiologic studies. *Environ Health Perspect.* 116(7):886–92. doi: 10.1289/ehp.10917
- Verougstraete V, Danzeisen R, Burzlaff A, Oller A, Heim K, Vetter D *et al.* (2018) Risk Management of Complex Inorganic Materials. Chapter 3 – Mechanisms Unrlying Toxicity of Complex Inorganic Materials. Pàgines 27–54.
- Višnjevec AM, Kocman D i Horvat M (2014) Human mercury exposure and effects in Europe. *Environ Toxicol Chem* 33(6):1259–70. doi: 10.1002/etc.2482
- Vives I i Grimalt JO (2002) Method for integrated analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine compounds in fish liver. *J Chromatogr B* 768(2):247–254. doi: 10.1016/S1570-0232(01)00585-2

- Vizcaino E, Grimalt JO, Fernández-Somoano A i Tardon A (2014a) Transport of persistent organic pollutants across the human placenta. *Environ Internat* 65:107–115. doi: 10.1016/j.envint.2014.01.004
- Vizcaino E, Grimalt JO, Glomstad B, Fernández-Somoano A i Tardón A (2014b) Gestational weight gain and exposure of newborns to persistent organic pollutants. *Environ Health Perspect* 122(8):873–9. doi: 10.1289/ehp.1306758
- Von Uexküll O, Skerfving S, Doyle R i Braungart M. (2005) Antimony in brake pads-a carcinogenic component? *Journal of Cleaner Production* 13(1):19–31. doi: 10.1016/j.jclepro.2003.10.008
- Welch AA, Lund E, Amiano P, Dorronsoro M, Brustad M, Kumle M *et al.* (2002) Variability of fish consumption within the 10 European countries participating in the European Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Public Health Nutr* 5(6B):1273–85. doi: 10.1079/PHN2002404
- Willett KL, Ulrich EM i Hites RA (1998) Differential toxicity and environmental fates of hexachlorocyclohexane isomers. *Environ Sci Technol* 32(15):2197–2207. doi: 10.1021/es9708530
- Wolff MS, Deych E, Ojo F i Berkowitz GS (2005) Predictors of organochlorines in New York City pregnant women, 1998-2001. *Environ Res* 97(2):170–177. doi: 10.1016/j.envres.2004.07.014
- Wong CT, Wais J i Crawford DA (2015) Prenatal exposure to common environmental factors affects brain lipids and increases risk of developing autism spectrum disorders. *Eur J Neurosci* 42(10):2742–2760. doi: 10.1111/ejn.13028
- World Health Organization (2000) Vanadium. In: WHO air quality guidelines for Europe. European Series. 2nd ed. World Health Organization, WHO Regional Publications, Vol. 91.

- World Health Organization (2007) Health risks of heavy metals from long-range transboundary air pollution. Copenhagen, Denmark
- World Health Organization (2016) Preventing disease through healthy environments: A global assessment of the environmental burden of disease from environmental risks. Switzerland, Geneva
- Wright RO i Baccarelli A (2007) Metals and Neurotoxicology. *J Nutr* 137(12):2809–2813. doi: 10.1093/jn/137.12.2809
- Xiao T, Guha J, Liu C-Q, Zheng B, Wilson G, Ning Z, *et al.* (2007) Potential health risk in areas of high natural concentrations of thallium and importance of urine screening. *Appl Geochem* 22(5):919–929. doi: 10.1016/j.apgeochem.2007.02.008
- Yabanli M i Alparslan Y (2015) Potential health hazard assessment in terms of some heavy metals determined in demersal fishes caught in eastern Aegean Sea. *Bull Environ Contam Toxicol* 95(4):494–498. doi: 10.1007/s00128-015-1584-7
- Ye BJ, Kim BG, Jeon MJ, Kim SY, Kim HC, Jang TW *et al.* (2016) Evaluation of mercury exposure level, clinical diagnosis and treatment for mercury intoxication. *Ann Occup Environ Med* 28:5. doi: 10.1186/s40557-015-0086-8
- Yorifuji T, Tsuda T, Takao S i Harada M (2008) Long-term exposure to methylmercury and neurologic signs in Minamata and neighboring communities. *Epidemiology* 19(1):3–9. doi: 10.1097/EDE.0b013e31815c09d2
- Zhang X, Cui X, Lin C, Ma J, Liu X, Zhu Y (2017) Reference levels and relationships of nine elements in first-spot morning urine and 24-h urine from 210 Chinese children. *Int J Hyg Environ Health*. 220, 227–234. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.10.013

