

**Tesis Doctoral**  
**Ana María Pérez Granados**

**"CONSUMO DE GRASAS CRUDAS Y FRITAS  
Y UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE MINERALES"**

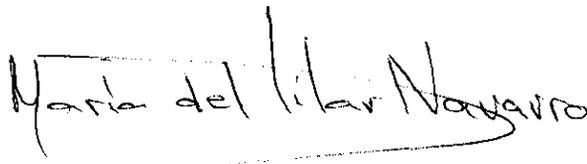
**Instituto de Nutrición y Bromatología**  
**Centro Mixto CSIC-UCM**  
**Facultad de Farmacia**  
**Universidad Complutense de Madrid**

**Madrid, 1997**

**"CONSUMO DE GRASAS CRUDAS Y FRITAS  
Y UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE MINERALES"**

Memoria que presenta la Lda. Ana María  
Pérez Granados para aspirar al Grado de  
Doctor en Farmacia,

Directoras:

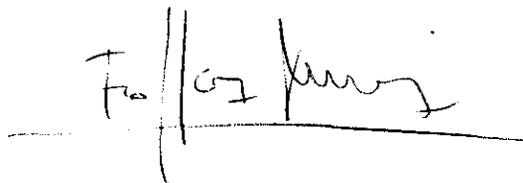
Handwritten signature of Pilar Navarro in black ink, written over a horizontal line.

Fdo.: Dra. M<sup>a</sup> Pilar Navarro

Handwritten signature of Pilar Vaquero in black ink, written over a horizontal line.

Fdo.: Dra. M<sup>a</sup> Pilar Vaquero

Vº Bº El Ponente,

Handwritten signature of Francisco J. Sánchez Muniz in black ink, written over a horizontal line.

Fdo.: Prof. Dr. Francisco J. Sánchez Muniz

María del Pilar Navarro Martos, Investigador Científico del C.S.I.C. y María del Pilar Vaquero Rodrigo, Colaborador Científico del C.S.I.C.,

**C E R T I F I C A N:** Que los trabajos de investigación objeto de la Memoria de Tesis Doctoral titulada: "CONSUMO DE GRASAS CRUDAS Y FRITAS Y UTILIZACIÓN NUTRITIVA DE MINERALES" han sido realizados bajo su dirección en el Instituto de Nutrición y Bromatología (CSIC-UCM) de Madrid.

Estos trabajos forman parte de los Proyectos de Investigación:

"Influencia del consumo de grasas crudas y procedentes de frituras sobre la biodisponibilidad y metabolismo lipídico y mineral" (ALI-880696 y "Biodisponibilidad de minerales en función de la grasa dietética" (ALI92-0289-CO2-O2) financiados por la CICYT y han sido realizados también con ayuda de una Beca Predoctoral para Formación de Personal Investigador de la Universidad Complutense de Madrid, concedida a través del Departamento de Nutrición y Bromatología I. (Nutrición) de la Facultad de Farmacia.

Consideramos que la memoria se ha completado y es adecuada su presentación para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste, firman el presente escrito en Madrid a treinta de Enero de mil novecientos noventa y siete.

*María del Pilar Navarro*

*Vº Bº Ponente*

*Fernando Pérez*

*P. Vaquero*

*A mis padres*  
*A Javier y Ana*

*Indice*

---

<b>1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS</b> .....	3
<b>2. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b> .....	9
<b>2.1. Importancia nutricional de la grasa dietética</b> .....	11
<b>2.2. Cambios en los patrones alimentarios de la grasa que se consume.</b> Recomendaciones de ingesta grasa .....	12
<b>2.3. Consumo de grasa de pescado. Características fundamentales</b> .....	20
<b>2.4. Interacciones entre nutrientes que afectan a la utilización de minerales.</b> Concepto de biodisponibilidad .....	23
<b>2.4.1. Introducción a la biodisponibilidad de minerales modulada por la</b> grasa dietética .....	27
<b>2.5. Grasa de la dieta</b> .....	30
<b>2.5.1. Cantidad de grasa</b> .....	30
<b>2.5.1.1. Influencia sobre la evolución ponderal y el crecimiento</b> .....	30
<b>2.5.1.2. Influencia sobre la biodisponibilidad de minerales</b> .....	31
<b>2.5.1.2.1. Elementos mayoritarios</b> .....	32
<b>2.5.1.2.1.1. Calcio</b> .....	32
<b>2.5.1.2.1.2. Fósforo</b> .....	35
<b>2.5.1.2.1.3. Magnesio</b> .....	35
<b>2.5.1.2.2. Elementos traza</b> .....	36
<b>2.5.1.2.2.1. Hierro</b> .....	36
<b>2.5.1.2.2.2. Zinc</b> .....	38
<b>2.5.1.2.2.3. Cobre</b> .....	38
<b>2.5.2. Tipo de grasa</b> .....	39
<b>2.5.2.1. Influencia sobre la evolución ponderal y el crecimiento</b> .....	39
<b>2.5.2.2. Influencia sobre la composición corporal</b> .....	41
<b>2.5.2.3. Influencia sobre la biodisponibilidad de minerales</b> .....	43
<b>2.5.2.3.1. Elementos mayoritarios</b> .....	44
<b>2.5.2.3.1.1. Calcio</b> .....	44
<b>2.5.2.3.1.2. Fósforo</b> .....	49
<b>2.5.2.3.1.3. Magnesio</b> .....	50
<b>2.5.2.3.2. Elementos traza</b> .....	51
<b>2.5.2.3.2.1. Hierro</b> .....	51
<b>2.5.2.3.2.2. Zinc</b> .....	57
<b>2.5.2.3.2.3. Cobre</b> .....	59
<b>2.6. Fritura</b> .....	59
<b>2.6.1. Características generales del proceso de fritura</b> .....	59
<b>2.6.2. Propiedades de las grasas empleadas para freir</b> .....	61
<b>2.6.2.1. Aceite de oliva</b> .....	62
<b>2.6.2.2. Aceite de girasol</b> .....	66
<b>2.6.2.3. Aceite de palma</b> .....	66
<b>2.6.3. Cambios producidos en la grasa durante la fritura</b> .....	68
<b>2.6.3.1. Alteraciones hidrolíticas</b> .....	69
<b>2.6.3.2. Alteraciones oxidativas. Autoxidación</b> .....	70
<b>2.6.3.3. Alteraciones térmicas</b> .....	71
<b>2.6.4. Consecuencias de los cambios producidos durante la fritura sobre</b> la calidad de la grasa .....	72
<b>2.6.5. Intercambio de grasa entre el alimento y la grasa de fritura</b> .....	74
<b>2.6.6. Repercusiones nutritivas del consumo de grasas procedentes de fritura</b> .....	75

2.6.6.1. Influencia sobre la ingesta, la evolución ponderal y el crecimiento .....	75
2.6.6.2. Influencia sobre la utilización de minerales .....	78
2.7. Pescado frito .....	79
2.7.1. Modificaciones que se producen en la grasa de pescado durante la fritura .....	80
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>83</b>
3.1. Diseño experimental .....	85
3.2. Experimento I .....	86
3.2.1. Realización de las frituras .....	86
3.2.1.1. Control de la alteración de los aceites .....	87
3.2.2. Preparación de dietas .....	88
3.2.3. Ensayos con animales .....	93
3.2.3.1. Parámetros controlados .....	94
3.2.3.2. Índices utilizados .....	95
3.2.3.3. Técnicas analíticas empleadas .....	96
3.3. Experimento II .....	99
3.3.1. Realización de las frituras .....	99
3.3.2. Preparación de dietas .....	100
3.3.3. Ensayos con animales .....	102
3.3.3.1. Parámetros controlados .....	102
3.3.3.2. Índices utilizados .....	102
3.3.3.3. Técnicas analíticas empleadas .....	102
3.4. Experimento III .....	102
3.4.1. Obtención de la grasa de sardina .....	103
3.4.1.1. Análisis de la grasa sardina .....	103
3.4.2. Preparación de las dietas .....	104
3.4.3. Ensayos con animales .....	106
3.4.3.1. Parámetros controlados .....	108
3.4.3.2. Índices utilizados .....	108
3.4.3.3. Técnicas analíticas empleadas .....	109
3.4.4. Ensayos de digestión " <i>in vitro</i> " .....	109
3.5. Tratamiento estadístico .....	111
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>115</b>
4.1. Aceites de oliva y girasol (Experimento I) .....	117
4.1.1. Ingesta, peso y eficacia alimentaria .....	117
4.1.2. Balance de calcio .....	117
4.1.3. Balance de fósforo .....	117
4.1.4. Balance de magnesio .....	118
4.1.5. Contenido y concentración de Ca, P y Mg en carcasas .....	118
4.1.6. Concentraciones séricas de Ca y Mg .....	118
4.1.7. Balance de hierro .....	119
4.1.8. Balance de zinc .....	119
4.1.9. Balance de cobre .....	119
4.1.10. Contenido y concentración de elementos traza en carcasas .....	119
4.1.11. Concentraciones séricas de elementos traza .....	120

4.1.12. Valores de TIBC y HB. Contenido y concentración de hierro en hígado, bazo, piel y hematíes	120
4.1.13. Contenido y concentración de zinc en hígado, bazo, piel y hematíes	121
4.1.14. Contenido y concentración de cobre en hígado, piel y hematíes	121
4.2. Aceite de oliva y oleína de palma (Experimento II)	121
4.2.1. Ingesta, peso y eficacia alimentaria	121
4.2.2. Balances de calcio, fósforo y magnesio	121
4.2.3. Contenido y concentración de Ca, P y Mg en carcasas	122
4.2.4. Concentraciones séricas de calcio y magnesio	122
4.2.5. Balances de hierro, zinc y cobre	122
4.2.6. Contenido y concentración de hierro, zinc y cobre en carcasas	123
4.2.7. Concentraciones séricas de hierro, zinc y cobre	123
4.2.8. Valores de TIBC y hemoglobina. Contenido y concentración de hierro en hígado, bazo, piel y hematíes	123
4.2.9. Contenido y concentración de zinc en hígado, bazo, piel y hematíes	123
4.2.10. Contenido y concentración de cobre en hígado, piel y hematíes	124
4.3. Grasa de sardinas crudas y fritas (Experimento III)	124
4.3.1. Ingesta, peso y eficacia alimentaria	124
4.3.2. Utilización del calcio	125
4.3.2.1. Ensayos <i>in vitro</i>	125
4.3.2.2. Balance	125
4.3.3. Utilización del fósforo	126
4.3.3.1. Ensayos <i>in vitro</i>	126
4.3.3.2. Balance	127
4.3.4. Utilización del magnesio	128
4.3.4.1. Ensayos <i>in vitro</i>	128
4.3.4.2. Balance	128
4.3.5. Contenido y concentración de calcio, fósforo y magnesio en carcasas	129
4.3.6. Concentraciones séricas de calcio y magnesio	129
4.3.7. Utilización del hierro	129
4.3.7.1. Ensayos <i>in vitro</i>	129
4.3.7.2. Balance	130
4.3.8. Utilización del zinc	131
4.3.8.1. Ensayos <i>in vitro</i>	131
4.3.8.2. Balance	131
4.3.9. Balance de cobre	132
4.3.10. Contenido y concentración de hierro, zinc y cobre en carcasas	133
4.3.11. Concentraciones séricas de hierro, zinc y cobre	133
4.3.12. Valores de TIBC y hemoglobina	134
4.3.13. Contenido y concentración de hierro en hígado, bazo, piel y hematíes	134
4.3.14. Contenido y concentración de zinc en hígado, bazo, piel y hematíes	134
4.3.15. Contenido y concentración de cobre en hígado, piel y hematíes	135
Tablas de resultados	137

<b>5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	<b>193</b>
5.1. Experimentos I y II (aceites)	195
5.1.1. Ingesta y evolución ponderal y parámetros relacionados	195
5.1.1.1. Influencia del tipo de aceite	195

5.1.1.1.1. Oliva y girasol	195
5.1.1.1.2. Oliva y oleína de palma	195
5.1.1.2. Influencia del consumo de aceites fritos	195
5.1.2. Utilización del calcio	201
5.1.2.1. Influencia del tipo de aceite	201
5.1.2.1.1. Oliva y girasol	201
5.1.2.1.2. Oliva y oleína de palma	204
5.1.2.2. Influencia del consumo de aceites fritos	206
5.1.3. Utilización del fósforo	214
5.1.3.1. Influencia del tipo de aceite	214
5.1.3.1.1. Oliva y girasol	214
5.1.3.1.2. Oliva y oleína de palma	216
5.1.3.2. Influencia del consumo de aceites fritos	218
5.1.4. Utilización del magnesio	219
5.1.4.1. Influencia del tipo de aceite	219
5.1.4.1.1. Oliva y girasol	219
5.1.4.1.2. Oliva y oleína de palma	221
5.1.4.2. Influencia del consumo de aceites fritos	222
5.1.5. Utilización del hierro	227
5.1.5.1. Influencia del tipo de aceite	227
5.1.5.1.1. Oliva y girasol	227
5.1.5.1.2. Oliva y oleína de palma	231
5.1.5.2. Influencia del consumo de aceites fritos	232
5.1.6. Utilización del zinc	234
5.1.6.1. Influencia del tipo de aceite	234
5.1.6.1.1. Oliva y girasol	234
5.1.6.1.2. Oliva y oleína de palma	237
5.1.6.2. Influencia del consumo de aceites fritos	237
5.1.7. Utilización del cobre	239
5.1.7.1. Influencia del tipo de aceite	
5.1.7.1.1. Oliva y girasol	
5.1.7.1.2. Oliva y oleína de palma	
5.1.7.2. Influencia del consumo de aceites fritos	
5.2. Experimento III (grasa de sardina)	
5.2.1. Influencia del consumo de grasa de sardinas crudas o fritas	
5.2.1.1. Ingesta, evolución ponderal y parámetros relacionados	
5.2.1.2. Utilización del calcio	248
5.2.1.3. Utilización del fósforo	254
5.2.1.4. Utilización del magnesio	259
5.2.1.5. Utilización del hierro	264
5.2.1.6. Utilización del zinc	271
5.2.1.7. Utilización del cobre	277
6. RESUMEN Y CONCLUSIONES	281
7. BIBLIOGRAFÍA	289

## ***Introducción y Objeto***

---



## **1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS**

La importancia de una adecuada alimentación para el mantenimiento de la salud es un axioma establecido de forma más o menos empírica desde la antigüedad, si bien, en los últimos años surge un interés creciente hacia el reconocimiento del papel de la dieta en la prevención de la enfermedad; y la relación Dieta-Salud se erige en tema central de reuniones científicas o en línea prioritaria de diversos Programas Europeos de Investigación.

En la revisión que en 1990 realizaba Scrimshaw, adelantando el panorama de la nutrición en la década de los noventa, todas las directrices señaladas estaban más o menos relacionadas con la salud y en muchos casos con la prevención de enfermedades degenerativas. Un repaso por la literatura científica más actual confirma que, a través de manipulaciones dietéticas, se está intentando prevenir o paliar enfermedades cardiovasculares, neoplásicas, endocrinas, inmunológicas, etc.

Sin duda, en los últimos tiempos está en auge el interés por la incidencia de la dieta en la salud, pero lo que podríamos llamar una "parcela" de tan amplio campo, la relación de la grasa dietética con las enfermedades cardiovasculares, es un binomio establecido hace ya medio siglo y, por tanto, pionero en el ámbito, iniciado posiblemente con los trabajos del grupo de Keys en los años 50. Desde entonces estudios epidemiológicos y experimentales han puesto de manifiesto cómo la grasa dietética, en función de su cantidad pero también de su calidad, podía erigirse en factor de riesgo o de prevención en la enfermedad cardiovascular (Keys y col., 1952, 1954, 1959, 1965), características que más recientemente se han extendido o extienden a otras patologías: hipertensión, ciertos tipos de cáncer, obesidad, diabetes, etc.

Los primeros estudios se centraban en el papel beneficioso de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) como hipocolesterolemiantes en pacientes con arterioesclerosis, por lo que las recomendaciones se inclinaron hacia la sustitución de otras grasas por aceites de semillas ricos en PUFA n-6.

Cuando el "estudio de los siete países", dirigido por Keys (1970), comenzó a poner de manifiesto las excelencias de la "Dieta Mediterránea", aparecieron las primeras referencias científicas a las cualidades positivas del aceite de oliva, que se evidenciaron de forma más clara en el III Congreso Internacional sobre el Valor Biológico del Aceite de Oliva, celebrado en Creta en 1980, donde ya abundaron las pruebas que demostraban su papel beneficioso en el contexto de la patología cardiovascular, y también en el de otras enfermedades, por lo que su consumo empezó a potenciarse incluso entre anteriores detractores.

En los años 70 y 80 diversos estudios epidemiológicos señalaban la baja incidencia de enfermedades cardiovasculares entre los consumidores de pescado, tal era el caso de los esquimales, de las poblaciones ribereñas del Mediterráneo, etc., respecto a la de otros grupos en cuya dieta no abundaban los animales marinos (Dyerberg y col., 1975; Dyerberg y Bang, 1978; Bang y col., 1976; Kromhout y col., 1985; Simopoulos y col., 1986). Ensayos clínicos y experimentales demostraron que los ácidos grasos más típicos del pescado, los n-3, modulan el metabolismo de las prostaglandinas y disminuyen los triglicéridos, y poseen propiedades antitrombóticas, antiinflamatorias e hipocolesterolemiantes (Sánchez-Muniz, 1987). De todo ello surge la tendencia hacia la ingesta de pescado, graso principalmente, que se exagera con la aparición de los encapsulados de grasa de pescado.

Por otra parte, y a pesar de que la mayor parte de los programas nutricionales hacen referencia a la necesidad de disminuir la ingesta lipídica, especialmente la de ácidos grasos saturados, la grasa consumida en los países desarrollados sigue siendo demasiado elevada. Datos de Varela y col. (1995) señalan, por ejemplo, que en nuestro país desde 1964 a 1991 se ha producido un incremento en el porcentaje de energía aportado por este nutriente, y aunque el perfil lipídico de la dieta sigue siendo excelente, debido a la elevada participación del aceite de oliva, aparece una tendencia negativa, relacionada parcialmente con el incremento del consumo de grasa saturada, de forma particular en las grandes ciudades y, sobre todo, entre los niños y adolescentes; como consecuencia de su inclinación hacia las comidas rápidas y hacia los productos de bollería y pastelería, entre los cuales las grasas

saturadas son de uso frecuente. Gran parte del aceite de palma que se consume en nuestro país se utiliza en productos de repostería.

Como consecuencia de todos estos y otros descubrimientos, entre los que se incluyen resultados controvertidos sobre la salud del elevado consumo de grasas poliinsaturadas, las directrices referentes a la ingesta de grasa dietética se han ido reestructurando y ello, unido a las preferencias, costumbres, información, etc. de los distintos colectivos, han hecho que el patrón lipídico de la dieta haya sufrido cambios más o menos acentuados.

Ante esta nueva situación, y bajo otra perspectiva nutricional, cabe preguntarse cómo el "nuevo" perfil lipídico de la dieta puede repercutir en la utilización de los demás nutrientes, por ejemplo sobre la de los minerales, con los que la grasa manifiesta una interdependencia, cuyos primeros conocimientos se remontan a los años 30-40, centrados mayoritariamente en la digestión y absorción de la grasa, del calcio, fósforo y magnesio (Boyd y col., 1932; Bassett y col., 1939; Calverley y Kennedy, 1949). Recientemente, con la pujanza del concepto de "Biodisponibilidad", de especial significado en el caso de los minerales, adquiere un auge nuevo, extendiendo ya la relación grasa-minerales a los elementos trazas.

Hoy sabemos que entre grasa y minerales existen interdependencias específicas, puesto que muchos elementos condicionan diversos aspectos del metabolismo lipídico y, a su vez, los lípidos, en función de su tipo y cantidad, a veces afectan la digestión y metabolismo mineral, aunque la información relacionada con esta vertiente del problema es bastante más escasa y, por supuesto, siempre referida a grasas crudas.

Respecto a esto último, habría que tener presente que en el campo de las interacciones grasa-minerales, cualquier cambio en alguno de los términos del binomio podría alterar la relación que se mantiene entre ellos. Por tanto, cabe cuestionarse sobre lo que ocurre cuando la grasa se somete a un proceso térmico, interrogante, por otra parte, bastante oportuno ya que la mayor parte de la grasa se consume cocinada, frecuentemente frita. Piénsese que el proceso de fritura en baño de aceite, bastante desprestigiado fuera de nuestro entorno hasta no hace

muchos años, es hoy una técnica culinaria en expansión, por la rapidez que implica, por sus posibilidades de utilización en freidurias industriales y porque, al alcanzar la moda también a los hábitos alimentarios, ha situado en un lugar privilegiado a la fritura como método culinario más típico de la "Dieta Mediterránea".

Durante la fritura en baño de aceite se producen en su seno una serie de reacciones concatenadas que ocasionan alteraciones termooxidativas e hidrolíticas, diferentes según el tipo de aceite y alimento que se fríe, que conllevan cambios estructurales en la grasa y formación de nuevos compuestos (Permanyer y col., 1985; Gutiérrez González-Quijano y Dobarganes, 1988; Dobarganes y col., 1988; Sebedio y col., 1990; Cuesta y col., 1993a; Monferrer y Villalta, 1993a; Sánchez-Muniz y col., 1993 y 1994; Romero y col., 1995). Parece, pues, que si uno de los términos de la relación que nos ocupa puede sufrir alteraciones tan evidentes, no resulta ilógico plantearse hasta qué punto se mantiene o modifica su modulación sobre la utilización de los minerales, cuando la grasa que se ingiere ha sido previamente frita.

Además, en el caso concreto de la fritura de un pescado graso, hay que tener presente que durante el proceso tienen lugar una serie de intercambios entre su propia grasa y la del aceite en el que se fríe (May y col., 1975; Sánchez-Muniz y col., 1992), de forma que ésta sería una causa más de modificación de la grasa de los pescados fritos, por la que su consumo podría de alguna manera condicionar la biodisponibilidad mineral.

De cuanto antecede se deduce claramente que el interrogante central perseguido con el planteamiento de este trabajo se ubica en el terreno de la modulación que la grasa alimentaria ejerce sobre la utilización de los minerales de la dieta, especialmente cuando se ingiere tras ser sometida al proceso de fritura. De ahí que como **objetivos** concretos planteáramos:

- \* Analizar comparativamente la influencia del consumo de grasas mayoritariamente saturadas (aceite de palma), monoinsaturadas (aceite de oliva) y poliinsaturadas de

origen vegetal (aceite de girasol) o animal (grasa de sardinas) sobre la utilización digestiva y metabólica de los minerales: calcio, fósforo, magnesio, hierro, cobre y zinc, así como sus repercusiones sobre las concentraciones tisulares en períodos de intenso crecimiento.

- \* Comprobar hasta qué punto esa posible incidencia se mantiene o modifica cuando la grasa ingerida ha sido previamente sometida a fritura, teniendo en cuenta, además, si las modificaciones previsibles son en algún modo dependientes del grado de saturación y naturaleza de las grasas empleadas, a fin de conocer cual de ellas, tras la fritura, conserva o adquiere mejores características en lo que se refiere a la utilización de los minerales y al crecimiento.



## ***Antecedentes Bibliográficos***

---



## **2.1. IMPORTANCIA NUTRICIONAL DE LA GRASA DIETÉTICA**

La grasa dietética juega un papel muy importante en nuestra alimentación. Por sus características desempeña una serie de funciones que pueden esquematizarse del siguiente modo:

Su función más tradicionalmente conocida y cuantitativamente más importante es su uso *como fuente de energía, ello determina que el valor energético de una dieta o su densidad calórica dependa, fundamentalmente, del contenido graso.*

Además aporta a la dieta ácidos grasos esenciales que el organismo no puede fabricar, ya que nuestro sistema de desaturación es incapaz de introducir enlaces dobles en ciertas posiciones de la molécula de los ácidos grasos. Estos ácidos grasos son necesarios para el funcionamiento normal de los sistemas corporales. En determinadas circunstancias, además, pueden presentarse necesidades especiales o más elevadas de ácidos grasos poliinsaturados, como por ejemplo el ácido linoléico y el alfa-linolénico (Mead, 1980), especialmente abundante en los fosfolípidos del sistema nervioso, o el araquidónico, que es esencial para el mantenimiento de las funciones estructurales y de membrana (Cunnane, 1982) y precursor de sustancias tales como prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos (Sánchez-Muniz, 1987). Se estima que las personas adultas requieren que al menos un 1-2% del aporte calórico diario esté constituido por ácidos grasos esenciales, aunque en situaciones fisiológicas especiales, estas necesidades pueden ser mucho más elevadas, del orden del 12-14% de las calorías de la dieta, lo que supone aproximadamente un 40% de ingesta grasa para mantener un estado óptimo de salud (Mead, 1980). El Departamento de Nutrición (1994) ha marcado para la población española unas recomendaciones de ácido linoleico del 2-6% del total calórico.

Las grasas son también vehículo de las vitaminas liposolubles, en los alimentos que las contienen, como ocurre con la grasa de pescado que supone un excelente vehículo de las vitaminas A y D. Además, favorecen su absorción durante el proceso digestivo.

Otra función importante de las grasas es el papel que juegan en la regulación de las concentraciones de los lípidos sanguíneos y de sus moléculas de transporte, es decir de las lipoproteínas.

Y por último, y no menos importante, las grasas tienen un papel fundamental en la palatabilidad de la dieta, ya que una dieta sin grasa es muy poco apetitosa y sería difícilmente aceptada por las personas a quienes se destina. Los alimentos preferidos normalmente son ricos en grasa (Rolls y Shide, 1992). Los lípidos les dan una serie de características entre las que se incluye una textura altamente palatable (Mela, 1990 y 1991). La naturaleza y los mecanismos que alteran la aceptabilidad de los alimentos aún no son bien conocidos, pero lo que está claro es que el placer de consumir una dieta rica en grasa es mayor (Mattes, 1993). En las sociedades en las que el sentido del gusto es el primer motivo para la elección de los alimentos, la preferencia por la grasa juega un papel importante en la ingesta energética (Drewnowski, 1988). El problema con el que nos encontramos cuando se consumen dietas con proporciones reducidas de grasa es que normalmente resultan poco palatables y monótonas, e incluso los individuos con enfermedades cardiovasculares encuentran difícil mantener este tipo de alimentación durante períodos largos de tiempo (Drewnowski, 1990).

## **2.2. CAMBIOS EN LOS PATRONES ALIMENTARIOS DE LA GRASA QUE SE CONSUME. RECOMENDACIONES DE INGESTA GRASA**

Todo lo apuntado anteriormente hace que la grasa sea un nutriente muy interesante desde el punto de vista saludable y nutricional, y que constantemente se estén variando las recomendaciones en cuanto a su aporte a la energía total de la dieta, así como en cuanto a la calidad de la grasa que consumimos. Además, últimamente los descubrimientos que relacionan un consumo elevado de grasa junto con una reducción en el consumo de fibra, con enfermedades crónicas, tales como ciertas formas de cáncer (Watkins y col., 1992),

aterosclerosis etc. en los países desarrollados, hacen que continuamente aparezcan multitud de estudios en los que se aconseja disminuir las ingestas recomendadas de este nutriente (National Research Council, 1976; Koop, 1988; McGinnis y Nestle, 1989; Watkins y col., 1992; Zevenbergen, 1993).

Así, en muchos de estos países y a lo largo de los últimos años las recomendaciones dietéticas han sido reestructuradas y generalmente dirigidas a una reducción en la ingesta de grasa, especialmente en lo que se refiere a las grasas saturadas, pero manteniendo los niveles de ingesta de grasas poliinsaturadas o aumentándolos ligeramente (Swedish National Board of Health and Welfare y col., 1990; WHO Study Group, 1990; Zevenbergen, 1993).

Por ejemplo en los *Estados Unidos*, las tendencias en el consumo de grasa han variado en los últimos 60 años. En un compendio de 171 estudios con 20.000 sujetos de todas las edades, grupos étnicos y de ambos sexos, realizado desde 1920 hasta 1984, se observó que las ingestas de grasa aumentaron desde aproximadamente un 34% en los años 30, hasta un 40-42% a finales de los 50 y mediados de los 60 (Stephen y Wald, 1990; Linder, 1988a). Posteriormente disminuyeron hasta estabilizarse en aproximadamente un 36% de la energía en 1984 (Stephen y Wald, 1990). En lo que se refiere a la calidad de la grasa, la ingesta de ácidos grasos saturados y monoinsaturados disminuyó desde un 18-20% del total de la energía a principios de los años 50, hasta un 12-13% en 1984, mientras que la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados aumentó del 2-4% al 7.5% (Stephen y Wald, 1990).

Además, no sólo se ha incrementado el consumo de grasa, sino que se han producido cambios en las proporciones relativas de grasa animal y vegetal ingeridas con la dieta. En el pasado, el 75% de la grasa consumida en Estados Unidos era a base de mantequilla y manteca de cerdo, mientras que en la actualidad, tales grasas se han ido sustituyendo por aceites, margarinas y otras grasas, fundamentalmente de origen vegetal. Es decir, se ha producido un aumento considerable en la relación grasas insaturadas/grasas saturadas en la dieta en los

últimos 75 años. Sin embargo, el consumo de colesterol no ha experimentado modificaciones significativas (Stephen y Wald, 1990).

En los tiempos actuales ha cobrado especial interés la presencia de una nueva forma de grasa que contiene isómeros trans de los ácidos grasos, y que provienen de la hidrogenación parcial de aceites vegetales poliinsaturados, especialmente en el proceso de elaboración de las margarinas (Sommerfeld, 1983). Se calcula que de las grasas que ingerimos en la actualidad un 15% contienen isómeros trans de los ácidos grasos (Alfin-Slater y Aftergood, 1980). Este grupo de ácidos grasos se comportan de forma similar a los saturados en lo que se refiere a sus efectos sobre el colesterol (Zevenbergen, 1993; Katan y Mensink, 1992).

El problema que se plantea es determinar hasta qué punto estos isómeros trans de los ácidos grasos son perjudiciales para el organismo, ya que se han relacionado con efectos biológicos adversos (Emken, 1984; Kinsella y col, 1981; Kummerow, 1986; British Nutrition Foundation, 1987). En tal sentido se han llevado a cabo algunas investigaciones pero la respuesta se desconoce por el momento. En ratas se ha observado que los ácidos grasos poliinsaturados de conformación trans no cumplen funciones de ácidos grasos esenciales (Homan, 1981; Boatella y col., 1993). Además, aunque pueden utilizarse como fuentes de energía, tienen tendencia a acumularse en las fracciones fosfolipídicas de las células (Alfin-Slater y Aftergood, 1980). Trabajos experimentales realizados en ratas parecen confirmar que la administración durante períodos de 10-20 semanas de grasas hidrogenadas (margarinas) por medio de dietas en las que éstos ácidos grasos aportaban el 45% de las calorías totales, favorece la acumulación de lípidos en corazón, hígado y otros órganos (Egwin y Kummerow, 1972). Sin embargo, Alfin-Slater y col. (1973) no encontraron tales efectos en ratas alimentadas durante varias generaciones con dietas en las que la margarina (con un 35% de ácidos grasos trans) contribuía en un 25% al contenido calórico total. Krichevsky (1982) y otros investigadores han encontrado que las administraciones de ácidos grasos trans, en concentraciones del orden del 6% de la dieta y durante largos períodos, son hipercolesterolémicas en conejos pero no en monos, y parecen no tener efectos significativos

en la aparición de aterosclerosis. Por todo esto es evidente que se necesita llevar a cabo mucho trabajo experimental para dilucidar el posible efecto perjudicial de éstos ácidos grasos cuando se administran durante largos periodos de tiempo.

Volviendo a las recomendaciones de consumo de grasa para las sociedades industrializadas, aun a pesar de pequeñas diferencias, y según distintas entidades, tales como American Heart Association, National Advisory Committee on Nutrition Education y Health and Welfare Canada, existen tres elementos comunes:

- Reducir la ingesta total de grasa a menos del 30-35% de las calorías
- Reducir la ingesta de grasa saturada a menos del 10%
- Incrementar la ingesta de grasa poliinsaturada al 8-10% o mantenerla en el 6-8% de las calorías de la dieta

Además, como norma general, la Organización Mundial de la Salud recomienda que el porcentaje total de energía que aporta la grasa de la dieta sea entre el 15 y el 30%, para que sea compatible con una buena salud (Helsing, 1993).

En gran parte de *Europa*, la grasa consumida proviene de aceites vegetales. Los principales tipos de aceites comestibles que contienen mayoritariamente ácidos grasos monoinsaturados son: aceite de oliva (73%), colza (57%) y cacahuete (48%) y todos ellos proporcionan también algo más de un 10% de ácidos grasos saturados, incluyendo el palmítico. Los datos de consumo de alimentos en el sur de Europa indican que Grecia es el mayor consumidor de aceites monoinsaturados, mientras que Francia y Portugal tienen consumos sorprendentemente bajos (Helsing, 1993). En Yugoslavia e Italia, se consume preferentemente aceite de colza, al igual que ocurre en la zona norte de Europa, sin embargo, Grecia consume fundamentalmente aceite de oliva (FAO, 1990; Helsing, 1993).

En lo que se refiere a los aceites altamente saturados, como el aceite de palma y la manteca de coco, en Europa se consumen en cantidades pequeñas como parte de alimentos procesados, ya que la mayor ingesta de grasas saturadas provienen de la leche y los productos lácteos, que fundamentalmente aportan ácidos mirístico y palmítico (Helsing, 1993).

Los aceites vegetales ricos en ácidos grasos poliinsaturados, como el aceite de maíz, soja, girasol y cártamo, han sido siempre consumidos en pequeñas cantidades, pero en los últimos años se han introducido intensamente en el mercado europeo, y su consumo ha aumentado principalmente en Francia, Portugal y España.

La otra fuente de ácidos grasos poliinsaturados es el pescado, rico en ácidos grasos de la familia n-3. Su consumo y las características fundamentales de su grasa serán tratados en un apartado posterior.

Los cambios que ha experimentado el consumo de grasas en Europa, tanto cuantitativos como cualitativos, han de tenerse en consideración para el futuro de la nutrición europea. Hoy en día se sabe que los ácidos grasos saturados de cadena corta no tienen relación con la aterogénesis, mientras que el ácido mirístico en particular y, hasta cierto punto, el palmítico y el laúrico son más aterogénicos. Sin embargo, las grasas monoinsaturadas, que suponen una fuente de energía importante en la dieta, no son dañinos e incluso puede decirse que son favorables para la salud (Helsing, 1993). De hecho varios autores han demostrado que estas grasas monoenoicas, como el aceite de oliva, originan niveles de colesterol plasmático similares a los producidos por las grasas poliinsaturadas (Grundy, 1987; Oya y col., 1989; Pérez-Jiménez y col., 1995). También se ha observado un aumento en el contenido de fosfolípidos en todas las lipoproteínas de ratas alimentadas con dietas conteniendo aceite de oliva frente a una grasa sólida de características similares al aceite de palma, por lo que el cociente colesterol total/fosfolípidos disminuye y con él descendería el riesgo aterogénico (Cuesta y col., 1987). Estas son entre otras, algunas de las razones del actual interés despertado por las grasas monoenoicas en general y el aceite de oliva en particular, en la prevención de las enfermedades cardiovasculares (Grande, 1989). Todos estos conocimientos

han de servir para que los expertos en Nutrición formulen recomendaciones dietéticas adecuadas.

Durante éste siglo, *España* ha experimentado importantes cambios socioeconómicos que han contribuido a modificar los hábitos alimentarios de la población. Los patrones alimentarios han cambiado durante las últimas décadas (Varela y col., 1971; Varela y col., 1985a y 1985b; OCDE, 1988; MAPA, 1991; Varela y col., 1995). Especialmente la fracción grasa ha sufrido cambios considerables, tanto cuantitativos como cualitativos, y también en lo que se refiere a las relaciones entre saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (Boatella y col., 1993).

Cabrera-Forneiro y Moreiras-Tuni (1990) y Moreiras-Varela (1989) han descrito un incremento del porcentaje de energía suministrado por la grasa, desde un 30% en 1964-65 a un 40% en 1980-81 e incluso hasta un 44% en 1987. Sin embargo, a partir de 1987-88 se ha observado un descenso.

Estas tendencias varían según se trate de una u otra Comunidad Autónoma, ya que el consumo de alimentos en España difiere enormemente entre las distintas provincias. La ingesta de grasa saturada en la costa Mediterránea y en las regiones del norte ha ascendido ligeramente, mientras que en Andalucía y en las regiones centrales el aumento ha sido mayor. Así el incremento medio del consumo de grasa saturada en España durante el período de 1964-81 fue del 48% (Serra-Majem y col., 1993).

Aunque en España la ingesta de grasa es alta, su calidad, juzgada por su grado de saturación, sigue siendo excelente debido a la alta proporción de ácidos grasos monoinsaturados (AGM) (más del 50% de los totales). Entre los índices que habitualmente se utilizan para analizar dicha calidad figuran la relación ácidos grasos poliinsaturados/ácidos grasos saturados (AGP/AGS) y, en los países con un alto consumo de aceite de oliva, el cociente (AGP+AGM)/AGS. El primero ha aumentado satisfactoriamente en los últimos años,

siendo en la actualidad de 0.57; sin embargo, la relación (AGP+AGM)/AGS ha disminuído ligeramente como consecuencia del menor consumo de aceite de oliva, aunque sigue siendo extraordinariamente positiva: 2.15 (Varela y col., 1995).

Dado el alto consumo de lípidos en España, las necesidades de ácidos grasos esenciales, linoleico y linolénico, cuyo aporte calórico de debe superar el 2-5% de la energía total se cubren adecuadamente (Varela y col., 1995).

En Cataluña la ingesta de grasas vegetales se basa fundamentalmente en el aceite de oliva, aunque parte de su consumo se ha sustituido por otros aceites vegetales, principalmente aceite de girasol. Esta disminución de la ingesta de aceite de oliva ha sido mayor para el conjunto de la población española que en Comunidades concretas como Cataluña, representando en 1991 el 61% y el 77.6% de la ingesta de grasa total respectivamente (Serra-Majem y col., 1993).

Como se ha deducido de lo comentado anteriormente, de la grasa dietética que se consume en nuestro país, la mayor parte, corresponde a los aceites vegetales debido, principalmente, al extendido uso del proceso culinario de fritura en baño de aceite. Dentro de éstos, y como es característico de los países mediterráneos, es predominante el aceite de oliva (32.9 g) que representa un 60% del total (OCDE, 1988; Boatella y col., 1991; INE, 1995), aunque también varía según las regiones, siendo más elevado su consumo en el Sur (Andalucía y Costa Mediterránea) y más bajo en algunos lugares del Norte (Castilla-León y Galicia) (Serra-Majem y col., 1993). El consumo de aceite de girasol, maíz y soja es, en conjunto, de 19 g. Además, otros tipos de grasa se están incorporando paulatinamente a la dieta española, fundamentalmente en los alimentos procesados tales como margarinas, productos cárnicos, lácteos y de pastelería (Boatella y col., 1993).

No obstante, el consumo de aceite de oliva en lugar del de otros aceites vegetales debe seguir siendo promocionado, según autores como Serra-Majem y Varela tal como se ha puesto de manifiesto en el II Symposium de fritura de los alimentos (Madrid, 1996). Es evidente que

la producción de aceite de oliva es un proceso caro, pero se compensa con el beneficio para la salud que supone su consumo (Varela, 1980; Serra-Majem y col., 1993), ya que tal aceite es considerado altamente nutritivo y beneficioso incluso después de ser procesado (Arrigo y Tiscornia, 1985).

Globalmente puede decirse que la principal consecuencia de los cambios producidos por la incorporación de nuevos productos a la dieta española, ha sido un incremento en los niveles de consumo total de grasa, especialmente de grasa saturada (MAPA, 1991; Boatella y col., 1991), que ha pasado del 12 al 15% (Serra-Majem y col., 1993), y de colesterol, al igual que ha sucedido en otros países mediterráneos (Ferro-Luzi y Strazzullo, 1984; Trichopoulou, 1989; Fidanza, 1991). Por el contrario, la ingesta de aceite de oliva ha disminuído (Serra-Majem y col., 1993).

El consumo de ácidos grasos trans en España puede considerarse bajo en relación con los datos procedentes de otros países. Supone aproximadamente 2.4 gramos por persona y día (Boatella y col., 1993), frente a los 8-12 gramos por persona y día de Gran Bretaña, Estados Unidos y Canadá (Gurr, 1986 y Zevenbergen, 1987), o los 5-6.5 gramos por persona y día de países europeos como Alemania y Suecia (Hecker y col., 1979; Akesson y col., 1981; Zevenbergen 1987).

En España la margarina es uno de los principales productos que contribuyen a la ingesta de ácidos grasos trans, aunque su consumo es bajo. En contraste, los aceites de semillas refinados, en los cuales el contenido en trans es muy pequeño, son los que suponen la mayor contribución a la ingesta (0.77 gramos por persona y día), ya que se consumen en elevadas proporciones (Boatella, 1993), al contrario de lo que ocurre en países como Estados Unidos donde el aporte de ácidos grasos trans por los aceites vegetales es de 0.31 gramos por persona y día (Hunter y Applewhite, 1986).

En cuanto a las últimas directrices señaladas para los patrones grasos de la dieta en España, la Sociedad Española de Aterosclerosis (Ros, 1994), recomienda que el consumo de grasa sea de un 30-35% de las calorías totales, y que este se reparta del siguiente modo:

- Ácidos grasos saturados (AGS): <10%
- Ácidos grasos monoinsaturados (AGM): 10-15%
- Ácidos grasos poliinsaturados (AGP): <7%
- Relación AGS/AGM/AGP: 1,4/1,4-2,1/1
- Colesterol: <300 mg/día

### **2.3. CONSUMO DE GRASA DE PESCADO. CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES**

El consumo de pescado no es sólo característico de la cultura europea. En el "Estudio de los Siete Países", dirigido por Keys (1970), se comprobó que la ingesta de este alimento varía mucho de unos países a otros. Así en Serbia su consumo es prácticamente nulo y sin embargo en Croacia puede llegar hasta aproximadamente 95 g/día (Kromhout y col., 1989). Incluso se han observado ingestas más elevadas entre grupos de población como los pescadores japoneses (250 g/día), y los esquimales, que pueden llegar a consumir hasta 400 g/día, siendo precisamente una característica de estos dos pueblos la baja mortalidad derivada de enfermedades coronarias. Esto ratifica lo que numerosos estudios epidemiológicos han mostrado, es decir, que existe una correlación inversa entre el consumo de pescado y la prevalencia de enfermedades trombóticas (Kromhout, 1993). Así, Kagawa y col. (1982) demostraron que los habitantes de la isla Kohoma en Okinawa, que tenían la más baja incidencia de enfermedades cardiovasculares de Japón, incluían en su dieta las mayores cantidades de pescado fresco y tenían los niveles séricos más altos de ácido eicosapentaenoico (EPA). También en un estudio prospectivo a lo largo de 20 años en una ciudad de Holanda, la mortalidad por enfermedades cardiovasculares fue menor del 50% entre los que consumían 30 g o más de pescado por día respecto de los que no lo tomaban (Kromhout y col., 1985).

Otros estudios mostraron que los esquimales, que poseían altos niveles de EPA, tenían también menor agregación plaquetaria comparándolos con individuos daneses empleados como controles (Dyerberg y Bang, 1978).

Al parecer España ocupa entre las naciones de la Comunidad Económica Europea una de las primeras posiciones en el consumo de pescado, ascendiendo en 1991 a 75.9 g por persona y día para el total de la población (Varela y col., 1995), y ha ido aumentando desde 1964, cuando la ingesta era de 63 g. Dentro de este grupo de alimento se utiliza mayoritariamente el pescado magro: 39.3 g, principalmente pescadilla: 20.7 g. Con respecto al graso, cuya ingesta en 1991 fue de 19.5 g, es interesante destacar la importante disminución producida, especialmente, de sardinas: 11.2 g en 1964, 6.47 g en 1981 y 4.68 g, en 1991 (Varela y col., 1995). Este comportamiento alimentario hace que España, junto con Noruega y Portugal, sean los mayores consumidores, a pesar de que en los últimos años se venga observando una tendencia al alza en el resto de los países (Varela y col., 1988).

La importancia del consumo de pescado ha ido creciendo, y no sólo por su valor nutritivo en general, sino también por el papel de su grasa en la aterosclerosis. Así, existen multitud de estudios que relacionan los efectos de la grasa de pescado con otros incluso de índole farmacológica. Su efecto beneficioso sobre las enfermedades cardiovasculares se atribuye a los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) y dentro de estos a los de la familia n-3, que tienen la propiedad de disminuir la concentración de triglicéridos en plasma, tanto en sujetos normales como hipertriglicéridémicos (Goodnight y col., 1982; Sanders, 1985; Nestel, 1986; Sánchez-Muniz, 1987; Kinsella y col., 1990), siendo estos ácidos grasos mucho más potentes hipolipemiantes que los aceites vegetales (Sánchez-Muniz y col., 1991a). Respecto a la posible influencia del consumo de pescado sobre la presión arterial, aunque existen resultados conflictivos, parece ser que dosis moderadas de grasa de pescado no la modifican (Morris y col., 1993).

Los ácidos grasos poliinsaturados más característicos del pescado, son fundamentalmente el ácido eicosapentaenoico (EPA) (C20:5n-3) y el docosahexaenoico (DHA) (C22:6 n-3),

ambos de la familia n-3, de enorme importancia como constituyentes de las membranas celulares y considerados como esenciales. Así el DHA parece jugar un papel importante en las funciones fisiológicas de la retina (Neuringer y col., 1988; Sanders, 1993). También gran cantidad de DHA se acumula en el feto entre las semanas 26 y 40 de gestación, y dicho acúmulo parece estar influenciado por la dieta materna, ya que se ha visto que hijos de madres vegetarianas tienen concentraciones más bajas de DHA en sangre y en tejidos (Sanders y Reddy, 1992).

Con vistas a la relación entre el consumo de grasa de pescado y los problemas sanitarios, no sólo hay que considerar la cantidad total de ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), sino también el contenido en ácidos grasos de la familia n-3 y n-6, así como la proporción que guardan entre sí (Singer y col., 1983; Herold y Kinsella, 1986; Kinsella y col., 1990), ya que los efectos beneficiosos, tanto en lípidos sanguíneos como en lípidos de membranas celulares, han sido atribuidos a una relación disminuida de n-6/n-3 (Huang y col., 1986). La bibliografía consultada es escasa en lo referente al valor idóneo que ha de tener esta relación, si bien para Budowski y Crawford (1985), debería ser 5, mientras que para Kinsella (1987) sería de 1. Los estudios de Bang y col. (1976 y 1980) señalaban que las dietas de los esquimales presentaban un cociente n-6/n-3 de 0,4. En especies de pescado como la sardina, los ácidos grasos de la familia n-3 suponen más del 40% de los ácidos grasos totales, y la relación n-6/n-3 es de 0,08, es decir extremadamente baja, lo que hace que sea considerada como una especie óptima en la prevención del riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Estos y otros factores han de ser tenidos en cuenta para explicar el papel que ya se le reconoce al pescado en la prevención del riesgo y tratamiento de las enfermedades cardiovasculares, ya que numerosos estudios epidemiológicos y experimentales en hombres y animales han puesto de manifiesto que, variando la cantidad y calidad de la grasa de la dieta, puede modificarse el espectro lipídico plasmático y así inhibir o estimular el proceso aterosclerótico. Como ya es conocido, dietas ricas en colesterol y en grasas saturadas incrementan el colesterol plasmático, mientras que las grasas poliinsaturadas lo reducen, y, asimismo, disminuyen las concentraciones de LDL, VLDL y tienen un efecto variable sobre

las de HDL (Goodnight y col., 1982; Sánchez-Muniz y col., 1991b; Sánchez-Muniz y col., 1992). La grasa insaturada de los animales marinos se comporta de forma semejante, en este aspecto, a las grasas insaturadas vegetales, aceite de maíz, de girasol, etc., de ahí que como ellas, reduzca las concentraciones séricas de colesterol y lipoproteínas de baja densidad.

Además, a la grasa de pescado se le han atribuido otras propiedades farmacológicas, como una influencia positiva frente a la artritis, asma, colitis ulcerosa, lesiones en la piel, enfermedades inflamatorias y autoinmunes o inhibición del crecimiento de tumores en ciertos tipos de cáncer (Lands, 1986; Simopoulos, 1991). Pero no todos los efectos son beneficiosos, y aunque se conoce muy poco de sus efectos potencialmente adversos; por ejemplo, el consumo de aceite de pescado puede ocasionar un deterioro de la tolerancia a la glucosa en diabéticos no-insulino dependientes (Vessby y Boberg, 1990), o incrementar los niveles de LDL-colesterol en individuos diabéticos (Nestel, 1986).

#### **2.4. INTERACCIONES ENTRE NUTRIENTES QUE AFECTAN A LA UTILIZACIÓN DE MINERALES. CONCEPTO DE BIODISPONIBILIDAD**

Hoy en día el estudio de la utilización de los distintos nutrientes no se realiza aisladamente, sino que se enfoca de forma globalizada dentro de una dieta, ya que los demás nutrientes o la presencia de sustancias no nutritivas pueden afectar dicha utilización. En tal sentido la cantidad de grasa, así como el tipo, puede influenciar la biodisponibilidad de otros nutrientes presentes. De ahí que los cambios en los patrones alimentarios de la grasa que se consume sean importantes, además de en si mismos, también por lo que se refiere a la utilización de los restantes nutrientes que se encuentran en la dieta.

La introducción del concepto de biodisponibilidad ha hecho que actualmente el simple conocimiento del contenido en nutrientes de una dieta no sea suficiente para indicar la adecuación o no de un régimen alimentario a las recomendaciones dietéticas, ya que en los

alimentos y en las dietas existen otros nutrientes y sustancias no nutritivas entre las que pueden producirse reacciones o interacciones que favorezcan o dificulten sus utilizaciones.

El concepto de biodisponibilidad es muy importante para todos los nutrientes, pero en el caso de los elementos minerales, y en particular de los elementos traza, alcanza mayor relevancia porque pueden interactuar con numerosos compuestos que condicionen sus absorciones y utilizaciones. Es necesario tener en cuenta que para que un mineral pueda ser utilizado, debe de estar presente en el lumen en una forma conveniente para su absorción y, además, adecuada para ser metabolizada. Por tanto, la biodisponibilidad es función del nutriente en sí, de la dieta que lo contiene, y del individuo que lo ingiere. Fairweather-Tait (1987), define la biodisponibilidad de un nutriente como "la proporción del mismo en un alimento o en una dieta que es digerida, absorbida y metabolizada por un individuo, siguiendo las rutas metabólicas normales".

Existen numerosos factores que condicionan la biodisponibilidad mineral. A grandes rasgos se pueden clasificar en dos tipos: los propios de individuo o intrínsecos, y los externos a él o extrínsecos.

Dentro de los **intrínsecos**, se sabe que desde el individuo se puede modificar la utilización de los nutrientes, dependiendo del estado fisiológico (crecimiento, etapa adulta, reproducción, lactación), estado nutritivo, edad, sexo, etc. (Boyd, 1984). Estos factores modifican la digestión, absorción, metabolismo, excreción, y, por tanto, modulan la biodisponibilidad de los nutrientes. Además algunos autores, (Ferrando, 1987), añaden otros como las interacciones metabólicas droga-nutrientes y los estados patológicos.

Nos vamos a referir fundamentalmente a los factores **extrínsecos** y, de entre ellos, a los factores dietéticos que influyen sobre la utilización de los minerales y que son dependientes del alimento o de la dieta en la que va incluido el mineral.

En primer lugar la *cantidad de mineral* presente en la dieta, es un condicionante de su biodisponibilidad, ya que en último extremo la cantidad absorbida y utilizada resulta dependiente de la ingerida y es un condicionante de los procesos de difusión y absorción. Además, las cifras de ingesta pueden determinar que se absorban o no otros nutrientes presentes en la dieta, incluidos los elementos minerales, debido a las interacciones que se pueden producir. Así, un exceso de mineral puede empeorar la absorción de otro, fundamentalmente al competir por los lugares de unión en el intestino, ocasionando incluso deficiencias de un elemento por el aumento en la absorción de otro. En este contexto son conocidas las competencias con el hierro del cobalto, cobre, cadmio, manganeso, plomo (Bremner, 1978; Morris, 1987; Linder, 1988b), o la interacción con el zinc (Solomons, 1986; Rogers y col., 1987; Hill, 1988, Flanagan y Valberg, 1988; Yadrick y col., 1989).

Otro ejemplo es la inhibición de la absorción intestinal de calcio por el zinc, que en este caso se relaciona con su similitud estructural (Csermely y col., 1989). Sin embargo, una ingesta elevada de calcio y fósforo no afecta ni la excreción ni el balance de zinc (Spencer y Kramer., 1985).

La *forma del elemento* es otra pieza clave de la biodisponibilidad de un mineral. Es lo que Van Dokkum (1989) define como "speciation" o especie bioquímica o química, es decir el estado de valencia del elemento, los complejos ligandos del metal y los compuestos del mineral. En primer lugar interesa la especie química del mineral en el alimento o en la dieta, no sólo porque de ella depende la forma en el lumen, sino también, porque condiciona los cambios o interacciones que pueden producirse en estos alimentos por efecto de los tratamientos industriales o culinarios. Así, la forma química en el alimento es la llave de la absorción en el intestino delgado. Por ejemplo, en la especie humana, la absorción de hierro es más eficaz en la forma reducida que en la forma trivalente, ya que forma compuestos solubles a pH intestinal (Reddy y col., 1988; Brise y Hallberg, 1981).

Otro término que se ha sugerido es el de "especie bioquímica" (Sabbioni y col., 1985) o "especie metabólica" (Van Dokkum, 1989), para ver en que medida un metal puede ser

biotransformado en su forma metabólicamente activa, ya que la naturaleza de los minerales tras su absorción es muy importante para predecir su conducta metabólica.

La *presencia de otros nutrientes* es también un factor extrínseco que influye sobre la utilización de los minerales:

La *proteína* de la dieta ejerce un efecto que parece contradictorio. En términos generales puede decirse que las dietas ricas en proteína favorecen la absorción de calcio, y que el hierro en ausencia de la misma se absorbe en muy poca cantidad (McCance y col., 1942); esto contribuye a que el hierro de la carne tenga mejor biodisponibilidad y, por tanto, a que se incremente su absorción (Layrisse y col., 1968 y 1972), y lo mismo ocurre con el zinc en humanos (Shah y Belonje, 1981). Por el contrario, existen resultados experimentales que relacionan altas ingestas de proteína con un aumento de la excreción de zinc y de sus requerimientos (Sandstead, 1985). También en sujetos alimentados con dietas hiperproteicas se observa una mayor excreción de calcio por vía urinaria (Hegsted y Linkswiler, 1981).

Por otra parte, diversos estudios muestran que la presencia de proteína animal aumenta la disponibilidad de las sales ferrosas y férricas (Layrisse y col., 1973) y del hierro de los vegetales. La posible explicación sería que durante la digestión se liberan una serie de pequeños péptidos y aminoácidos, tales como lisina, cisteína, histidina, que forman quelatos y favorecen la solubilidad del elemento (Van Campen, 1973).

Los *hidratos de carbono* también tienen influencia. Uno de los ejemplos más conocido es el aumento de la absorción del calcio por la lactosa, a lo que parcialmente se atribuye la buena utilización de la leche materna. Sin embargo, su influencia no siempre es beneficiosa, ya que hay estudios que indican que azúcares como fructosa y sacarosa disminuyen la biodisponibilidad del cobre (Fields, 1988).

En cuanto a las *vitaminas*, sus interacciones con los minerales no están bien estudiadas. Las más conocidas son la del ácido ascórbico con el hierro y la de la vitamina D con el calcio, e incluso con el fósforo, magnesio, zinc, etc.

El ácido ascórbico actúa como agente reductor y hace que el hierro permanezca en su forma reducida, (Lynch y col., 1984; Hallberg y Rossander, 1984; Herbert, 1987) e incluso por su papel como ligando del hierro ferroso y férrico (Lynch y Cook, 1982), lo que favorece su absorción.

Otras sustancias de los alimentos como fibra, polifenoles, ácidos orgánicos, fitatos etc., y los aditivos y conservantes, así como los contaminantes, también interaccionan con los minerales.

La *fibra dietética*, particularmente la fibra insoluble, puede disminuir la digestibilidad mineral al formar compuestos insolubles con distintos elementos que impiden su absorción (Hallberg y col., 1989; Brune y col., 1989; Vaquero y col., 1992).

Diferentes compuestos, que en general están asociados a la fibra dietética, tienen un efecto variable sobre los minerales. Por ejemplo, los fitatos disminuyen la absorción del zinc y calcio (Fairweather-Tate y Caprez, 1982; Sandström, 1989), mientras que algunos polifenoles pueden estimular la absorción del cobre (Vaquero y col., 1994) y al mismo tiempo disminuir la del hierro (Vaquero y col., 1991).

También algunos *ácidos orgánicos* pueden estimular o inhibir la absorción de distintos minerales. Por ejemplo el ácido oxálico presente en los vegetales inhibe la absorción del calcio y de otros elementos (Hallberg, 1981; Navarro, 1982a); sin embargo, el ácido cítrico estimula la absorción de hierro (Gillooly y col., 1983).

Los *aditivos y contaminantes* presentes en los alimentos como estabilizantes, antioxidantes, pesticidas, etc. pueden formar con los minerales compuestos de peso molecular

elevado que impiden su absorción y, por lo tanto, de esta u otra forma deprimen su posterior utilización (Navarro y Murillo, 1976; Navarro, 1982b).

La *grasa*, interacciona también con los minerales modificando su biodisponibilidad, y al ser el objeto de estudio de este trabajo, se comentará con más detalle en posteriores apartados.

#### **2.4.1. Introducción a la biodisponibilidad de minerales modulada por la grasa dietética**

Entre la cantidad y la calidad de la grasa dietética y la utilización de los minerales parece establecerse una relación compleja, escasamente conocida y, en cierto modo, diferente para cada uno de los distintos elementos.

Esta relación comenzó a establecerse en torno a los años 30, referida a los minerales mayoritarios y alcanzó importancia en la década de los 60, enfocada hacia la influencia de la cantidad, tipo de grasa, grado de saturación etc. sobre la absorción del calcio con vistas al crecimiento. Posteriormente el tema quedó olvidado, para volver a adquirir importancia en los últimos años, pero ahora también en conexión con los elementos traza.

Actualmente la idea está perfectamente establecida y se ha llegado a decir que los minerales influyen en el metabolismo lipídico (Cunnane y Mc Adoo, 1987), y las grasas, a su vez, lo hacen sobre el de aquellos, hasta el punto de poder paliarse deficiencias recíprocamente (Dib y Carreu, 1987) o producir efectos negativos. Lo que ya no resulta tan claro son los términos de esta interconexión, porque la información existente es muy escasa, y hay mucha controversia en relación a este tema (Tadayyon y Lutwak, 1969; Van Dokkum y col., 1983), ya que existe un efecto específico para cada mineral que, a su vez, puede ser a nivel digestivo (Bowering y col., 1976 y 1977) o metabólico (National Dairy Council, 1966) y, además, la cantidad de grasa (Amine y Hegsted, 1975), el tipo (Clarke y col., 1988; Kies,

1988), su grado de saturación y cada ácido graso en concreto (Navarro y col., 1985; Johnson y col., 1987), tiene una influencia determinada.

A veces los resultados pueden no ser coincidentes, debido en parte a las diferencias metodológicas que muestran los estudios destinados a determinar el efecto de la grasa dietética sobre la biodisponibilidad de los minerales, por lo que se hace muy difícil compararlos en ocasiones (Bowering y col., 1977). Por ejemplo para el calcio se ha dicho que una cierta cantidad de grasa favorece su absorción, pero que un exceso la deprime, tanto más cuanto más saturada sea la grasa. También la biodisponibilidad del calcio aumenta según disminuya la longitud de la cadena del ácido graso y aumente su grado de insaturación (Kies, 1988).

Por otro lado, la relación grasa-minerales se complica si tenemos en cuenta que gran parte de la grasa se consume procesada y que durante los tratamientos pueden producirse modificaciones que contribuyan a alterar los términos de esa interrelación.

La mayor parte de la grasa que ingerimos se toma cocinada, preferentemente "frita", pero desconocemos en gran medida el metabolismo de las grasas "fritas" y las influencias que ejercen sobre la utilización de otros nutrientes alimentarios y, en concreto, si su consumo afecta de alguna forma la digestión o el metabolismo de los elementos minerales. Aún así, la mayoría de los trabajos de investigación se han llevado a cabo con grasas crudas, y la información sobre si la relación grasa-minerales se mantiene o modifica cuando se toman grasas procesadas, por ejemplo sometidas a fritura, es escasa.

## **2.5. GRASA DE LA DIETA**

### **2.5.1. Cantidad de grasa**

#### **2.5.1.1. Influencia sobre la evolución ponderal y el crecimiento**

Las cualidades sensoriales de la grasa determinan las preferencias del individuo por este nutriente y pueden influir en la ingesta y en la composición corporal. Parece claro que la grasa aumenta la palatabilidad de los alimentos, sin embargo se conoce muy poco acerca de las preferencias innatas del individuo (Mela, 1990; Rolls y Shide, 1992).

Muchos investigadores han demostrado que el peso corporal está muy relacionado con la inclinación del consumidor hacia los alimentos ricos en grasa (Rolls y Shide, 1992). De hecho, la mayoría de los estudios coinciden en que al incrementar la cantidad de grasa de la dieta que se consume, aumenta el peso corporal (Mahoney y col., 1980). Drewnowski y col. (1985) observaron que los individuos obesos, y los que en algún momento lo habían sido, preferían consumir niveles más elevados de grasa en los productos lácteos y más cantidad de azúcar que los individuos de peso normal. Mela y Sacchetti (1991) también encontraron una relación positiva entre las preferencias sensoriales por la grasa en gran variedad de comidas y el porcentaje de grasa corporal en individuos de peso medio. Además se ha demostrado que a medida que la grasa corporal aumenta, lo hace también el porcentaje de energía procedente de la grasa que se consume en los alimentos (Miller y col, 1990; Strain y col., 1992).

Por tanto, las preferencias por la grasa son importantes en el desarrollo y mantenimiento de la obesidad y, en estudios longitudinales de tres años, llevados a cabo recientemente, se observó que la mayor ganancia de peso estaba asociada con el consumo graso más elevado tanto en hombres como en mujeres (Klesges y col., 1992). De hecho la grasa ingerida se almacena eficientemente como grasa corporal, con menor coste metabólico que el que se necesitaría para almacenar como tejido adiposo otros macronutrientes (Sheppard y col., 1991).

En esa línea incide la creencia popular de que la reducción de la ingesta grasa es fundamental en los programas de adelgazamiento, pero se conoce relativamente poco acerca de los efectos de la composición de la dieta sobre la reducción de peso. Mientras algunos estudios muestran que una reducción de la ingesta grasa, sin restricciones en la ingesta de alimento, está asociada con la disminución de peso (Tremblay y col., 1991; Insull y col., 1990), otros investigadores no han encontrado una asociación entre estos dos parámetros (Alford y col., 1990).

#### **2.5.1.2. Influencia sobre la biodisponibilidad de los minerales**

La influencia de la grasa dietética sobre la utilización de los minerales parece ser bastante compleja y estar sólo parcialmente comprendida (National Dairy Council, 1966; Tadayyon y Lutwak, 1969; Van Dokkum y col., 1983). Debido a que en el mundo occidental se consumen cantidades elevadas de grasa, la cuestión es conocer cuándo este consumo elevado puede inhibir o no la absorción de los minerales, posiblemente por formación de jabones insolubles o de complejos con los ácidos grasos o con las grasas parcialmente digeridas (Van Dokkum y col., 1983), y, por tanto, afectar a su posterior utilización y metabolización.

Como ya se ha comentado anteriormente, la mayoría de los expertos en nutrición recomiendan reducir la ingesta total de grasa, concretamente de la grasa saturada, en beneficio de la poliinsaturada y monoinsaturada para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. La influencia que este cambio puede tener sobre la absorción de los minerales, está aún poco estudiada.

### **2.5.1.2.1. Elementos mayoritarios**

#### **2.5.1.2.1.1. Calcio**

El papel que ejerce la cantidad de grasa dietética sobre la absorción intestinal del calcio ha sido estudiado relativamente poco. En resumen puede decirse que los factores que afectan negativamente a la absorción de la grasa dietética van a modificar también la absorción del elemento. Por lo general en el adulto sano la absorción de la grasa es muy eficiente, pero está claro que el nivel de grasa presente en la dieta, y otros factores como la longitud de la cadena del ácido graso, el grado de saturación, o la estructura del triglicérido, tienen un efecto medible sobre la absorción del metal (Kies, 1985).

Se han llevado a cabo varios estudios de nutrición humana acerca de la relación entre la grasa dietética y la absorción del calcio. Los resultados son conflictivos debido a las distintas condiciones experimentales y a la diversidad de la composición de las dietas empleadas.

Existe una correlación biunívoca entre la absorción de la grasa consumida y la cantidad de calcio presente en la dieta, tanto en la especie humana como en otras (Speckmann y Brink, 1967). De hecho, en condiciones patológicas en que la grasa es pobremente absorbida, como en la esteatorrea, se produce también una malabsorción de calcio, con las consiguientes pérdidas masivas del elemento (Hegsted, 1964; Agnew y Holdsworth, 1971), y cuando la malabsorción de grasa se corrige, la absorción del catión vuelve a ser normal (Bassett y col., 1939).

La evidencia de que existía una interrelación entre el calcio y la grasa fue descrita ya en 1965 por Harkins y col. Estos investigadores alimentando a ratas lactantes con colestiramina, una resina secuestradora de ácidos biliares, demostraron que cuando los ácidos biliares eran incapaces de actuar, no sólo se perjudicaba la absorción de la grasa, sino también la del calcio. En sentido inverso, cuando se aumentaba el calcio de la dieta que consumían sujetos normales y se mantenía constante la ingesta de grasa, se modificaban las excreciones fecales

de calcio y grasa de modo paralelo, lo cuál también sugería una interrelación positiva entre estos dos nutrientes (Lutwak y col., 1964).

Los estudios preliminares realizados en animales por Werner y Lutwak en la década de los 60 (1963), mostraban que el calcio requería para absorberse cantidades moderadas de grasa en la dieta. Previamente, en 1949, Chanda, en ratas adultas y en crecimiento encontró balances negativos de calcio con dietas libres de grasa, que se hacían positivos al suplementarla con grasa; por el contrario, con cantidades elevadas, la absorción se deprimía. De hecho se ha visto que los requerimientos de calcio se incrementan en presencia de cantidades elevadas de grasa en la dieta, en especies tales como el pollo (Pepper y col., 1955) y la oveja (White y col., 1958), lo que sugiere una reducción de la retención del elemento. A su vez se vió que la grasa precisaba de la presencia de calcio para absorberse, y del mismo modo cantidades elevadas del catión deprimían la absorción de grasa. Con ello quedaba nuevamente demostrada la interconexión entre grasa y calcio dietéticos.

En los estudios realizados por Kies (1985) en la Universidad de Nebraska con adultos jóvenes y sanos se emplearon dos niveles distintos de grasa: un 43% y un 23%, manteniéndose constante el nivel de calcio dietético. Las pérdidas fecales del metal tendían a ser mayores cuando la proporción de grasa de la dieta era más alta, frente a las dietas con el porcentaje más bajo. Por tanto, la absorción aparente del catión era mayor cuando la dieta contenía menos grasa, pero los resultados sólo mostraban una tendencia y no significación estadística.

Por el contrario, años más tarde, Kies (1988), empleando porcentajes de grasa del 30 y el 40%, encontró que el mayor porcentaje favorecía la absorción aparente de calcio y Manganeso. En este caso los resultados se atribuyeron a que las ingestas de calcio del grupo que consumía la dieta más rica en grasa, eran inferiores, lo que trajo consigo una menor excreción fecal del elemento. Datos más antiguos afirman que la absorción de calcio se mejora cuando la ingesta de grasa se incrementa (Boyd y col., 1932).

Sin embargo, otros estudios realizados en humanos no han demostrado influencia aparente de la cantidad de grasa de la dieta sobre la absorción del calcio (Allen, 1982). Así, el balance del elemento, tampoco se modificó al emplear un porcentaje de grasa dietética que variaba del 1% al 32%, en un estudio en el que la grasa era mantequilla (Steggerda y Mitchel, 1951). Ensayos posteriores también en nuestra especie parecen seguir apoyando esta idea; disminuyendo la cantidad total de grasa de la dieta de un 42 a un 22%, no se obtuvieron efectos sobre la excreción fecal de calcio, ni sobre la urinaria, ni sobre la retención o balance, y lo mismo ocurrió con el magnesio (Van Dokkum y col., 1983).

Otros factores, como la edad del animal, tienen importancia a la hora de evaluar los efectos de la ingesta de grasa sobre los minerales calcio, fósforo o magnesio. De hecho, algunos investigadores afirman que el efecto de la grasa dietética sobre la absorción y retención del Ca, no se observa en ratas jóvenes, mientras que en ratas maduras un incremento del porcentaje de grasa (de un 5 a un 20%) reduce significativamente la absorción aparente del mineral (Kaup y col., 1990). Anteriormente Kane y col. (1949) ya habían observado que aumentando la ingesta de aceite de maíz de un 1 a un 21% se deprimía la absorción de Ca en ratas maduras, pero no en ratas en crecimiento. Esto parece indicar que la interacción calcio-grasa es sensible a cambios que ocurren a medida que el animal madura, lo cual ha de relacionarse con la situación anabólica del animal joven y su mayor capacidad para utilizar el calcio.

Por otro lado, también se ha afirmado que la ingesta de dietas con un elevado contenido graso producen un aumento del calcio en heces, aunque sólo el 2% del elemento se encuentra unido o asociado a la fracción lipídica de las mismas (Kane y col., 1949; Kaup y col., 1990). Esto confirmaría que el efecto de la grasa sobre la absorción y retención del calcio sea muy limitado (Calverley y Kennedy, 1949; Steggerda y Mitchell, 1951).

#### **2.5.1.2.1.2. Fósforo**

Por lo que se refiere al fósforo hay menos estudios realizados para ver la influencia de la cantidad de grasa sobre su utilización. Lo que sí se ha demostrado es que, tanto en ratas adultas como en crecimiento, la administración de cantidades elevadas de calcio y grasa mejora la absorción aparente de fósforo. Esto probablemente podría explicarse porque al haber mayor cantidad de calcio formando jabones con la grasa, se producirían menos complejos calcio-fosfato en el intestino, lo que dejaría más fósforo disponible para absorberse (Fakambi y col., 1969; Kaup y col., 1990).

#### **2.5.1.2.1.3. Magnesio**

Los efectos sobre la absorción del magnesio son muy pequeños. Estudios de Behling y col. (1990) y de Kaup y col. (1990) mostraron que incrementando la concentración de grasa dietética de un 5 a un 20% se mejoraba la absorción aparente del mineral. Debido a la posibilidad de la formación de jabones de magnesio en el intestino, podría haberse esperado el efecto contrario, pero tal influencia depende de las concentraciones de calcio y de magnesio. Parece ser que los ácidos grasos libres forman preferentemente jabones con el calcio que con el magnesio, ya que administrando a ratas jóvenes dietas con cantidades elevadas de grasa y de calcio se absorbe mejor el magnesio (Kaup y col., 1990); sin embargo, la absorción se deprime cuando se administran dietas altas en grasa y con concentraciones bajas de calcio. Tadayyon y Lutwak (1969) al adicionar trioleína a las dietas de ratas jóvenes observaron un aumento de la absorción aparente de Mg. Sin embargo Kaup y col. (1990) comprobaron que la ingesta de cantidades elevadas de grasa en ratas maduras deprimía la absorción del Mg. Estos mismos autores encontraron que la adición de tripalmitina o triestearina, más que la de trioleína, mermaba la absorción del mineral. Por el contrario otros estudios, realizados en rata, no han mostrado efectos del nivel de grasa sobre la absorción del

micronutriente al emplear como fuente grasa una mezcla de manteca, aceite de maíz y aceite hidrogenado de coco al 1, 5 o 10% (Watkins y col., 1992).

Estudios en humanos no han descrito ningún efecto del nivel de grasa de la dieta sobre la absorción del magnesio. Los resultados de Van Dokkum y col. (1983) indican que disminuyendo la ingesta de grasa dietética de un 42 a un 22% de la energía, no se produce ninguna influencia sobre la absorción aparente del catión, ni sobre su excreción urinaria y retención. Tampoco Rickets y col. (1985) encontraron efecto de la cantidad de grasa ingerida sobre el balance de magnesio.

#### **2.5.1.2.2. Elementos traza**

##### **2.5.1.2.2.1. Hierro**

Parece ser que el efecto de la cantidad de grasa sobre el hierro es algo menor que para otros minerales, aunque sigue la misma tendencia: su absorción aparente se incrementa al aumentar el porcentaje de grasa de la dieta. Mientras que algunos autores (Kies, 1988) han comprobado que bajos niveles grasos merman la absorción del elemento, otros afirman que *no se modifica* (Van Dokkum y col., 1983).

No obstante, los resultados relativos a dietas ricas en grasa son más frecuentes y unánimes al apuntar que un incremento de la grasa dietética aumenta la absorción del hierro (Kauffman y col., 1958; Sorensen, 1965; Bowering y col., 1977; Mahoney y col., 1980; Johnson y col., 1987; Kies, 1988). Esta mayor transferencia férrica se comprueba también al determinar hierro hepático total en ratas alimentadas con una fuente abundante de grasa (Hirooka y col., 1968; Amano, 1963a y 1963b; Johnson y col., 1987), siendo los efectos más marcados cuando se trata de grasas saturadas. Pero la unanimidad no es total a nivel de todos los parámetros estudiados, e incluso en esas mismas condiciones dietéticas, y en ratas

alimentadas con hierro no hemo, no se observaron efectos sobre la regeneración de hemoglobina (Johnson y col., 1987). Aunque la mayoría de los estudios coinciden en que un aumento de la proporción de grasa en la dieta produce un incremento de la absorción de hierro, dicho aumento no puede ser abusivo, ya que estudios en animales, como los de Kaufman y col. (1958), indican que niveles muy elevados de lípidos en la dieta pueden llegar a producir una excesiva acumulación de este micronutriente, por lo que no sería razonable ignorar la posibilidad de que dietas con proporciones elevadas de hierro y de grasa saturada puedan fomentar una indeseable acumulación de hierro hepático (Kaufman y col., 1958).

El efecto positivo de la cantidad de grasa parece ejercerse tanto sobre el hierro hémico como sobre el no hémico (Kauffman y col., 1958; Amine y Hegsted, 1975; Bowering y col., 1977; Johnson y col., 1987), según se desprende de estudios realizados en ratas.

El efecto sobre la forma no hémica atribuible al nivel o al tipo de grasa, no parece que exista en la especie humana (Bowering y col., 1977). Como ya es sobradamente conocido, se considera que la absorción del hierro hémico en humanos es independiente de muchos factores dietéticos que, por el contrario, afectan al no hémico. Pero sería importante llegar a establecer si realmente existe una relación grasa dietética-hierro hémico, ya que en la dieta occidental gran parte de las fuentes dietarias de esta forma de hierro, carne y derivados, se acompañan normalmente de grandes cantidades de grasa.

La evidencia de que ingestas pobres de grasa merman la absorción de este elemento, es un factor a tener en cuenta en el caso de los vegetarianos (Kies, 1988), aunque en este grupo de población hay otros factores dietéticos que también perjudican la absorción de hierro. Incluso en estos sujetos se han encontrado niveles más bajos de ferritina plasmática que en omnívoros (Helman y Darnton-Hill, 1987; Reddy y Sanders, 1990). Para intentar compensar esta baja absorción de hierro, algunos investigadores recomiendan una ingesta elevada de ácido ascórbico. De hecho, en algunos estudios se ha descrito que mujeres vegetarianas no presentaban anemia (Anderson y col., 1981; Draper y col., 1993).

#### **2.5.1.2.2.2. Zinc**

Un porcentaje elevado de grasa dietética favorece la absorción aparente del zinc (Kies, 1988). Sin embargo los resultados de Boeckner y Kies (1986) difieren de esta afirmación. Estos investigadores encontraron que la retención de zinc era mayor en sujetos adolescentes que recibían una dieta baja en grasa. Por tanto, aunque está claro que los niveles de zinc de la dieta influyen sobre la interrelación grasa dietética-zinc, dicha interconexión muestra resultados controvertidos (Woo y col., 1981).

Kies (1988) mostró que una reducción en el contenido de grasa de la dieta de 400 a 300 g/kg reducía la absorción de zinc. Esto en el caso de los vegetarianos ha de ser tenido en cuenta, ya que el efecto combinado del consumo de una dieta con alto contenido en hidratos de carbono ricos en polisacáridos distintos del almidón junto con dietas bajas en grasa, reduce la absorción de zinc de un 6 a un 2% (Draper y col., 1993), mostrando incluso niveles plasmáticos del micronutriente más bajos, y deprime el sentido del gusto, todos ellos síntomas de una posible deficiencia subclínica del elemento (Freeland-Graves, 1980).

#### **2.5.1.2.2.3. Cobre**

En el caso de este elemento traza, la información acerca de la influencia de la cantidad de grasa es aún más escasa. Se sabe que, en general, el consumo de dietas ricas en grasa deprime las concentraciones plasmáticas de este metal. El resultado del déficit de cobre producido por dietas hipergrasas es una disminución del crecimiento, del metabolismo energético, de la disponibilidad de sustratos para la síntesis de nucleótidos y de la concentración de elementos traza en tejidos, a excepción del hierro, en cuyo caso se incrementa su concentración en el hígado (Wapnir y Devas, 1995).

## **2.5.2. Tipo de grasa**

### **2.5.2.1. Influencia sobre la evolución ponderal y el crecimiento**

En general la mayoría de los autores coinciden en que la administración de dietas que contienen aceites con ácidos grasos de cadena larga o parcialmente hidrogenados, lleva consigo una depresión del crecimiento (Astorg y Cluzan, 1976).

Centrándonos en los distintos tipos de aceites, numerosos estudios han puesto de manifiesto que el aceite de colza tradicional, rico en ácido erúcico, produce disminución de la velocidad de crecimiento en distintas especies animales (Hunt y Knox, 1968; Ziemiński, 1977). Dicho efecto parece ser proporcional al contenido en la dieta de este aceite, siendo el ácido erúcico el responsable principal según diversos autores, aunque existe controversia sobre los mecanismos por los cuales podría producir este efecto (Rocquelin y Potteau, 1968; Vles, 1975). Los estudios de Navarro y col. (1980) llevados a cabo con ratas, empleando dietas con un 15% de dicho aceite, no muestran modificaciones en la ingesta voluntaria de los animales, pero la eficacia alimentaria de la dieta para promover el crecimiento sí resultó inferior al compararla con las que contenían aceite de oliva. Además los efectos se hicieron patentes en el grupo de ratas hembras, y no así en el de los machos, mostrando las primeras un crecimiento menor, ya desde el comienzo del experimento, frente a las que consumían aceite de oliva. Estos resultados se apoyan en los de Fakambi y col. (1969), que observaron también una depresión del crecimiento en ratas hembras que tomaban aceite de colza.

Una posible explicación del deterioro del crecimiento podría relacionarse con la peor *utilización digestiva del aceite de colza, debida al ácido erúcico, que tiene menor coeficiente de digestibilidad que el oleico* (Demarne y col., 1971), ya que se ha demostrado que el aceite de oliva favorece el crecimiento en otros experimentos al compararlo con otros aceites (Navarro y col., 1988). Sin embargo, otros autores opinan que el efecto tal vez tenga una explicación vía metabolismo, ya que afirman que los ácidos grasos en C<sub>22:1</sub> son peor utilizados a nivel celular que otros de cadena más corta (Rocquelin y Potteau, 1968; Astorg y Cluzan, 1976).

Otros tipos de aceites, como el aceite de soja, o de grasas saturadas, como el sebo, no parecen ejercer ningún efecto negativo sobre el crecimiento en distintas especies (Diersen-Schade y col., 1984), aunque otros autores si han observado menor ganancia de peso en ratas que consumían sebo frente a dietas a base grasa fundamentalmente monoinsaturada (oliva) o poliinsaturada (cártamo), todas ellas empleadas a un 59% de las calorías totales de la dieta (Pan y Storlien, 1993).

En la misma línea tampoco otras fuentes grasas, como la extraída de carne de cerdo o pavo, o el aceite de maíz, empleadas a distintas proporciones (del 12 al 36%), producen efectos deletéreos sobre este parámetro en ratas (Mahoney y col., 1980). Del mismo modo un 20% de grasa en la dieta, aportada por grasa extraída de carne de vaca, leche o grasa hidrogenada de origen vegetal, no disminuye el crecimiento en estos animales (Kapsokefalou y Miller, 1993).

En general, puede afirmarse que las grasas y aceites comestibles no alteran el crecimiento. Los estudios llevados a cabo con aceites como el de palma, para evaluar su valor nutritivo, han demostrado que no produce alteración del crecimiento, ni de la eficacia alimentaria (Gottenbos y Vles, 1983). Tampoco empleando mezclas grasas conteniendo 5% de ácidos grasos poliinsaturados, 18% de monoinsaturados y 12% de saturados se producen variaciones en el peso ganado en ratas, y lo mismo ocurre al emplear una mezcla a partes iguales de estos ácidos grasos (Saldanha y Fryer, 1988).

Distintos trabajos sobre el metabolismo lipídico del tejido adiposo sugieren que la composición en ácidos grasos de la grasa dietética juega un papel importante en la incidencia de la obesidad (Awad y Zepp, 1979; Awad y Chattopadhyay, 1986), y que además tiene también influencia sobre la composición corporal (Jones y Schoeller, 1988). Sin embargo, los resultados de algunos estudios en ratas indican que la composición en ácidos grasos de la dieta no produce efectos sobre el peso, consumo de alimentos y composición corporal (Awad y col., 1990).

En cuanto a las grasas procedentes de pescado, altamente poliinsaturadas, existen varios estudios que las relacionan con un retraso en el crecimiento y una menor ganancia ponderal. Como ya se ha comentado anteriormente, en la actualidad se recomienda el consumo de ácidos grasos de la familia n-3 por los efectos beneficiosos que conlleva a nivel cardiovascular, pero la depresión del crecimiento descrita por algunos autores, parece ser uno de sus efectos deletéreos. Dietas que contenían un 12% de aceite de menhaden, administradas a ratas en crecimiento y a ratas gestantes produjeron depresión del crecimiento y retraso en el crecimiento fetal (Clarke y col., 1988). Así mismo Chao y Gordon (1983) describieron un menor incremento en el peso corporal en ratas cuya dieta contenía pescado. También hay resultados de menor ganancia ponderal en ratones alimentados con dietas preparadas con aceite de salmón (Leboeuf y Veldee, 1993). Otros estudios también han demostrado que la administración de fórmulas infantiles suplementadas con aceites marinos deprime la ganancia normal de peso y la altura en niños prematuros (Cooke y col., 1991). La posible explicación a estos hechos no está aún demasiado clara, pero parece ser que la tendencia hacia un menor crecimiento en ratas alimentadas con grasa de pescado como única fuente de grasa en la dieta, y el retraso del desarrollo fetal, sugieren la posibilidad de que la abundancia alimentaria de los ácidos grasos de la familia n-3 puede potencialmente comprometer el crecimiento durante periodos críticos, debido a una depleción en los tejidos de ácidos grasos de la familia n-6 (Clarke y col., 1988). Aparentemente, los requerimientos de ácidos grasos de la familia n-6 durante el desarrollo fetal se incrementan cuando las dietas contienen una relación n-3/n-6 elevada, y ello subsidiariamente produciría un consumo de ácidos grasos esenciales insuficiente. Los ácidos grasos de la familia n-6 son precursores de las prostaglandinas, que juegan un papel fundamental en el crecimiento fetal, e incluso la prostaglandina E<sub>2</sub> se ha visto que estimula la síntesis de DNA y el crecimiento de cultivos de células (Burch y col., 1986)

#### **2.5.2.2. Influencia sobre la composición corporal**

Es indudable que la composición del tejido adiposo depende de la dieta (Body, 1988; Field y col., 1984; Nelson y col., 1987; Phetteplace y Walkins, 1989; Varela-Garrido y col.,

1990). Así los animales monogástricos incorporan directamente al tejido adiposo proporciones sustanciales de ácidos grasos procedentes de las plantas que ingieren, tales como ácido linoleico y linolénico. Este hecho se observa también en el caso de los omnívoros como el hombre, rata y cerdo.

Respecto al estudio experimental de la relación dieta/composición del tejido adiposo, los trabajos realizados muestran claramente que el perfil de ácidos grasos de la dieta determina en gran manera la naturaleza de la grasa de depósito. Este hecho se manifiesta claramente cuando la ingesta incluye ácidos grasos de naturaleza concreta. Así, en ratas alimentadas con dietas que contienen isómeros específicos de distintos ácidos grasos, se observa igualmente su presencia en el tejido adiposo, y resultados similares se obtienen cuando se incluyen en la dieta ácidos grasos poliinsaturados de origen marino (Brockerhoff y col., 1967; Phetteplace y Walkins, 1989).

El tejido adiposo es la mayor reserva de energía del cuerpo, y acumula ácidos grasos durante períodos de sobrealimentación, los cuales utiliza como energía y nutrientes durante el ayuno y entre comidas. La composición en ácidos grasos del tejido adiposo en cada momento determina la calidad de los ácidos grasos esenciales y no esenciales que posteriormente serán liberados para cubrir las necesidades corporales. Ya en 1960, Tove y Smith, alimentando a ratones con oleato y linoleato, observaron un incremento de ambos compuestos en el tejido adiposo. Estudios de población también han indicado que la composición de dicho tejido en humanos es un reflejo de los ácidos grasos presentes en la dieta (Thomas y col., 1981).

En los años 30 ya se demostró que los ácidos grasos se depositaban en distintas proporciones en el tejido adiposo. De hecho, las ratas no pueden depositar grandes cantidades de grasa saturada (Longenecker, 1939). Sinclair (1935) observó que era más difícil saturar los ácidos grasos de la grasa depositada en ratas manipulando la dieta que desaturarlos. Estos antiguos estudios ya parecían sugerir que los ácidos grasos de la dieta se depositaban o se retenían de modo selectivo en el tejido adiposo según su grado de saturación. Sin embargo,

no existen demasiados resultados que apoyen esta hipótesis. Actualmente se ha estudiado la incorporación de ácidos grasos típicos de la grasa de pescado (EPA y DHA), y parece ser que se almacenan rápidamente en el tejido adiposo, aunque en distinto grado (Lin y Connor, 1990). Estudios realizados en conejos a los que se les administraba ácido palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico han demostrado que todos ellos son bien incorporados al tejido adiposo, aunque los ácidos grasos saturados se depositan de forma limitada, indicando que los lípidos dietéticos pueden realmente condicionar la composición en ácidos grasos de los depósitos corporales de grasa (Lin y col., 1993).

No sólo el tipo de grasa tiene influencia, sino también la cantidad de este nutriente que se ingiere. Aunque la composición en ácidos grasos del tejido adiposo puede ser muy variable, porcentajes superiores al 12% de grasa dietética originan un perfil de ácidos grasos en dicho tejido muy similar al de la grasa ingerida en ratas. Esto parece deberse a que en dichas proporciones la grasa posiblemente excede las necesidades oxidativas y, en consecuencia, es acumulada directamente como energía de reserva. Así, por ejemplo, cuando la dieta contiene un 20% de aceite de oliva, la composición en ácidos grasos del tejido adiposo resulta prácticamente idéntica a la de la dieta. También se ha observado en ratas que la alteración de la grasa de la dieta, mediante calentamiento, peroxidación, etc., modifica la composición del tejido adiposo, debido a la menor cantidad de grasa absorbida en este caso (Salgado y col., 1992).

### **2.5.2.3. Influencia sobre la biodisponibilidad de minerales**

Dentro del estudio de la interconexión existente entre la grasa dietética y los minerales, el problema se complica si tenemos en cuenta que los posibles efectos varían según el tipo de grasa que se utiliza (Clarke y col., 1988, Kies, 1988), su grado de saturación, longitud de la cadena (Boyd y col., 1932; Kehayoglou y col., 1968; Tadayyon y Lutwak, 1969; Gacs y Barltrop, 1977), ácido graso concreto (Navarro y col., 1985, Johnson y col., 1977), estructura del triglicérido (Kies, 1988), etc.

### **2.5.2.3.1. Elementos mayoritarios**

#### **2.5.2.3.1.1. Calcio**

La influencia que ejerce el tipo de grasa dietética sobre la absorción del calcio ha sido ampliamente estudiada desde principios de siglo y existe gran cantidad de literatura al respecto (Boyd y col., 1932, Tadayyon y Lutwak, 1969). Se ha observado repetidamente que un incremento en la excreción fecal de grasa va acompañado por un aumento de las pérdidas del catión, tanto en humanos (Givens, 1917, Widdowson, 1965, Kehayoglou y col., 1968) como en ratas (Tadayyon y Lutwak, 1969, Kehayoglou y col., 1968).

También se ha intentado descifrar en qué circunstancias existe relación causal entre la absorción de grasa y las pérdidas de calcio, y se ha sugerido que los ácidos grasos saturados de cadena larga forman jabones insolubles con el catión en el intestino, impidiendo su absorción (Widdowson, 1965). Sin embargo, Patton y Carey (1979) sugieren que la formación de los jabones de calcio es un paso normal en la digestión de los lípidos, aunque no es bien conocido si el calcio es absorbido con las micelas. Estos autores demostraron que la formación de los jabones cálcicos ocurría durante la hidrólisis de las gotitas de grasa emulsionadas por la lipasa pancreática en presencia de colipasa y micelas de sales biliares. La adición de lipasas causaba la formación de un líquido cristalino que contenía calcio y que formaba una especie de cubierta o caparazón alrededor de las gotitas de grasa. Esta cubierta contenía triglicéridos y calcio, probablemente en forma de jabones. La cantidad de jabones formados era paralela a la cantidad de ácidos grasos ionizados, ya que empleando concentraciones de calcio 1 mM y 10 mM el grado de hidrólisis lipídica era el mismo, pero la cantidad de ácidos grasos ionizados era menor y se formaba menor cantidad de jabones cuando se empleaba la concentración más alta de calcio. Dicha concentración puede darse tras ingerir una comida con alto contenido en calcio. Además, al adicionar monoglicéridos, la formación de jabones también se reducía, por lo que este proceso se veía afectado por un gran número de factores como las condiciones fisiológicas y patológicas del intestino (Heaney y Skillman, 1964; Matkovic y col., 1979; Rasmussen y col., 1979) o las condiciones experimentales (Allen, 1982).

Para intentar aclarar algo más el problema, también se ha estudiado la absorción de calcio a partir de distintos jabones. Ya en 1932, Boyd y col. indicaron una relación entre la absorción del catión y la naturaleza del ácido graso, empleando estearato cálcico, oleato y palmitato. Sin embargo, Nicolaysen (1953) afirmó que la absorción de calcio a partir de distintos jabones era independiente de la naturaleza del ácido graso, aunque estos estudios no tenían en cuenta la ruptura del jabón cálcico en el medio ácido estomacal, lo que suponía que algo del elemento entraba ya en el duodeno en forma ionizada.

Posteriormente se han producidos resultados más claros. Gacs y Barltrop (1977) estudiaron la disponibilidad del calcio en los jabones empleando un amplio rango de ácidos grasos. Para evitar la hidrólisis ácida del estómago, los jabones eran introducidos directamente en el intestino de ratas. La menor absorción de calcio se obtuvo con ácidos grasos saturados que iban de 12 a 18 átomos de carbono, coincidiendo con resultados más antiguos (Cheng y col., 1949; Nicolaysen y col., 1953) que demostraban un descenso de la disponibilidad del metal con grasas de punto de fusión elevado que contenían ácido láurico, mirístico, palmítico y esteárico. Por otro lado Gacs y Barltrop (1977) obtuvieron la absorción más alta de calcio con ácidos grasos de 6 y 8 átomos de carbono (caproico y caprílico respectivamente). Menos del 2% de los jabones formados con  $C_{18:0}$  (esteárico) eran absorbidos, mientras que se alcanzaba un 20% con el  $C_{18:2}$  (linoleico). Por tanto, llegaron a la conclusión de que la disponibilidad del calcio en los jabones, en el caso del intestino de la rata, se incrementaba a medida que la longitud de la cadena del ácido graso disminuía y aumentaba el grado de insaturación (Gacs y Barltrop, 1977). Así mismo, estudios en humanos han demostrado que dietas con un 16% de ácido linoleico ( $C_{18:2}$ ) aunque no afectan la retención de calcio ni de magnesio, sí favorecen la absorción del primero (Van Dokum y col., 1983).

Por otra parte parece que los triglicéridos, como tales, prácticamente no ejercen ningún efecto sobre la absorción del calcio, lo cual sería ser debido, en parte, a una hidrólisis incompleta de los mismos. Por ello la malabsorción del elemento podría ocurrir sólo cuando los ácidos grasos libres están presentes en el intestino (Gacs y Barltrop, 1977). Por el contrario, otros autores han comprobado que la administración de distintos triglicéridos sí

produce efectos sobre la absorción del calcio. De hecho, la tripalmitina y la triestearina ocasionan una menor absorción y una mayor excreción urinaria del metal que la trioleína (Tadayyon y Lutwak, 1969). Además, hay trabajos que apuntan a que la absorción del catión en ratas se deprime con concentraciones excesivamente elevadas de triglicéridos en la dieta (Tadayyon y Lutwak, 1969). En el mismo sentido, en pacientes, con cirrosis biliar o gastrectomías parciales y en niños prematuros la absorción del calcio y de la grasa se mejoran mediante la sustitución de triglicéridos de cadena larga por otros de cadena media (Kehayoglou y col., 1968 y 1973; Agnew y Holdsworth, 1971; Tantibhedhyangkul y Hasmin, 1978; Hamosh, 1981), ya que éstos últimos son más solubles y no requieren de las sales biliares para su digestión y absorción.

En cuanto a la grasa en sí, la mayoría de los autores coinciden en que una relación poliinsaturados/saturados elevada, favorece la absorción del calcio. Así la absorción aparente del metal es mayor cuando la dieta contiene como fuente grasa al 30%, aceite de cártamo frente a sebo, por ser éste último más saturado (Kies, 1988), aumentando también la retención o balance del elemento, mientras que, por el contrario, con la grasa más saturada las pérdidas fecales se incrementaron (Kies, 1985). Sin embargo, en estudios realizados en cabras, alimentadas con aceite de soja o sebo, no se produjeron variaciones en la cantidad de calcio excretada en heces, ni en la absorción aparente del metal (Diersen-Schade y col., 1984).

Al comparar el efecto de varias fuentes grasas: mantequilla, aceite de sésamo, cacahuete, coco y aceite de semilla de mostaza, todas ellas, a excepción del aceite de coco, produjeron un pequeño descenso del calcio fecal, o lo que es lo mismo, un incremento de su biodisponibilidad, mientras que el aceite de coco, que era el más saturado, incrementó las pérdidas fecales y urinarias del catión (Basu y Nath, 1946). Sin embargo, al emplear como fuente grasa al 10% aceite de cacahuete, aceite de palma crudo y oleína refinada de palma en ratas en crecimiento, las retenciones de calcio y de fósforo no mostraron variaciones, aún cuando el aceite de cacahuete es más poliinsaturado (Manorama y Rukmini, 1991). Así mismo los estudios de Rukmini y Vijayaraghavan (1984), realizados en ratas en crecimiento, en los que se comparaban un aceite extraído del fruto del mango frente al aceite de cacahuete,

tampoco demostraron variaciones en la absorción y retención del calcio. Este aceite extraído del mango es rico, a idénticas proporciones, en ácido esteárico y oleico (42%), y posee un bajo contenido en linoleico (7,7%). Idénticos resultados se han obtenido empleando otro tipo de aceite extraído a partir del fruto de un árbol típico de la India (*Terminalia bellirica roxb.*) que contiene como ácidos grasos mayoritarios palmítico (35%), oleico (24%) y linoleico (31%) (Rukmini y Udayasekhara Rao, 1986).

El aceite de colza, rico en erúcico ( $C_{22:1}$ ) y con un alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados, es un depresor de la absorción intestinal de calcio (Richards y Carrol, 1959; Laval-Jeantet y Laval-Jeantet, 1976); sin embargo, el aceite de oliva, que también es rico en monoinsaturados, la estimula (Caverley y Kennedy, 1949; Tadayyon y Lutwak, 1969). En 1980, Navarro y col., observaron una disminución del calcio absorbido, de su coeficiente de utilización digestiva, y de su retención corporal, al administrar a ratas machos y hembras una dieta que contenía un 15% de aceite de colza. Ambos aceites tienen un contenido adecuado en ácidos grasos esenciales, y su composición es bastante similar, a excepción de los porcentajes de oleico (característico del de oliva) y de erúcico (característico del de colza), por lo que el efecto de la disminución de la absorción de calcio se podría achacar al ácido erúcico.

Las diferencias entre los efectos encontrados al administrar grasas como el aceite de maíz y la mantequilla podrían atribuirse a la influencia de la longitud de la cadena del ácido graso. Aunque el aceite de maíz tiene mayor porcentaje de poliinsaturados que la mantequilla, los ácidos grasos que la componen son de cadena más corta. Esto hace que al administrar estos dos tipos de grasa a individuos se obtengan absorciones aparentes de calcio similares (Kies, 1988).

Según Whitsett y Sang (1977), la influencia del tipo de grasa dietética no se circunscribe al terreno digestivo, sino que llega a afectar también al calcio plasmático. Teóricamente se cree que los ácidos grasos presentes en el suero pueden formar complejos con el calcio y producir jabones, los cuales se encontrarían en forma de precipitados o de complejos solubles

en solución acuosa. A mayor concentración de ácidos libres en plasma, mayor es la posibilidad de formación de jabones y, por tanto, habría menor cantidad de calcio iónico en plasma. Esto puede tener importancia en los casos en que es necesario emplear una alimentación intravenosa con lípidos, ya que los niveles de ácidos grasos libres pueden llegar a ser muy elevados. La influencia que estos ejercen sobre el calcio parece que también depende de la longitud de la cadena del ácido graso, al igual que ocurre a nivel de absorción. Los estudios *in vitro* de Whitsett y Tsang (1977) mostraron que el ácido butírico no modificó los niveles de calcio iónico, pero la adición de ácido oleico, disminuyó los niveles de calcio iónico en mayor grado que el ácido palmítico. Esto puede ser un reflejo del efecto que produce la longitud de la cadena del ácido graso sobre la formación de jabones, pero también hay que tener en cuenta que el ácido oleico es líquido a temperatura ambiente y se dispersa más fácilmente en el suero que el palmítico, y es conocido que a mayor punto de fusión menor es la solubilidad (Andrew y col., 1976). El efecto de aplicación clínica es que en niños prematuros un descenso de los niveles de calcio iónico en el suero podría llegar a producir riesgo de tétanos e hipocalcemia. Por el contrario, la administración de triglicéridos como tripalmitina, triestearina y trioleína no produjo ningún efecto sobre los niveles de calcio sérico en ratas (Tadayyon y Lutwak, 1969).

La interconexión grasas-calcio, que nos ocupa, se verifica en las dos direcciones, es decir, el calcio también influye en el metabolismo lipídico. De hecho se ha demostrado que un aumento de la ingesta cálcica, tanto en hombres como en mujeres que no padezcan enfermedades coronarias, produce una reducción significativa del colesterol sérico (Yacowitz, 1962; Yacowitz y col., 1965; Mitchell y col., 1968; Bhattacharyya y col., 1969; Bierembaum y col., 1972; Albanese y col., 1973; Denke y col., 1993) y de los triglicéridos, sin que se vean afectados los fosfolípidos (Yacowitz y col., 1965; Denke y col., 1993). Esto es debido, fundamentalmente, a que grandes cantidades de calcio en el intestino reducen la absorción de grasa, ya que hace que precipiten los ácidos grasos en forma de jabones insolubles de calcio (Drenick, 1961), por lo que se deprime la absorción de los ácidos grasos saturados, haciendo posible que se reduzcan las concentraciones de colesterol en sangre (Yacowitz y col., 1967;

Yacowitz y col., 1971; Bierenbaum y col., 1972; Dougherty y Iacono, 1979; Denke y col., 1993).

También se produce un aumento de los ácidos biliares y de la grasa en heces cuando se aumenta el nivel de calcio de la dieta (Denke y col., 1993). Del mismo modo se ha descrito que ingestas elevadas de calcio disminuyen la absorción de la grasa en lactantes, niños (Lutwak y col., 1964) y adultos (Drenick, 1961). Así mismo estudios en animales han demostrado que la digestibilidad de grasas como cacahuete se ve afectada por el nivel y la forma química del calcio presente en la dieta (George y Sen, 1985).

#### **2.5.2.3.1.2. Fósforo**

La administración de trioleína, tripalmitina o triestearina no produce ningún efecto sobre la absorción, eliminación fecal y urinaria del fósforo, ni tampoco modifica sus concentraciones séricas ni su almacenado óseo (Taddayon y Lutwak, 1969), aunque anteriormente otros investigadores habían demostrado un aumento del fosfato absorbido al comparar dietas con y sin grasa (Telfer, 1922; Steenbock y Bunkfeldt, 1951).

Por otro lado, la administración de aceites como el de colza, que tienen efectos perjudiciales sobre el metabolismo de otros metales, como por ejemplo el calcio, no afecta la utilización nutritiva del fósforo en ratas hembras e incluso en los machos se produce un incremento de la absorción, utilización digestiva y retención corporal (Navarro y col., 1980). También estudios realizados en India, con el propósito de desarrollar y ampliar las variedades de aceites comestibles, muestran que la administración de dietas con un 10% de aceite extraído del fruto del mango, frente a aceite de cacahuete, tampoco produce ningún efecto negativo sobre la absorción y retención del elemento (Rukmini y Vijayaraghavan, 1984). Lo mismo ocurre al administrar la misma proporción de otro aceite extraído de una planta típica de India (*Terminalia bellirica Roxb.*) (Rukmini y Udayasekhara Rao, 1986).

Ciertas mezclas de aceites modifican también la utilización del fósforo, así se ha demostrado en ratas que el empleo de una dieta con un 15% de grasa que contenía una mezcla de aceites compuesta por 20% de cambrá, 20% de oliva refinado, 20% de aceite de semilla de uva y 10% de grasa animal, produce un aumento de la excreción urinaria de fósforo y de otros minerales como magnesio, sodio y potasio, así como pérdidas corporales de los mismos, al compararlo con aceite de oliva virgen (Navarro y col., 1988).

#### **2.5.2.3.1.3. Magnesio**

Estudios con ratas han demostrado que una dieta con un contenido graso de un 4%, formado por partes iguales de triglicéridos de cadena media, aceite de girasol y aceite de oliva, incrementa significativamente la absorción aparente y la retención del catión cuando se compara con una dieta que contiene como única fuente grasa aceite de oliva (López-Aliaga y col., 1990; Aliaga y col., 1991). Esto puede ser debido a la reducida capacidad que tienen los triglicéridos de cadena media para formar jabones con el magnesio (Booth y col., 1963; Hanna y col., 1960). Tadayyon y Lutwak (1969) demostraron que suplementando una dieta libre de grasa con un 25% de la energía en forma de tripalmitina o triestearina se deprimía la absorción aparente de este micronutriente en ratas jóvenes. También se ha demostrado que, cuando grasas pobremente absorbibles forman parte de la dieta, la absorción de magnesio se deprime, independientemente del nivel de calcio que contenga.

El efecto de la grasa sobre la utilización del magnesio en humanos no ha podido demostrarse. Los resultados de Van Dokkum y col. (1983) indican que manteniendo constante el nivel de grasa de la dieta pero incrementando la cantidad de ácido linoléico, no se afecta el metabolismo del catión. Rickets y col. (1985) tampoco encontraron efectos del tipo de grasa sobre el balance de magnesio.

### **2.5.2.3.2. Elementos traza**

La grasa dietética también ejerce influencia sobre la absorción y el metabolismo de los elementos traza. Al igual que ocurre con los elementos mayoritarios, para hablar de esta influencia hay que considerar el grado de saturación de la grasa, ya que los efectos pueden ser más o menos marcados dependiendo de la menor o mayor proporción de ácidos grasos saturados o insaturados.

#### **2.5.2.3.2.1. Hierro**

Los distintos ácidos grasos influyen de manera diferente en la absorción del elemento. Es bien conocido que una vez en el tracto gastrointestinal, el primer paso en la absorción del hierro es su transporte a través de la membrana intestinal con borde en cepillo (Simpson y Peters, 1987a). Al parecer los ácidos grasos libres pueden actuar como mediadores del transporte de  $\text{Fe}^{2+}$  a través de las membranas biológicas, y en especial a través de las anteriormente citadas. Estos ácidos grasos pueden formar complejos lipídicos solubles con el metal, afectando la permeabilidad de la membrana intestinal. La estructura de dichos complejos no parece conocerse de manera definitiva. Sin embargo Qian y Eaton (1991) creen que puedan estar formados por una interacción inicial entre el hierro y el grupo carboxilo del ácido graso. En el medio acuoso, los extremos hidrocarbonados de los ácidos grasos podrían unirse por atracción hidrofóbica; esto daría como resultado un quelato, que aunque formado inicialmente por interacciones iónicas entre la parte  $\text{R-COO}^-$  y el  $\text{Fe}^{2+}$ , se vería reforzado por la convergencia de los extremos hidrofóbicos de los ácidos grasos. Un quelato de carga neutra podría atravesar fases orgánicas y liberar hierro libre en el medio intersticial de una célula de una membrana lipídica o quizás en el citoplasma de células intactas.

Este transporte de hierro, mediado por los ácidos grasos, depende de factores como el pH, la presencia de  $\text{ClNa}$ , cantidad de hierro unido a ácido ascórbico, etc. Kapsokefalou y Miller (1993) afirman que también otros factores como la presencia de carne en la dieta

influyen en la absorción del metal, así una de las hipótesis que explicaría el llamado "factor carne" sería el resultado de una interacción entre las fracciones magras y grasas de este alimento. La interacción puede ocurrir en el lumen: los productos de la digestión de la proteína y de la grasa podrían participar en una secuencia de hechos que darían como consecuencia la reducción del hierro (Kapsoketalou y Miller, 1991), y se sabe que este hecho aumenta la absorción del elemento (Muir y col., 1984, Wollenberg y Rummel, 1987; Wien y Van Campen, 1991). Esta reducción del  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , vendría seguida del acomplejamiento del hierro ferroso por los ácidos grasos libres, formándose complejos lipofílicos que atravesarían rápidamente las membranas lipídicas al ser captados por las células de la mucosa. Esta serie de hechos únicamente parecen estar relacionados con la carne, debido a la específica composición de su proteína y de su grasa (Kapsoketalou y Miller, 1993).

Estudios *in vitro* han demostrado que el ácido oleico ( $C_{18,1}$ ) puede formar un complejo lipídico soluble con el catión, y parece ser que el ácido palmítico ( $C_{16,0}$ ) también muestra esta propiedad (Simpson y Peters, 1987a). Ambos son ácidos grasos de cadena larga, que tienen la propiedad de incrementar la captación de  $Fe^{2+}$  por las membranas de los glóbulos rojos. (Qian y Eaton, 1991). Pequeñas cantidades de ácido oleico facilitan el transporte del catión a través de la membrana. Los estudios *in vitro* de Simpson y Peters (1987a), utilizando varios tipos de ácidos grasos, muestran que los transportadores más efectivos de  $Fe^{2+}$  son los ácidos oleico ( $C_{18,1}$ ) y linoleico ( $C_{18,2}$ ), seguidos de los ácidos linolénico ( $C_{18,3}$ ), mirístico ( $C_{14,0}$ ), araquidónico ( $C_{20,4n-6}$ ) y palmítico ( $C_{16,0}$ ). Asimismo concluyeron que los ácidos grasos no esterificados pueden catalizar el transporte rápido de  $Fe^{2+}$  a través de las membranas artificiales *in vitro*. Además los modelos cinéticos muestran que se forma un complejo que contiene más de un ácido graso por ión  $Fe^{2+}$  (Simpson y Peters, 1987a y 1987b; Simpson y col., 1988; Qian y Eaton, 1991).

La hipótesis de que el ácido oleico promueve la absorción del hierro se ve reforzada con los datos de Kapsoketalou y Miller (1993), que encontraron una correlación entre la concentración de ácidos grasos monoinsaturados y la absorción de hierro en dietas que contenían carne.

Por lo que se refiere a grasa completa, de acuerdo con los datos de Amine y Hegsted (1975), el efecto de incremento en la absorción del hierro por la grasa parece ocurrir tanto con la altamente poliinsaturada como con la rica en ácidos grasos saturados. Sin embargo, la opinión más unánime es que esta influencia beneficiosa sólo la ejerce la grasa saturada (Rao y col., 1980 y 1983, Van Dokkum y col., 1983, Johnson y col., 1987). En esta línea Bowering y col. (1977), al aumentar el nivel de grasa saturada, observaron incrementos de la absorción de hierro en ratas, pero sólo en el caso de que la fuente dietaria de hierro fuera no hémica y con niveles bajos del elemento. También se pudo promover una deficiencia férrica en ratas mediante la administración de una grasa insaturada (Amine y col., 1976, Rao y col., 1980 y 1983), deficiencia que se retardó bajo el consumo de dietas con grasas saturadas (Rao y col., 1980 y 1983). De hecho, a pesar de la complejidad de la interacción entre el tipo de grasa y la utilización del hierro, diferentes resultados muestran que la absorción del elemento en humanos y ratas disminuye al comparar grasas insaturadas frente a saturadas (Amine y Hegsted, 1975).

Los estudios de Lukaski y col. (1982), realizados en atletas, refuerzan esta afirmación, así como los de Van Dokkum y col. (1983), y demuestran que una alimentación abundante en grasas saturadas produce un balance de hierro mucho más positivo que otra idéntica pero con una proporción elevada de grasas poliinsaturadas.

Todo lo mencionado anteriormente indica que las interacciones entre el tipo de grasa y la ingesta de hierro son complejas, y que aún no están claros los factores individuales que pueden afectar dichas interacciones (Johnson y col., 1987). Pudiera ser que reduciendo el consumo de grasas insaturadas a favor de las saturadas, se produjera un efecto positivo indirecto sobre la nutrición férrica, pero esto crearía una controversia aún mayor, ya que normalmente se recomienda un incremento del consumo de ácidos grasos poliinsaturados, por ser estos beneficiosos para prevenir enfermedades cardiovasculares (WHO Study Group, 1990; Ros, 1994).

Los diferentes mecanismos que explican la interacción de la grasa dietética con el hierro, aún están poco claros. Una posibilidad sería que algunas grasas formaran con el hierro jabones insolubles en el intestino, al igual que ocurre con otros elementos minerales, haciéndolo ineficaz para la absorción. Los jabones formados con el hierro se pueden asociar en micelas o en complejos químicos específicos, conteniendo dos o más moléculas de sal (Ingold, 1962). Sin embargo, las grasas saturadas reaccionan más rápidamente que las insaturadas a la hora de formar tales jabones (Kies, 1988). Por tanto, en todo caso, esto produciría efectos contrarios a los observados, ya que las grasas saturadas parecen más favorecedoras de la absorción del metal (Johnson y col., 1987).

Los aceites de pescado, altamente insaturados, producen también efectos negativos en la absorción del hierro y, por tanto, en su utilización digestiva. Así, tanto los ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3, como los de la n-6, pueden considerarse como poco beneficiosos. Los resultados de Chao y Gordon (1983) apoyan ésta hipótesis, ya que en sus trabajos, realizados en ratas, achacan el descenso de la absorción del elemento a las dietas con grasa de pescado.

Se sabe que muchos elementos inorgánicos, pero especialmente el hierro, actúan como catalizadores en la oxidación de las grasas insaturadas (Ingold, 1962). La oxidación del hierro de la dieta, en una situación en la que está actuando como catalizador, parece ir seguida de una reducción de este metal si la reacción ocurre en una solución (por ejemplo en el tracto gastrointestinal). Si la oxidación ocurre antes de que la dieta sea ingerida por el individuo, la reacción puede darse muy lentamente, o no producirse del todo (Johnson y col., 1987). Un fallo en la regeneración del hierro ferroso a férrico, podría explicar las diferencias en la absorción o en la disponibilidad del elemento en humanos, pero no en el caso de las ratas, debido a la buena utilización de la forma ferroso y férrica que se da en esta especie (Brise y Hallberg, 1962, Waddell, 1973, Berner y col., 1985). Por tanto la participación del hierro inorgánico en la oxidación de los lípidos no se traduce en una explicación contundente de los efectos diferenciales de varios tipos de lípidos sobre la utilización del hierro (Johnson y col., 1987).

Otros autores como Bowering y col. (1977), intentan explicar los efectos de la grasa sobre el hierro, diferenciándolos en dos tipos:

- *efectos directos*, que se producirían sobre el hierro dentro del lumen intestinal;
- *efectos indirectos* de la grasa sobre otros componentes de la dieta que mediatizarían la influencia sobre la absorción del hierro.

Respecto a los *directos*, Amano (1963a y 1963b) sugirió que la formación de complejos entre los ácidos grasos y el hierro en el lumen ayudaba a mantenerlo en solución, favoreciendo de este modo su absorción. Otros han apuntado que la grasa daría lugar a la estimulación de la secreción de ácidos biliares (Kaufman y col., 1958), los cuales estimularían la absorción del hierro, pero no existen experiencias claras que apoyen esta hipótesis (Bowering y col., 1977).

Los efectos *indirectos* están relacionados con acciones de los lípidos sobre otros nutrientes (Bowering y col., 1977, Amine y Hegsted, 1975). De esta forma los triglicéridos podrían actuar sobre ciertos minerales que interaccionan con el hierro, bien por competencia a nivel de captación por el enterocito, o bien por alteración del medio en el lumen intestinal, modificando así la absorción de este mineral. Teóricamente, los ácidos grasos podrían formar complejos con cationes que compiten con el hierro en la formación de quelatos o en los mecanismos de transporte, reduciendo la competencia y, en consecuencia, mejorando su absorción.

A la vista de la complejidad de las dietas humanas y de las variaciones en el consumo de grasa, está claro que los efectos de la grasa sobre la absorción de hierro son controvertidos. De forma que los lípidos serían un factor más para explicar por qué existe un amplio rango entre la disponibilidad del hierro estimada para personas con ingestas adecuadas o marginales de hierro (Bowering y col., 1977).

Los efectos sobre el **metabolismo** del hierro, aún son más difíciles de interpretar que la influencia a nivel de absorción, y se ven afectados por el mismo tipo de factores (Johnson y col., 1987).

Brodan y col. en 1968 compararon los cambios producidos en el hierro plasmático tras proporcionar a individuos alimentos ricos en distintos tipos de grasa, pero no encontraron efectos significativos. Esa ausencia de efectos se manifiesta también cuando con un nivel de grasa constante se aumentó la proporción de ácido linoleico (C<sub>18:2</sub>) hasta un 16% de la energía (Van Dokkum y col., 1983). Sin embargo, se produjo una reducción del balance o retención del mineral y un descenso significativo de los niveles de hemoglobina y de la masa de glóbulos rojos (Van Dokkum y col., 1983).

Johnson y col. (1987), sustituyendo el aceite de coco por aceite de cártamo en dietas administradas a ratas, encontraron una mayor regeneración de la hemoglobina, tanto si el hierro de la dieta era hémico o no hémico.

Otros investigadores observaron en ratas alimentadas con una dieta pobre en hierro y conteniendo grasa saturada, una incidencia menor en el desarrollo de anemia que cuando se administraba grasa insaturada (Amine y col., 1976, Rao y col., 1980 y 1983, Johnson y col., 1987). Esta afirmación se refuerza con los resultados de Chao y Gordon (1983), quienes describen retrasos en la regeneración de la hemoglobina en ratas, empleando dietas que contenían grasa de pescado frente a otras que carecían de la misma. Por tanto, la biodisponibilidad del hierro, determinada por métodos de regeneración de hemoglobina, puede verse influenciada por el tipo de grasa de la dieta (Mahoney y col., 1980).

El tipo de grasa dietética también ejerce influencia sobre la acumulación de hierro en los **almacenes corporales**. Parece ser que los efectos son más pronunciados cuando se trata de grasas saturadas (Bowering y col., 1977; Johnson y col., 1987). Dentro de las grasas saturadas se ha visto que la mantequilla tiende a incrementar el acúmulo hepático del nutriente y la manteca de cerdo a disminuirlo (Bozzolo y col., 1973). Estos resultados corroboran también

los experimentos de Onderka y Kirksey (1975), Mahoney y col. (1980) y Johnson y col. (1987), al observar que la acumulación de este micronutriente a nivel hepático en ratas es mayor cuando la fuente de grasa en la dieta es aceite de coco que cuando se trata de aceite de cártamo.

#### **2.5.2.3.2.2. Zinc**

Hay menos información bibliográfica respecto a la influencia de la grasa en la biodisponibilidad del zinc. Parece ser que los ácidos grasos esenciales, administrados a la rata lactante, producen un aumento de la absorción del catión en la camada (Cunnane, 1982). Dichos ácidos grasos están presentes en la leche materna de la especie humana, y ello podría contribuir a la elevada biodisponibilidad del zinc en la misma. A su vez, en especies como la rata se ha visto que los déficits nutricionales del elemento exacerban los signos clínicos de deficiencia de ácidos grasos esenciales (Bettger y O'Dell, 1981). En el pollo, el exceso de ácidos grasos poliinsaturados agravan los signos de la deficiencia de zinc, habiéndose encontrado una acumulación de ácido araquidónico ( $C_{20:4n-6}$ ) en la piel de pájaros con deficiencias del elemento (Bettger y col., 1980).

Los ácidos grasos libres y los triglicéridos modulan el proceso de absorción del zinc, lo que tiene especial relevancia cuando se consumen alimentos con alto contenido en grasa (Wapnir y Lee, 1990). Ambos compuestos pueden modificar las características de su transporte en el intestino delgado de especies como la rata. Estudios *in vivo*, realizados en estos animales mediante perfusión intestinal y empleando distintos ácidos grasos a concentraciones fisiológicas (1mM), revelan que el ácido palmítico ( $C_{16:0}$ ) produce un aumento significativo de la absorción de zinc frente a una solución libre de ácidos grasos. Sin embargo, el ácido caprílico ( $C_{8:0}$ ) no tiene ningún efecto, y el araquidónico ( $C_{20:4n-6}$ ) reduce la absorción del elemento al 50%. Esto sugiere que los ácidos grasos saturados de cadena larga, como el palmítico, a concentraciones fisiológicas pueden alterar la permeabilidad de la membrana del intestino delgado, facilitando el paso de solventes y aumentando las cantidades de zinc

transferido o captado desde el lumen intestinal (Wapnir y Lee, 1990). Además, el ácido palmítico incrementa la cantidad de zinc retenido por la mucosa, aunque en presencia de sustancias como el CINA no parece producir tal efecto.

Una importancia adicional del ácido araquidónico es ser precursor de las prostaglandinas. Estas sustancias han sido extensamente estudiadas en relación con el transporte intestinal del zinc. Las prostaglandinas, en particular la PGE<sub>1</sub>, ha sido considerada como un ligando selectivo para el zinc, capaz de estimular la captación del mismo (Cunnane, 1982), y también como un modificador de membranas. Bajo condiciones de deficiencia del elemento, las concentraciones del catión y de las prostaglandinas están relacionadas (Meydani y Dupont, 1982; Meydani y col., 1983). Sin embargo, los resultados obtenidos en este área frecuentemente resultaron contradictorios, ya que dependen de factores como la dosis y, además, únicamente fueron significativos cuando las prostaglandinas estaban presentes a concentraciones farmacológicas. La mayor parte de la información ha sido obtenida a partir de preparaciones *in vitro* y las respuestas fisiológicas que se podrían haber producido en el animal intacto no se conocen (Song y col., 1984; Song y col., 1985; Song y Adham, 1985; Song y col., 1988). En principio podría esperarse que su acción biológica se produjese sólo después de su absorción. Su efecto inhibitor de la captación del zinc, obtenido por Wapnir y Lee (1990) y observado en perfusiones intestinales, podría ser debido a una recirculación del elemento en el lumen, que haría que fuese secretado de nuevo al compartimento luminal, o a una rápida distribución a través del organismo; esta última posibilidad parece estar apoyada por la elevación del zinc plasmático observada al administrar ácido araquidónico (C<sub>20:4n-6</sub>) en presencia de CINA.

Se ha visto que triglicéridos de cadena media y larga, extraídos a partir del aceite de soja, no producen ningún efecto sobre la absorción del zinc, lo que parece deberse a la hipótesis de que sólo las moléculas suficientemente hidrofóbicas, como los ácidos grasos de cadena larga, pueden llegar a alterar las propiedades de absorción de la mucosa intestinal (Wapnir y Lee, 1990).

Estudios en humanos, realizados para determinar la retención de zinc, muestran efectos similares a los encontrados en rata. De hecho parece ser que las grasas poliinsaturadas reducen la retención del metal y las saturadas la incrementan, lo mismo que ocurre con el hierro (Lukaski y col., 1982).

#### **2.5.2.3.2.3. Cobre**

Sobre este metal, la bibliografía es escasísima. En los estudios de Lukaski y col. (1982), realizados en atletas, la retención de cobre no se afectó por el consumo de dietas con grasa saturada o poliinsaturada. Sin embargo, otros autores (Lynch y Strain, 1990), han comprobado que si la dieta contiene como fuente lipídica una grasa saturada, el resultado es un incremento significativo de la concentración hepática de hierro y de cobre. Hemos de tener en cuenta que el tipo de grasa y la deficiencia de cobre han sido independientemente identificados como factores potenciales en la etiología de enfermedades isquémicas del corazón (Klevay, 1990).

## **2.6. FRITURA**

### **2.6.1. Características generales del proceso de fritura**

La fritura es un procedimiento culinario que consiste en la introducción de un alimento en el seno de un aceite caliente, que actúa como transmisor del calor (Permanyer y Boatella, 1977, Blumenthal, 1991). Esta forma de cocinar es más eficaz que el calor seco de un horno y más rápida que hervir en agua caliente. Esto es debido a que, durante la fritura, se produce una mayor penetración del calor dentro del producto que se está cocinando, lo que proporciona a los alimentos fritos una estructura determinada. Debido a todos los factores que influyen en el proceso y a las variables que hacen que se consiga un alimento adecuadamente frito, hay muchos que consideran que freír es más un arte que una ciencia o una tecnología (Grob, 1990).

Los términos "aceite" o "grasa" son tan sólo un matiz referente al punto de fusión del material lipídico que utilizamos para freír, denominándose "aceite" al producto graso que es líquido a temperatura ambiente y "grasa" al producto graso sólido a dicha temperatura. Debido a la ambigüedad que representa el término "temperatura ambiente", podemos encontrar que una misma sustancia sea "aceite" en un país tropical y "grasa" en un país nórdico, por lo que utilizaremos los dos términos indistintamente.

Al introducir el alimento en aceite caliente, tienen lugar una serie de procesos y reacciones que producen cambios importantes, tanto en el medio de fritura como en el alimento que se fríe. Dichos cambios dependen de numerosos factores, como el tipo, características y calidad del aceite y del alimento, así como de las temperaturas que se alcanzan y el tiempo durante el cual se producen.

Según Varela y col. (1988) y Sánchez-Muniz y col. (1991), los cambios producidos en el alimento son los siguientes:

- Modificaciones en su *textura* que hacen que se vuelva más crujiente y más agradable al paladar.
- Mejora de su *presentación*, ya que les da un color dorado y brillante.
- Potenciamiento y matización de *sabores* y *aromas*, debido al propio aceite que se emplea o al desarrollo de nuevos compuestos después de someterse el alimento a elevadas temperaturas.
- Variación del *contenido graso*, ya que normalmente se pierde humedad y se gana grasa, y a la par en los alimentos grasos se producen intercambios entre la grasa del producto a freír y la del baño.
- Se prolonga la *conservación* del producto debido a la destrucción de microorganismos y enzimas presentes en los alimentos.

La función del aceite en la fritura es doble: por un lado, actúa como medio transmisor del calor, y por otro, es un ingrediente del producto frito al ser absorbido por el mismo. Esta

última función tiene especial interés, ya que la estabilidad del aceite y su grado de alteración influirán directamente en la calidad y duración del producto frito (Monferrer y Villalta, 1993a).

Una de las ventajas de la fritura frente a otros procesos culinarios es el calentamiento rápido del producto, siendo dicha rapidez un aspecto fundamental en las sociedades industrializadas actuales. Las altas temperaturas que se emplean en el proceso sellan la superficie del producto evitando, en cierto modo, que se desprenda el vapor rápidamente, facilitando así la cocción del alimento y permitiendo que quede más jugoso. Al mismo tiempo, esta superficie sufre procesos de tostado, caramelización y/o pardeamiento no enzimático (reacción de Maillard), apareciendo colores dorados y pardos que dan un aspecto agradable al producto. Estas mismas reacciones desarrollan los sabores deseados en los productos fritos (Monferrer y Villalta, 1993b).

El aceite es muy importante a la hora de obtener un sabor adecuado en el producto. Por este motivo hay que utilizar aceites en buenas condiciones (no oxidados, no rancios etc.), también relacionar los sabores de algunos aceites con el producto que se va a freír y, finalmente, recordar que existe un intercambio lipídico entre el producto y el aceite, que favorece, en ocasiones, la aparición de sustancias aromáticas en el aceite provenientes de frituras de productos anteriores y que pueden notarse en sucesivas frituras de alimentos muy distintos (Monferrer y Villalta, 1993b).

### **2.6.2. Propiedades de las grasas empleadas para freír**

En la fritura de los alimentos hay que tener en cuenta la composición química y las características físico-químicas de las grasas culinarias (Cuesta y Sánchez-Muniz, 1991).

Fundamentalmente, y de manera muy esquemática, las grasas están formadas por triglicéridos, es decir por la molécula de glicerol esterificada con tres ácidos grasos. En menor

proporción también se encuentran diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres y otros componentes minoritarios que forman la fracción insaponificable (tocoferoles, esteroides, colorantes, etc.)

Las características de los ácidos grasos, tales como el grado de saturación y la longitud de la cadena, son las que determinan el punto de fusión de las grasas. El grado de saturación depende del número de dobles enlaces del ácido graso. Cuanto mayor número de ácidos grasos con dobles enlaces existen en la grasa, menor es su punto de fusión y mayor es la posibilidad de alteración (Cuesta y Sánchez-Muniz, 1991). La longitud de la cadena depende del número de átomos de carbono que contenga el ácido graso. Así, a menor número de ácidos grasos de cadena corta, mayor es el punto de fusión de la grasa.

En la realización de esta Memoria se han empleado tres tipos de aceites para llevar a cabo el proceso de fritura: aceite de oliva, aceite de girasol y aceite de palma (fracción oleína), por lo que a continuación se describen las principales características de los mismos.

#### **2.6.2.1. Aceite de oliva**

Se obtiene a partir del fruto del olivo, (*Olea europea*). La existencia del olivo silvestre se remonta por lo menos a 12 milenios, según testimonios acumulados en yacimientos arqueológicos encontrados por diversos puntos del Mediterráneo. Parece originario de Asia Menor, en una zona amplia que abarca desde el sur del Cáucaso hasta la altiplanicie del Irán y la costa de Siria y Palestina. El cultivo del olivo data de unos 6.000 años atrás en la zona descrita, para extenderse por Chipre hacia Anatolia y por Creta hacia Egipto. Muy pronto el olivo pobló los países ribereños del Mediterráneo y en ellos permanecen la mayor parte de los olivos existentes, así como casi la totalidad de la producción oleícola (Civantos y col., 1992).

Dentro de los aceites de oliva se pueden distinguir:

**A) Aceite de oliva virgen:** es el obtenido de la aceituna únicamente por procedimientos mecánicos o por otros medios físicos en condiciones térmicas especiales, de modo que no se produzcan alteraciones del aceite, por lo que los únicos tratamientos que se aplican son el lavado, decantación, centrifugación y filtrado. Así, el aceite obtenido conserva sabor, aroma, vitaminas y oligoelementos presentes en el fruto de partida. Al existir gran variedad entre las aceitunas, hay también diversidad de aceites con distintas características organolépticas y composición química. Desde el punto de vista comercial, la calidad del aceite de oliva virgen se establece por su grado de acidez, definido como ácidos grasos libres expresados normalmente como porcentaje de ácido oleico. De los aceites así obtenidos son aptos para el consumo los denominados: *aceite de oliva virgen extra* (acidez máxima 1°), *aceite de oliva virgen o virgen fino* (acidez máxima 2°), y *aceite de oliva semifino o corriente* (acidez máxima 3,3°).

No es apto para el consumo el *aceite de oliva virgen lampante* que, a causa de un sabor u olor defectuosos y una acidez superior a 3.3°, necesita refinarse para ser consumido. La legislación actual no permite el envasado de aceites de oliva virgen con acidez superior a 1.5°, ni el consumo directo de aceites lampantes.

**B) Aceite de oliva refinado:** es el obtenido a partir de aceite de oliva virgen, generalmente lampante, mediante técnicas de refinado (neutralización, decoloración, desodorización y filtración) que no producen alteración en la estructura glicerídica inicial, aunque se pierde parte de su contenido en vitaminas.

**C) Aceite de oliva** (antes conocido como aceite de oliva puro), formado por una mezcla de aceite de oliva virgen y refinado.

Respecto a su composición, los compuestos químicos del aceite de oliva en general se pueden dividir en dos grandes grupos:

**1) Fracción saponificable:** es la mayoritaria (98.5 a 99.5 del peso del aceite de oliva) y está formada por triglicéridos y ácidos grasos libres. El aceite de oliva es especialmente rico en ácido oleico, con porcentajes que oscilan entre el 61.3 y el 83% del total de ácidos grasos. También contiene ácido linoleico (2-18%) y linolénico, este último en menor proporción (<1.5%). Posee también ácidos grasos saturados: mirístico, esteárico, aráquico y palmítico, siendo este último el que se encuentra en mayor proporción aunque el total de saturados oscila entre un 7.5 y un 23.5%. Carece de ácidos grasos saturados de más de 20 átomos de carbono (Mataix y Martínez-Victoria, 1988). Por todo ello es un aceite rico en ácidos grasos monoinsaturados y pobre en poliinsaturados (2-19%). Presenta bajos niveles de ácidos grasos esenciales, pero el consumo medio de aceite de oliva cubre las ingestas recomendadas de los mismos.

**2) Fracción insaponificable:** es la minoritaria, 0.5 a 1.5% del peso del aceite de oliva, y está formada por gran cantidad de componentes menores que son muy importantes para el comportamiento y la calidad de los aceites. Está compuesta por:

*a) Hidrocarburos:*

- Terpenos, principalmente el escualeno.
- Carotenos, que comunican la coloración amarillenta. La proporción entre carotenos y clorofila da la pigmentación al aceite. Los carotenos suponen de 0.5 a 10 mg/kg y son el factor provitamina A del aceite. En general son compuestos oxidables. El contenido en carotenos depende de diversos factores: los ecológicos del cultivo, el manejo de la aceituna desde su recolección y de los sistemas de extracción.

*b) Pigmentos no terpénicos:*

Incluye a la clorofila, causante de la coloración verde, exclusiva de los aceites de oliva. En la oscuridad actúa como antioxidante y potencia la acción de los demás antioxidantes, por lo que juegan un papel importante en la conservación.

*c) Tocoferoles:*

Predomina el alfa-tocoferol que es la vitamina E. Tiene carácter antioxidante. El  $\alpha$ -tocoferol supone el 90-95% del total y es el más activo biológicamente por su acción como vitamina E, con lo que parte de la ingesta recomendada de esta vitamina se cubre con la de aceite de oliva virgen.

*d) Esteroles:*

Entre ellos predomina el  $\beta$ -sitosterol, que interfiere la absorción intestinal del colesterol. Su contenido varía según el grado de maduración de la aceituna y su concentración en aceite.

*e) Polifenoles:*

Son antioxidantes e influyen en las cualidades organolépticas de los aceites. Dependen de la variedad, grado de maduración de la aceituna, manejo de ésta en la fábrica, elaboración, etc. En la refinación se pierde una parte importante de los polifenoles.

*f) Productos volátiles:*

Son los responsables de los aromas de los aceites y están formados por alcoholes, cetonas, ésteres, derivados furánicos, etc.

El equilibrio y armonía entre las fracciones saponificable e insaponificable del aceite de oliva virgen es digno de destacar y tiene una gran influencia en sus cualidades beneficiosas para la salud.

Al ser el aceite de oliva fundamentalmente monoinsaturado y contener poco porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados, es más estable que otro tipo de aceites al enranciamiento que puede producirse durante su conservación. Además, debido a su alto contenido en ácido oleico es favorable en el comportamiento tanto en crudo como en frituras, porque es mucho más estable que otros aceites vegetales, casi siempre ricos en ácidos grasos poliinsaturados.

### **2.6.2.2. Aceite de girasol**

Se obtiene a partir de las semillas de *Heliantus annus*, familia *Asteráceas*. Las semillas descascarilladas y secas se someten a presión o a extracción con disolventes. La composición del aceite obtenido varía según se trate de la variedad blanca o de la descascarillada (El-Shattory y Taha, 1980). Así mismo dicha composición cambia ligeramente cuando las semillas son calentadas con calor seco.

En general el aceite de girasol es rico en ácidos grasos poliinsaturados, fundamentalmente en ácido linoleico (65-75%), conteniendo trazas de linolénico (0.1-0.3%). Cuando se calienta puede sufrir polimerizaciones, por lo que algunos autores sugieren que su utilización en frituras repetidas de alimentos debe ser limitada (El-Shattory y Taha, 1980). Según autores como Paccalin y Julliet (1982), pese a su labilidad, es el aceite más consumido, aunque señalan que no es recomendable reutilizarlo más de 8 o 10 veces, ni calentarlo a más de 180°C. No obstante, Arroyo y col. (1992), Sánchez-Muniz y col. (1994) han señalado que para alcanzar el nivel de 25% de compuestos de alteración marcado por la Legislación Española (Ministerio de Relaciones con las Cortes y de Secretaría del Gobierno, 1989) para desechar un aceite hace falta un número mucho mas elevado de frituras. Una buena técnica de fritura con adición frecuente de aceite fresco al medio prolonga adecuadamente la vida útil del aceite de girasol (Sánchez-Muniz y col., 1994).

### **2.6.2.3. Aceite de palma**

Se extrae del fruto de la palma *Elaeis guineensis* (Cottrell, 1991). Según MacFarlane y col. (1984), lleva siendo utilizado con fines alimenticios desde aproximadamente cinco milenios. Es originario de Guinea Occidental y se introdujo en otros países de Africa, el Sureste Asiático y América Latina en el siglo XV, pero hasta finales del siglo XVIII y comienzos del XIX no ingresó en el comercio mundial.

La **producción del aceite** se realiza del siguiente modo: los racimos de fruto se cosechan cuando están maduros, transportándose inmediatamente a la planta extractora. Tras esterilizarlos, para detener la acción de las enzimas de descomposición, el fruto se separa del racimo y se lleva al digestor. Posteriormente se extrae el aceite, generalmente con una prensa de tornillo (Berger, 1983; Cornelius, 1983; Maycock, 1987). El aceite crudo se decanta, se centrifuga, se seca y se filtra. En esta etapa el aceite es una sustancia estable y clara, de color rojo anaranjado, que en muchos países se utiliza directamente para cocinar. Sin embargo, para la mayoría de las aplicaciones el aceite se refina y se fracciona con objeto de reducir la intensidad de color de los productos (Berger, 1983).

Hasta el momento, a nivel mundial, el 90% del aceite de palma se utiliza para fines alimenticios. El 10% restante se emplea para la fabricación de jabón y productos oleoquímicos (Nor Aini y Sabariah, 1993). Es un aceite muy versátil, por lo que sus aplicaciones son variadas y se puede utilizar para preparar prácticamente cualquier tipo de alimento. Se emplea como aceite de cocina, como grasa semisólida en la preparación de mantecas, margarinas y del vanaspati o "ghee" vegetal, que es un producto básico importante en países como India, Pakistán, Egipto, Arabia Saudita, Irán e Irak. También se utiliza en la preparación de productos de panadería y confitería. Entre sus aplicaciones más recientes se incluye su uso en productos a base de emulsiones, productos en polvo y comidas precocinadas. Incluso se ha encontrado que la oleína de más bajo punto de fusión se adapta muy bien a las fórmulas infantiles cuando se mezcla con otros aceites vegetales, ya que contiene entre un 10 y un 15% de ácido palmítico en la posición 2 de la cadena de glicerol, lo que contribuye a la alta digestibilidad del producto obtenido (Traitley y Dieffenbacher, 1985).

Debido a la composición de los ácidos grasos, los triglicéridos del aceite de palma pueden cristalizar en forma fraccionada para producir estearina de alto punto de fusión y oleína de más bajo punto de fusión, ampliándose el rango de productos comestibles en los que se pueden utilizar dichas fracciones (Deffense, 1985). El fraccionamiento adicional genera un producto de características intermedias, que es la fracción media del aceite de palma, y otros

aceites especiales como una oleína de punto de fusión muy bajo, que se emplea para los aceites de mesa (Cotrell, 1991).

Los principales ácidos grasos que contienen la oleína y triestearina de palma son palmítico, oleico y linoleico, pero la oleína contiene mayor contenido de los dos últimos y menor contenido de palmítico que la estearina.

La fracción líquida del aceite de palma, es decir, la oleína de palma, se utiliza ampliamente para freír, por su prolongada vida útil y su menor tendencia a la formación de espuma y a la polimerización (Augustine y col., 1988).

Estudios previos realizados en nuestro Centro (Arroyo, 1995; Arroyo y col., 1995), señalan la enorme resistencia a la termoxidación de la oleína de palma durante un número elevado de frituras de patatas.

### **2.6.3. Cambios producidos en la grasa durante la fritura**

Durante la fritura se originan cambios en las grasas empleadas que modifican su estructura y características. Como consecuencia de la alteración se producen una serie de *modificaciones fisico-químicas en las grasas de fritura* (Cuesta y col., 1991; Gutiérrez González-Quijano y Dobarganes, 1988; Pérez-Camino y col., 1988; Sánchez-Muniz y col., 1994). Ello es debido a la intervención de varios agentes: el agua que contienen los alimentos, que es la que ocasiona las alteraciones hidrolíticas; el oxígeno atmosférico, que es el que da lugar a las alteraciones oxidativas y la temperatura a la que se realiza el proceso, que es la responsable de la alteración térmica (Fristch, 1981; Stevenson y col., 1984).

Los diferentes tipos de alteraciones se pueden producir a la vez y estar relacionadas. De este modo, las altas temperaturas tienen gran incidencia en los productos de oxidación, favoreciendo la formación de dímeros y polímeros oxidados y no oxidados y, en la misma

forma, los ácidos grasos libres originados en la hidrólisis son más susceptibles de sufrir alteración oxidativa y térmica que cuando están esterificados con el glicerol.

Los productos de descomposición de las grasas, que se forman durante la fritura, se pueden dividir en dos grandes grupos: compuestos volátiles y compuestos no volátiles.

Los volátiles se eliminan parcialmente durante el proceso, y están relacionados con las características organolépticas de la grasa y del producto frito. Los no volátiles son interesantes desde el punto de vista nutricional, ya que quedan disueltos en la grasa de fritura y por tanto se incorporan al alimento frito. A su vez interesan desde el punto de vista analítico, porque se acumulan en el aceite desde el comienzo de la fritura y su nivel está relacionado con la alteración total de la grasa (Fedelli, 1988; Gutiérrez González-Quijano y Dobarganes, 1988).

#### **2.6.3.1. Alteraciones hidrolíticas**

Son las primeras que aparecen, y tienen lugar cuando el alimento que se frie tiene un contenido elevado en agua (Dobarganes y col., 1986). Inicialmente da como resultado ácidos grasos libres y, paralelamente, se forman diglicéridos, monoglicéridos y glicerol. Los triglicéridos formados por ácidos grasos de cadena corta se hidrolizan con más facilidad que los que tienen en su estructura ácidos grasos de cadena larga. Posteriormente, los ácidos grasos libres resultantes de la hidrólisis darán lugar a hidroperóxidos durante las reacciones de oxidación (Permanyer y col., 1985). También aparecen, aunque en menor cantidad, metilcetonas y lactonas que pueden producir aromas desagradables (Hamilton, 1989).

La aparición de ácidos grasos libres provoca una mayor tendencia a la formación de humo. Los ácidos grasos de cadena media o corta (menos de 16 átomos de carbono) son más volátiles y algunos de ellos pueden producir olores y sabores indeseables, en especial el ácido láurico, que deja gusto a jabón (Sonntag, 1982). Por este motivo hay que tener cuidado cuando se utilizan aceites, como los de coco o palma, ricos en este ácido graso.

La hidrólisis principalmente ocurre en el momento de calentar o enfriar el aceite, ya que durante la fritura en sí las temperaturas que se alcanzan (180°C aproximadamente) hacen que la humedad se elimine en forma de vapor (Monferrer y Villalta, 1993b), si bien algunos autores describen contenidos de agua del 0.5 al 1.5% incluso a esas temperaturas (Blumenthal, 1991).

### **2.6.3.2. Alteraciones oxidativas. Autooxidación**

Se producen fundamentalmente a nivel de los dobles enlaces de los ácidos grasos de los aceites (Stevenson y col., 1984). Como consecuencia pueden producirse olores desagradables en los aceites vegetales. Debido a estas alteraciones se obtienen hidroperóxidos, tanto si ocurre a altas o bajas temperaturas (Frankel, 1985). Estas reacciones se desarrollan en tres fases (Hamilton, 1989):

1.- *Iniciación o inducción*: Se forman los radicales libres bien a partir de un hidroperóxido o de un ácido graso libre, y se favorece por la luz y la alta temperatura, o a partir de un ácido graso por la presencia en el medio de metales con facilidad para variar de valencia (Monferrer y Villalta, 1993b).

2.- *Propagación o continuación*: Los radicales libres formados en la primera fase, dada su gran reactividad, reaccionan con el oxígeno atmosférico produciéndose peróxidos, que interaccionan con nuevas moléculas insaturadas para dar lugar a hidroperóxidos, provocándose de esta forma una reacción en cadena.

3.- *Terminación*: Se ocasiona cuando dos radicales libres se encuentran y pueden reaccionar entre sí, dando lugar a un compuesto nuevo, generalmente del tipo aldehído o cetona. Así, se eliminan radicales para formar compuestos estables.

Además, las grasas insaturadas en presencia de la luz pueden formar hidroperóxidos al reaccionar con el oxígeno, y esta reacción no se produce a través de radicales libres.

La influencia que ejerce el factor temperatura en las alteraciones oxidativas, depende de que ésta sea alta o baja. Así, puede decirse que a bajas temperaturas (hasta 100°C) la velocidad de formación de hidroperóxidos es mayor que la de descomposición, con lo que fundamentalmente se forman monómeros de triglicéridos oxidados. A altas temperaturas (próximas a 200°C) la velocidad de ramificación de los hidroperóxidos es mayor que su formación, originándose principalmente dímeros y polímeros (Nawar, 1984).

Además, como la temperatura acelera todas las alteraciones oxidativas, la cantidad de compuestos de alteración que se obtienen a temperatura elevada es mucho mayor y su distribución depende del tiempo de calentamiento.

### **2.6.3.3. Alteraciones térmicas**

Se producen fundamentalmente en las zonas más bajas del recipiente de fritura, ya que allí es donde existe menor acceso de aire (Stevenson y col., 1984). Como consecuencia de la acción de una elevada temperatura en ausencia de oxígeno se originan en la grasa tres tipos de reacciones:

a) Reestructuración intramolecular con formación de monómeros cíclicos, los cuales se han encontrado en grasas y aceites empleados para freir industrialmente (Frankel y col., 1984; Gere y col., 1985). El interés que han despertado estos compuestos en los últimos años es debido a su toxicidad potencial (Grandgirard y col., 1984; Márquez-Ruiz y col., 1990).

b) Uniones entre cadenas insaturadas de ácidos grasos que dan lugar a compuestos de polimerización. Estas reacciones exigen la presencia de ácidos grasos poliinsaturados y su conjugación previa (Firestone, 1963; Otter, 1970). En primer lugar se forman dímeros y, al

existir dobles enlaces disponibles en otros ácidos grasos del triglicérido, se puede producir otra reacción posterior que da lugar a trímeros, y así repetidamente hasta llegar a formar polímeros de elevado peso molecular. Desde el punto de vista nutricional parece ser que los polímeros de alto peso molecular son indigeribles, por lo que tienen poca importancia respecto a la nutrición y salud, pero los compuestos de menor peso molecular, como monómeros y dímeros, sí que son absorbidos por la pared intestinal, pudiendo repercutir en la salud del consumidor (Hageman y col., 1990). Muchas de estas sustancias están reconocidas como tóxicas o potencialmente cancerígenas, como el benzopireno producido por ciclación del colesterol (Clark y Serbia, 1991).

c) Descomposición termolítica del triglicérido con formación de ácidos grasos, aldehidos y cetonas. Los compuestos mayoritariamente formados son los ácidos grasos libres (Nawar, 1984).

#### **2.6.4. Consecuencias de los cambios producidos durante la fritura sobre la calidad de la grasa**

Debido a las alteraciones físico-químicas que se ocasionan en las grasas durante la fritura, se producen cambios observables que modifican la calidad de dichas grasas (Cuesta y col., 1991; Gutiérrez González-Quijano y Dobarganes, 1988; Sánchez-Muniz y col., 1994, Romero y col., 1995).

Las características organolépticas varían como consecuencia de la aparición de olores y sabores típicos de aceites calentados a altas temperaturas y del producto frito en ellos. Esto influirá en la palatabilidad de los alimentos y, como consecuencia, en las preferencias del consumidor.

También las grasas y los aceites empleados sufren un aumento de la viscosidad y un oscurecimiento, que van acompañados de una tendencia a formar espuma, así como un cambio

en la composición de ácidos grasos, caracterizado por un incremento de los ácidos grasos saturados en relación a los insaturados, ya que, como hemos visto, son los más susceptibles de sufrir alteraciones (Gutiérrez González-Quijano y Dobarganes, 1988).

A la vez tiene lugar un incremento de la acidez libre, disminución del índice de iodo y del punto de humo.

Todas estas modificaciones traen como consecuencia cambios en la calidad funcional, sensorial y nutricional de la grasa, lo que hace que, en ocasiones, deba desecharse por no poder preparar con ella productos fritos de una calidad deseable, ya que la calidad de un aceite como medio de fritura y la calidad del alimento resultante están íntimamente ligados. Blumenthal (1991) describió cinco fases por las que pasa un aceite durante el proceso de degradación:

1.- *Aceite inicial o nuevo*: En esta fase el aceite es poco viscoso y su poder surfactante es mínimo. El producto obtenido es blanco, crudo, con superficie poco crujiente y absorbe poco aceite.

2.- *Aceite fresco*: Se inician los procesos de hidrólisis del aceite, lo que hace que aumente su poder surfactante. El alimento resultante posee un ligero tostado en los bordes, la superficie es algo crujiente y la absorción del aceite es ligeramente mayor.

3.- *Aceite óptimo*: El aceite posee una cantidad adecuada de sustancias emulsionantes que permiten que el contacto entre el aceite y el alimento sea óptimo. La cantidad de aceite absorbido por el alimento es la adecuada, su superficie es rígida y crujiente, con el centro perfectamente cocinado y aroma ideal.

4.- *Aceite degradado*: En esta fase aparecen en el aceite sustancias contaminantes, siendo su nivel de hidrólisis y oxidación elevado. El alimento presenta superficies oscurecidas y/o con

manchas, tiende a ser flácido y con zonas endurecidas. Además, absorbe una cantidad excesiva de aceite.

5.- *Aceite descartado*: En el aceite aparecen sabores y olores anómalos, disminuye mucho su punto de humo y, el alimento obtenido, aparece quemado.

La calidad del aceite es decisiva para determinar el número de veces que puede ser empleado en frituras sucesivas, pero también influye el tipo de alimento que va a freirse (Cuesta y col., 1993a; Rojo y Perkins, 1987; Sánchez-Muniz y col., 1990). Esto es debido fundamentalmente a la cantidad de grasa que el alimento puede ceder al aceite del baño y, además, también hay que tener en cuenta el tipo de tratamiento que se le da al alimento antes de freirlo; es decir si se le añaden otros componentes como harina, huevo, etc.

#### **2.6.5. Intercambio de grasa entre el alimento y la grasa de fritura**

La penetración de la grasa dentro del alimento ha sido muy estudiada por autores como Varela, Guillaumin, Blumenthal etc. En general puede decirse que los alimentos con un contenido graso elevado absorben menos grasa que los magros (May y col., 1978). Además, influyen otros factores dependientes del alimento, de la grasa y de las condiciones en que se realice el proceso de fritura (Guillaumin, 1988).

Dentro de los dependientes del alimento, podemos destacar su contenido en agua, ya que la absorción de grasa es menor cuanto mayor es su contenido. También es importante la superficie de contacto del alimento con el medio de fritura porque a mayor superficie mayor cantidad de grasa absorberá.

Los dependientes de la grasa se refieren fundamentalmente a su estabilidad frente al calor, lo que viene condicionado por su grado de insaturación. A mayor capacidad de oxidación y polimerización térmica, el aceite se vuelve más viscoso y penetra con más

facilidad en el alimento. También es importante la presencia de surfactantes en el aceite que permiten prolongar el tiempo de contacto entre el producto y la grasa de fritura, lo que hace que se absorba más grasa (Blumenthal, 1991). La presencia de surfactantes se incrementa con el número de frituras, es decir, con el grado de alteración del aceite.

En cuanto a los factores que dependen de las condiciones de fritura, está la temperatura y el tiempo de fritura. La temperatura no parece tener influencia sobre la cantidad de grasa que el alimento absorbe (Guillaumin, 1988), aunque al parecer por encima de los 220°C se absorbe menos aceite, pero estas temperaturas no se utilizan para freír alimentos. Por otro lado, al aumentar el tiempo de fritura, el alimento absorbe más grasa.

En resumen puede decirse que cuando se fríe, el alimento se enriquece en grasa y éste enriquecimiento depende del contenido de grasa del alimento crudo. Según Moreiras-Varela y col. (1988), el enriquecimiento lipídico supone un incremento en el valor energético del alimento y puede contribuir además al transporte de componentes liposolubles, tales como los ácidos grasos insaturados y posiblemente las vitaminas liposolubles. Del mismo modo, la grasa absorbida por el alimento procedente del medio de fritura puede contribuir a la obtención de un producto frito más equilibrado en ácidos grasos desde el punto de vista de la salud (Sánchez-Muniz y col., 1992).

## **2.6.6. Repercusiones nutritivas del consumo de grasas procedentes de fritura**

### **2.6.6.1. Influencia sobre ingesta, evolución ponderal y crecimiento**

En el apartado 2.6.1. (pág. 59) ya se ha comentado que la fritura de los alimentos implica un cambio de textura y sabor que mejora la palatabilidad de los mismos. Sin embargo, hay que tener en cuenta que un calentamiento excesivo de la grasa durante el proceso puede destruir los aspectos sensoriales (sabor, palatabilidad, olor y apariencia), responsables de la aceptación de los alimentos fritos (Clark y Serbia, 1991).

Además, Naim y col. (1977) relacionan los factores organolépticos del alimento, que condicionarían la ingesta del mismo, con otros factores post-ingesta que pueden influir en la cantidad de dieta consumida por los animales de experimentación (ratas) e incluso en la elección de la misma.

Existe gran controversia en los resultados acerca de los mecanismos por los que las grasas de fritura podrían ejercer su influencia sobre el peso y la ingesta. Este efecto depende de las condiciones en que se efectúa la fritura, de la naturaleza de la grasa empleada, del tiempo de utilización y del tipo de alimento a freír. Además, hay que tener en cuenta que los trabajos que se limitan a estudiar las repercusiones de la ingesta de grasas transformadas durante los procesos de fritura en condiciones normales, son mucho menos alarmantes desde el punto de vista nutricional o toxicológico que los que realizan ensayos biológicos con grasas sobrecalentadas (Cuesta y col., 1988).

Hay numerosos trabajos sobre el efecto de las grasas procedentes de fritura sobre el peso e ingesta y sus posibles repercusiones toxicológicas. Las alteraciones que tienen lugar dependen en gran parte del alimento que se somete a fritura, y por lo tanto, las posibles conclusiones de estos estudios han de interpretarse con cautela.

Crampton y col. (1953) demostraron que se producía un descenso en la ganancia de peso en animales que consumían dietas conteniendo altos porcentajes de aceites polimerizados. Sin embargo, Keane y col. (1959) no observaron ningún efecto adverso sobre el crecimiento de ratas a las que se les había administrado aceite de algodón empleado en frituras durante 14-16 días.

Posteriormente, Ramel y col. (1965) realizaron experiencias con dietas que contenían un 15% de aceite de gramilla de uva, utilizado en frituras sucesivas, no encontrando efectos negativos en el crecimiento ni en los órganos estudiados de los animales que habían ingerido esas dietas.

Otros autores, como Lauteaume y col. (1968), al estudiar las consecuencias de la ingesta de aceite poliinsaturado calentado y degradado en perros, observaron que las curvas de peso de los animales que ingerían una dieta con el 15% del aceite frito durante un año era un 3% superior a la de los controles alimentados con aceite crudo. Sin embargo, esta misma especie alimentada con aceite de soja empleado en frituras, tuvo una ganancia de peso más rápida con el aceite crudo que con el aceite usado (Nolen, 1973).

También se ha visto que una reducción en el contenido de proteína de la dieta contribuye al efecto negativo que tiene la ingesta de aceite frito sobre el crecimiento. Así, Rafalski y col. (1978) señalan que el ácido linoleico peroxidado se une selectivamente a los aminoácidos azufrados de las proteínas, disminuyendo la utilización digestiva de las mismas.

En general parece ser que el efecto nocivo de las grasas usadas en fritura es debido al componente polar de las mismas. Billek (1980) analizó 400 grasas usadas en frituras, y llegó a la conclusión de que un nivel superior al 30% de componentes polares era inaceptable. Este mismo autor indica que, en condiciones domésticas, las grasas calentadas sólo tienen entre un 10 y un 20% de compuestos polares, señalando que no causan ningún efecto perjudicial para la salud cuando se administran a animales de laboratorio. Izaki y col. (1984) estudiaron la incidencia que tenía el consumo de aceite de cambrá utilizado en frituras repetidas (231 frituras en 66 días durante un período de 3,5 horas al día) sobre animales de experimentación, no observando ninguna diferencia en la ingesta y crecimiento de estos animales con respecto a los controles que ingerían aceite de cambrá crudo.

Sin embargo, los estudios de Rodríguez y col. (1984), empleando aceite de oliva y grasa vegetal más saturada en 30 frituras sucesivas de patatas a 180°C, señalaron una tendencia a la disminución de peso en las ratas que ingerían la grasa de fritura respecto a las controles que se alimentaban con la cruda. Estos resultados podrían ser debidos a la existencia de un efecto depresor que causaría menor incremento de peso en los animales a los que se les administraban aceites fritos, posiblemente debido a interferencias entre la grasa y otros

nutrientes de la dieta, como por ejemplo proteínas, que impediría la utilización correcta de los mismos.

Billek (1985), al administrar a ratas la fracción polar de aceite de girasol empleado para freír "palitos de pescado", observaron un descenso de peso significativo respecto a las que consumían el aceite sin usar.

También en trabajos realizados en nuestro centro se ha observado que la inclusión en la dieta de un 15% de aceite de girasol, utilizado en 75 frituras repetidas de patatas, con un 19.1% de productos de alteración no afectó significativamente a la aceptabilidad de las dietas, y no varió, por tanto, el consumo alimentario, pero el peso final de las ratas, que tomaban el aceite empleado en fritura, fue un 12% menor que el del lote alimentado con la grasa cruda (Cuesta y col., 1993b).

#### **2.6.6.2. Influencia sobre la utilización de minerales**

Como ya se ha comentado en apartados anteriores la relación grasa-minerales es muy compleja y está poco estudiada. Por otro lado, la mayor parte de la grasa que se consume se toma cocinada, preferentemente "frita", pero no existe información sobre la influencia que puede ejercer el consumo de dichas grasas fritas sobre la biodisponibilidad de minerales. Durante la fritura, como ya se ha comentado, se producen alteraciones con aparición de peróxidos, polímeros, etc., por lo que el proceso de fritura podría contribuir de algún modo a hacer más compleja la relación grasas-minerales.

Debido a la poca información existente acerca de esta influencia, nos remitiremos a los estudios realizados y a los resultados obtenidos por nuestro grupo (Navarro y col., 1990; Pérez-Granados, 1990; Pérez-Granados y col., 1991).

Con objeto de profundizar en la relación entre las grasas empleadas en fritura y los minerales, se realizó un estudio en ratas adultas y gestantes que consumían aceite de oliva crudo y procedente de 15 frituras repetidas de patatas. La grasa se incluyó en la dieta al 15% y el contenido en compuestos polares del oliva tras ser empleado en fritura fue del 9% (Cuesta y col., 1991). Se estudió la influencia sobre las utilidades de calcio, magnesio, hierro y zinc, realizando ensayos de balance mineral, y analizando los contenidos de los mismos en distintos órganos: hígado, bazo, conceptus, fetos así como en la carcasa y el suero. Los resultados obtenidos indicaron que el consumo de dietas con aceite de oliva empleado en fritura, respecto al crudo, no modificaba la utilización digestiva y metabólica de los elementos ni los reservorios corporales, ni el contenido mineral en los productos de la concepción. Por tanto, según estos resultados y en las condiciones experimentales empleadas, se pudo concluir que el aceite de oliva tras la fritura conserva sus características en relación con la utilización de minerales (Navarro y col., 1990).

## **2.7. PESCADO FRITO**

Aunque el pescado es un alimento de elevado valor nutritivo, posee un alto contenido en agua biológicamente activa, por lo que crudo se deteriora muy rápidamente, fundamentalmente por el crecimiento microbiano, la actividad enzimática y las reacciones químicas originadas por interacciones entre nutrientes o con otros componentes. Por ello, como los pescados no se consumen a corto plazo tras su captura es necesario proceder a su conservación para mantener sus propiedades nutritivas y sanitarias (Karmas y Harris, 1987). Además, en nuestra sociedad por razones de palatabilidad, hábitos alimentarios, etc., el pescado en muy pocas ocasiones se consume crudo, sometiéndose a distintos procesos de tipo industrial o doméstico. En nuestro país posiblemente la forma más frecuente de cocinar el pescado sea mediante la fritura, por lo que es importante conocer las posibles repercusiones que dicho proceso culinario pueda tener sobre la calidad de este alimento.

Al someter el pescado al proceso de fritura se producen una serie de cambios que afectan a su composición e, incluso, a la calidad de sus nutrientes. Dichos cambios han de ser tenidos en cuenta para poder valorar el valor nutritivo que tiene el pescado en el momento de ser ingerido, es decir su valor nutritivo real (Krzynowek, 1987), y en nuestro caso, prestaremos especial interés a los cambios que se producen en la calidad de su grasa.

Debido a las características del proceso, que logran que la grasa del baño alcance inicialmente temperaturas sobre los 180°C y luego se mantengan superiores a 100°C, el pescado pierde agua, siendo esta reemplazada en parte por la grasa empleada para freír. Además de esta pérdida de agua, se produce una reducción de peso, ya que la cantidad de agua que se pierde es superior a la de la grasa que se incorpora. Así, para un pescado graso, como la sardina, la literatura señala pérdidas del 27% y del 29,4% (Ruiz-Roso, 1983; Medina, 1986). También ocurre un enriquecimiento en grasa y cambios en los componentes más inestables del alimento (Varela, 1977).

Las pérdidas de agua por evaporación debidas al proceso de fritura, se han comprobado en distintas especies de pescado como caballa, mero, palometa, y pargo (Gall y col., 1983). En la sardina, la pérdida de contenido hídrico es aproximadamente de un 40% (Medina, 1986; Beamonte, 1988, Beamonte, 1989).

### **2.7.1. Modificaciones que se producen en la grasa de pescado durante la fritura**

Las modificaciones en la grasa de un pescado frito son debidas fundamentalmente a fenómenos de penetración de la grasa del baño o, en el caso del pescado graso, a intercambios entre ambas (Varela, 1988), aunque también se produzcan oxidaciones y formación de polímeros, características del proceso en sí (Pokorni, 1980). Además, la grasa culinaria no empieza a penetrar en el pescado frito hasta que una sustancial parte del agua que contiene se ha evaporado (Varela y col., 1983; Varela, 1988).

La capacidad de absorber la grasa de fritura disminuye a medida que se incrementa el contenido graso inicial del pescado, hasta un nivel de saturación en que ya no existe absorción ni elución neta (Gall y col., 1983). Así, May y col. (1975) encontraron en pescados que a mayor contenido graso en crudo menores eran los cambios que se producían en fritura, mientras que los pescados con un bajo contenido graso absorbían más grasa. El pescado se enriquece en la grasa del baño, empobreciéndose en la suya propia. En un estudio, realizado en sardinas con un alto contenido graso inicial, se observó que el proceso de fritura no producía un cambio cuantitativo importante en dicho contenido (Ruiz-Roso, 1983). Sin embargo, Medina (1986), empleando sardinas con un contenido medio de grasa, observó un aumento del 20% durante la primera fritura en este nutriente, y autores como Figueroa (1984) señalan que la tendencia de penetración de grasa aumenta a mayor número de frituras.

El proceso de fritura afecta la composición grasa del pescado profundamente, dependiendo dicho cambio, en gran escala, de la grasa culinaria en la que se fríe. Por ello, dadas las modificaciones que se producen en la composición grasa, es necesario aconsejar a la población que normalmente consume pescado frito, el tipo de aceite que deben utilizar. Por ejemplo, al freír en idénticas condiciones un pescado graso como la sardina, los contenidos de EPA y DHA disminuyen en función del aceite empleado: 8 veces en el aceite de girasol, 4.7 en el aceite de oliva y 3.1 en la grasa de cerdo. Esto es importante a la hora de elegir la grasa de fritura, ya que lo idóneo es que se siga garantizando la permanencia de los ácidos grasos poliinsaturados de la familia n-3 (Medina, 1986; Sánchez-Muniz y col., 1992). Además, en algunos casos puede decirse que la composición de un pescado graso frito, como la sardina, se asemeja a la composición de la grasa culinaria en la que fue frita (Sánchez-Muniz y col., 1991b). Otros autores coinciden en esta afirmación cuando estudian pescados un bajo contenido graso (May y col., 1975; Gall y col., 1983).

En esta línea se ha señalado que freír en grasas monoenoicas como el aceite de oliva, enriquece la grasa del pescado, y concretamente la de la sardina, en ácidos grasos de la familia n-9, lo que también resulta beneficioso para el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares (Viejo, 1992; Sánchez-Muniz y col., 1992; Sánchez-Muniz y col., 1996), ya

que las bondades de ácidos grasos como el oleico han sido ya demostradas en este sentido (Grundy, 1987). De hecho los trabajos de Sánchez-Muniz y col. (1991b), indican que las sardinas fritas en aceite de oliva son las que mantienen más próxima la relación saturados/monoinsaturados/PUFA n-6/PUFA n-3 en 1,25/2/1/1, que es la que señala la bibliografía como idónea para que se mantengan los efectos profilácticos de la grasa de pescado en el relación con las enfermedades cardiovasculares (Kinsella, 1987).

En este mismo trabajo, Sánchez-Muniz y col. (1991b) encontraron que, al freir las sardinas en aceite de oliva, el contenido total de ácidos grasos monoinsaturados de la sardina aumentó desde el 27% al 57%, mientras que el contenido total de poliinsaturados disminuyó desde un 30% a un 13%, y el de ácidos grasos saturados de un 42% a un 31%. Además, la sardina se enriqueció en ácido oleico, pasando del 20.5% al 65.8%, y perdió palmítico (14.1% frente a 27.6%), mientras que otros ácidos grasos sufrieron modificaciones de menor cuantía.

Al freir pescado también hay que tener en cuenta otros aspectos como el grado de oxidación de su grasa, ya que es diferente de otros tipos de aceite, porque se produce con más rapidez (Liston y col., 1963; Stansby, 1967). Además, la oxidación de la grasa puede afectar la palatabilidad del pescado frito. Sánchez-Muniz y col. (1992), Sánchez-Muniz y col. (1996) encontraron en la rata ingestas significativamente menores de dietas elaboradas con sardinas fritas procedentes de las frituras 1 y 2 en aceite de oliva o girasol que los realizados con sardinas procedentes de las frituras 8-10 en aceite de oliva o girasol.

No hemos encontrado referencias acerca de la influencia del consumo de pescado frito o aceite procedente de pescado frito sobre la biodisponibilidad de los minerales de la dieta.

## ***Material y Métodos***

---



### **3.1. DISEÑO EXPERIMENTAL**

Estudio de la influencia del consumo en la dieta de grasas procedentes de frituras, realizadas con diferentes aceites, sobre la biodisponibilidad del calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y cobre, comparándolo con el efecto de las mismas grasas crudas.

**A) Influencia del consumo de distinto tipos de grasas con diferente grado de saturación:**

- Monoinsaturada: aceite de oliva
- Poliinsaturada de origen vegetal: aceite de girasol
- Saturada: aceite de palma (oleína de palma)
- Grasa procedente de sardina cruda (poliinsaturada de origen animal)

**B) Influencia del consumo de las grasas anteriormente citadas, pero procedentes de fritura.**

Para llevar a cabo estos estudios se han realizado:

- Ensayos de balance en animales en crecimiento
- Ensayos *in vitro* en el caso de la grasa de sardina.

El trabajo se ha realizado mediante tres grupos de ensayos con ratas en crecimiento, a las que se les administraron las dietas conteniendo las distintas grasas.

**Experimento I:** Se emplearon aceite de oliva y de girasol crudos o procedentes de frituras repetidas de patatas.

**Experimento II:** Se emplearon aceite de oliva crudo y aceite de palma (oleína de palma) crudo y procedente de frituras repetidas de patatas.

**Experimento III:** Se emplearon aceite de oliva crudo y grasas procedentes de sardina cruda y de sardina frita.

## **3.2. EXPERIMENTO I**

Ensayos *in vivo* con ratas en crecimiento a las que se les administraron dietas isocalóricas que contenían aceites de oliva y girasol crudos y procedentes de frituras repetidas de patatas.

### **3.2.1. Realización de las frituras**

Se emplearon aceite de oliva de 0,4° de acidez (Carbonell, Córdoba) y aceite de girasol de 0,2° de acidez "Elosol" (Elosua, León), cuyos contenidos iniciales en compuestos polares fueron 4,79% y 5,29% respectivamente. Se intentó que ambos aceites tuvieran un contenido polar lo más semejante posible, para partir de un grado de alteración similar.

Como alimento a freír se escogieron patatas nuevas (variedad Kennebec). Las frituras se realizaron en 6 freidoras domésticas de 3 litros de capacidad. En cada una de las freidoras se pusieron 3 litros de aceite y 500 g de patatas peladas, limpias y secas, cortadas en rodajas de aproximadamente 2 mm de espesor. La relación grasa culinaria/alimento fue, por tanto, de 3 l/500 g.

Se empleó la modalidad de fritura discontinua sin recambio de aceite. Para ello, debido a la disminución del volumen de aceite, cada 16 frituras, se eliminó una de las freidoras y con su aceite se completó el volumen de las restantes, de modo que no existió reposición con aceite nuevo.

En primer lugar se realizaron las frituras con el aceite de girasol, y luego se continuó con el aceite de oliva. El alimento se introdujo en el aceite cuando éste último alcanzó una temperatura estable de 180°C, y la duración de la fritura fue, en todos los casos, de ocho minutos. Para la siguiente fritura el aceite se calentó de nuevo hasta 180°C, así hasta cuatro frituras sucesivas. Se realizaron doce frituras diarias en tres series diferentes de cuatro frituras

cada una, entre las cuales se dejó enfriar el aceite hasta temperatura ambiente. Al final de cada día el aceite permaneció a temperatura ambiente hasta el día siguiente.

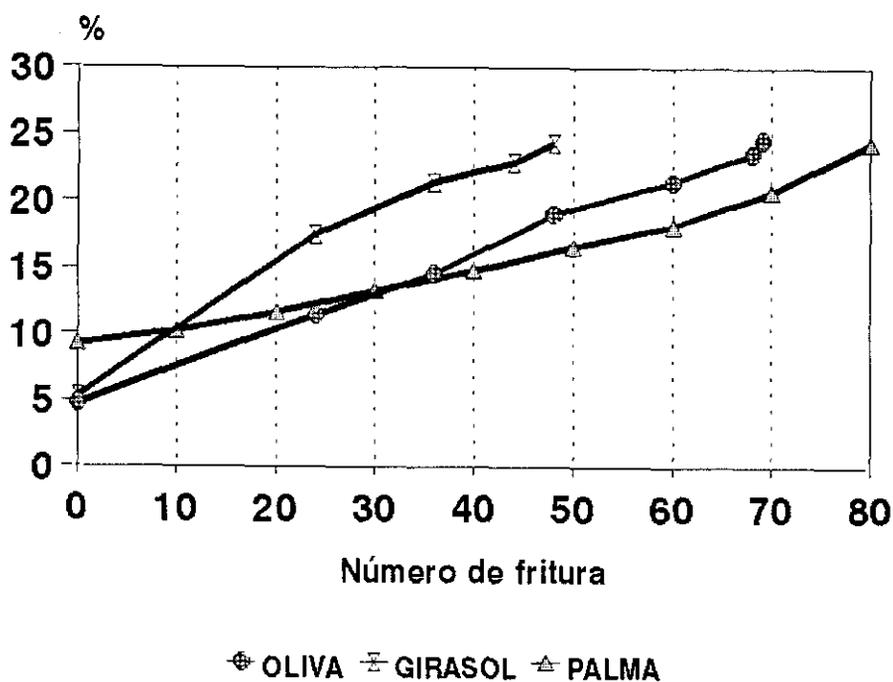
### **3.2.1.1. Control de la alteración de los aceites**

Para controlar la alteración de los aceites durante las frituras, se llevó a cabo la determinación de compuestos polares, pues aunque esta no era el objetivo del estudio, resultaba necesario a fin de obtener un aceite de fritura con un contenido de estos compuestos próximo al 25%, sin superarlo, límite permitido por la legislación cuando se trata de aceites destinados al consumo humano (B.O.E. 3 de Enero de 1989; Firestone, 1990).

Esta determinación se realizó utilizando una ligera modificación de las técnicas de separación cromatográfica propuestas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) en 1987 (Waltking y Wessels, 1981) para el análisis de las grasas de fritura a partir del método original de Guhr y Waibel (1978). Posteriormente dicha técnica fue adoptada por la legislación española (Ministerio de Relaciones con las Cortes y de Secretaría del Gobierno, 1989) como método oficial para la determinación de aceites termooxidados. El fundamento de este método se basa en la separación global, mediante cromatografía de adsorción en columna de gel de sílice, de los triglicéridos que permanecen inalterados de aquellos compuestos que han sufrido alteración al menos en uno de sus restos acilo.

Durante los días en que se realizaron las frituras con los dos aceites, se tomaron muestras secuencialmente para analizar el contenido de compuestos polares y finalizar las frituras en el momento en que se alcanzara un contenido próximo al límite del 25%. Dicho valor se obtuvo tras 48 frituras con el aceite de girasol (24,32%), y 69 frituras con el aceite de oliva (24,27%). La evolución del contenido en compuestos polares de los aceites se muestra en la figura 1 (pág. 88).

**Fig. 1. Incremento de compuestos polares durante las frituras**



Como era de esperar, el aceite de girasol, mucho más insaturado que el de oliva, se alteró con más facilidad que éste. Por ello nos pareció interesante emplear también aceite de oliva procedente de 48 frituras, siendo su contenido en compuestos polares del 19,02%. De este modo compararíamos no sólo aceites con el mismo grado de alteración (oliva de 69 frituras y girasol de 48), sino también empleado en igual número de frituras.

### 3.2.2. Preparación de dietas

Con los aceites de oliva y girasol crudos y con los obtenidos tras el proceso de fritura se prepararon 5 dietas semisintéticas e isocalóricas de acuerdo con las recomendaciones del

National Research Council (1978) para la rata, que con un 8% de grasa sólo se diferenciaban en el tipo de aceite que contenían. Así las dietas ensayadas fueron:

- Oliva crudo
- Oliva procedente de 48 frituras (Oliva 48F)
- Oliva procedente de 69 frituras (Oliva 69F)
- Girasol crudo
- Girasol procedente de 48 frituras (Girasol 48F)

Las dietas se prepararon con la composición teórica que se detalla a continuación (porcentaje en sustancia seca):

- 35,5% de almidón de trigo (Central Ibérica de Drogas, S.A., Madrid)
- 35,5% de sacarosa (Confisa, S.A., Madrid)
- 5% de celulosa microcristalina (Central Ibérica de Drogas, S.A., Madrid)
- 11,8% de caseína láctica (Central Ibérica de Drogas, S.A., Madrid).
- 0,2% de DL-Metionina (Merck, Darmstadt, Alemania).
- 3,85% de complemento mineral (Merck, Darmstadt, Alemania).
- 0,16% de complemento vitamínico (Roche, Basel, Suiza).
- 8% de grasa:

- Oliva crudo
- Oliva frito (48F)
- Oliva frito (69F)
- Girasol crudo
- Girasol frito (48F)

La composición de los correctores mineral y vitamínico se detalla en las tablas 1 y 2.

**TABLA 1.** Corrector Mineral (mg/100 g dieta)

KI	0,021
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	2,472
NaF	0,243
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	16,920
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	19,904
NaCl	90,630
(MgCO <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> .(OH) <sub>2</sub> Mg.5H <sub>2</sub> O	88,680
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	225
CaHPO <sub>4</sub>	680
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	820
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	226,45
CaCO <sub>3</sub>	1000
ZnCO <sub>3</sub>	2,556
KHCO <sub>3</sub>	610,343
Na <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	0,11
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,0365
ZnO	1,7892

**Tabla 2.** Corrector vitamínico para 1 Kg de dieta

Vitamina B <sub>12</sub>	0,055 mg
Vitamina K <sub>1</sub>	0,055 mg
Acido fólico	1,11 mg
Riboflavina	3,33 mg
Tiamina	4,44 mg
Vitamina B <sub>6</sub>	6,66 mg
Pantotenato cálcico	8,88 mg
Niacina	22,22 mg
Vitamina E	33,33 mg
Colina	1111 mg
Vitamina A	4400 U.I.
Vitamina D <sub>3</sub>	1111 U.I.

Se preparó una mezcla con todos los componentes de la dieta en las proporciones idóneas, excepto la fuente grasa y posteriormente se dividió en cinco porciones a las que se les adicionaron las grasas objeto del estudio al 8%.

Se analizaron una a una todas las dietas, y en el caso de la composición en minerales se empleó para el cálculo un valor medio al no existir diferencias entre ellas. La composición en nutrientes de las dietas según análisis se especifica en la tabla 3 y la del contenido mineral en la tabla 4 (pág. 92).

**TABLA 3. COMPOSICION EN NUTRIENTES DE LAS DIETAS DE LA EXPERIENCIA I SEGUN ANALISIS**  
(g/100 g de sustancia fresca)

DIETAS	HUMEDAD	GRASA	PROTEINA	CENIZAS
Oliva crudo	6.32±0.09	7.65±0.03	11.42±0.11	3.18±0.03
Oliva frito (48F)	6.26±0.03	7.63±0.03	11.21±0.01	3.14±0.05
Oliva frito (69F)	6.21±0.04	7.62±0.08	11.26±0.01	3.14±0.05
Girasol crudo	6.24±0.08	7.76±0.03	11.23±0.06	3.03±0.03
Girasol frito (48F)	6.20±0.09	7.66±0.04	11.25±0.02	3.20±0.05

Valores medios ± error estándar

**TABLA 4. COMPOSICIÓN MINERAL DE LAS DIETAS SEGÚN ANÁLISIS (sustancia fresca)**

DIETAS	CALCIO (mg/g dicta)	MAGNESIO (mg/g dicta)	FÓSFORO (mg/g dicta)	HIERRO (µg/g dicta)	ZINC (µg/g dicta)	COBRE (µg/g dicta)
	6.12±0.05	0.42±0.02	5.77±0.07	56.47±3.5	29.94±0.31	8.20±0.37

Valores medios ± error estándar

### 3.2.3. Ensayos con animales

Se realizaron ensayos biológicos de balance de los minerales, calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y cobre, en ratas Wistar de nuestro criadero, seleccionadas en el momento del destete, con un peso inicial de  $40 \pm 0,3$  g (media  $\pm$  error standard), procedentes del mismo cruce. Los grupos estaban constituidos por 10 animales, 5 machos y 5 hembras. En total fueron 5 grupos de 10 animales que consumieron las dietas experimentales "ad libitum" y bebieron agua desionizada (Milli-Q plus, Ultrapure Water System, Millipore, U.S.A.) "ad libitum". Los animales se alojaron en células metabólicas individuales que permiten la recogida por separado de heces y orina, así como la cuantificación de la ingesta. Estas células se instalaron en cámaras termorreguladas a  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  con una humedad relativa entre el 50-70% y un fotoperiodo controlado de 12 horas.

Los ensayos constaron de un período experimental de 28 días, y en la última semana se procedió a la recogida de heces y orina por separado para realizar el balance de minerales.

	Balance	Sacrificio †
1	21	28

La recogida de orina se realizó sobre HCl al 0,5% (v/v). Se filtró a través de papel Whatman nº41 libre de cenizas, y se diluyó convenientemente con la misma solución ácida, congelándose posteriormente hasta su análisis. Las heces se desecaron, se pesaron y se homogenizaron y una parte se incineró para el análisis mineral. Para controlar errores por posible contaminación ambiental o de los recipientes en la recogida de orina, se prepararon blancos de recogida que durante los períodos de balance se manipularon de la misma forma que las muestras correspondientes a los animales y que posteriormente se analizaron.

El último día del experimento los animales se sacrificaron previa anestesia con Nembutal (pentobarbital sódico) (Laboratorios Abbott, Madrid) al 30% vía intraperitoneal, en dosis de 0,15ml/100g de peso.

En todos los animales se procedió a la extracción de sangre, mediante canulación de la carótida, que se recogió sobre tubos lavados con una solución ácida (HNO<sub>3</sub> 10 N), y se separaron hígado, bazo y una porción de piel. Todos los órganos y la carcasa restante se pesaron. Las muestras se congelaron a -20°C hasta su análisis.

La sangre se centrifugó a 3000 r.p.m. para la obtención del suero. Una vez separado éste, se lavó el coágulo con solución salina y se centrifugó de nuevo a la misma velocidad, operación que se realizó tres veces, para la obtención de los hematíes que, al igual que el suero, también se congelaron.

La carcasa fue sometida a una hidrólisis ácida con HCl 6N. Una vez que la muestra estuvo totalmente digerida se filtró a través de papel Whatman n°41 y aforó a un volumen conocido con agua desionizada.

Todo el material utilizado para los análisis minerales se lavó con detergente enzimático "Tergazime" (Alconox) y HCl diluido. En la medida de lo posible se empleó material de plástico de polipropileno. El material quirúrgico fue de acero inoxidable.

#### **3.2.3.1. Parámetros controlados**

- Peso de las ratas en los días 1, 7, 14, 21 y 28.
- Ingesta sólida correspondiente a las 4 semanas del experimento: días 1 al 7; 7 al 14; 14 al 21 y 21 al 28 (periodo de balance).
- Eliminación fecal y urinaria de los minerales calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y cobre durante la semana del balance.

- Composición tisular y corporal de minerales:
  - Hígado: peso, hierro, zinc y cobre.
  - Bazo: peso, hierro y zinc.
  - Piel: hierro, zinc y cobre.
  - Suero: calcio, magnesio, hierro, zinc y cobre.
  - Hematíes: hierro, zinc y cobre.
  - Carcasa: peso, calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y cobre.

Se consideró como carcasa al resto del cuerpo de la rata una vez extraídos los órganos y tejidos objeto de estudio.

### **3.2.3.2. Índices utilizados**

- Eficacia alimentaria:

$$EA = \frac{\text{Incremento de peso por día (g)}}{\text{Sustancia seca ingerida por día (g)}}$$

Para el estudio de los balances de minerales se han empleado los siguientes índices:

A) Absorción aparente: cantidad ingerida del mineral menos cantidad eliminada por heces.

$$\text{Absorbido} = \text{Ingerido} - \text{Fecal}$$

B) Utilización digestiva del mineral o coeficiente de digestibilidad aparente (CDA): porcentaje absorbido del ingerido.

$$CDA = \%A/I = \frac{(\text{Ingerido} - \text{Fecal})}{\text{Ingerido}} \times 100$$

C) Retención corporal o balance aparente: cantidad absorbida del mineral menos cantidad eliminada por orina.

$$\text{Retenido} = (\text{Ingerido} - \text{Fecal}) - \text{Orina}$$

D) Utilización metabólica: porcentaje del mineral retenido respecto del absorbido.

$$\%R/A = \frac{(\text{Ingerido} - \text{Fecal}) - \text{Orina}}{(\text{Ingerido} - \text{Fecal})} \times 100$$

E) Utilización nutritiva global: porcentaje del mineral retenido respecto del ingerido.

$$\%R/I = \frac{(\text{Ingerido} - \text{Fecal}) - \text{Orina}}{\text{Ingerido}} \times 100$$

### **3.2.3.3. Técnicas analíticas empleadas**

*En las dietas se efectuaron los siguientes análisis:*

- Humedad, por pérdida de peso en estufa a 105°C hasta peso constante (A.O.A.C., 1980).
- Proteína, mediante la determinación de Nitrógeno total por el método Kjeldahl, utilizando un analizador Kjeltex modelo Auto 1030 y conversión a proteína multiplicando por el factor 6,25 (A.O.A.C., 1984).
- Extracto etéreo, por el método Soxhlet, utilizando el sistema Soxtec de extracción, modelo 1040 (Tecator, Suecia).
- Cenizas por incineración a 450-500°C (A.O.A.C., 1975).

- Minerales, en el filtrado de la disolución ácida de las cenizas (HCl/HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O en las proporciones 1/1/2) (Suprapur, Merck) con posterior dilución en agua desionizada (Mili-Q plus, Ultrapure Water System, Millipore, U.S.A.) mediante espectrofotometría de absorción atómica (E.A.A.) en un aparato Perkin-Elmer 1100B (Norwalk, CT, USA). Se adicionó cloruro de lantano al 0,5% a las muestras y a los estándares de las determinaciones de calcio y magnesio para evitar posibles interferencias con sulfato y fosfato. El fósforo se cuantificó por colorimetría (A.O.A.C., 1980). Los estándares o soluciones de calibración para la determinación de calcio, magnesio, hierro, cobre y zinc se prepararon con soluciones Tritrisol (Merk).

*En las muestras biológicas se analizaron:*

- Minerales por espectrofotometría de absorción atómica (E.A.A.) mediante análisis directo en orina y suero, así como en el filtrado de la disolución ácida diluida de las carcacas y de las cenizas procedentes de hígado, bazo, piel, hematíes y heces. El fósforo se determinó, al igual que en las dietas, por colorimetría (A.O.A.C., 1980).

- Hemoglobina en sangre fresca, por colorimetría mediante el método de la cianohemoglobina (Test-Combination Hemoglobin Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania).

- TIBC (capacidad total de fijación de hierro) en suero, mediante saturación de la transferrina y posterior determinación, en el sobrenadante, del hierro unido a las proteínas por colorimetría (BioMérieux, Marcy-l'Etoile, France).

Para las determinaciones analíticas se utilizaron diez muestras de cada dieta, y duplicados o muestras simples de los materiales biológicos. Las muestras se diluyeron apropiadamente para obtener concentraciones de análisis en el rango lineal de lectura.

*Precisión y exactitud de los análisis realizados:*

Para controlar la exactitud en la determinación de los distintos minerales se emplearon tres patrones externos diferentes:

- Hígado liofilizado (material de referencia certificado CRM 185, Community Bureau of Reference B.C.R., Bruselas, Bélgica) cuyos valores certificados son (media  $\pm$  desviación estándar): hierro:  $214 \pm 9$   $\mu\text{g/g}$ ; cobre:  $189 \pm 6$   $\mu\text{g/g}$ ; zinc:  $142 \pm 5$   $\mu\text{g/g}$ . Los valores obtenidos fueron: hierro:  $211 \pm 2$   $\mu\text{g/g}$ ; cobre:  $194 \pm 6$   $\mu\text{g/g}$ ; zinc:  $142 \pm 4$   $\mu\text{g/g}$ .

- Polvo de leche (material de referencia certificado CRM 63, Community Bureau of Reference B.C.R., Bruselas, Bélgica) cuyos valores certificados son: calcio:  $12,6 \pm 0,3$  mg/g; magnesio:  $1,12 \pm 0,03$  mg/g. Los valores obtenidos fueron: calcio:  $12,8 \pm 0,2$  mg/g; magnesio:  $1,11 \pm 0,03$  mg/g.

- Suero control (Monitrol I-Normatest, Dade) cuyos valores certificados son: calcio: 8,5 a 9,5 mg/dl; magnesio: 4,6 a 5,5 mg/dl. Los valores obtenidos fueron: calcio:  $8,65 \pm 0,33$  mg/dl; magnesio:  $5,07 \pm 0,16$  mg/dl.

La precisión de los análisis minerales se controló también en los distintos materiales biológicos empleados en los diferentes ensayos, obteniéndose los siguientes Coeficientes de Variación interensayo (%):

MUESTRAS	Ca	Mg	P	Fe	Cu	Zn
DIETAS	1.74	4.62	2.36	5.51	8.10	4.08
HECES	2.26	1.13	1.72	4.19	3.77	2.33
ORINAS	0.50	1.13	1.72	3.16	3.77	2.33
HÍGADOS	----	----	----	4.68	13.63	7.56

Los Coeficientes de Variación interensayo de las determinaciones de macronutrientes fueron: humedad: 1,75%; proteína: 4%; grasa: 4,2%.

### **3.3. EXPERIMENTO II**

Ensayos *in vivo* con ratas en crecimiento a las que se les administraron dietas isocalóricas que contenían aceite de oliva crudo de 0,4° de acidez (Carbonell, Córdoba) (grupo control), aceite de palma crudo (oleína de palma) y aceite de palma procedente de frituras repetidas de patatas.

#### **3.3.1. Realización de las frituras**

Se empleó aceite de palma (oleína de palma) (AGRA, S.A., Bilbao) con un contenido inicial de compuestos polares del 9,27%.

Las condiciones de fritura establecidas fueron las mismas que las descritas para los aceites de oliva y girasol (apartado 3.2.1, pág. 86).

Durante las frituras se llevó a cabo la determinación de compuestos polares, como ya se ha descrito. El límite del 25% de compuestos polares se alcanzó con 80 frituras repetidas de patatas, es decir con 11 y 32 frituras más que con los aceites de oliva y girasol respectivamente, siendo el valor obtenido de 24,32% de compuestos polares. La evolución del contenido en compuestos polares del aceite de palma se muestra en la Figura 1 (pág. 88), junto con la evolución de los aceites de oliva y girasol.

Como era previsible, la oleína de palma se mostró más estable que el oliva y mucho más que el girasol; no en vano se le ha descrito como uno de los aceites mejores para freír por su resistencia a la oxidación durante el proceso (Edionwe y Kies, 1993; Arroyo, 1995; Arroyo y col., 1995).

### **3.3.2. Preparación de dietas**

Con el aceite de oliva crudo y con el aceite de palma crudo y el procedente de 80 frituras de patatas, se prepararon 3 dietas semisintéticas e isocalóricas, de acuerdo con las recomendaciones del National Research Council (1978) para la rata. Al igual que en el experimento I, las dietas contenían grasa al 8% y sólo se diferenciaban en el tipo de grasa empleada. Así las dietas ensayadas fueron:

- Oliva crudo (grupo control)
- Palma crudo
- Palma procedente de 80 frituras

Las dietas se prepararon con la misma composición teórica que la descrita en el apartado 3.2.2. (pág. 89), con la única diferencia de la fuente grasa mencionada. Los correctores mineral y vitamínico fueron los detallados en las tablas 1 y 2 (págs. 90 y 91).

Se preparó una mezcla con todos los componentes en las proporciones idóneas, excepto la fuente grasa, posteriormente se dividió en tres porciones a las que se les adicionaron las grasas objeto del estudio en la proporción del 8%.

La composición en nutrientes de las dietas según análisis se especifica en la tabla 5 y la del contenido mineral en la tabla 6 (pág. 101).

**TABLA 5. COMPOSICION EN NUTRIENTES DE LAS DIETAS DE LA EXPERIENCIA II SEGUN ANALISIS  
(g/100 g de sustancia fresca)**

DIETAS	HUMEDAD	GRASA	PROTEÍNA	CENIZAS
Oliva crudo	5.89±0.06	7.90±0.04	11.69±0.19	3.20±0.03
Palma crudo	5.56±0.10	7.72±0.01	11.54±0.19	3.27±0.03
Palma frito	5.69±0.04	7.80±0.09	11.64±0.25	3.28±0.02

Valores medios ± error estándar.

**TABLA 6. COMPOSICIÓN MINERAL DE LAS DIETAS SEGÚN ANÁLISIS (sustancia fresca)**

	CALCIO (mg/g dieta)	MAGNESIO (mg/g dieta)	FÓSFORO (mg/g dieta)	HIERRO (µg/g dieta)	ZINC (µg/g dieta)	COBRE (µg/g dieta)
DIETAS	5.80±0.03	0.45±0.02	5.25±0.07	54.50±5.9	32.65±0.30	10.80±0.58

Valores medios ± error estándar.

### **3.3.3. Ensayos con animales**

Los ensayos biológicos de balances minerales se realizaron de manera idéntica a los descritos en el apartado 3.2.3. (pág. 93), utilizándose en este caso 3 grupos de 10 animales (5 machos y 5 hembras) con un peso inicial de  $40 \pm 0.3$  g (media  $\pm$  error estándar) que consumieron las dietas con los distintos aceites y bebieron agua desionizada *ad libitum*.

#### **3.3.3.1. Parámetros controlados**

Los mismos que los que especifican el apartado 3.2.3.1. (pág. 94).

#### **3.3.3.2. Índices utilizados**

Los mismos que se definen en el apartado 3.2.3.2. (pág. 95).

#### **3.3.3.3. Técnicas analíticas empleadas**

Se emplearon las mismas técnicas que se recogen en el apartado 3.2.3.3. (pág. 96).

## **3.4. EXPERIMENTO III**

A) Ensayos *in vivo* con ratas en crecimiento a las que se les administraron dietas isocalóricas que contenían aceite de oliva crudo, grasa de sardina cruda y grasa de sardina frita.

B) Ensayos *in vitro* realizados con los tres tipos de dieta que contenían las distintas grasas.

### **3.4.1. Obtención de la grasa de sardina**

Se emplearon 35 kg de sardinas frescas (*Clupea Pilchardus*), de las cuales se destinaron 22 kg para emplearlas en crudo y 13 kg para freirlas en aceite de oliva de 0,4° de acidez (Carbonell, Córdoba).

Se eliminaron las cabezas, vísceras y escamas. 500-600 g de sardinas limpias se introdujeron en freidoras domésticas de 3 litros de capacidad cuando el aceite alcanzó 180°C, y se frieron durante 8 minutos.

Posteriormente, tanto a las sardinas crudas, como a las fritas, se les separó la espina, se trituraron y se les añadió como antioxidante una mezcla al 50% de butilhidroxitolueno (BHT) y butilhidroxianisol (BHA) (Merck, Alemania) al 0,02% de la grasa. A continuación se liofilizaron en un liofilizador Telstar (Telstar, S.A., Barcelona).

La grasa de sardina fue extraída con éter dietílico en frío (Merck, Alemania) que posteriormente fue eliminado hasta su totalidad por evaporación en rotavapor. A continuación fue almacenada en contenedores herméticamente cerrados y en atmósfera de nitrógeno, congelándose a -20°C hasta el momento de su empleo en la elaboración de las dietas.

#### **3.4.1.1. Análisis de la grasa de sardina**

Con objeto de observar los cambios producidos en la grasa de sardina tras el proceso de fritura se llevó a cabo la identificación de los ácidos grasos presentes tanto en la grasa de la sardina cruda, como en la de la frita.

Se procedió a la saponificación de la grasa con hidróxido sódico 0,5M en metanol y se metiló siguiendo la técnica de Metcalfe y col. (1966).

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos de la grasa de sardina cruda y frita se analizaron por cromatografía gaseosa, empleando un cromatógrafo Hewlett-Packard 5890 Series II (Hewlett-Packard, USA), equipado con detector de ionización de llama. Los análisis se realizaron en una columna de acero inoxidable de 2 metros de longitud y 1/8 pulgadas de diámetro interno. La fase estacionaria fue Supelcoport 2330 al 10% sobre Chromosorb WAW 100/120 (Supelco, Barcelona). El flujo de gas portador fue para el nitrógeno de 30ml/min., y el de hidrógeno y aire 30 y 300 ml/min., respectivamente. La temperatura de la columna se mantuvo a 170°C durante 8 minutos, y después se incrementó hasta 250°C a razón de 4°C por minuto. La temperatura del inyector fue de 250°C y la del detector de 280°C. El volumen de muestra fue de 1µl.

Los ácidos grasos fueron identificados comparando sus tiempos de retención absolutos y relativos con los de los patrones comerciales (Sigma, St. Louis, USA). También se empleó como patrón el PUFA nº1 Marine Source (Supelco, PA, USA). Todos los patrones comerciales se emplearon en las mismas condiciones experimentales de las muestras. Las áreas de los picos se midieron empleando un integrador Hewlett-Packard 3396 Series II. Los coeficientes de variación interensayo para los ácidos grasos fueron 2,7% para el ácido palmítico y 6,7% para el ácido docosahexaenoico. La composición en ácidos grasos mayoritarios de la grasa de sardina cruda y frita se muestra en la tabla 7 (pág. 105).

### **3.4.2. Preparación de las dietas**

Con el aceite de oliva crudo, y con las grasas extraídas de las sardinas crudas y fritas, se prepararon 3 dietas semisintéticas isocalóricas, de acuerdo con las recomendaciones del National Research Council (1978) para la rata, que sólo se diferenciaban en el tipo de grasa empleada, y con la misma proporción de grasa, un 8%. Las dietas ensayadas fueron:

- Oliva crudo (grupo control)
- Grasa de sardina cruda
- Grasa de sardina frita

**TABLA 7. Ácidos grasos mayoritarios (g/100g del total de ácidos grasos)**

Ácido graso	Sardina cruda	Sardina frita
C14:0	7.46	3.55
C16:0	18.59	15.83
C16:1	7.04	3.83
C17:0	1.01	0.42
C18:0	3.84	3.44
C18:1	12.18	46.06
C19:0	1.13	0.00
C18:2 n-6	1.43	3.29
C18:3 n-3	0.89	0.48
C20:1	7.14	3.51
C18:4	2.06	0.98
C20:4 n-6	3.14	1.53
C20:5 n-3	11.11	5.30
C22:1	6.29	3.05
C22:5 n-3	1.87	0.87
C22:6 n-3	9.53	5.08

Las dietas se prepararon con la misma composición teórica que se ha detallado para las experiencias I y II (Apartado 3.2.2, pág.89), y se emplearon los mismos correctores mineral y vitamínico.

Se preparó una mezcla con todos los componentes en las proporciones idóneas, excepto la fuente grasa. Posteriormente se dividió en 3 porciones a las que se les adicionaron las grasas objeto de estudio en la proporción del 8%.

La composición en nutrientes de las dietas según análisis se especifica en la tabla 8 y la del contenido mineral en la tabla 9 (pág. 107).

### **3.4.3. Ensayos con animales**

Se realizaron ensayos biológicos de balances de los minerales calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y cobre, en ratas Wistar de nuestro criadero, seleccionadas en el momento del destete, con un peso inicial de  $40 \pm 0,3$  g (media  $\pm$  error estandar), procedentes del mismo cruce. Los grupos estaban constituidos por 10 animales, 5 machos y 5 hembras, y fueron en total 3 grupos de animales que consumieron las dietas con las distintas grasas y bebieron agua desionizada *ad libitum*. Para evitar la posible autooxidación de la grasa de sardina, las dietas se mantuvieron en refrigeración separando diariamente las porciones que habían de administrarse a los animales. Las condiciones del ensayo (temperatura, humedad, recogida de heces y orina, etc.) se han descrito ya en el apartado 3.2.3. (pág. 93).

Los ensayos constaron de un período experimental de 28 días y se realizaron dos balances de minerales: uno al comienzo del ensayo (días 5 al 12) y otro en la última semana del mismo (días 21 al 28).

	1 <sup>er</sup> Balance		2 <sup>o</sup> Balance		Sacrificio †
1	5	12	21	28	

**TABLA 8. COMPOSICION EN NUTRIENTES DE LAS DIETAS DE LA EXPERIENCIA III SEGUN ANALISIS**  
(g/100 g de sustancia fresca)

DIETAS	HUMEDAD	GRASA	PROTEÍNA	CENIZAS
Oliva crudo	5.70±0.07	7.51±0.12	11.69±0.20	2.96±0.05
Sardina cruda	5.23±0.08	7.67±0.02	11.35±0.07	3.07±0.04
Sardina frita	5.23±0.08	7.57±0.02	11.43±0.04	3.15±0.04

Valores medios ± error estándar.

**TABLA 9.- COMPOSICIÓN MINERAL DE LAS DIETAS SEGÚN ANÁLISIS (sustancia fresca)**

	CALCIO (mg/g dieta)	MAGNESIO (mg/g dieta)	FÓSFORO (mg/g dicta)	HIERRO (µg/g dicta)	ZINC (µg/g dieta)	COBRE (µg/g dieta)
DIETAS	5.80±0.04	0.45±0.01	5.70±0.11	55.00±4.2	32.69±0.32	10.34±0.48

Valores medios ± error estándar.

La recogida de orina y heces durante las dos semanas de balance, el sacrificio de los animales y el tratamiento de las muestras se describieron en el apartado 3.2.3. (pág. 93).

#### **3.4.3.1. Parámetros controlados**

- Peso de las ratas en los días 1, 5, 7, 12, 14, 21 y 28
  
- Ingesta sólida correspondiente a los periodos de balance y a cada una de las cuatro semanas del experimento: días 1 al 7; 5 al 12 (1<sup>er</sup> balance), 7 al 14, 14 al 21 y 21 al 28 (2<sup>o</sup> balance).
  
- Eliminación fecal y urinaria de los minerales calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y cobre durante los dos periodos de balance: días 5 al 12 y días 21 al 28.
  
- Composición corporal:
  - Hígado: peso, hierro, zinc y cobre.
  - Bazo: peso, hierro y zinc.
  - Piel: hierro, zinc y cobre.
  - Suero: calcio, magnesio, hierro, zinc y cobre.
  - Hematíes: hierro, zinc y cobre.
  - Carcasa: peso, calcio, magnesio, fósforo, hierro, zinc y cobre.

#### **3.4.3.2. Índices utilizados**

Los descritos en el apartado 3.2.3.2. (pág. 95).

### 3.4.3.3. Técnicas analíticas empleadas

El análisis de la grasa de sardina cruda y frita se ha descrito en el apartado 3.4.1.1. (pág. 103) y el resto de las técnicas se encuentran en el apartado 3.2.3.3. (pág. 96).

### 3.4.4. Ensayos de digestión *in vitro*

Se llevaron a cabo con las tres dietas utilizadas: oliva crudo (control), grasa de sardina cruda y grasa de sardina frita.

La digestión *in vitro* y la diálisis de los elementos se realizó siguiendo la técnica de Miller y col. (1981), modificada por Vaquero y col. (1992). La técnica consta de dos fases: una de digestión gástrica y otra de digestión intestinal, las cuales tuvieron una duración de dos y tres horas respectivamente.

Para iniciar el proceso de digestión gástrica, se pesaron en un bote de polietileno de 250 ml de capacidad, 50 g de dieta y se añadieron 100 ml de H<sub>2</sub>O desionizada (Milli-Q Plus, Millipore Ibérica, S.A.). El peso de la muestra y el volumen de H<sub>2</sub>O se eligieron con el fin de que las concentraciones de los distintos minerales en las tres fracciones resultantes fueran detectables al final del proceso.

#### a) Digestión gástrica

El pH se ajustó a 2.0 con HCl 6M y a continuación se añadió una solución de pepsina, 1.6 g de pepsina (Sigma Chemical Co.; nr 7000, St. Louis, MO) en 10 ml de HCl 0.1M, en la proporción 0.5 g de pepsina por 100 g de muestra. Una vez añadido el enzima gástrico se incubó en un baño de agua con una agitación de 100 oscilaciones por minuto a 37°C durante dos horas, con objeto de imitar el proceso de digestión gástrica.

***b) Determinación de la acidez***

Transcurridas las dos horas de digestión gástrica se pusieron los botes en nevera durante media hora. La acidez del digerido gástrico se determinó tomando aproximadamente 20 g del mismo previa adición de 0.25 g de la solución de pancreatina y sales biliares por gramo de digerido gástrico. Para la valoración se utilizó una solución de NaOH 0.5M y se calculó el número de equivalentes de  $\text{NaHCO}_3$  necesarios para que el pH de la mezcla fuese 7.5.

***c) Digestión intestinal***

Se tomaron tres alícuotas de 40 g del digerido gástrico que se colocaron en botes de plástico de 250 ml de capacidad, en cada uno de los cuales se introdujo un segmento de membrana de diálisis que permitía un paso máximo de partículas de 12000 Å (Bestl nr. 1063F09 Medicell International LTD tamaño: 9 36/32") y que contenía 50 ml de una solución de  $\text{NaHCO}_3$ , cuya concentración era dependiente de la valoración de la acidez del digerido gástrico; los botes se colocaron durante media hora en el baño a 37°C y a 100 oscilaciones por minuto.

A continuación se añadió a cada uno de los tres botes 10 ml de una solución de pancreatina y sales biliares: 0.4 g de pancreatina (Sigma Chemical Co., nr. P-1750, St. Louis MO) y 2.5 g de sales biliares (Sigma Chemical Co., B-8756, St. Louis MO) en 100 ml  $\text{NaHCO}_3$  0.1M, y se incubaron en el baño de agua durante tres horas. A cada hora de incubación intestinal se tomaba un bote del baño, se extraía la membrana de diálisis que se lavaba exteriormente con agua desionizada, y su contenido se llevaba a un bote controlándose el peso y el pH del dializado y se separaban alícuotas para la determinación de minerales.

En estos ensayos parecía interesante conocer si los elementos que no atravesaban la membrana quedaban en forma soluble o precipitados y saber su cuantía, ya que en otros trabajos observamos indicios de que *in vivo* algunas formas no dializadas pero solubles podían

absorberse (Aspe, 1992). Por ello, basándose en estos primeros resultados de nuestro grupo, Aguirre (1996) prepararon una continuación del método original que sirvió para estudiar la fracción no dializada y cuantificar la porción soluble e insoluble, como se describe a continuación:

La fracción no dializada se pesaba y se controlaba su pH, a continuación se centrifugaba a 1000 g/minuto durante 15 minutos, separando por decantación el no dializado soluble y el precipitado. Una vez determinado el peso de ambas fracciones se adicionaba agua desionizada al precipitado, se homogeneizaba y se pesaba repartiéndolo en crisoles. También se tomaban alícuotas del no dializado soluble en crisoles y el segmento de membrana presente en cada bote. Todos ellos, junto con los crisoles procedentes del dializado, se incineraba en una mufla a 450-500°C hasta cenizas blancas, que a continuación se disolvían en una mezcla HCl/HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O en una proporción 1/1/2, se diluían adecuadamente y se analizaban sus minerales por espectrofotometría de absorción atómica.

Los resultados se expresan como porcentaje del elemento dializado, no dializado soluble o precipitado respecto al total presente al final de la digestión gástrica.

Todo el material se lavó con HNO<sub>3</sub> 10N.

### 3.5. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Todos los datos de los tres experimentos fueron sometidos inicialmente a un test descriptivo para estudiar su distribución. Se observó que cada una de las variables en el conjunto de la muestra seguía una distribución *cuasi* normal, por lo que, a excepción de los datos de los ensayos *in vitro*, se aplicaron pruebas paramétricas.

Los valores de ingesta y peso de los animales fueron analizados mediante regresión lineal simple, siendo el tiempo la variable independiente. Esto se planteó comparativamente dentro de cada grupo experimental. Se determinó el coeficiente de asociación y si la pendiente general obtenida era significativamente diferente de cero. Como en todos los casos se obtuvieron pendientes positivas y significativamente mayores de cero ( $p < 0.0000$ ), se continuó con un análisis de varianza (ANOVA) sobre las pendientes de regresión correspondientes a cada grupo experimental a fin de comparar las evoluciones de los animales tratados con las distintas dietas. En los experimentos con aceite de sardina dicho ANOVA reveló significatividad, y las comparaciones por pares se realizaron con subsiguientes ANOVAs.

En el caso de los valores de los coeficientes de eficacia alimentaria se ha utilizado un ANOVA de medidas repetidas con dos fuentes de variación, tiempo (medida repetida) y grupo (bloques).

Para el análisis de los datos procedentes de los experimentos biológicos con los aceites de oliva y girasol (Experimento 1) se aplicó inicialmente un ANOVA de dos vías: tipo de aceite, oliva o girasol, y fritura, planteándose en dos situaciones: crudos o fritos con igual número de frituras y crudos o fritos con igual porcentaje de compuestos polares. Con este tratamiento se intentó ver el efecto de aceites fritos con el mismo número de frituras (grupos incluidos: oliva crudo, oliva 48 F, girasol crudo y girasol 48 F) y el de aceites fritos con el mismo grado de alteración (grupos incluidos: oliva crudo, oliva 69 F, girasol crudo y girasol 48 F). En las tablas los resultados estadísticos de el primero de estos análisis se expresan como ANOVA de 2 vías: tipo, nº fritura, tipo x nº fritura; y el segundo como ANOVA de 2 vías: tipo, % polares, tipo x % polares.

Posteriormente para analizar la influencia del aumento en el número de frituras se realizó un ANOVA de 1 vía utilizando los 3 grupos de aceite de oliva. Así mismo los aceites de girasol crudo y frito se compararon también por ANOVA de 1 vía. Los resultados de estos dos análisis de 1 vía se reflejan en las tablas de resultados mediante superíndices. Se ha

utilizado el test de homogeneidad de varianzas de Levene seguido de los de Welch y Brown-Forsythe en el caso de inexistencia de homogeneidad de las mismas.

Para test de pares se aplicó el test de Bonferroni.

Los resultados de los ensayos con aceite de palma se han obtenido mediante ANOVA de una vía.

En el estudio con grasa de sardina se aplicó en primer lugar un ANOVA de dos vías, grupo y período de balance. Sin embargo, ya que apareció una interacción significativa grupo x balance, se separaron las dos variables y se estudió dentro de cada balance la influencia del grupo así como la influencia del período de balance en un mismo grupo.

El análisis de los datos de los ensayos *in vitro* se ha efectuado mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis (BMDP3S, análisis de varianza de una vía).

El nivel de significación se ha establecido en el 5% y todo el tratamiento estadístico se ha llevado a cabo en un ordenador ALPHA 2100, sistema VAX/VMS, versión V5.5-2, empleando los siguientes programas BMDP (Biomedical Statistical Package, 1992):

- BMDP 2D: discriminante
- BMDP 1R: análisis de regresión lineal
- BMDP 7D: ANOVA de 1 y 2 vías
- BMDP 2V: ANOVA de 1 y 2 vías con medidas repetidas
- BMDP 3S: estudio no paramétrico



## ***Resultados***

---



#### **4.1. Aceites de oliva y girasol (EXPERIMENTO I)**

##### **4.1.1. Ingesta, peso y eficacia alimentaria**

No existieron diferencias significativas ni en la ingesta alimentaria (tabla 10, pág. 137), ni en la evolución ponderal (tabla 11, pág. 138) ni en el coeficiente de eficacia alimentaria (tabla 12, pág. 139) por el consumo de los dos tipos de aceites, ni por el mayor o menor número de frituras y su grado de alteración. Durante el período experimental la ingesta alimentaria y el peso de los animales aumentó en todos los grupos, mientras que la eficacia alimentaria disminuyó.

##### **4.1.2. Balance de calcio**

La variaciones en las cantidades de calcio ingerido, eliminado por heces, eliminado por orina, o calcio absorbido y retenido no llegaron a ser significativas (tabla 13, pág. 140). El tipo de aceite afectó a la digestibilidad aparente (%A/I) y a la utilización nutritiva global (%R/I) del elemento, siendo ambos parámetros significativamente superiores en el caso del aceite de girasol.

##### **4.1.3. Balance de fósforo**

Cuando se establece el nivel de significación en el 5% no se observan diferencias significativas en ninguno de los valores obtenidos (tabla 14, pág. 141). Sin embargo, los ANOVAs de 1 vía muestran que la ingesta y la absorción del fósforo tienden a aumentar por el consumo de aceite de girasol frito respecto al crudo y que el %R/I tiende a ser inferior en el grupo oliva frito 69F respecto a los grupos oliva crudo y oliva frito 48F (nivel de significación del 10%).

#### **4.1.4. Balance de magnesio**

La ingesta de magnesio no mostró diferencias entre grupos a excepción de un ligero aumento en los animales que tomaron aceite de girasol frito con respecto al crudo (ANOVA de 1 vía, grupos girasol crudo y girasol 48F,  $p < 0.10$ ) (tabla 15, pág. 142). La cantidad absorbida del elemento fue superior en todos los grupos que consumieron aceites fritos tal como lo demuestran los dos ANOVAs de 2 vías efectuados y los 2 de 1 vía. La digestibilidad se incrementó también por la fritura, aunque cuando se analizaron aisladamente los tres aceites de oliva no se alcanzó significación estadística. El resto de los parámetros no presentó variaciones entre grupos.

#### **4.1.5. Contenido y concentración de calcio, fósforo y magnesio en carcasas**

La influencia de los aceites de oliva y girasol crudos o fritos con diferente grado de alteración sobre la composición de calcio, fósforo y magnesio de las carcasas no fue significativa (tabla 16, pág. 143).

#### **4.1.6. Concentraciones séricas de calcio y magnesio**

Las concentraciones séricas de los minerales calcio y magnesio en el último día del experimento no mostraron diferencias significativas entre grupos (tabla 17, pág. 144).

#### **4.1.7. Balance de hierro**

No hubo diferencias significativas en la ingesta del metal, aunque las ratas que ingirieron aceite de girasol frito presentaron una ingesta levemente superior respecto a su control girasol crudo (ANOVA de 1 vía  $p < 0.10$ ). El resto de los parámetros no mostró

diferencias significativas a excepción de la excreción urinaria que resultó más elevada en los grupos de animales que consumían los aceites de procedentes de 48 frituras, lo que también quedó demostrado al realizar las comparaciones aisladas de los dos tipos de aceites (girasol 48 F vs girasol crudo,  $p < 0.05$ ; oliva 48 F vs oliva crudo,  $p < 0.10$ ) (tabla 18, pág. 145).

#### **4.1.8. Balance de zinc**

Se observó una excreción urinaria significativamente superior en los tres grupos de animales que consumieron aceites fritos, sin diferencias entre ellos, tal como lo reflejan los ANOVA de 2 vías o 1 vía realizados. El porcentaje de utilización nutritiva global (%R/I) fue menor cuando en la dieta había aceites procedentes de 48 frituras (tabla 19, pág. 146).

#### **4.1.9. Balance de cobre**

No hubo diferencias significativas por el consumo de los distintos aceites sometidos o no al proceso de fritura. Únicamente se observó una ingesta algo superior en los animales del grupo girasol frito frente a los de girasol crudo (tabla 20, pág. 147).

#### **4.1.10. Contenido y concentración de elementos traza en carcasas**

El contenido de hierro en la carcasa tendió a aumentar al incrementarse el número de frituras del aceite de oliva. Respecto a la concentración del elemento, el ANOVA de 2 vías para tipo e igualdad en el número de frituras no mostró diferencias significativas. Sin embargo, cuando en dicho análisis se incluyó el grupo oliva frito 69F en lugar del oliva 48F, apareció una interacción significativa y una influencia del tipo como se muestra en la tabla 21 (pág. 148). Al comparar los 3 grupos de aceite de oliva se obtuvo una concentración superior en el grupo oliva frito 69 F.

No hubo diferencias significativas en los contenidos y las concentraciones de zinc en carcasas.

Las concentraciones de cobre en las carcasas de los grupos que consumieron los tres aceites fritos fueron inferiores en comparación con los aceites crudos, llegando a la significación estadística únicamente cuando se incluyen en el análisis los aceites de 48 frituras.

#### **4.1.11. Concentraciones séricas de elementos traza**

Los valores de hierro y cobre no mostraron diferencias. Sin embargo, la ingesta de aceite de oliva, respecto a la de girasol, condicionó una concentración sérica de zinc superior (tabla 17, pág. 144).

#### **4.1.12. Valores de TIBC y hemoglobina. Contenido y concentración de hierro en hígado, bazo, piel y hematíes**

No aparecieron diferencias significativas en los resultados de TIBC y hemoglobina (tabla 25, pág. 152).

Tampoco se observaron modificaciones en los pesos de hígados y bazos ni en los contenidos absolutos y relativos de hierro en dichos órganos (tabla 22, pág. 149). La concentración del elemento en la piel tampoco presentó diferencias. Las únicas variaciones se observaron en la concentración de hierro en hematíes, apareciendo diferencias debidas al tipo de aceite, ya que fueron superiores en el caso del aceite de girasol.

#### **4.1.13. Contenido y concentración de zinc en hígado, bazo, piel y hematíes**

Bajo el consumo de los aceites fritos 48 veces se originó un aumento en la cantidad de zinc del hígado, aunque las concentraciones no se alteraron. Los valores del metal en bazo y piel no presentaron diferencias. En el caso de la concentración de zinc en hematíes se observó una tendencia a incrementarse con el aceite de girasol, la cual únicamente fue significativa cuando en el ANOVA de 2 vías se incluyeron como aceites fritos los aceites con un 25% de compuestos polares (oliva frito 69F y girasol 48F) (tabla 23, pág. 150).

#### **4.1.14. Contenido y concentración de cobre en hígado, piel y hematíes**

No existieron diferencias significativas (tabla 24, pág. 151).

### **4.2. Aceite de oliva y oleína de palma (EXPERIMENTO II)**

#### **4.2.1. Ingesta, peso y eficacia alimentaria**

La ingesta alimentaria, evolución ponderal y el coeficiente de eficacia alimentaria no se modificó debido al tipo de aceite, o la fritura (tablas 26, 27 y 28, págs. 153, 154 y 155). Durante el período experimental la ingesta alimentaria y el peso de los animales aumentó en todos los grupos, mientras que la eficacia alimentaria disminuyó.

#### **4.2.2. Balances de calcio, fósforo y magnesio**

Las diferencias encontradas en los balances de los tres elementos mayoritarios fueron mínimas (tablas 29, 30 y 31, págs. 156, 157 y 158). En algunos parámetros relacionados con la absorción, dichas diferencias estuvieron al borde de la significación estadística. Así, se

observó una tendencia a incrementarse las eliminaciones fecales de **calcio** (tabla 29, pág. 156) en las ratas que tomaron aceite de palma crudo respecto al aceite de oliva, quedando en una posición intermedia los resultados referentes a palma frito ( $p=0.065$ ). La digestibilidad del **fósforo** (tabla 30, pág. 157) fue algo superior en el grupo que tomó aceite de palma frito frente al de oliva, mientras que el grupo alimentado con aceite de palma crudo ocupó una posición intermedia entre ambos ( $p<0.10$ ). En el caso del **magnesio** (tabla 31, pág. 158) la absorción aparente mostró también esta misma tendencia ( $p=0.070$ ), la cual se hizo significativa en el caso de la eficacia de absorción (%A/I).

#### **4.2.3. Contenido y concentración de calcio, fósforo y magnesio en carcasas**

No hubo variaciones en el peso de las carcasas ni en sus contenidos absolutos y relativos de calcio, fósforo y magnesio (tabla 32, pág. 159). No obstante, las concentraciones de estos elementos fueron ligeramente inferiores en el caso del grupo palma crudo frente a oliva crudo y palma frito, quedando la del magnesio en el límite de significación estadística establecida ( $p= 0.055$ ).

#### **4.2.4. Concentraciones séricas de calcio y magnesio**

No se apreciaron diferencias significativas entre grupos en las concentraciones séricas de calcio y magnesio en el último día del experimento (tabla 33, pág. 160).

#### **4.2.5. Balances de hierro, zinc y cobre**

El balance de **hierro** no mostró diferencias significativas (tabla 34, pág. 161). Respecto al balance de **zinc** solamente aparecieron diferencias significativas en la excreción fecal,

observándose una excreción superior en el grupo palma crudo, respecto al oliva (tabla 35, pág. 162). En el caso del **cobre** tampoco se observaron diferencias (tabla 36, pág. 163).

#### **4.2.6. Contenido y concentración de hierro, zinc y cobre en carcasas**

Los resultados no reflejan diferencias significativas (tabla 37, pág. 164).

#### **4.2.7. Concentraciones séricas de hierro, zinc y cobre**

Las diferencias entre grupos no fueron significativas (tabla 33, pág. 160).

#### **4.2.8. Valores de TIBC y hemoglobina. Contenido y concentración de hierro en hígado, bazo, piel y hematíes**

Las cantidades y concentraciones del elemento en hígado, bazo, piel y hematíes no variaron significativamente (tabla 38, pág. 165).

Los valores de TIBC y hemoglobina fueron similares en los tres grupos (tabla 41, pág. 168).

#### **4.2.9. Contenido y concentración de zinc en hígado, bazo, piel y hematíes**

No se encontraron variaciones en el peso hepático, sin embargo se produjo una pequeña disminución del contenido de zinc en el hígado en los dos grupos de ratas que consumieron aceite de palma, produciéndose una ligera disminución de la concentración del

metal en el grupo palma crudo respecto al oliva ( $p < 0.10$ ). En el resto de los parámetros no se observaron modificaciones (tabla 39, pág. 166).

#### **4.2.10. Contenido y concentración de cobre en hígado, piel y hematies**

Al igual que en caso del zinc, las diferencias observadas no llegaron a ser estadísticamente significativas, aunque se apreciaron ligeras modificaciones en la concentración hepática de cobre, al nivel del 10%, siendo superior en el grupo palma crudo respecto a palma frito (tabla 40, pág. 167).

### **4.3. Grasa de sardinas crudas y fritas (EXPERIMENTO III)**

#### **4.3.1. Ingesta, peso y eficacia alimentaria**

Los tres grupos de animales presentaron **ingestas alimentarias** diferentes significativamente como revela el ANOVA de los coeficientes de regresión (tabla 42, pág. 169). La mayor ingesta correspondió al grupo de ratas alimentado con la dieta que contenía grasa de sardina frita, mientras que el grupo que consumió la grasa de sardina cruda presentó valores más bajos de consumo de alimento ya desde la primera semana del experimento.

En correspondencia con la ingesta, la **evolución ponderal** siguió la misma pauta en los tres grupos de animales; es decir, el peso más elevado lo alcanzaron las ratas del grupo sardina frita y el menor peso el de los animales que consumieron la grasa de sardina cruda, obteniéndose diferencias significativas entre los tres grupos (tabla 43, pág. 170).

Los **coeficientes de eficacia** alimentaria resultaron diferentes significativamente en los tres grupos durante la primera semana del experimento. Y en las semanas posteriores el grupo de ratas que consumió la grasa de sardina cruda presentó valores de dicho coeficiente *significativamente inferiores* respecto a oliva y sardina frita (tabla 44, pág. 171).

### **4.3.2. Utilización del calcio**

#### **4.3.2.1. Ensayos *in vitro***

La tabla 45 (pág. 172) muestra los resultados de la digestibilidad *in vitro* del calcio de las dietas preparadas con aceite de oliva, grasa de sardina cruda y grasa de sardina frita para cada hora de la digestión intestinal, expresados como porcentaje de calcio dializado, no dializado soluble y precipitado, respecto del total presente al final de la digestión gástrica. En la figura 2a (pág. 173) se representa para cada una de las dietas los mismos parámetros expresados como porcentaje medio de las tres horas, al objeto de globalizar los resultados y comparar más claramente las dietas.

La diálisis del calcio procedente de la dieta con aceite de oliva fue algo más baja, seguida de la que contenía grasa de sardina cruda y por último de la de sardina frita (fig. 2a, pág. 173), siendo las diferencias entre los tres valores significativas sólo en la 3ª hora (tabla 45, pág. 172). Las dos dietas que contenían grasa de sardina, respecto al aceite de oliva, mostraron una fracción de calcio no dializado soluble superior (fig. 2a, pág. 173), especialmente en la tercera hora (tabla 45, pág. 172). Por su parte, el calcio precipitado, como era de esperar, experimentó una evolución inversa respecto a la de las otras fracciones, ya que fue mayor con la dieta del aceite de oliva.

#### **4.3.2.2. Balance (tabla 46, pág. 174)**

Durante el primer período de balance todos los parámetros resultaron diferentes significativamente, tal como reveló el ANOVA de 1 vía, a excepción de la utilización nutritiva global (%R/I). La cantidad de calcio ingerida fue distinta en los tres grupos de animales, siendo el grupo que consumió la grasa de sardina frita el que presentó valores de ingesta cálcica más elevados y el grupo sardina cruda los más bajos. La eliminación de calcio por heces fue menor en las ratas alimentadas con la grasa procedente de las sardinas crudas, resultando el coeficiente de digestibilidad superior respecto a los grupos oliva y sardina frita.

La cantidad absorbida del elemento sólo se mostró significativamente más elevada en el grupo sardina frita, siendo el %A/I similar al control oliva. La excreción urinaria de calcio fue mayor en el grupo sardina cruda, pero sus valores de retención no difirieron significativamente de los de oliva y sólo resultaron superiores los de los animales que consumían la grasa de sardina frita. Por último, el porcentaje de calcio retenido respecto del absorbido fue inferior en el caso de la grasa de sardina cruda, respecto a los otros dos grupos.

En el segundo período de balance, la ingesta cálcica de los animales fue superior respecto al primero, como también fueron más elevadas las pérdidas fecales. La cantidad ingerida, eliminada por heces y absorbida fue inferior en el grupo que consumió la grasa de sardina cruda en comparación con los otros dos, que no mostraron diferencias entre sí. Sin embargo, la digestibilidad quedó similar en los tres grupos. La eliminación urinaria del catión en el control oliva aumentó en el segundo período, aunque las mayores pérdidas se produjeron nuevamente por el consumo de la grasa de sardina cruda, lo que condicionó una retención diaria del metal inferior respecto a los otros dos grupos e, incluso, en comparación con el primer período de estudio. Esto afectó tanto la utilización metabólica, %R/A, como la nutritiva global, %R/I. En conjunto, los coeficientes R/I fueron inferiores en el segundo que en primer período de balance.

### **4.3.3. Utilización del fósforo**

#### **4.3.3.1. Ensayos *in vitro***

El fósforo dializado, no dializado soluble y precipitado globalmente no mostró variaciones entre las tres dietas empleadas durante la digestión *in vitro* (fig. 2b, pág. 173). Únicamente se observó una elevación de la diálisis del elemento con la dieta con grasa de sardina frita para la 1ª y 3ª hora de la digestión (tabla 47, pág. 175).

#### **4.3.3.2. Balance (tabla 48, pág. 176)**

La cantidad de fósforo ingerido durante el primer período de balance fue distinta en los tres grupos de animales; mayor en el grupo sardina frita y menor en el sardina cruda, la excreción fecal siguió la misma tónica, y ambos parámetros dieron como resultado valores de fósforo absorbido en consonancia, es decir, la mayor absorción correspondió a los animales que tomaron la grasa de sardina frita y los menores valores los presentaron las ratas alimentadas con la grasa de sardina cruda. En cambio, el valor del coeficiente de digestibilidad aparente (%A/I) se igualó en los grupos oliva y sardina frita, y resultó significativamente mayor en sardina cruda. La eliminación urinaria de fósforo fue superior en el grupo sardina frita respecto a oliva y los valores menores de retención se obtuvieron en el grupo sardina cruda. Por último la utilización metabólica y la utilización nutritiva global no mostraron diferencias significativas entre grupos.

En el segundo período, la ingesta de fósforo fue también inferior en el grupo sardina cruda respecto a oliva y sardina frita y los tres grupos presentaron valores superiores a los del primer balance. La excreción fecal se mostró paralela a la ingesta, aunque con valores absolutos mayores que en el primer período. La eliminación urinaria resultó menor en el grupo sardina cruda respecto a los otros dos, y éstos excretaron cantidades superiores a los del primer balance. La retención del elemento resultó menor en el grupo sardina cruda, aunque en los tres grupos el fósforo retenido no difirió del alcanzado en el primer período. Los coeficientes %R/A y %R/I no mostraron diferencias significativas entre grupos pero fueron inferiores a los del anterior balance, excepto el %R/A de sardina cruda, cuya diferencia no alcanzó significación estadística.

#### **4.3.4. Utilización del magnesio**

##### **4.3.4.1. Ensayos *in vitro***

La cantidad de magnesio dializada en el transcurso de la digestión de tres dietas fue muy similar. Sin embargo, la fracción no dializada soluble tendió a ser mayor con las que incluían grasa de sardina, lo que se asoció con una menor proporción de precipitado, de forma más marcada en el caso de la grasa frita (tabla 49, pág. 177 y fig. 3a, pág. 178).

##### **4.3.4.2. Balance (tabla 50, pág. 179)**

En el primer balance el magnesio ingerido alcanzó diferencias significativas en todos los grupos de animales, siendo mayor la ingesta del elemento en los alimentados con la grasa de sardina frita y menor en los que ingirieron la de sardina cruda. La eliminación fecal fue similar en los grupos oliva y sardina cruda y sólo el grupo sardina frita excretó mayor cantidad de magnesio. Como consecuencia, la absorción del elemento fue más baja en las ratas alimentadas con la grasa de pescado crudo aunque la utilización digestiva se igualó en todos los grupos. El magnesio urinario no presentó diferencias entre grupos, pero la retención fue inferior en el grupo sardina cruda. No se observaron diferencias significativas en la utilización metabólica y nutritiva global.

En el segundo balance, la ingesta del elemento se igualó en oliva y sardina frita, siendo inferior en sardina cruda y todos los grupos ingirieron cantidades de magnesio superiores al primer balance. El magnesio fecal fue distinto en los 3 grupos; mayor en el grupo sardina frita y menor en sardina cruda, ya que éste último presentó valores de excreción fecal iguales al primer balance, mientras que los otros dos grupos excretaron mayor cantidad de magnesio que en el periodo anterior. La absorción de magnesio fue inferior en los animales alimentados con grasa de sardina cruda, aunque en los 3 grupos los animales absorbieron mayor cantidad de magnesio que en el primer balance. El coeficiente de digestibilidad aparente (%A/I) siguió la misma tónica, pero en este caso los valores no fueron diferentes de

los del primer período. La excreción urinaria del metal fue más elevada que en el balance anterior y el grupo sardina cruda fue el que eliminó menos cantidad respecto a los otros grupos. Sin embargo, los valores de magnesio retenido no variaron entre grupos ni respecto al primer balance. El porcentaje retenido del absorbido y la utilización nutritiva global fueron mayores en el grupo sardina cruda respecto a sardina frita. Ambos parámetros resultaron inferiores respecto al primer período en los grupos oliva y sardina cruda.

#### **4.3.5. Contenido y concentración de calcio, fósforo y magnesio en carcasas**

Los contenidos de calcio y fósforo fueron inferiores significativamente en el grupo de ratas alimentadas con las dietas que contenían grasa de sardina cruda pero sus concentraciones más elevadas (tabla 51, pág. 180). En cuanto al magnesio los contenidos absolutos en la carcasa se mostraron también menores en este grupo de animales respecto a los otros, pero la concentración resultó superior sólo frente al grupo sardina frita.

#### **4.3.6. Concentraciones séricas de calcio y magnesio**

No aparecieron diferencias significativas en los valores de calcio y magnesio en suero para ninguno de los grupos experimentales (tabla 52, pág. 181).

#### **4.3.7. Utilización del hierro**

##### **4.3.7.1. Ensayos *in vitro***

El porcentaje de hierro dializado fue superior cuando la dieta contenía grasa de sardina cruda respecto a oliva (fig. 3b, pág. 178), de forma significativa en la tercera hora, y pudiéndose observar ya esta tendencia en la primera y segunda hora (tabla 53, pág. 182). Así mismo, la fracción de hierro no dializado soluble fue también inferior con la dieta que

contenía aceite de oliva respecto a las que tenían grasa de sardina (Fig. 3b, pág. 178), aunque en la tercera hora no llegó a alcanzar significación estadística (tabla 53, pág. 182). En concordancia con ambas fracciones, el hierro precipitado fue inferior en la dieta que contenía grasa de sardina frita.

#### **4.3.7.2. Balance (tabla 54, pág. 183)**

Todos los parámetros resultaron con diferencias significativas durante el primer período de balance, tal como muestra el análisis de varianza de una vía y los test de pares efectuados. Los valores de ingesta férrica fueron distintos en los tres grupos experimentales, siguiendo la misma tendencia que se ha descrito para los otros minerales. La eliminación fecal del elemento fue superior en el grupo sardina frita respecto a oliva y sardina cruda. Los datos más bajos de absorción los presentaron los animales que consumían la dieta conteniendo la grasa de sardina cruda y los más elevados el grupo sardina frita, pero los coeficientes de digestibilidad en los grupos oliva y sardina frita se igualaron, siendo significativamente diferentes del de sardina cruda, que presentó el valor más bajo. La cantidad del metal eliminada por orina fue superior en las ratas alimentadas con la grasa de pescado crudo, que fueron las que retuvieron menos hierro, seguidas de las que tomaron aceite de oliva y, por último de las que ingirieron grasa de sardina frita. Así, los coeficientes %R/A y %R/I resultaron también menores en los animales que ingirieron la dieta con grasa de sardina cruda, no hallándose diferencias entre oliva y sardina frita.

Durante el segundo período de balance la ingesta mostró la misma tendencia que en el primero, pero con valores mayores significativamente. El hierro fecal y el absorbido fue inferior en el grupo sardina cruda. Respecto al primer período de balance, la ingesta y la eliminación fecal fueron superiores en los tres grupos, y la cantidad absorbida inferior. Sin embargo, los coeficientes de digestibilidad aparente, que se igualaron en los tres grupos experimentales, mostraron valores más bajos que en el período anterior. El hierro eliminado por orina siguió la misma tendencia que en el primer balance, y con respecto a éste, los

grupos oliva y sardina frita excretaron cantidades más altas. La retención férrica resultó inferior en el grupo sardina cruda, con valores inferiores en comparación con el primer periodo en todos los grupos. La utilización metabólica del elemento mostró la misma evolución para los tres grupos que en el periodo anterior pero con valores significativamente más bajos, y la utilización nutritiva global fue similar para todos los grupos experimentales aunque también mucho menor que en el primer balance.

#### **4.3.8. Utilización del zinc**

##### **4.3.8.1. Ensayos *in vitro***

El zinc total dializado durante las tres horas de digestión no mostró diferencias (fig. 4, pág. 185), aunque la dieta que contenía sardina cruda, seguida de la de sardina frita, presentó el porcentaje de diálisis más elevado, y como puede observarse en la tabla 55 (pág. 184), la dieta de sardina cruda tuvo porcentajes del elemento dializado más elevados que la dieta oliva a lo largo de las tres horas de digestión. La fracción no dializada soluble del elemento no mostró variaciones, pero el porcentaje de zinc precipitado fue inferior en la dieta que contenía grasa de sardina frita respecto a oliva (fig. 4, pág. 185; tabla 55, pág. 184).

##### **4.3.8.2. Balance (tabla 56, pág. 186)**

En el primer balance el zinc ingerido se comportó de idéntico modo que el resto de elementos, siendo diferente en los tres grupos. La eliminación fecal más baja la presentaron las ratas alimentadas con grasa de sardina cruda y las cantidades absorbidas fueron significativamente más elevadas en el grupo sardina frita respecto a oliva y sardina cruda, aunque el porcentaje de zinc absorbido respecto del ingerido no ofreció diferencias entre grupos. El zinc urinario se incrementó en las ratas que tomaban en su dieta la grasa de pescado crudo y los valores de retención del catión fueron distintos en los tres grupos, obteniendo el de sardina frita la retención más alta y la más baja el grupo sardina cruda. Este

último presentó valores de %R/A significativamente menores que los de las ratas que tomaban aceite de oliva y la utilización nutritiva global no sufrió variaciones.

En el segundo balance todos los parámetros mostraron diferencias muy significativas. La ingesta siguió la misma tendencia que en el primero, con los valores superiores para sardina frita y los menores para sardina cruda, y en todos los grupos los animales ingirieron más zinc que en el balance anterior. Las eliminaciones fecales, en relación con el primer balance, fueron superiores en los grupos oliva y sardina frita, particularmente en este último, de modo que la cantidad absorbida fue inferior a la de los otros. Ello afectó la digestibilidad que fue en este grupo inferior al 11%, diferente significativamente a la de los otros grupos y en relación con la del primer período de balance; obteniendo el grupo sardina cruda el valor más alto. La absorción absoluta de zinc en este grupo fue más alta que en el primer período. A pesar de esto las variaciones en la retención fueron similares a las encontradas en la absorción. Sin embargo, la cantidad de zinc excretado por vía urinaria fue más elevada en el grupo sardina cruda, respecto a los demás, y frente al primer balance oliva y sardina frita mostraron valores más altos. La utilización metabólica resultó menor en el grupo sardina frita que, junto con el de oliva, presentó porcentajes inferiores a los del primer período, por el contrario los de la sardina cruda fueron significativamente más elevados. Por último, la utilización nutritiva global sufrió variaciones significativas en todos los grupos, siendo el valor más alto el correspondiente a sardina cruda.

#### **4.3.9. Balance de cobre (tabla 57, pág. 187)**

El cobre ingerido y el eliminado por vía fecal fue diferente en los tres grupos de animales durante el primer período, de modo que las ratas alimentadas con grasa de sardina frita fueron las que comieron más, excretaron mayor cantidad de cobre por heces y presentaron los mayores valores del elemento absorbido, mientras que las que menos comieron y menos excretaron fueron las que ingirieron la grasa de pescado crudo, que mostraron una digestibilidad superior.

En el segundo balance, la ingesta y la excreción fecal de cobre fueron inferiores en el grupo sardina cruda, y todos los grupos presentaron valores más altos de ambos parámetros respecto al primer periodo de balance. El cobre absorbido también fue menor en sardina cruda, pero en este caso sólo el grupo de animales que ingerían como fuente grasa aceite de oliva, alcanzó valores superiores de absorción respecto al período anterior. El porcentaje absorbido del ingerido no mostró diferencias significativas entre grupos, pero todos tuvieron valores inferiores a los del primer balance.

#### **4.3.10. Contenido y concentración de hierro, zinc y cobre en carcasas (tabla 58, pág. 188)**

El zinc contenido en las carcasas de los animales no presentó diferencias significativas entre grupos, ni en cantidad absoluta ni en concentración. La cantidad de hierro resultó inferior en el grupo sardina cruda frente a oliva y sardina frita, pero las concentraciones férricas no fueron diferentes. El cobre en valor absoluto fue superior en el grupo sardina frita frente a sardina cruda, pero en valor relativo, el grupo sardina cruda tuvo mayores valores frente a oliva y sardina frita.

#### **4.3.11. Concentraciones séricas de hierro, zinc y cobre**

Las concentraciones de elementos traza en suero no variaron significativamente por el tipo de grasa dietética ingerida (tabla 52, pág. 181).

#### **4.3.12. Concentraciones de TIBC y hemoglobina**

Ambos parámetros resultaron significativamente diferentes en el grupo de animales que consumió la grasa de sardina cruda respecto a los que tomaron aceite de oliva o grasa de sardina frita: la TIBC (capacidad total de fijación de hierro) se incrementó y la hemoglobina disminuyó (tabla 62, pág. 192).

#### **4.3.13. Contenido y concentración de hierro en hígado, bazo, piel y hematíes**

El peso del hígado y la cantidad de hierro total y relativa en este órgano fue muy inferior en los animales alimentados con grasa de sardina cruda respecto a los otros dos grupos (tabla 59, pág. 189). Los pesos de los bazos, así como la cantidad de hierro total presente en los mismos, mostraron diferencias significativas en los tres grupos de animales, siendo los del sardina frita los que contenían mayor cantidad del elemento y los del sardina cruda menor. Sin embargo, a nivel de concentraciones los bazos de los tres grupos tuvieron valores similares. El contenido relativo de hierro en la piel resultó superior en el grupo sardina cruda, mientras que en relación a la concentración del metal en hematíes, el ANOVA reveló diferencias al borde de la significación estadística ( $p=0.052$ , ANOVA de 1 vía), y el test de pares realizado (Bonferroni) señaló que éste parámetro era inferior en los animales que tomaron la grasa de pescado respecto a los que se alimentaron con aceite de oliva.

#### **4.3.14. Contenido y concentración de zinc en hígado, bazo, piel y hematíes**

Los contenidos totales de zinc en hígado fueron diferentes significativamente en todos los grupos experimentales; mayores en sardina frita y menores en sardina cruda, sin embargo, las concentraciones del elemento en este órgano sólo fueron significativamente superiores en el grupo sardina frita respecto al de la cruda (tabla 60, pág. 190). Las concentraciones del elemento en el bazo no sufrieron modificaciones, pero sí las cantidades totales que de nuevo

resultaron superiores en sardina frita frente a sardina cruda. En cuanto a la concentración del cation en la piel fue superior en sardina cruda frente a frita, y el zinc de los hematíes se incrementó significativamente en los animales que ingerían la grasa de pescado crudo, respecto a los otros dos grupos experimentales.

#### **4.3.15. Contenido y concentración de cobre en hígado, piel y hematíes**

El análisis de varianza de 1 vía efectuado no dio diferencias significativas en el cobre de hígado, ni en valores absolutos ni en relativos, aunque cabe destacar que en el grupo sardina cruda sí hubo una tendencia (10% de significación  $p < 0.10$ ) a incrementar la concentración del elemento en este órgano al compararlo con el grupo sardina frita (tabla 61, pág. 191). La concentración de cobre en la piel fue superior en sardina cruda frente a sardina frita y el cobre acumulado en hematíes también respecto a los otros dos grupos.



**TABLA 10. - INGESTA ALIMENTARIA (g/día)**

GRUPOS	DIAS 1-7	DIAS 7-14	DIAS 14-21	DIAS 21-28	r
Oliva crudo	8.72±0.24	12.42±0.14	15.45±0.42	16.00±0.67	0.8797
Oliva frito (48F)	8.82±0.29	12.63±0.27	15.61±0.42	17.29±0.81	0.8946
Oliva frito (69F)	9.25±0.20	12.73±0.42	15.13±0.59	16.63±0.90	0.8314
Girasol crudo	8.30±0.16	12.13±0.30	14.76±0.46	16.01±0.72	0.8848
Girasol frito (48F)	8.76±0.30	12.30±0.22	14.91±0.35	17.19±0.61	0.9295

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de coeficientes de regresión entre grupos).

TABLA 11.- EVOLUCION PONDERAL (g)

GRUPOS	DIA 1	DIA 7	DIA 14	DIA 21	DIA 28	r
Oliva crudo	40.21±0.34	61.76±2.30	95.96±2.25	134.72±3.38	170.58±6.56	0.9587
Oliva frito (48F)	40.11±0.36	63.96±1.67	98.08±2.79	135.67±4.15	174.70±8.48	0.9399
Oliva frito (69F)	40.16±0.40	63.60±1.18	97.08±3.05	132.05±4.12	171.18±7.81	0.9423
Girasol crudo	40.13±0.43	64.04±1.00	96.48±2.76	131.89±4.85	170.38±7.81	0.9387
Girasol frito (48F)	40.15±0.37	63.03±1.53	97.37±2.38	134.99±3.54	172.88±6.45	0.9607

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de coeficientes de regresión entre grupos).

**TABLA 12.- COEFICIENTE DE EFICACIA ALIMENTARIA**

GRUPOS (n=10)	DIAS 1-7	DIAS 7-14	DIAS 14-21	DIAS 21-28
Oliva crudo	0.37±0.04	0.42±0.02	0.38±0.02	0.33±0.02
Oliva frito (48F)	0.41±0.02	0.41±0.01	0.37±0.01	0.34±0.03
Oliva frito (69F)	0.39±0.02	0.40±0.02	0.35±0.02	0.35±0.02
Girasol crudo	0.44±0.01	0.42±0.02	0.39±0.01	0.36±0.02
Girasol frito (48)	0.44±0.01	0.42±0.01	0.38±0.01	0.33±0.02

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos, influencia del tiempo  $p < 0.001$  (ANOVA de medidas repetidas).

TABLA 13.- BALANCE DE CALCIO

GRUPOS	INGERIDO	FECAL	URINARIO	ABSORBIDO	RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva crudo	97.92±4.12	38.15±1.83	1.91±0.31	59.57±2.92	57.86±2.83	60.97±1.22	96.83±0.47	59.02±1.13
Oliva frito (48F)	105.80±4.96	40.43±2.03	2.10±0.17	65.37±3.42	63.28±3.32	61.71±1.01	96.80±0.21	59.73±0.97
Oliva frito (69F)	101.78±5.55	40.90±2.62	2.27±0.29	60.88±3.53	58.61±3.32	59.86±1.26	96.35±0.35	57.67±1.16
Girasol crudo	97.96±4.39	36.47±1.97	1.95±0.21	61.48±3.01	59.54±2.81	62.79±1.31	96.90±0.20	60.84±1.24
Girasol frito (48F)	105.19±3.76	38.13±1.58	2.17±0.30	67.06±3.34	64.89±3.36	63.57±1.44	96.68±0.46	61.48±1.54
<b>ANOVA 2 vías<sup>1</sup></b>								
Tipo	NS	NS	NS	NS	NS	p=0.042	NS	p=0.034
% polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Tipo x % polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

<sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (69F), girasol crudo y girasol frito (48F).

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, n° frituras).

**TABLA 14.- BALANCE DE FÓSFORO**

GRUPOS	INGERIDO	FECAL	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO	RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva crudo	92.32±3.88	22.28±0.87	22.38±1.66	70.04±3.34	47.66±2.90	75.72±0.80	67.89±2.03	51.46±1.83
Oliva frito (48F)	99.75±4.68	23.64±1.64	24.63±1.69	76.11±3.62	51.48±3.36	76.35±1.08	67.38±1.90	51.50±1.88
Oliva frito (69F)	95.96±5.23	23.80±1.67	25.42±1.21	72.16±3.94	46.74±3.11	75.23±0.88	64.51±1.09	48.50±0.82
Girasol crudo	92.36±4.14	21.67±1.21	21.28±1.68	70.68±3.43	49.40±2.95	76.50±1.03	69.77±2.18	53.44±2.01
Girasol frito (48F)	99.17±3.54	22.59±1.07	22.43±2.00	75.59±3.00	54.15±4.04	77.18±0.85	70.05±3.13	54.12±2.65

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, n<sup>o</sup> frituras; tipo, % polares).

TABLA 15.- BALANCE DE MAGNESIO

GRUPOS	INGERIDO	FECAL	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO	RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva crudo	6.73±0.28	2.54±0.17	2.10±0.24	4.19±0.29 <sup>a</sup>	2.09±0.18	61.93±2.79	50.72±3.75	31.17±2.54
Oliva frito (48F)	7.27±0.34	2.34±0.17	2.48±0.23	4.94±0.31 <sup>b</sup>	2.45±0.20	68.02±1.36	49.88±3.41	33.79±2.12
Oliva frito (69F)	6.99±0.38	2.18±0.14	2.58±0.17	4.82±0.31 <sup>ab</sup>	2.24±0.18	68.77±1.57	46.39±1.85	31.84±1.33
Girasol crudo	6.73±0.30	2.27±0.18	2.11±0.18	4.46±0.27	2.35±0.23	66.22±2.60	52.19±3.47	34.67±2.81
Girasol frito (48F)	7.23±0.26	2.14±0.11	2.46±0.26	5.09±0.28 <sup>*</sup>	2.63±0.32	70.06±1.84 <sup>*</sup>	51.09±4.65	35.70±3.44
<b>ANOVA 2 vías <sup>1</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
nº fritura	NS	NS	NS	p=0.014	NS	p=0.032	NS	NS
tipo x nº fritura	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>ANOVA 2 vías <sup>2</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
% polares	NS	NS	NS	p=0.035	NS	p=0.024	NS	NS
tipo x % polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar

<sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (48F), girasol crudo y girasol frito (48F).

<sup>2</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (69F), girasol crudo y girasol frito (48F).

Letras distintas indican diferencias significativas entre los 3 grupos de aceite de oliva (p<0.05) ANOVA 1 vía.

\* Diferencias significativas entre los 2 grupos de aceite de girasol (p<0.05) ANOVA 1 vía.

**TABLA 16.- CONTENIDO Y CONCENTRACIÓN DE Ca, P y Mg EN CARCASAS**

GRUPOS	PESO	Ca		P		Mg	
	(g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)
Oliva crudo	129.2±6.7	948.7±58.9	7.34±0.24	672.0±33.9	5.21±0.16	42.83±2.50	0.33±0.01
Oliva frito (48F)	133.9±3.9	988.8±11.7	7.40±0.17	695.8±9.9	5.21±0.09	45.94±1.81	0.34±0.01
Oliva Frito (69F)	131.9±3.5	945.0±22.6	7.17±0.09	676.8±21.3	5.13±0.09	44.49±1.11	0.34±0.01
Girasol crudo	134.9±2.6	1003.8±38.0	7.45±0.28	712.5±14.9	5.29±0.11	46.31±1.12	0.34±0.01
Girasol frito (48F)	137.5±3.6	989.2±33.6	7.19±0.11	718.7±19.1	5.24±0.13	47.37±1.51	0.35±0.00

Valores medios de 5 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, nº frituras: tipo, % polares).

TABLA 17.- CONCENTRACIONES SÉRICAS DE Ca, Mg, Fe, Zn y Cu

GRUPO	CALCIO (mg/dl)	MAGNESIO (mg/dl)	HIERRO (µg/ml)	ZINC (µg/ml)	COBRE (µg/ml)
Oliva crudo	11.91±0.72 (n=5)	2.00±0.19 (n=5)	3.00±0.26 (n=6)	1.33±0.11 (n=7)	1.02±0.06 (n=7)
Oliva frito (48F)	12.21±0.59 (n=6)	1.97±0.05 (n=6)	2.96±0.13 (n=9)	1.30±0.11 (n=9)	0.99±0.06 (n=7)
Oliva frito (69F)	12.32±0.42 (n=5)	2.13±0.13 (n=5)	2.90±0.21 (n=7)	1.47±0.10 (n=8)	0.92±0.06 (n=6)
Girasol crudo	11.80±0.79 (n=5)	1.93±0.03 (n=5)	2.82±0.14 (n=10)	1.19±0.08 (n=9)	0.98±0.07 (n=8)
Girasol frito (48F)	11.69±0.34 (n=7)	1.90±0.03 (n=6)	2.44±0.14 (n=10)	1.26±0.06 (n=10)	1.00±0.08 (n=9)
<b>ANOVA 2 vías<sup>1</sup></b>					
Tipo	NS	NS	NS	p=0.044	NS
% polares	NS	NS	NS	NS	NS
tipo x % polares	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios ± error estándar. n: número de determinaciones por grupo.

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, n° de frituras).

<sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (69F), girasol crudo y girasol frito (48F).

TABLA 18.- BALANCE DE HIERRO

GRUPOS	INGERIDO	FECAL	URINARIO	ABSORBIDO	RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
	(mg/día)		(µg/día)	(mg/día)				
Oliva crudo	0.90±0.04	0.59±0.03	30.4±2.1	0.31±0.03	0.28±0.03	34.25±2.46	89.33±1.30	30.84±2.56
Oliva frito (48F)	0.98±0.05	0.62±0.02	37.0±3.0	0.35±0.04	0.32±0.04	35.30±2.46	88.28±1.65	31.43±2.54
Oliva frito (69F)	0.94±0.05	0.63±0.04	30.4±2.7	0.31±0.03	0.28±0.03	33.05±2.13	89.65±1.07	29.74±2.12
Girasol crudo	0.90±0.04	0.60±0.03	28.2±2.6	0.30±0.04	0.27±0.04	32.52±2.85	89.11±1.79	29.34±2.98
Girasol frito (48F)	0.97±0.03	0.62±0.03	35.2±3.6*	0.36±0.03	0.32±0.03	36.29±2.27	89.51±1.33	32.68±2.44
<b>ANOVA 2 vías<sup>1</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
nº fritura	NS	NS	p=0.025	NS	NS	NS	NS	NS
tipo x nº fritura	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

<sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (48F), girasol crudo y girasol frito (48F).

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, % polares)

\* Diferencias significativas entre los 2 grupos de aceite de girasol (p<0.05) ANOVA 1 vía.

TABLA 19.- BALANCE DE ZINC

GRUPOS	INGERIDO	FECAL	URINARIO (µg/día)	ABSORBIDO	RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva crudo	485.5±21.4	349.6±41.4	25.1 ±3.6 <sup>a</sup>	135.9±55.4	110.8±58.5	<31.80±6.87	<68.47±13.15	<28.57±6.49
Oliva frito (48F)	508.6±25.2	439.1±39.3	35.7±5.5 <sup>b</sup>	69.6±27.2	33.9±31.1	<15.97±4.19	<45.11±12.70	<11.09±3.86
Oliva frito (69F)	481.3±23.9	402.0±38.8	29.8±4.5 <sup>ab</sup>	79.3±39.4	49.4±42.7	<21.09±4.30	<62.34±12.02	<17.18±3.74
Girasol crudo	479.4±24.0	371.2±27.7	23.2±2.3	108.2±21.3	85.0±22.6	22.65±3.96	69.19±8.63	17.78±4.25
Girasol frito (48F)	507.9±19.1	396.3±24.5	37.6±4.4 <sup>*</sup>	111.5±33.1	74.0±30.5	20.02±6.08	<52.14±10.73	<14.76±4.99 <sup>*</sup>
<b>ANOVA 2 vías<sup>1</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
nº fritura	NS	NS	p=0.005	NS	NS	NS	NS	p=0.049
tipo x nº fritura	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>ANOVA 2 vías<sup>2</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
% polares	NS	NS	p=0.017	NS	NS	NS	NS	NS
tipo x % polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar. <sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (48F), girasol crudo y girasol frito (48F).

<sup>2</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (69F), girasol crudo y girasol frito (48F). Letras distintas indican diferencias significativas entre los 3 grupos de aceite de oliva (p<0.05) ANOVA 1 vía. \* Diferencias significativas entre los 2 grupos de aceite de girasol (p<0.05) ANOVA 1 vía.

**TABLA 20.- BALANCE DE COBRE**

GRUPOS	INGERIDO	FECAL ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	ABSORBIDO	% A/I
Oliva crudo	131.25 $\pm$ 5.52	108.15 $\pm$ 4.63	23.10 $\pm$ 2.80	17.45 $\pm$ 1.94
Oliva frito (48F)	143.63 $\pm$ 7.15	114.72 $\pm$ 4.87	28.91 $\pm$ 4.29	19.62 $\pm$ 2.36
Oliva frito (69F)	136.43 $\pm$ 7.43	112.30 $\pm$ 5.49	24.12 $\pm$ 3.56	17.31 $\pm$ 1.90
Girasol crudo	131.30 $\pm$ 5.89	108.99 $\pm$ 5.13	22.30 $\pm$ 3.60	16.68 $\pm$ 2.31
Girasol frito (48F)	140.99 $\pm$ 5.03	112.52 $\pm$ 3.24	28.48 $\pm$ 5.26	19.44 $\pm$ 3.15

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, n° frituras; tipo, % polares).

TABLA 21.- CONTENIDO Y CONCENTRACIÓN DE Fe, Zn y Cu EN CARCASAS

GRUPOS	PESO		Fe		Zn		Cu	
	(g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	(µg)	(µg/g)	
Oliva crudo	129.2±6.7	3.08±0.13 <sup>a</sup>	0.022±0.002 <sup>a</sup>	5.21±0.80	0.04±0.01	324.9±13.0	2.65±0.13 <sup>a</sup>	
Oliva frito (48F)	133.9±3.9	3.26±0.11 <sup>ab</sup>	0.022±0.002 <sup>a</sup>	6.61±0.93	0.05±0.01	323.0±22.2	2.37±0.13 <sup>b</sup>	
Oliva Frito (69F)	131.9±3.5	3.59±0.14 <sup>b</sup>	0.030±0.000 <sup>b</sup>	6.30±0.65	0.05±0.01	335.7±19.0	2.49±0.11 <sup>ab</sup>	
Girasol crudo	134.9±2.6	3.27±0.07	0.024±0.002	6.05±0.90	0.05±0.01	352.5±7.2	2.62±0.09	
Girasol frito (48F)	137.5±3.6	3.22±0.11	0.020±0.000	5.98±1.05	0.04±0.01	321.2±13.9	2.31±0.06 <sup>*</sup>	
<b>ANOVA 2 vías<sup>1</sup></b>								
Tipo	NS	NS	p=0.039	NS	NS	NS	NS	
% polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	p=0.031	
tipo x % polares	NS	p=0.030	p=0.007	NS	NS	NS	NS	

Valores medios de 5 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo. n° frituras).

<sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (69F), girasol crudo y girasol frito (48F).

Letras distintas indican diferencias significativas entre los 3 grupos de aceite de oliva (p<0.05) ANOVA 1 vía.

\* Diferencias significativas entre los 2 grupos de aceite de girasol (p<0.05) ANOVA 1 vía.

**TABLA 22.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE HIERRO EN HÍGADO, BAZO, PIEL Y HEMATÍES**

GRUPOS	HIGADO			BAZO			PIEL	HEMATÍES
	PESO (g)	(µg)	(µg/g)	PESO (g)	(µg)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)
Oliva crudo	8.23±0.94	587.4±68.3	82.0±14.4	0.44±0.03	114.8±12.8	259.9±15.5	16.2±2.5	891.0±48.1
Oliva frito (48F)	8.76±0.95	648.8±45.3	84.2±11.9	0.46±0.03	136.3±11.0	305.6±30.5	13.0±1.2	940.9±35.0
Oliva frito (69F)	8.64±0.77	611.5±44.7	80.0±12.4	0.44±0.03	131.2±14.2	298.8±22.7	14.0±2.3	927.6±50.9
Girasol crudo	7.86±0.80	659.1±52.4	89.5±9.3	0.45±0.03	112.4±3.6	255.6±14.3	14.5±2.3	957.8±28.9
Girasol frito (48F)	8.14±0.74	608.0±38.0	77.3±4.5	0.44±0.02	114.4±6.2	259.7±12.6	17.0±1.8	1018.6±13.4
<b>ANOVA 2 vías<sup>1</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	p=0.039
nº frituras	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
tipo x nº frituras	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>ANOVA 2 vías<sup>2</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	p=0.046
% polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
tipo x % polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

<sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (48F), girasol crudo y girasol frito (48F).

<sup>2</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (69F), girasol crudo y girasol frito (48F).

TABLA 23.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE ZINC EN HÍGADO, BAZO, PIEL Y HEMATÍES

GRUPOS	HIGADO			BAZO			PIEL	HEMATÍES
	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )
Oliva crudo	8.23±0.94	227.1±8.4 <sup>a</sup>	30.5±3.0	0.44±0.03	8.87±1.67	19.1±2.3	25.8±1.8	7.35±0.41
Oliva frito (48F)	8.76±0.95	255.3±11.4 <sup>b</sup>	31.7±2.9	0.46±0.03	8.83±1.35	19.8±3.5	24.5±0.9	7.51±0.37
Oliva frito (69F)	8.64±0.77	239.5±11.9 <sup>ab</sup>	29.6±2.8	0.44±0.03	7.73±0.69	18.0±2.0	24.2±2.1	7.05±0.47
Girasol crudo	7.86±0.80	227.6±10.6	30.4±1.7	0.45±0.03	7.41±0.76	16.2±1.0	28.6±2.4	7.59±0.46
Girasol frito (48F)	8.14±0.74	254.5±11.1 <sup>*</sup>	32.8±2.1	0.44±0.02	6.86±0.58	15.4±0.9	28.7±1.8	8.48±0.25
<b>ANOVA 2 vías<sup>1</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
n° frituras	NS	p=0.012	NS	NS	NS	NS	NS	NS
tipo x n° frituras	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
<b>ANOVA 2 vías<sup>2</sup></b>								
tipo	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	p=0.049
% polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
tipo x % polares	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar. <sup>1</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (48F), girasol crudo y girasol frito (48F).

<sup>2</sup>Grupos incluidos: oliva crudo, oliva frito (69F), girasol crudo y girasol frito (48F). Letras distintas indican diferencias significativas entre los 3 grupos de aceite de oliva ( $p < 0.05$ ) ANOVA 1 vía. \* Diferencias significativas entre los 2 grupos de aceite de girasol ( $p < 0.05$ ) ANOVA 1 vía.

**TABLA 24.-CONTENIDO Y CONCENTRACIÓN DE COBRE EN HÍGADO, PIEL Y HEMATÍES**

GRUPOS	HIGADO		PIEL		HEMATÍES
	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )
Oliva crudo	8.23 $\pm$ 0.94	58.1 $\pm$ 2.6	7.65 $\pm$ 0.60	2.84 $\pm$ 0.24	3.63 $\pm$ 0.50
Oliva frito (48F)	8.76 $\pm$ 0.95	59.5 $\pm$ 2.4	7.30 $\pm$ 0.57	2.75 $\pm$ 0.33	2.94 $\pm$ 0.29
Oliva frito (69F)	8.64 $\pm$ 0.77	60.7 $\pm$ 2.4	7.41 $\pm$ 0.57	2.78 $\pm$ 0.21	3.84 $\pm$ 0.39
Girasol crudo	7.86 $\pm$ 0.80	55.1 $\pm$ 2.8	7.40 $\pm$ 0.48	2.73 $\pm$ 0.18	3.57 $\pm$ 0.28
Girasol frito (48F)	8.14 $\pm$ 0.74	58.5 $\pm$ 3.1	7.73 $\pm$ 0.79	2.67 $\pm$ 0.15	3.86 $\pm$ 0.25

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, n° frituras; tipo, % polares).

**TABLA 25.- VALORES DE TIBC Y HEMOGLOBINA**

GRUPOS	TIBC (mg/l)	Hb (g/100 ml)
Oliva crudo	4.64±0.08	14.42±0.28
Oliva frito (48F)	4.89±0.11	13.97±0.39
Oliva frito (69F)	4.69±0.19	13.82±1.04
Girasol crudo	4.52±0.22	14.06±0.27
Girasol (48F)	4.56±0.13	14.19±0.09

Valores medios de 5 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas por ANOVA de 2 vías (tipo, n° frituras; tipo, % polares).

**TABLA 26.- INGESTA ALIMENTARIA (g/día)**

GRUPOS	DIAS 1-7	DIAS 7-14	DIAS 14-21	DIAS 21-28	r
Oliva	9.01±0.26	11.86±0.93	13.81±0.82	13.94±0.69	0.6370
Palma crudo	8.39±0.39	12.36±0.58	14.41±0.36	14.89±0.44	0.8421
Palma frito	8.42±0.17	12.07±0.52	13.89±0.54	14.84±0.34	0.8540

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de coeficientes de regresión entre grupos).

TABLA 27.- EVOLUCION PONDERAL (g)

GRUPOS	DIA 1	DIA 7	DIA 14	DIA 21	DIA 28	r
Oliva	40.19±0.38	64.85±1.43	95.58±3.98	125.52±6.39	152.77±6.88	0.9046
Palma crudo	40.26±0.29	62.75±1.57	95.00±4.40	128.27±3.21	157.73±4.60	0.9601
Palma frito	40.21±0.37	60.29±1.74	91.48±3.57	116.83±4.43	148.34±4.66	0.9431

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de coeficientes de regresión entre grupos).

Influencia del tiempo  $p < 0.001$ .

**TABLA 28.- COEFICIENTE DE EFICACIA ALIMENTARIA**

GRUPOS	DIAS 1-7	DIAS 7-14	DIAS 14-21	DIAS 21-28
Oliva	0.41±0.01	0.39±0.02	0.32±0.02	0.24±0.02
Palma crudo	0.41±0.03	0.41±0.02	0.35±0.02	0.24±0.03
Palma frito	0.36±0.03	0.39±0.02	0.27±0.03	0.26±0.03

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA medidas repetidas).

Influencia del tiempo  $p < 0.001$ .

TABLA 29 .- BALANCE DE CALCIO

GRUPO	INGERIDO	FECAL	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO	RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva	80.85±3.98	36.67±1.28	1.99±0.14	44.18±3.27	42.19±3.23	54.11±1.61	95.35±0.39	51.64±1.68
Palma crudo	86.34±2.58	43.40±2.16	1.94±0.27	42.94±2.07	41.00±2.21	49.76±1.82	95.27±0.80	47.49±2.00
Palma frito	86.08±1.99	39.68±2.20	1.88±0.23	46.41±2.89	44.53±2.93	53.73±2.62	95.74±0.70	51.56±2.75

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 30.- BALANCE DE FÓSFORO**

GRUPO	INGERIDO	FECAL	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO	RETENIDO	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva	73.19±3.60	19.19±0.63	21.77±2.18	53.99±3.18	32.22±3.80	73.48±0.90	58.33±4.92	43.06±3.83
Palma crudo	78.15±2.34	19.30±0.99	22.28±2.26	58.85±2.03	36.57±2.64	75.28±1.08	62.03±3.77	46.88±3.15
Palma frito	77.92±1.80	17.70±1.32	24.73±1.86	60.22±1.68	35.49±2.63	77.33±1.49	58.59±3.31	45.69±3.34

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

TABLA 31.- BALANCE DE MAGNESIO

GRUPO	INGERIDO (mg/día)	FECAL (mg/día)	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO (mg/día)	RETENIDO (mg/día)	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva	6.27±0.31	2.44±0.13	2.04±0.23	3.83±0.27	1.79±0.22	60.68±2.15 <sup>a</sup>	47.45±5.64	28.11±2.69
Palma crudo	6.70±0.20	2.42±0.17	2.27±0.28	4.28±0.25	2.01±0.21	63.68±2.58 <sup>ab</sup>	47.50±5.53	30.05±3.16
Palma frito	6.68±0.15	2.08±0.14	2.63±0.20	4.60±0.16	1.97±0.24	68.96±1.90 <sup>b</sup>	42.20±4.49	29.57±3.61
<b>ANOVA (grupo)</b>	NS	NS	NS	NS	NS	p=0.037	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (p<0.05).

**TABLA 32.- CONTENIDO Y CONCENTRACIÓN DE Ca, P y Mg EN CARCASAS**

GRUPOS	PESO		Ca		P		Mg	
	(g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	
Oliva	126.0±5.9	1283.0±75.6	10.16±0.13	876.9±44.6	6.96±0.12	46.20±2.50	0.37±0.01	
Palma crudo	131.6±1.9	1263.1±50.0	9.60±0.32	859.7±26.5	6.53±0.15	46.50±1.19	0.35±0.01	
Palma frito	123.4±7.5	1242.0±61.7	10.12±0.32	858.0±39.7	6.99±0.19	46.20±2.38	0.38±0.01	

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

TABLA 33.- CONCENTRACIONES SÉRICAS DE Ca, Mg, Fe, Zn y Cu

GRUPOS	CALCIO	MAGNESIO	HIERRO	ZINC	COBRE
	(mg/dl)			(µg/ml)	
Oliva	11.28±0.39 n=9	2.38±0.09 n=9	2.67±0.22 n=7	2.28±0.22 n=10	1.19±0.15 n=7
Palma crudo	11.16±0.59 n=9	2.30±0.08 n=9	2.44±0.29 n=9	1.95±0.10 n=9	1.16±0.07 n=9
Palma frito	11.80±0.44 n=10	2.18±0.06 n=10	2.21±0.20 n=8	1.86±0.10 n=10	1.12±0.03 n=8

Valores medios ± error estándar. n: n° de determinaciones por grupo.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 34.- BALANCE DE HIERRO**

GRUPO	INGERIDO (mg/día)	FECAL (mg/día)	URINARIO (µg/día)	ABSORBIDO (mg/día)	RETENIDO (mg/día)	% A/I	% R/A	% R/I
Oliva	0.76±0.04	0.50±0.02	15.9±1.1	0.26±0.02	0.24±0.02	33.38±1.36	93.37±0.74	31.24±1.49
Palma crudo	0.81±0.02	0.52±0.03	14.2±1.5	0.29±0.03	0.28±0.03	36.12±3.35	94.38±1.11	34.36±3.49
Palma frito	0.81±0.02	0.51±0.03	15.4±1.4	0.30±0.03	0.28±0.03	36.96±3.57	93.96±1.12	35.05±3.66

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

TABLA 35.- BALANCE DE ZINC

GRUPO	INGERIDO	FECAL	URINARIO (µg/día)	ABSORBIDO	RETENIDO	%A/I	%R/A	%R/I
Oliva	452.2±27.2	341.5±21.7 <sup>a</sup>	29.9±1.8	110.7±23.8	80.8±22.7	23.69±3.89	66.30±5.68	17.09±3.89
Palma crudo	486.0±14.5	414.3±12.4 <sup>b</sup>	32.1±1.0	71.7±19.2	39.6±18.5	15.61±2.74	51.08±8.58	9.74±2.27
Palma frito	484.6±11.2	366.8±16.1 <sup>ab</sup>	32.0±0.7	117.8±16.9	85.9±16.7	24.15±3.34	64.10±7.34	17.56±3.34
<b>ANOVA (grupo)</b>	NS	p=0.020	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (p<0.05).

**TABLA 36.- BALANCE DE COBRE**

GRUPO	INGERIDO ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	FECAL ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	ABSORBIDO ( $\mu\text{g}/\text{día}$ )	% A/I
Oliva	150.6 $\pm$ 7.4	90.1 $\pm$ 4.0	60.5 $\pm$ 5.0	39.82 $\pm$ 1.80
Palma crudo	160.8 $\pm$ 4.8	102.0 $\pm$ 3.8	58.8 $\pm$ 3.4	36.55 $\pm$ 1.65
Palma frito	160.3 $\pm$ 3.7	94.2 $\pm$ 5.0	66.1 $\pm$ 5.3	41.18 $\pm$ 2.95

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 37.- CONTENIDO Y CONCENTRACIÓN DE Fe, Zn y Cu EN CARCASAS**

GRUPOS	PESO		Fe		Zn		Cu	
	(g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	( $\mu$ g)	( $\mu$ g/g)	
Oliva	126.0 $\pm$ 5.9	2.93 $\pm$ 0.10	0.022 $\pm$ 0.002	6.22 $\pm$ 0.67	0.05 $\pm$ 0.00	291.0 $\pm$ 14.2	2.31 $\pm$ 0.08	
Palma crudo	131.6 $\pm$ 1.9	2.83 $\pm$ 0.10	0.020 $\pm$ 0.001	5.26 $\pm$ 0.14	0.04 $\pm$ 0.00	286.3 $\pm$ 3.8	2.17 $\pm$ 0.03	
Palma frito	123.4 $\pm$ 7.5	2.99 $\pm$ 0.11	0.024 $\pm$ 0.002	7.10 $\pm$ 1.04	0.06 $\pm$ 0.01	288.0 $\pm$ 10.8	2.36 $\pm$ 0.15	

Valores medios de 5 animales  $\pm$  error estándar

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 38.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE HIERRO EN HIGADO, BAZO, PIEL Y HEMATÍES**

GRUPOS	HÍGADO			BAZO			PIEL	HEMATÍES
	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )
Oliva	5.27 $\pm$ 0.27	564.9 $\pm$ 60.6	108.4 $\pm$ 11.9	0.45 $\pm$ 0.04	68.1 $\pm$ 8.4	151.9 $\pm$ 14.7	9.68 $\pm$ 0.67	817.9 $\pm$ 19.6
Palma crudo	5.24 $\pm$ 0.16	435.7 $\pm$ 38.9	83.2 $\pm$ 6.9	0.51 $\pm$ 0.05	68.5 $\pm$ 8.3	138.4 $\pm$ 15.7	8.46 $\pm$ 0.41	883.5 $\pm$ 23.2
Palma frito	5.37 $\pm$ 0.16	462.5 $\pm$ 44.7	86.0 $\pm$ 7.6	0.47 $\pm$ 0.02	72.3 $\pm$ 3.8	156.7 $\pm$ 10.1	9.21 $\pm$ 0.33	880.5 $\pm$ 25.1

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 via).

**TABLA 39.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE ZINC EN HIGADO, BAZO, PIEL Y HEMATÍES**

GRUPOS	HÍGADO			BAZO			PIEL	HEMATÍES
	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )
Oliva	5.27 $\pm$ 0.27	138.5 $\pm$ 7.1	26.6 $\pm$ 1.3	0.45 $\pm$ 0.04	11.6 $\pm$ 0.9	26.0 $\pm$ 0.5	34.2 $\pm$ 1.1	10.4 $\pm$ 0.1
Palma crudo	5.24 $\pm$ 0.16	119.6 $\pm$ 4.6	22.9 $\pm$ 0.7	0.51 $\pm$ 0.05	13.0 $\pm$ 1.2	25.4 $\pm$ 0.3	34.2 $\pm$ 1.4	10.6 $\pm$ 0.1
Palma frito	5.37 $\pm$ 0.16	127.8 $\pm$ 7.9	23.7 $\pm$ 1.2	0.47 $\pm$ 0.02	12.5 $\pm$ 0.7	26.8 $\pm$ 1.4	35.0 $\pm$ 1.2	11.2 $\pm$ 0.8

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 40.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE COBRE EN HIGADO, PIEL Y HEMATÍES**

GRUPOS	PESO (g)	HÍGADO		PIEL	HEMATÍES
		( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )
Oliva	5.27 $\pm$ 0.27	22.6 $\pm$ 1.4	4.28 $\pm$ 0.10	3.45 $\pm$ 0.15	2.97 $\pm$ 0.27
Palma crudo	5.24 $\pm$ 0.16	27.8 $\pm$ 3.3	5.27 $\pm$ 0.57	3.56 $\pm$ 0.20	2.42 $\pm$ 0.17
Palma frito	5.37 $\pm$ 0.16	22.5 $\pm$ 0.9	4.19 $\pm$ 0.12	3.73 $\pm$ 0.28	2.46 $\pm$ 0.23

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 41.- VALORES DE TIBC Y HEMOGLOBINA**

GRUPOS	TIBC (mg/l)	Hb (g/100 ml)
Oliva	4.97±0.22	14.56±0.15
Palma crudo 	4.89±0.07	14.57±0.28
Palma frito	4.45±0.11	14.51±0.14

Valores medios de 5 animales ± error estándar.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 42.- INGESTA ALIMENTARIA (g/día)**

GRUPOS	DIAS 1-7	DIAS 7-14	DIAS 14-21	DIAS 21-28	r
Oliva	6.34±0.31	9.51±0.47	12.00±0.68	12.19±0.67	0.7740 <sup>a</sup>
Sardina cruda	5.26±0.17	7.47±0.24	8.03±0.22	7.63±0.31	0.6591 <sup>b</sup>
Sardina frita	7.40±0.25	11.01±0.41	13.63±0.63	13.81±0.60	0.8152 <sup>c</sup>

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (ANOVA de coeficientes de regresión entre grupos).

TABLA 43.- EVOLUCION PONDERAL (g)

GRUPOS	DIA 1	DIA 7	DIA 14	DIA 21	DIA 28	r
Oliva	40.20±0.39	52.39±2.02	76.10±4.09	107.43±6.45	132.28±22.55	0.8837 <sup>a</sup>
Sardina cruda	40.32±0.23	46.85±0.95	59.40±1.74	69.69±2.45	78.09±3.18	0.8634 <sup>b</sup>
Sardina frita	40.26±0.36	59.33±1.55	88.53±3.01	123.34±5.62	153.14±6.10	0.9343 <sup>c</sup>

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (ANOVA de coeficientes de regresión entre grupos).

**TABLA 44.- COEFICIENTE DE EFICACIA ALIMENTARIA**

GRUPOS	DIAS 1-7	DIAS 7-14	DIAS 14-21	DIAS 21-28
Oliva	0.28±0.03 <sup>a</sup>	0.37±0.02 <sup>a</sup>	0.39±0.02 <sup>a</sup>	0.36±0.02 <sup>a</sup>
Sardina cruda	0.18±0.02 <sup>b</sup>	0.25±0.02 <sup>b</sup>	0.19±0.02 <sup>b</sup>	0.23±0.02 <sup>b</sup>
Sardina frita	0.39±0.02 <sup>c</sup>	0.39±0.02 <sup>a</sup>	0.38±0.02 <sup>a</sup>	0.38±0.02 <sup>a</sup>

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (ANOVA medidas repetidas,  $p < 0.0001$ ).

TABLA 45.- DISTRIBUCIÓN DEL CALCIO DURANTE LA DIGESTIÓN *IN VITRO* (%)

GRUPOS	DIALIZADO			NO DIALIZADO					
				SOLUBLE			PRECIPITADO		
	1h	2h	3h	1h	2h	3h	1h	2h	3h
Oliva	14.37±0.80	19.49±0.67	7.68±2.23	31.31±0.34	26.01±2.88	22.05±0.15	19.15±0.25	26.48±2.74	25.70±1.34
S.cruda	14.05±0.74	22.54±1.32	13.08±0.83*	38.27±3.56	35.83±4.96	32.76±4.72*	15.59±0.41	13.05±2.70*	17.71±1.26*
S.frita	17.15±2.72	19.88±2.02	19.49±0.24* <sup>&amp;</sup>	40.55±1.14*	42.72±0.32*	40.18±1.78*	11.45±4.26	10.74±2.05*	11.04±2.47* <sup>&amp;</sup>
ANOVA	N.S.	N.S.	p=0.008	p=0.047	p=0.034	p=0.019	N.S.	p=0.015	p=0.009

Valores medios ± desviación estandar.

\* Diferente respecto al grupo oliva para la misma hora (p<0.05).

<sup>&</sup> Diferente respecto al grupo sardina cruda para la misma hora (p<0.05).

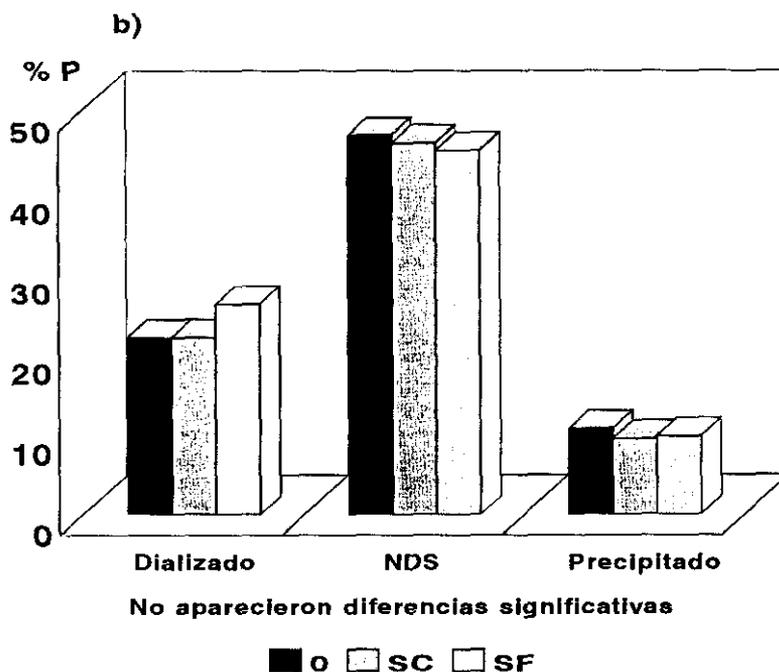
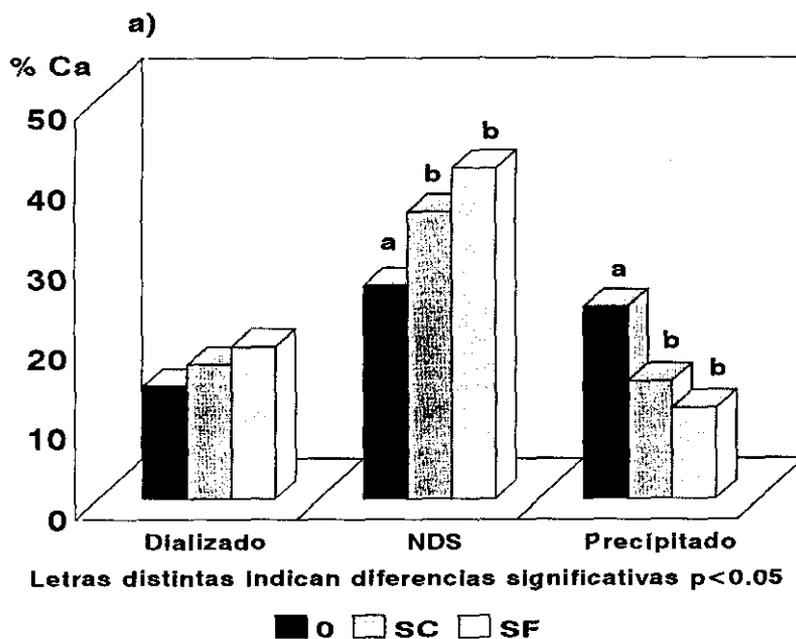


FIGURA 2

a) Distribución del calcio en la digestión *in vitro*. b) Distribución del fósforo en la digestión *in vitro*. Las barras representan los valores porcentuales medios de elemento dializado, no dializado soluble (NDS) y de elemento dializado, no dializado soluble (NDS) y precipitado (media de las tres horas) para las dietas .

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

TABLA 46 .- BALANCE DE CALCIO

GRUPO	INGERIDO (mg/día)	FECAL (mg/día)	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO (mg/día)	RETENIDO (mg/día)	% A/I	% R/A	% R/I
<b>PRIMER BALANCE</b>								
Oliva	48.67±2.15 <sup>a</sup>	22.40±1.16 <sup>a</sup>	0.93±0.19 <sup>a</sup>	26.27±1.27 <sup>a</sup>	25.34±1.20 <sup>a</sup>	54.01±1.19 <sup>a</sup>	96.50±0.65 <sup>a</sup>	52.14±1.26
Sardina cruda	38.30±1.46 <sup>b</sup>	12.86±1.09 <sup>b</sup>	3.77±0.77 <sup>b</sup>	25.44±1.09 <sup>a</sup>	21.68±1.27 <sup>a</sup>	66.66±2.41 <sup>b</sup>	85.04±2.94 <sup>b</sup>	56.81±3.10
Sardina frita	58.71±1.76 <sup>c</sup>	24.73±0.62 <sup>a</sup>	1.43±0.15 <sup>a</sup>	33.98±1.59 <sup>b</sup>	32.56±1.46 <sup>b</sup>	57.65±1.31 <sup>a</sup>	95.89±0.31 <sup>a</sup>	55.26±1.18
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.003	p=0.001	p=0.000	p=0.000	p=0.001	NS
<b>SEGUNDO BALANCE</b>								
Oliva	70.74±3.90 <sup>**</sup>	38.14±1.92 <sup>**</sup>	1.70±0.20 <sup>**</sup>	32.60±2.58 <sup>**</sup>	30.90±2.61 <sup>a</sup>	45.79±1.76 <sup>*</sup>	94.53±0.75 <sup>a</sup>	43.34±1.86 <sup>**</sup>
Sardina cruda	44.27±1.77 <sup>b*</sup>	27.84±3.02 <sup>b*</sup>	4.32±0.55 <sup>b</sup>	16.43±2.06 <sup>b*</sup>	12.12±2.33 <sup>b*</sup>	38.06±5.04 <sup>*</sup>	60.66±15.80 <sup>b</sup>	28.25±5.40 <sup>b*</sup>
Sardina frita	80.15±3.51 <sup>**</sup>	45.56±2.25 <sup>**</sup>	1.85±0.18 <sup>a</sup>	34.60±3.66 <sup>a</sup>	32.75±3.59 <sup>a</sup>	42.49±3.32 <sup>*</sup>	94.15±0.77 <sup>a</sup>	40.16±3.32 <sup>ab*</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	NS	p=0.020	p=0.023

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos para el mismo periodo de balance (ANOVA de 1 vía).

\* Diferencias significativas respecto al primer balance dentro del mismo grupo (ANOVA de 1 vía).

TABLA 47.- DISTRIBUCIÓN DEL FÓSFORO DURANTE LA DIGESTIÓN *IN VITRO* (%)

GRUPOS	DIALIZADO			NO DIALIZADO					
	1h	2h	3h	SOLUBLE			PRECIPITADO		
				1h	2h	3h	1h	2h	3h
Oliva	19.81±0.97	26.65±0.75	19.18±1.65	46.68±1.98	44.62±2.32	49.41±4.56	9.76±0.03	11.06±1.96	10.70±1.50
S.cruda	19.28±1.19	25.31±1.70	21.16±0.96	49.85±0.37	46.15±1.14	41.87±1.54	10.42±0.89	7.34±0.61	10.08±0.98
S.frita	24.48±0.67* <sup>&amp;</sup>	27.21±2.60	26.48±1.66* <sup>&amp;</sup>	47.97±1.78	45.92±1.77	41.26±0.11	10.14±2.43	9.78±2.23	8.73±1.34
ANOVA	p=0.022	N.S.	p=0.032	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

Valores medios ± desviación estandar.

\* Diferente respecto al grupo oliva para la misma hora (p<0.05).

<sup>&</sup> Diferente respecto al grupo sardina cruda para la misma hora (p<0.05).

TABLA 48.- BALANCE DE FÓSFORO

GRUPO	INGERIDO (mg/día)	FECAL (mg/día)	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO (mg/día)	RETENIDO (mg/día)	% A/I	% R/A	% R/I
<b>PRIMER BALANCE</b>								
Oliva	47.80±2.11 <sup>a</sup>	12.40±0.55 <sup>a</sup>	6.86±1.04 <sup>a</sup>	35.40±1.71 <sup>a</sup>	28.54±1.36 <sup>a</sup>	73.97±0.73 <sup>a</sup>	80.99±2.41	59.85±1.68
Sardina cruda	37.62±1.43 <sup>b</sup>	8.35±0.75 <sup>b</sup>	7.81±0.74 <sup>ab</sup>	29.27±0.92 <sup>b</sup>	21.46±1.37 <sup>b</sup>	78.06±1.44 <sup>b</sup>	72.78±3.04	56.83±2.53
Sardina frita	57.67±1.73 <sup>c</sup>	14.86±0.49 <sup>c</sup>	10.28±0.99 <sup>b</sup>	42.81±1.55 <sup>c</sup>	32.53±1.14 <sup>a</sup>	74.13±0.87 <sup>a</sup>	76.27±1.86	56.53±1.49
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.041	p=0.000	p=0.000	p=0.010	NS	NS
<b>SEGUNDO BALANCE</b>								
Oliva	69.48±3.83 <sup>a*</sup>	22.44±1.00 <sup>a*</sup>	17.82±1.45 <sup>a*</sup>	47.04±3.20 <sup>a*</sup>	29.22±2.77 <sup>a</sup>	67.43±1.24 <sup>*</sup>	61.66±2.87 <sup>*</sup>	41.50±1.94 <sup>*</sup>
Sardina cruda	43.48±1.74 <sup>b*</sup>	16.51±1.61 <sup>b*</sup>	8.66±1.43 <sup>b</sup>	26.97±1.41 <sup>b</sup>	18.31±2.12 <sup>b</sup>	62.35±2.88 <sup>*</sup>	66.94±5.80	42.73±4.88 <sup>*</sup>
Sardina frita	78.73±3.44 <sup>a*</sup>	30.09±1.31 <sup>c*</sup>	20.54±1.38 <sup>a*</sup>	48.63±3.62 <sup>a</sup>	28.10±3.09 <sup>a</sup>	61.21±2.28 <sup>*</sup>	56.54±3.20 <sup>*</sup>	35.13±2.98 <sup>*</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.014	NS	NS	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos para el mismo periodo de balance (ANOVA de 1 vía).

\* Diferencias significativas respecto al primer balance dentro del mismo grupo (ANOVA de 1 vía).

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 49.- DISTRIBUCIÓN DEL MAGNESIO DURANTE LA DIGESTIÓN *IN VITRO* (%)**

GRUPOS	DIALIZADO			NO DIALIZADO					
	1h	2h	3h	SOLUBLE			PRECIPITADO		
				1h	2h	3h	1h	2h	3h
Oliva	23.49±1.16	22.65±1.89	22.32±1.59	50.43±0.65	55.85±3.07	49.49±3.27	9.81±0.64	11.98±0.30	11.77±0.09
S.cruda	22.93±0.69	22.77±1.34	22.06±2.51	54.29±2.64	57.33±4.04	56.77±5.16	10.95±0.54	9.35±0.54*	11.16±0.29
S.frita	23.97±0.66	22.98±1.04	21.27±0.80	56.73±4.83	62.09±3.96	53.08±3.32	7.36±1.31 <sup>&amp;</sup>	7.59±0.02* <sup>&amp;</sup>	7.55±0.41* <sup>&amp;</sup>
ANOVA	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	p=0.035	p=0.003	p=0.001

Valores medios ± desviación estándar.

\* Diferente respecto al grupo oliva para la misma hora p<0.05.

<sup>&</sup> Diferente respecto al grupo sardina cruda para la misma hora p<0.05.

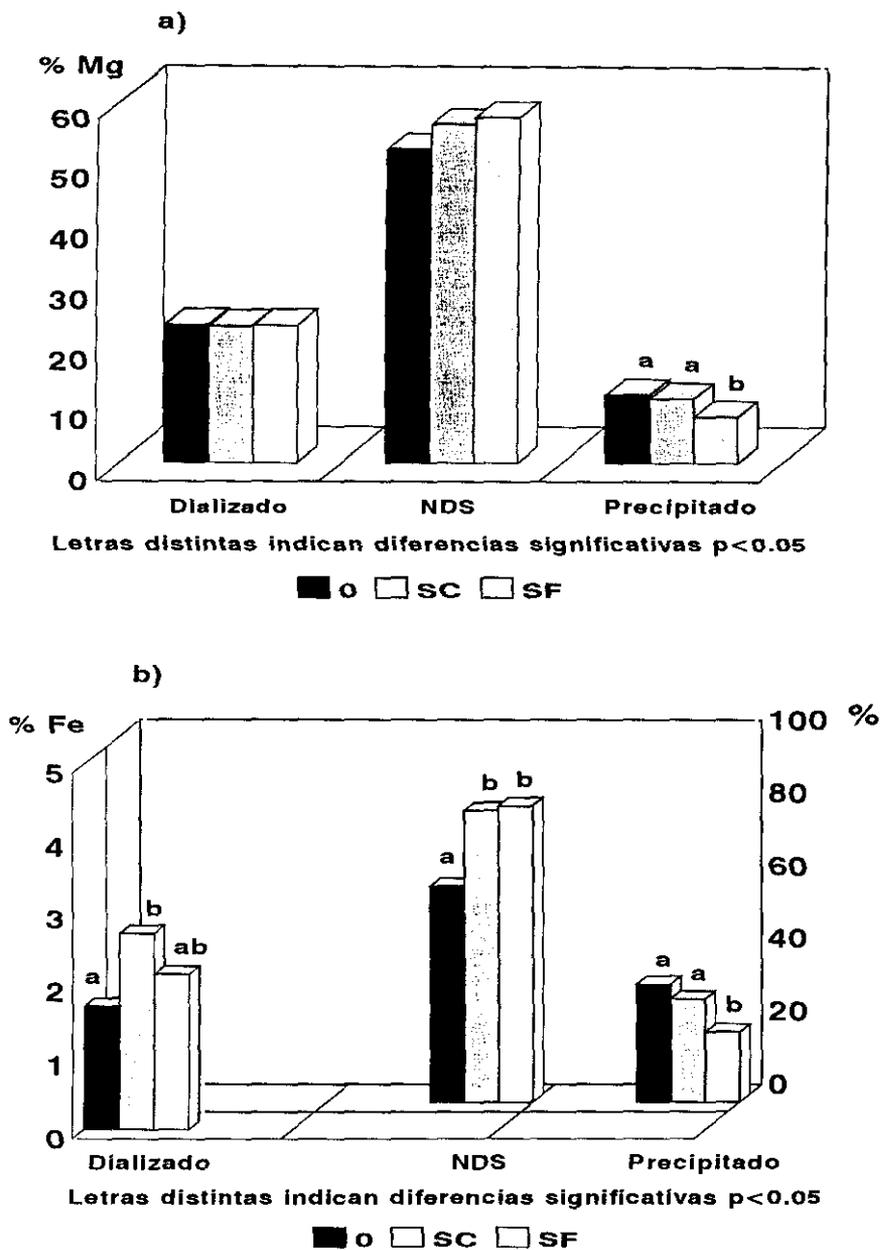


FIGURA 3

a) Distribución del magnesio en la digestión *in vitro*. b) Distribución del hierro en la digestión *in vitro*. Las barras representan los valores porcentuales medios de elemento dializado, no dializado soluble (NDS) y de elemento dializado, no dializado soluble (NDS) y precipitado (media de las tres horas) para las dietas .

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

**TABLA 50.- BALANCE DE MAGNESIO**

GRUPO	INGERIDO (mg/día)	FECAL (mg/día)	URINARIO (mg/día)	ABSORBIDO (mg/día)	RETENIDO (mg/día)	% A/I	% R/A	% R/I
<b>PRIMER BALANCE</b>								
Oliva	3.75±0.17 <sup>a</sup>	1.47±0.07 <sup>a</sup>	0.74±0.13	2.28±0.17 <sup>a</sup>	1.53±0.10 <sup>a</sup>	60.17±2.31	69.05±4.01	40.95±1.81
Sardina cruda	2.95±0.11 <sup>b</sup>	1.32±0.12 <sup>a</sup>	0.54±0.08	1.63±0.10 <sup>b</sup>	1.09±0.11 <sup>b</sup>	55.55±3.66	65.50±5.27	36.92±4.04
Sardina frita	4.52±0.14 <sup>c</sup>	1.97±0.11 <sup>b</sup>	0.85±0.08	2.55±0.15 <sup>a</sup>	1.70±0.09 <sup>a</sup>	56.33±2.39	67.25±2.32	37.79±1.84
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	NS	p=0.000	p=0.001	NS	NS	NS
<b>SEGUNDO BALANCE</b>								
Oliva	5.45±0.30 <sup>**</sup>	1.92±0.17 <sup>**</sup>	1.93±0.26 <sup>**</sup>	3.53±0.25 <sup>**</sup>	1.59±0.25	64.68±2.74 <sup>a</sup>	45.38±5.99 <sup>ab*</sup>	29.00±4.14 <sup>ab*</sup>
Sardina cruda	3.41±0.14 <sup>b*</sup>	1.21±0.13 <sup>b</sup>	0.88±0.13 <sup>b*</sup>	2.20±0.09 <sup>b*</sup>	1.32±0.14	65.11±2.95 <sup>a</sup>	59.83±5.15 <sup>a</sup>	39.44±4.31 <sup>a</sup>
Sardina frita	6.17±0.27 <sup>**</sup>	3.10±0.15 <sup>c*</sup>	2.03±0.25 <sup>**</sup>	3.07±0.32 <sup>**</sup>	1.05±0.17	48.93±3.40 <sup>b</sup>	33.76±5.03 <sup>b*</sup>	16.48±2.39 <sup>b*</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.002	p=0.002	NS	p=0.001	p=0.008	p=0.001

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos para el mismo periodo de balancee p<0.05 (ANOVA de 1 vía).

\* Diferencias significativas respecto al primer balance dentro del mismo grupo p<0.05 (ANOVA de 1 vía).

TABLA 51.- CONTENIDO Y CONCENTRACIÓN DE Ca, P y Mg EN CARCASAS

GRUPOS	PESO		Ca		P		Mg	
	(g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	
Oliva	101.5±3.7 <sup>a</sup>	1088.8±42.8 <sup>d</sup>	10.73±0.14 <sup>d</sup>	814.8±46.3 <sup>a</sup>	8.01±0.17 <sup>a</sup>	36.80±1.39 <sup>a</sup>	0.36±0.00 <sup>ab</sup>	
Sardina cruda	65.0±3.6 <sup>b</sup>	807.3±30.7 <sup>b</sup>	12.48±0.29 <sup>b</sup>	576.2±23.6 <sup>b</sup>	8.90±0.19 <sup>b</sup>	25.75±1.85 <sup>b</sup>	0.39±0.01 <sup>a</sup>	
Sardina frita	115.6±5.4 <sup>a</sup>	1140.2±55.1 <sup>a</sup>	9.88±0.34 <sup>a</sup>	870.6±42.9 <sup>a</sup>	7.54±0.18 <sup>a</sup>	39.20±1.59 <sup>a</sup>	0.34±0.01 <sup>b</sup>	
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.001	p=0.000	p=0.003	

Valores medios de 5 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 52.- CONCENTRACIONES SÉRICAS DE Ca, Mg, Fe, Zn y Cu**

GRUPOS	CALCIO	MAGNESIO	HIERRO	ZINC	COBRE
	(mg/dl)			(µg/ml)	
Oliva	11.60±0.34 n=9	2.55±0.12 n=8	2.07±0.49 n=2	1.98±0.12 n=5	1.04±0.06 n=9
Sardina cruda	10.45±0.26 n=6	2.47±0.15 n=6	1.59±0.47 n=2	1.98±0.06 n=3	1.10±0.07 n=3
Sardina frita	11.15±0.31 n=10	2.49±0.20 n=10	2.10±0.20 n=5	1.80±0.09 n=7	0.96±0.06 n=9

Valores medios ± error estándar. n: número de determinaciones por grupo.

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

TABLA 53.- DISTRIBUCIÓN DEL HIERRO DURANTE LA DIGESTIÓN *IN VITRO* (%)

GRUPOS	DIALIZADO			NO DIALIZADO					
	1h	2h	3h	SOLUBLE			PRECIPITADO		
				1h	2h	3h	1h	2h	3h
Oliva	1.95±0.25	1.49±0.09	1.58±0.16	59.51±7.32	59.10±9.50	58.92±12.59	27.91±4.15	34.51±4.24	33.63±5.09
S.cruda	2.67±0.46	2.15±0.29	3.20±0.57*	81.53±6.74	83.44±5.58*	75.06±12.24	30.29±2.08	25.60±0.81	27.99±5.08
S.frita	2.24±0.42	1.44±0.27	2.66±0.23	83.66±7.01*	82.33±5.02*	77.77±10.44	17.63±0.77 <sup>^</sup>	20.98±2.73*	18.63±2.08*
ANOVA	N.S.	N.S.	p=0.046	p=0.041	p=0.042	N.S.	p=0.036	p=0.042	P=0.043

Valores medios ± desviación estándar.

\* Diferente respecto al grupo oliva para la misma hora ( $p < 0.05$ ).

<sup>^</sup> Diferente respecto al grupo sardina cruda para la misma hora ( $p < 0.05$ ).

TABLA 54 .- BALANCE DE HIERRO

GRUPO	INGERIDO (mg/día)	FECAL (mg/día)	URINARIO (µg/día)	ABSORBIDO (mg/día)	RETENIDO (mg/día)	% A/I	% R/A	% R/I
<b>PRIMER BALANCE</b>								
Oliva	0.46±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.01 <sup>a</sup>	15.9±1.7 <sup>a</sup>	0.19±0.01 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>a</sup>	40.79±1.72 <sup>a</sup>	91.03±1.00 <sup>a</sup>	37.34±1.77 <sup>a</sup>
Sardina cruda	0.36±0.01 <sup>b</sup>	0.24±0.01 <sup>a</sup>	32.4±3.1 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>b</sup>	0.09±0.01 <sup>b</sup>	33.37±2.63 <sup>b</sup>	71.45±3.17 <sup>b</sup>	24.33±2.14 <sup>b</sup>
Sardina frita	0.56±0.01 <sup>c</sup>	0.32±0.01 <sup>b</sup>	18.9±1.4 <sup>a</sup>	0.24±0.01 <sup>c</sup>	0.22±0.01 <sup>c</sup>	42.96±1.38 <sup>a</sup>	91.84±0.56 <sup>a</sup>	39.57±1.44 <sup>a</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	P=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.003	p=0.000	p=0.000
<b>SEGUNDO BALANCE</b>								
Oliva	0.67±0.03 <sup>a*</sup>	0.54±0.02 <sup>a*</sup>	29.4±3.1 <sup>a*</sup>	0.13±0.02 <sup>a*</sup>	0.10±0.02 <sup>a*</sup>	19.58±2.54 <sup>*</sup>	61.30±7.67 <sup>a*</sup>	15.35±2.61 <sup>*</sup>
Sardina cruda	0.42±0.01 <sup>b*</sup>	0.37±0.03 <sup>b*</sup>	37.5±3.1 <sup>b</sup>	0.05±0.02 <sup>b*</sup>	0.01±0.02 <sup>b*</sup>	15.21±3.83 <sup>*</sup>	30.16±7.35 <sup>b*</sup>	9.40±3.26 <sup>*</sup>
Sardina frita	0.76±0.02 <sup>c*</sup>	0.60±0.02 <sup>a*</sup>	28.3±2.1 <sup>a*</sup>	0.16±0.03 <sup>a*</sup>	0.13±0.03 <sup>a*</sup>	20.49±2.90 <sup>*</sup>	71.46±5.89 <sup>a*</sup>	16.95±2.93 <sup>*</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.010	p=0.001	p=0.001	NS	p=0.000	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos dentro del mismo periodo p<0.05 (ANOVA de 1 vía).

\* Diferencias significativas respecto al primer balance dentro del mismo grupo p<0.05 (ANOVA de 1 vía)

TABLA 55.- DISTRIBUCIÓN DEL ZINC DURANTE LA DIGESTIÓN *IN VITRO* (%)

GRUPOS	NO DIALIZADO								
	DIALIZADO			SOLUBLE			PRECIPITADO		
	1h	2h	3h	1h	2h	3h	1h	2h	3h
Oliva	1.54±0.22	0.93±0.06	0.81±0.08	47.85±2.82	45.53±1.37	37.90±1.27	23.53±3.50	32.62±0.53	27.66±3.08
S.cruda	2.22±0.06*	1.56±0.16*	1.40±0.24*	49.80±0.44	42.20±0.42	35.20±1.01	15.90±1.78	19.95±2.74*	22.35±0.79
S.frita	2.04±0.12*	1.35±0.14*	1.19±0.01	52.43±6.33	48.71±4.51	40.09±3.30	25.72±4.54	15.72±0.81*	20.70±0.87*
ANOVA	p=0.041	p=0.035	p=0.045	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	p=0.004	p=0.045

Valores medios ± desviación estandar.

\* Diferente respecto al grupo oliva para la misma hora p<0.05.

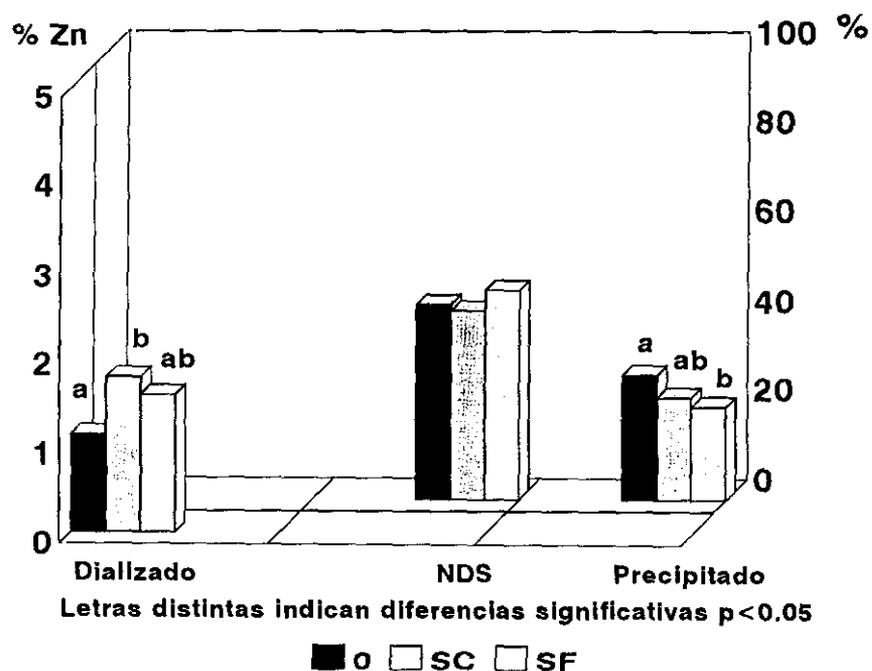


FIGURA 4

Distribución del zinc en la digestión in vitro.

Las barras representan los valores porcentuales medios de elemento dializado, no dializado soluble (NDS) y de elemento dializado, no dializado soluble (NDS) y precipitado (media de las tres horas) para las dietas .

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

TABLA 56.- BALANCE DE ZINC

GRUPO	INGERIDO	FECAL	URINARIO (µg/día)	ABSORBIDO	RETENIDO	%A/I	%R/A	%R/I
<b>PRIMER BALANCE</b>								
Oliva	274.1±8.3 <sup>a</sup>	154.3±6.0 <sup>a</sup>	16.8±1.3 <sup>a</sup>	119.8±3.9 <sup>a</sup>	103.0±3.8 <sup>a</sup>	43.88±1.02	85.89±0.99 <sup>a</sup>	37.73±1.57
Sardina cruda	215.8±5.6 <sup>b</sup>	108.9±5.7 <sup>b</sup>	38.1±3.4 <sup>b</sup>	106.9±3.5 <sup>a</sup>	68.8±5.1 <sup>b</sup>	49.92±1.91	63.25±3.56 <sup>b</sup>	31.99±3.52
Sardina frita	330.7±6.8 <sup>c</sup>	173.5±7.0 <sup>a</sup>	18.5±1.3 <sup>a</sup>	57.2±6.5 <sup>b</sup>	138.8±6.0 <sup>c</sup>	44.59±3.57	70.81±8.14 <sup>ab</sup>	36.06±6.14
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	NS	p=0.014	NS
<b>SEGUNDO BALANCE</b>								
Oliva	398.5±15.1 <sup>**</sup>	287.9±11.0 <sup>**</sup>	26.0±0.9 <sup>**</sup>	110.6±17.7 <sup>a</sup>	84.5±17.0 <sup>a</sup>	26.44±3.30 <sup>**</sup>	63.57±5.98 <sup>**</sup>	20.10±3.25 <sup>**</sup>
Sardina cruda	249.4±6.9 <sup>b*</sup>	116.2±8.8 <sup>b</sup>	36.8±1.9 <sup>b</sup>	133.1±5.6 <sup>**</sup>	96.3±5.4 <sup>**</sup>	54.14±2.54 <sup>b</sup>	71.75±1.7 <sup>**</sup>	39.34±2.45 <sup>b*</sup>
Sardina frita	451.5±13.6 <sup>c*</sup>	403.9±13.3 <sup>c*</sup>	22.3±0.6 <sup>**</sup>	47.6±16.2 <sup>b*</sup>	25.3±15.9 <sup>b*</sup>	<10.87±2.96 <sup>c*</sup>	<34.13±8.26 <sup>b*</sup>	<8.02±2.63 <sup>c*</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.002	p=0.000	p=0.000	p=0.000

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos dentro del mismo periodo p<0,05 (ANOVA de 1 vía).

\* Diferencias significativas respecto al primer balance dentro del mismo grupo p<0.05 (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 57.- BALANCES DE COBRE**

GRUPO	INGERIDO (µg/día)	FECAL (µg/día)	ABSORBIDO	% A/I
<b>PRIMER BALANCE</b>				
Oliva	86.7±3.8 <sup>a</sup>	45.7±2.4 <sup>a</sup>	41.0±2.0 <sup>a</sup>	47.44±1.28 <sup>a</sup>
Sardina cruda	68.2±2.6 <sup>b</sup>	29.1±1.7 <sup>b</sup>	39.2±2.0 <sup>a</sup>	57.43±2.13 <sup>b</sup>
Sardina frita	104.6±3.1 <sup>c</sup>	54.2±1.7 <sup>c</sup>	50.4±1.9 <sup>b</sup>	48.17±0.84 <sup>a</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.001	p=0.000
<b>SEGUNDO BALANCE</b>				
Oliva	126.0±7.0 <sup>a*</sup>	75.4±3.9 <sup>a*</sup>	50.6±4.0 <sup>a*</sup>	39.93±1.59 <sup>*</sup>
Sardina cruda	78.9±3.2 <sup>b*</sup>	47.1±5.0 <sup>b*</sup>	31.8±3.8 <sup>b</sup>	40.93±4.99 <sup>*</sup>
Sardina frita	142.8±6.2 <sup>a*</sup>	91.2±3.7 <sup>c*</sup>	51.6±4.5 <sup>a</sup>	35.72±2.08 <sup>*</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.003	NS

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos dentro del mismo periodo p<0.05 (ANOVA de 1 vía).

\* Diferencias significativas respecto al primer balance dentro del mismo grupo p<0.05 (ANOVA de 1 vía).

TABLA 58.- CONTENIDO Y CONCENTRACIÓN DE Fe, Zn y Cu EN CARCASAS

GRUPOS	PESO		Fe		Zn		Cu	
	(g)	(mg)	(mg/g)	(mg)	(mg/g)	(µg)	(µg/g)	
Oliva	101.5±3.7 <sup>a</sup>	2.63±0.08 <sup>a</sup>	0.026±0.001	7.10±1.12	0.07±0.01	427.1±9.9 <sup>ab</sup>	4.23±0.15 <sup>a</sup>	
Sardina cruda	65.0±3.6 <sup>b</sup>	1.56±0.10 <sup>b</sup>	0.024±0.001	5.78±1.36	0.08±0.02	382.5±11.2 <sup>a</sup>	5.93±0.19 <sup>b</sup>	
Sardina frita	115.6±5.4 <sup>a</sup>	2.87±0.15 <sup>a</sup>	0.025±0.001	5.75±1.29	0.05±0.01	452.9±16.2 <sup>b</sup>	3.94±0.16 <sup>a</sup>	
<b>ANOVA</b>	p=0.000	p=0.000	NS	NS	NS	p=0.001	p=0.000	
<b>grupo</b>								

Valores medios de 5 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 59.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE HIERRO EN HÍGADO, BAZO, PIEL Y HEMATÍES**

GRUPOS	HÍGADO			BAZO			PIEL	HEMATÍES
	PESO (g)	(µg)	(µg/g)	PESO (g)	(µg)	(µg/g)	(µg/g)	(µg/g)
Oliva	5.18±0.38 <sup>a</sup>	426.2±28.9 <sup>a</sup>	86.2±8.5 <sup>a</sup>	0.32±0.02 <sup>a</sup>	72.7±3.7 <sup>a</sup>	230.4±12.2	19.4±1.3 <sup>a</sup>	902.3±34.4 <sup>a</sup>
Sardina cruda	3.40±0.12 <sup>b</sup>	135.3±9.1 <sup>b</sup>	39.9±2.6 <sup>b</sup>	0.18±0.02 <sup>b</sup>	44.8±6.3 <sup>b</sup>	240.0±10.2	25.5±2.3 <sup>b</sup>	819.7±17.8 <sup>b</sup>
Sardina frita	6.20±0.30 <sup>a</sup>	435.9±48.3 <sup>a</sup>	71.6±8.6 <sup>a</sup>	0.41±0.02 <sup>c</sup>	92.3±5.1 <sup>c</sup>	227.7±13.4	17.1±1.2 <sup>a</sup>	864.8±7.7 <sup>ab</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	p=0.000	NS	p=0.006	p=0.052

Valores medios de 10 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos p<0.05 (ANOVA de 1 vía).

TABLA 60.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE ZINC EN HIGADO, BAZO, PIEL Y HEMATÍES

GRUPOS	HÍGADO			BAZO			PIEL	HEMATÍES
	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )
Oliva	5.18±0.38 <sup>a</sup>	162.4±10.7 <sup>a</sup>	31.6±1.3 <sup>ab</sup>	0.32±0.02 <sup>a</sup>	8.28±0.93 <sup>ab</sup>	25.6±1.9	37.0±0.8 <sup>ab</sup>	12.3±0.2 <sup>a</sup>
Sardina cruda	3.40±0.12 <sup>b</sup>	102.6±3.8 <sup>b</sup>	30.4±0.9 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>b</sup>	5.46±0.72 <sup>a</sup>	30.1±3.2	45.3±3.9 <sup>a</sup>	18.9±0.8 <sup>b</sup>
Sardina frita	6.20±0.30 <sup>a</sup>	221.6±9.3 <sup>c</sup>	36.3±1.8 <sup>b</sup>	0.41±0.02 <sup>c</sup>	10.2±0.75 <sup>b</sup>	25.2±2.1	32.9±1.2 <sup>b</sup>	12.9±1.1 <sup>a</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	p=0.000	p=0.015	p=0.000	p=0.001	NS	p=0.004	p=0.000

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos  $p < 0.05$  (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 61.- CONTENIDO Y CONCENTRACION DE COBRE EN HIGADO, PIEL Y HEMATÍES**

GRUPOS	HÍGADO			PIEL	HEMATÍES
	PESO (g)	( $\mu\text{g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )	( $\mu\text{g/g}$ )
Oliva	5.18 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	47.4 $\pm$ 4.4	9.5 $\pm$ 1.0	5.02 $\pm$ 0.34 <sup>ab</sup>	4.42 $\pm$ 0.89 <sup>a</sup>
Sardina cruda	3.40 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>	38.2 $\pm$ 4.1	11.4 $\pm$ 1.5	5.76 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	9.14 $\pm$ 1.56 <sup>b</sup>
Sardina frita	6.20 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	47.9 $\pm$ 2.9	7.8 $\pm$ 0.5	4.30 $\pm$ 0.37 <sup>b</sup>	3.75 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.000	NS	NS	p=0.038	p=0.021

Valores medios de 10 animales  $\pm$  error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

**TABLA 62.- VALORES DE TIBC Y HEMOGLOBINA**

GRUPOS	TIBC (mg/l)	Hb (g/100 ml)
Oliva	4.77±0.32 <sup>a</sup>	14.86±0.31 <sup>a</sup>
Sardina cruda	7.85±0.31 <sup>b</sup>	9.85±1.37 <sup>b</sup>
Sardina frita	4.99±0.46 <sup>a</sup>	14.28±0.46 <sup>a</sup>
<b>ANOVA grupo</b>	p=0.002	p=0.027

Valores medios de 5 animales ± error estándar.

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos (ANOVA de 1 vía).

## ***Discusión de Resultados***

---



## **5.1. EXPERIMENTOS I Y II (ACEITES)**

### **5.1.1. Ingesta, evolución ponderal y parámetros relacionados**

#### **5.1.1.1. Influencia del tipo de aceite**

##### **5.1.1.1.1. Oliva y girasol**

El consumo alimentario no se modificó entre los grupos de animales alimentados con una u otra dieta (tabla 10, pág. 137), de forma que las características propias de cada uno de estos aceites no condicionaron la ingesta, el peso (tabla 11, pág. 138) ni la eficacia alimentaria (tabla 12, pág. 139), tal y como ya habíamos descrito en otros trabajos en diversas circunstancias experimentales (Aguirre, 1996; Navarro y col., 1985).

##### **5.1.1.1.2. Aceite de oliva y oleína de palma**

Tampoco el consumo de dietas con aceite de palma crudo o frito, respecto de las que incluían el aceite de oliva, alteraron la ingesta alimentaria (tabla 26, pág. 153), la evolución ponderal de los animales (tabla 27, pág. 154) o la eficacia con la que utilizaron sus raciones (tabla 28, pág. 155), coincidiendo con lo que se acaba de comentar para los otros aceites. Puede añadirse también, que la disminución en el peso de animales alimentados con grasas más o menos saturadas se ha descrito en dietas muy ricas en calcio (Yacowitz y col., 1967) y la concentración cálcica de las raciones de estos ensayos no era excesiva, sino sólo adecuada.

##### **5.1.1.2. Influencia del consumo de aceites fritos**

La influencia del consumo de alimentos fritos o de grasas empleadas en frituras sobre ingesta, crecimiento, evolución ponderal, etc. resulta controvertida en extremo, ya que mientras algunos autores hablan de deterioro ponderal y menor consumo alimentario (Crampton y col., 1953; Rodríguez y col., 1984; Billek, 1985; López-Varela y col., 1995),

otros describen estabilidad (Keane y col., 1959; Ramel y col., 1965; Izaki y col., 1984) o incluso incrementos (Lanteaume y col., 1968; Lang, 1973).

La posibilidad de un efecto negativo de las grasas fritas debió surgir al observar las consecuencias deletéreas y toxicológicas de las grasas termooxidadas de forma drástica. A grandes rasgos, parece deducirse que cuando se trabaja con grasas sobrecalentadas en condiciones extremas de temperatura y aireación, que producen enormes alteraciones y acarrear altas concentraciones de compuestos polares, algunos de los cuales resultan tóxicos para el organismo, y, además, se emplean niveles dietéticos elevados, cercanos a la toxicidad, los resultados apuntan deterioro ponderal y, a veces, menor ingesta (Nolen y col., 1967; Wilson y col., 1970; Márquez-Ruiz y col., 1990). En estas condiciones se ha observado que el consumo de grasas calentadas a elevadas temperaturas con borboteo de aire produce una clara disminución del crecimiento tanto mayor cuanto más rica es la grasa en ácidos poliinsaturados (Johnson y col., 1957).

Al referirse en concreto a la influencia de las grasas fritas sobre la ganancia ponderal y el crecimiento surge la disparidad, debido, en gran parte, a las condiciones del experimento: tipo de aceite empleado, alteración del mismo, número de frituras, características del alimento frito, concentración lipídica de los ensayos, duración de los mismos, etc. Por tanto, es fácil comprender la disparidad de resultados antes aludidos, o que Poteau y col. (1977) y Keane y col. (1959), utilizando grasas procedentes de restaurantes y freidurías comerciales durante períodos cortos de tiempo, no observaran alteraciones ponderales, mientras que Lanteaume y col. (1966), utilizando en ensayos a largo plazo aceite de gramilla de uva, cruda o procedente de 60 frituras de patatas, sólo constataran una ligerísima menor ganancia ponderal en este último caso; efecto que sólo se manifestó de alguna manera en los períodos más tempranos de crecimiento en los ensayos que Nolen y col. (1967) realizaron en ratas por espacio de dos años con aceite de soja crudo y frito con distinto grado de alteración.

En términos generales los estudios realizados con grasas de fritura indican ausencia de toxicidad en sentido estricto (Billek, 1985; Causeret y col., 1978) ya que estas grasas

contienen pocas cantidades de sustancias tóxicas para la rata, y los compuestos causan daño sólo si se administran en dosis muy elevadas.

En tal sentido, Perkins y Iwaoka (1973) introdujeron monómeros cíclicos en las raciones de ratas en las proporciones de 75 a 1500 ppm y tras varias semanas de consumo observaron ligerísimos o ningún cambio en la ganancia ponderal. Por su parte, los dímeros cíclicos, tipo Diels-Alder, en concentraciones de 0.015 a 0.75% durante 6 semanas tampoco fueron capaces de alterar el crecimiento, la eficacia alimentaria ni el peso del hígado (Hsieh y Perkins 1976 y 1977). Por ello, se comprende que el consumo de la grasa de fritura entera, a niveles dietéticos adecuados, en la que los compuestos nocivos no alcanzan concentraciones importantes, no produce efectos negativos apreciables en los animales.

En condiciones adecuadas de fritura y con porcentajes de grasa alimentaria idóneos, la palatabilidad parece jugar un papel destacado, en la medida que este proceso refuerza las características sensoriales de los alimentos (Clark y Serbia, 1991), lo que mantiene o, incluso, favorece su consumo y con ello la ganancia ponderal (Sánchez-Muniz y col., 1991a). De hecho en los regímenes de adelgazamiento los alimentos fritos suelen ser controlados.

Los resultados de estos ensayos se incluirían con los de este último grupo, dado que el número de frituras y los compuestos polares desarrollados no sobrepasaron el nivel que la legislación vigente permite (Ministerio de Relaciones con las Cortes y de Secretaría del Gobierno, 1989) y, además, la concentración lipídica de la dieta fue adecuada para los animales; de ahí que a lo largo del período experimental no aparecieran diferencias en el alimento consumido por los animales, ni en la evolución ponderal (tablas 10 y 11, págs. 137 y 138) independientemente de que la grasa de su dieta fuera cruda o frita, ni siquiera en el caso del aceite de girasol, señalado como más vulnerable por su mayor insaturación, lo que coincidiría con los resultados que describe Causeret (1982), realizados por otros autores, en los que alimentando a ratas durante 28 días, como en estos ensayos, con aceite de girasol calentado a una temperatura muy superior, tampoco observaron efectos negativos sobre el crecimiento al incluirlo al 10% en la dieta, que sí se pusieron de manifiesto al doblar la dosis.

Por su parte, tampoco fue determinante de ningún cambio que el aceite de oliva frito procediera de 48 o 69 frituras. Todo ello parece lógico si se considera que los compuestos señalados como más nocivos son los monómeros cíclicos y los dímeros polares (Márquez-Ruiz y col., 1990). Los primeros se producen en ausencia de oxígeno y por tanto no tienen mucha entidad en la fritura, y los dímeros polares aunque se incrementaron tras el proceso, debieron estar en escasísimas cantidades en las dietas, por lo que su ingesta hubo de ser mínima. Era, pues, razonable la ausencia de efectos detrimentales sobre el crecimiento y la evolución ponderal de los aceites de oliva, girasol u oleína de palma procedentes de fritura, ya que ninguno de estos aceites contenía cantidades importantes de ácido linolénico, descrito como precursor principal de compuestos nocivos, y aunque estos productos se forman también, entre otros, a partir del linoleico, parecen resultar menos tóxicos (Causeret, 1982, Sebedio y col., 1990).

Por otra parte, la importancia de las condiciones metodológicas se demuestra en la discrepancia que estos resultados manifiestan con los obtenidos por Rodríguez y col. (1984) y Cuesta y col. (1993b), quienes señalan disminuciones ponderales tras el consumo de aceites de oliva y girasol fritos, pero utilizando dietas con un contenido de grasa, 15%, muy superior al empleado en estos ensayos, y, además, en algunos casos los aceites que utilizaban procedían de mayor número de frituras y bajo otra modalidad.

En concordancia con la estabilidad descrita en la ingesta y evolución ponderal de los animales a lo largo de los ensayos, los coeficientes de eficacia alimentaria tampoco variaron entre los distintos grupos (tabla 12, pág. 139), lo que demuestra que los aceites fritos, ya sea oliva o girasol, permiten utilizar el alimento con un rendimiento similar a los crudos.

A medida que transcurrió el tiempo, y sin diferencias significativas entre grupos, se observó una evolución negativa de la eficacia alimentaria, que sin duda debe relacionarse con el más intenso crecimiento que se produce en los estadios más tempranos de la vida. De hecho, es bien conocido que la utilización de los nutrientes, proteína, calcio, zinc, etc., es

mucho más eficaz en ratas después del nacimiento que en las más maduras o que en las adultas (Flynn y Brennan, 1991; Kennedy y Lönnerdal, 1987).

Por su parte, la estabilidad de la ingesta encontrada con el aceite de palma, crudo y frito (tabla 26, pág. 153), contradice, en cierto modo, las observaciones de Edionwe y Kies (1993) en las que señalaron mayor aceptabilidad por los consumidores de alimentos fritos en aceite de palma frente a los mismos fritos en aceites más insaturados; si bien la discrepancia debe tomarse con reservas ya que dichos autores trabajaban con palma-estearina y palma-oleína frente a soja y, además, los trabajos de esta memoria se refieren a ingesta de animales.

Tampoco existieron diferencias en la evolución ponderal de los animales que tomaron la oleína de palma usada o no en las frituras (tabla 27, pág. 154), lo que coincide con los resultados de Alharbi y Alkahtani (1993) utilizando aceite de palma descartado en restaurantes y locales de comidas rápidas, cuyo contenido en compuestos polares era levemente superior, 26.7%, al de estos trabajos. Hay que destacar que esos autores sí observaron un incremento en el peso hepático de los animales, pero no cuando utilizaron otro aceite de palma frito con menor grado de alteración.

La hipertrofia hepática, que se acompaña con cambios en los lípidos del hígado y, en ocasiones, con esteatosis (Poteau y Grandgirard, 1974), ha sido descrita también bajo el consumo de otros aceites calentados (Billek, 1980). Sin embargo, no se evidenció significativamente en nuestros ensayos, bien es cierto que todos los pesos de los hígados en los animales que tomaron los aceites fritos, tuvieron valores más altos que los de los que ingirieron el aceite correspondiente sin usar (tablas 22 y 34; págs. 149 y 161). Esa misma tónica se apreció en el índice hepatosomático (peso del hígado/peso corporal x 100) (tablas pág. 200), pero sólo en el caso de la oleína de palma cruda y frita las diferencias, aunque pequeñas, resultaron significativas. Por el contrario, en el caso del girasol los cambios fueron menores que los que López-Varela y col. (1995) describen alimentando a ratas con dietas más ricas en grasa.

### EXPERIMENTO I

GRUPOS	Indice hepatosomático (%)
Oliva crudo	4.71±0.38
Oliva frito (48F)	4.89±0.31
Oliva frito (69F)	4.98±0.27
Girasol crudo	4.52±0.26
Girasol frito (48F)	4.64±0.27

No aparecieron diferencias significativas entre grupos (ANOVA 1 vía)

### EXPERIMENTO II

GRUPOS	Indice hepatosomático (%)
Oliva	3.45±0.07 <sup>ab</sup>
Palma crudo	3.32±0.06 <sup>a</sup>
Palma frito	3.63±0.06 <sup>b</sup>
<b>Anova grupo</b>	p=0.002

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos p<0.05.

Todo ello puede ser indicativo de que la cantidad de compuestos de alteración consumidos no fue suficiente como para ocasionar daños en el órgano (Grandgirard, 1980), o respuesta adaptativa clara, como indican otros autores (Causeret, 1982).

## 5.1.2. UTILIZACIÓN DEL CALCIO

### 5.1.2.1. Influencia del tipo de aceite

#### 5.1.2.1.1. Oliva y girasol

El consumo de dietas con aceites más o menos insaturados, girasol y oliva, como fuente de grasa dietética no afectó la ingesta de calcio, en consonancia con la estabilidad mostrada por el consumo alimentario, ni alteró las excreciones fecal y urinaria del mineral (tabla 13, pág. 140; fig. 5a, pág. 202). Consecuentemente, los animales absorbieron y retuvieron cantidades similares de calcio, con independencia de que la grasa de su dieta fuera aceite de oliva o girasol, lo que concuerda con la idea de que las grasas poliinsaturadas y el aceite de oliva permiten una más idónea utilización del elemento frente a grasas más saturadas (Tadayyon y Lutwak, 1969; Navarro y col., 1980; Kies, 1988; Laval-Jeantet, y Laval-Jeantet, 1976).

A pesar de ello, en la eficacia de utilización del micronutriente, en las dietas que incluían el aceite de oliva, se observó un descenso pequeño, pero significativo, en su digestibilidad aparente que se reflejó también en el % R/I, lo que indicaría que en éstas, frente a las de girasol, la biodisponibilidad del elemento resulta ligeramente más escasa. Aunque las diferencias en los valores fueron de poca importancia, este hecho recuerda los resultados de la digestión *in vitro*, realizada en otros trabajos de nuestro grupo (Aguirre, 1996), en los que se observaba que la diálisis del calcio era algo superior en las dietas con aceite de girasol respecto a las que incluían el de oliva, y que los porcentajes del elemento soluble, con algunas variaciones, resultaban paralelos al grado de insaturación de los aceites: girasol, oliva y palma, que fueron los tres aceites utilizados en dichos ensayos.

Si se considera que una de las teorías de la interacción de la grasa con la utilización del calcio se establece a partir de los lípidos hidrolizados en el lumen, donde los ácidos grasos podrían formar jabones más o menos solubles, incidiendo así de forma menos o más negativa sobre la absorción del nutriente (Widdowson, 1965), se podrían explicar las pequeñas variaciones en los coeficientes de digestibilidad aparente del calcio, halladas en este trabajo,

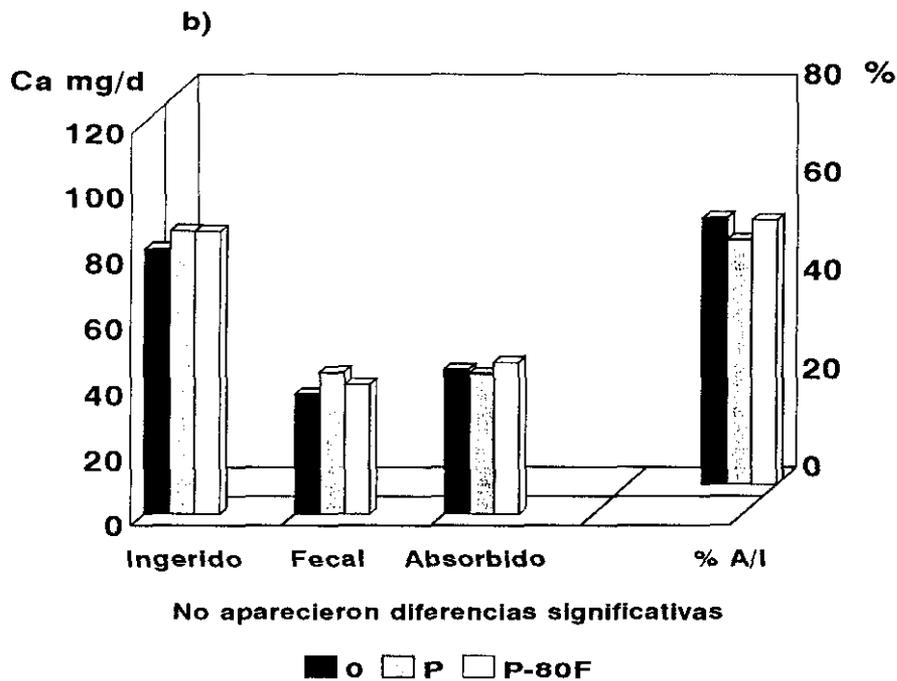
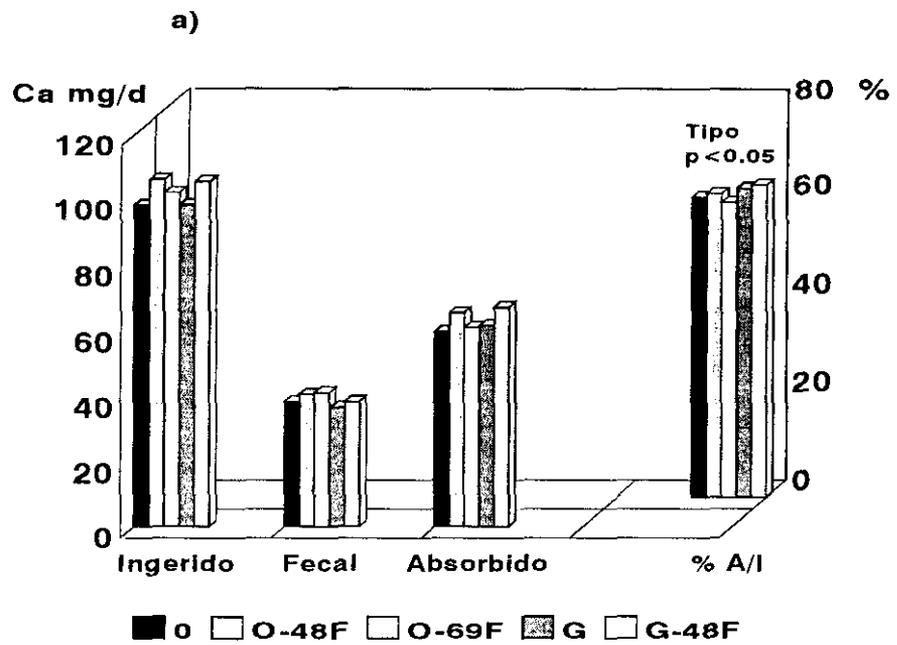


FIGURA 5.- DIGESTIBILIDAD DE CALCIO

a) Experimento I O: Oliva, O-48F: Oliva de 48 frituras, O-69F: Oliva de 69 frituras, G: Girasol, G-48F: Girasol de 48 frituras. b) Experimento II O: Oliva, P: Palma crudo, P-80F: Palma de 80 frituras

que estarían en línea con las observaciones de Gacs y Barltrop (1977) cuando señalan que los jabones cálcicos del ácido oleico son muy solubles y, aún más, los del linoleico.

De nuevo en relación con los resultados de los trabajos antes aludidos (Aguirre, 1996) cabe destacar que, aún utilizando idénticas dietas, pero con animales más pequeños, durante un período de tiempo más corto, en ellos no se apreciaron diferencias en la utilización del calcio *in vivo* entre las raciones con aceites de oliva o girasol. Esto pudo deberse a que el período de ingesta fue más corto e incapaz de visualizar un efecto tan escaso como el que estamos señalando. A ello podría añadirse que se trataba de ratas más jóvenes, y en este contexto la edad parece ser un factor decisivo, ya que se han podido observar depresiones de la absorción cálcica por efecto de la grasa en ratas adultas, pero no en las más jóvenes (Kane y col, 1949; Kaup y col., 1990).

A pesar de todo lo anterior, conviene añadir que se trató de una influencia de escasísima cuantía, incapaz de modificar los valores absolutos de absorción y retención, ni por supuesto, el contenido corporal de los animales, cuyas carcasas (tabla 16, pág. 143), en valores absolutos y relativos, contuvieron prácticamente la misma cantidad de calcio. En esta línea, los trabajos de Atteh y Leeson (1983) en pollos ya indicaban que la alimentación con ácidos oleico o linoleico como fuentes mayoritarias de grasa no introducían variaciones en las cenizas óseas ni en sus contenidos cálcicos, resultados que también se han señalado en ratas (Tadayyon y Lutwak, 1969; Aguirre, 1996).

Por último, cabe destacar que la calcemia tampoco mostró variaciones (tabla 17, pág. 144), lo que era de esperar, dada la estabilidad ósea antes mencionada.

En conjunto, estos resultados ponen de manifiesto que los aceites de oliva y girasol como fuente grasa de la dieta permiten una adecuada utilización del calcio y calcificación ósea; resultando las dietas a base del girasol levemente más ventajosas para la disponibilidad del elemento.

#### 5.1.2.1.2. Oliva y oleína de palma

Como se ha indicado anteriormente, la idea más sostenida sobre la incidencia de la grasa en la utilización del calcio, parece definirse en pro de las grasas más insaturadas como las más favorables, cuyo efecto se iría haciendo más nocivo al aumentar el grado de saturación (Kies, 1985) y la longitud de la cadena del ácido graso (Gacs y Barltrop, 1977). Sin embargo, a esa idea general existen excepciones que no han hallado diferencias entre grasas poliinsaturadas y saturadas o que sólo las pusieron de manifiesto con las grasas más saturadas en trabajos que empleaban grasas y aceites de distinto grado de saturación (Diersen-Schade y col., 1984).

En la línea de la estabilidad o falta de efectos apreciables se inscribirían los resultados de nuestro segundo grupo de experimentos, en los que se estudió la utilización del calcio comparativamente en dietas con aceite de oliva y oleína de palma cruda y procedente de fritura. En ellos pudo verse que el tipo de aceite no introdujo cambios apreciables en las absorciones y retenciones del elemento, ni en la eficacia con la que se realizaron dichos procesos (tabla 29, pág. 156; fig. 5b, pág. 202). Y, por tanto, la biodisponibilidad del calcio no se vio alterada por la presencia de uno u otro aceite en la dieta. Sólo a nivel de la excreción fecal se apreció una tendencia por la que la oleína de palma tendía a incrementar la presencia del mineral en las heces y que únicamente alcanzó significación al nivel del 10%.

A la vista de la relación ácidos grasos insaturados/saturados en ambos aceites, mucho más alta en el de oliva, puede sorprender, a primera vista, la ausencia de un efecto negativo más marcado de la oleína de palma, sobre todo recordando la abundancia de ácido palmítico y esteárico en el aceite de palma, reconocidos desde hace tiempo como depresores de la absorción cálcica frente a la trioleína (Tadayyon y Lutwak, 1969). A este respecto, conviene añadir que la fracción del aceite empleado, la oleína de palma, tiene un porcentaje de esteárico, ácido graso tal vez más negativo para la utilización del calcio, no demasiado alto; y su contenido en palmítico es más escaso que el de la estearina, frente a la que resulta mucho más rica en ácido oleico, (MacFarlane y col., 1984). Sin embargo, queda todavía muy

por debajo del aceite de oliva, al que, por el contrario, supera por lo que a proporción de ácido linoleico se refiere. Tal distribución de ácidos grasos hacen de la oleína una grasa saturada, pero no en exceso, con un índice de ácidos grasos insaturados/saturados próximo a la unidad, frente a un valor en torno a la mitad en el caso de la fracción estearina, y de ahí que su comportamiento en la utilización del calcio pueda ser aceptable. Además, a ello se une, que el palmítico, su componente saturado más abundante, ocupa en el aceite de palma la posición 2 del triglicérido en una proporción considerable (Renaud y col., 1995), al contrario de lo que ocurre en otros triglicéridos de aceites vegetales que no suelen presentar ácidos grasos saturados en la posición central (Cottrell, 1991) y bajo esta forma, 2-monopalmitina, el ácido palmítico es mejor absorbido (Small, 1991; Innis y col., 1995).

Además, aunque se ha descrito que aisladamente y en presencia abundante de calcio, los ácidos palmítico y esteárico, frente a oleico o linoleico, incrementan la formación de jabones insolubles y disminuyen la retención del mineral (Leeson, 1983), otro hecho que, sin duda, favorece también la absorción de ambos ácidos saturados, e indirectamente puede evitar la interferencia con el calcio, es la abundancia de oleico en la fracción del aceite utilizada. Se sabe que la conjunción oleico-palmítico u oleico-esteárico mejora la absorción de los ácidos grasos saturados (Young y Garret, 1963); concretamente, parece que el ácido oleico incrementa la solubilidad del esteárico en la micela de su monoglicérido y la sal biliar (Mattson y col., 1979) y de esta forma puede estimular la absorción de los saturados. A tal respecto cabe indicar los trabajos de Rukmini y Vijayaraghavan (1984) y Rukmini y Udayasekhara Rao (1986) en los que tampoco se apreciaron variaciones en la retención cálcica al utilizar aceite de cacahuete frente a dos aceites extraídos del mango o del *Terminalia bellirica*, ricos en ácido esteárico y oleico el primero, o en palmítico, oleico y linoleico el segundo.

Previsiblemente muchas de las características enumeradas hayan podido jugar un papel positivo en el presente trabajo, estimulando la absorción de la grasa dietética y, secundariamente, evitando o minimizando su interferencia con el catión, que no se ha manifestado diferente al compararla con las dietas que contenían aceite de oliva, si se descarta

la pequeña tendencia descrita a favorecer ligeramente su excreción fecal. Si bien, este hecho careció de repercusiones fisiológicas y ni la calcemia (tabla 33, pág. 160), ni la cantidad o concentración corporal del elemento (tabla 32, pág. 159) sufrieron alteraciones en función del consumo de uno u otro aceite.

#### **5.1.2.2. Influencia del consumo de aceites fritos**

La relación grasa dietética-utilización del calcio comenzó a interesar a mediados de siglo, propiciándose seguramente la conexión ante la presencia frecuente de abundantes cantidades de calcio en las heces en pacientes con esteatorrea (Agnew y Holdsworth, 1971).

A lo largo de los años la relación ha ido perfilándose y delimitándose por circunstancias fisiológicas o condiciones dietéticas específicas, y ya que la grasa es normalmente muy bien absorbida, sólo una pequeña proporción del calcio fecal se halla ligada a la fracción lipídica de las heces, según opinan diversos autores (Shaw, 1976). Podría pues hablarse de pérdida de actualidad, y sin embargo hoy la interconexión grasa-calcio intenta utilizarse para deprimir los niveles séricos de colesterol a través de elevadas ingestas cálcicas, que, mediante la formación de jabones insolubles, impedirían preferentemente la absorción de los ácidos grasos saturados (Dougherty y Iacono, 1979; Denke y col., 1993). En resumen, habría que decir nuevamente que la interacción se ha venido estableciendo en base a la formación de jabones más o menos solubles (Gacs y Barltrop, 1977) y ligada siempre a la mejor o peor absorción de la propia grasa (Small, 1991; Ockner y col., 1972; Innis y col., 1995). Así, los ácidos poliinsaturados que se absorben más rápidamente tendrían menores posibilidades de interferencia, siendo los saturados, menos solubles (Ockner y col., 1972), más aptos para ello (Yacowitz y col., 1967, Williams y col., 1970; Mattson y col., 1979), puesto que su más lenta absorción prolongaría sus posibles interacciones con otros componentes dietéticos o de secreciones digestivas. Igualmente los ácidos grasos libres serían los que más fácilmente podrían reaccionar con los metales, mientras que le resultaría más difícil al

triglicérido (Gacs y Barltrop, 1977) aunque a este respecto existen discrepancias (Tadayyon y Lutwak, 1969).

Si como es bien conocido las variaciones cuantitativas y cualitativas de cualquiera de los miembros de una reacción pueden afectar el resultado, parecería plausible que todo proceso que modifique la grasa dietética pudiera, subsidiariamente, hacer variar su interferencia en la utilización del calcio o de otros elementos.

La fritura de los alimentos produce en los aceites del baño alteraciones hidrolíticas y termooxidativas que conllevan la formación de polímeros, triglicéridos oxidados, ácidos grasos libres, etc., descritas con detalle en las revisiones de Arroyo (1995), Gutiérrez-González Quijano y Dobarganes (1988), Monferrer y Villalta (1993a y 1993b), Permanyer y col. (1985), Frankel (1985), etc.

Concretamente en un estudio paralelo Arroyo y col. (1995) analizaron los cambios producidos en el aceite de girasol y en la oleína de palma procedentes de las frituras repetidas de patatas, empleadas en nuestro trabajo, y observaron que en el aceite de girasol disminuía su contenido relativo en ácido linoleico, aumentando el de oleico y muy ligeramente el de esteárico, a la vez que en la fracción polar se producía una elevación importante de dímeros y polímeros de triglicéridos, triglicéridos oxidados, característicos de una alteración termooxidativa clara, mientras los ácidos grasos libres prácticamente no variaban. Por su parte en la oleína de palma, tras 80 frituras, el cambio más significativo en sus ácidos grasos fue una reducción del linoleico, acompañada de un pequeño descenso en el oleico. La alteración se realizaba en el mismo sentido de la descrita con el aceite de girasol pero con valores diferentes de cada compuesto y con mayor número de frituras. Es decir, en ambos casos apenas existió alteración hidrolítica.

Se carece de los mismos datos relativos al aceite de oliva frito empleado en estos ensayos, pero los correspondientes a aceites de oliva procedentes de 15 (Cuesta y col., 1991) y 30 (Rodríguez y col., 1984) frituras repetidas de patatas y a aceite de oliva calentado hasta

un nivel de alteración próximo al 25% (Márquez-Ruiz y Dobarganes, 1992a) o aceite de oliva desechado en freidurías, por supuesto en condiciones diferentes a las de este trabajo pero con contenidos en compuestos polares próximos (Márquez-Ruiz y col., 1995), manifiestan que durante estos procesos el ácido linoleico es el que se reduce de forma más nítida, desciende algo también el oleico o incluso se mantiene, dependiendo del grado de alteración, mientras que los saturados prácticamente permanecen estables o sufren un pequeñísimo incremento. A la par, el incremento de la fracción polar se producía por acúmulo de dímeros de triglicéridos y triglicéridos oxidados principalmente, pero también de triglicéridos poliméricos, y junto a ellos, quizás, un ligero incremento de ácidos grasos libres.

A la vista de las modificaciones descritas era oportuno preguntarse si el consumo de grasas fritas modificaba la utilización del calcio.

La respuesta obtenida de nuestros trabajos, tanto en el experimento de oliva-girasol como en el de oliva-oleína de palma, es que el consumo como fuente grasa de la dieta, a un nivel adecuado, de estos tres aceites procedentes de frituras repetidas de patatas, usados hasta el límite que la legislación permite, no modificó el balance de calcio, ya que la fritura no ejerció ninguna influencia significativa sobre cualquiera de los parámetros estudiados.

Así, la ingesta y excreciones fecal y urinaria de calcio, su absorción y retención absolutas o relativas no se vieron modificadas porque el aceite de la dieta fuera crudo o frito (tablas 13 y 29, págs. 140 y 156; figs. 5a y 5b, pág. 202). Por la misma razón, al final del ensayo los animales mostraron valores similares de calcemia y tuvieron contenidos y concentraciones corporales de calcio del mismo orden (tablas 16, 17, 32 y 33; págs. 143, 144, 159 y 160). Esto coincide con los resultados obtenidos en ratas gestantes alimentadas con dietas que incluían al 15% aceite de oliva crudo o procedente de 15 frituras repetidas de patatas, que al final del estadio no mostraron variaciones en el calcio corporal, ni en la incorporación del elemento a los productos de la concepción (Pérez-Granados, 1990; Navarro y col., 1990). Tampoco Nolen (1973), alimentando a ratas con distintas grasas crudas y fritas, observó diferencias en el contenido cálcico de diversos órganos.

En función de los apoyos bibliográficos que se elijan, la estabilidad descrita podría, en cierto modo, sorprender a la luz de los cambios ocurridos en la grasa por los procesos de fritura.

Si se consideran en primer lugar las modificaciones sufridas en los propios ácidos grasos puede observarse que en todos los aceites fritos existió una reducción del linoleico, el ácido graso más beneficioso entre los presentes para la utilización del calcio (Gacs y Barltrop, 1977), con paralelo incremento del oleico en el aceite de girasol, del esteárico en éste y en el de oliva, y una reducción también del oleico en la oleína de palma. Por tanto, el perfil de ácidos grasos se decantó hacia una suave disminución de los más proclives a la utilización de calcio y, sin embargo, tal cambio no indujo un incremento significativo del calcio fecal, porque seguramente tampoco existieron razones suficientes para ello, ya que, por ejemplo, las diferencias entre los ácidos grasos del girasol crudo y procedente de frituras fueron más escasas que los existentes entre oliva y girasol sin usar, y en ese caso los cambios descritos en la utilización del calcio han sido nimios y solamente circunscritos al nivel digestivo. La bibliografía señala a la relación poliinsaturados/saturados elevada como favorecedora de la absorción cálcica (Kies, 1988); la fritura disminuye este parámetro en los tres aceites, si bien de forma poco acusada, y su influencia no fue significativa sobre la utilización digestiva del calcio, por lo que los resultados de estos trabajos se situarían en la línea de la falta de efecto de dicho cociente sobre la excreción cálcica fecal, descrita por Diersen-Schade y col. (1984).

Aparte de estos cambios, la fritura produce una serie de compuestos de alteración de cuya posible interferencia en la utilización de minerales nada se sabe, si bien se conoce que presentan peculiaridades en algunos de los procesos digestivos, pudiendo ser uno de los factores que contribuye a modificar la digestibilidad de las grasas fritas. Al respecto se indica en numerosos estudios con grasas calentadas bajo diferentes circunstancias, que la digestibilidad de la grasa disminuye al aumentar su grado de alteración, y en relación directa con el incremento de compuestos de polimerización (Potteau y col., 1970; Potteau y col., 1977; González-Muñoz y col., 1996). Márquez-Ruiz y Dobarganes (1992) matizan estos supuestos y consideran que la menor digestibilidad de las grasas alteradas hay que relacionarla

no sólo con la peor absorción de los compuestos de alteración presentes, entre los cuales existen diferencias por lo que a su capacidad de absorción se refiere, sino también a un peor aprovechamiento de las moléculas de los ácidos grasos no alterados (Márquez-Ruiz y Dobarganes, 1992; Márquez-Ruiz y col., 1992), atribuible al entorpecimiento de sus procesos hidrolíticos (Márquez-Ruiz y col., 1993). Todo ello conduce al aumento de los lípidos fecales en los animales alimentados con grasas termooxidadas.

Al circunscribirse al terreno de las grasas usadas en fritura, aparecen, sin embargo, las discrepancias a la generalizada opinión anterior. Y en este caso la digestibilidad de la grasa puede prácticamente no alterarse (Cuesta y col. 1988; Poling y col., 1960), disminuir levemente (Lanteaume y col., 1966) o sufrir un cierto deterioro aunque no tan acusado como los descritos para las grasas termooxidadas por otros tratamientos.

La menor digestibilidad de la grasa conlleva mayor presencia lipídica en las heces y, consecuentemente, aumento de la masa fecal. Ese incremento de lípidos en las heces podría acarrear mayor eliminación cálcica por dicha vía de acuerdo con la relación calcio-esteatorrea (Agnew y Holdsworth, 1971) y porque Márquez-Ruiz y col. (1993), observaron que parte de esa mayor eliminación lipídica se hallaba en forma de ácidos grasos con los que el calcio podría formar jabones. Sin embargo, en los ensayos que recoge esta memoria no se apreciaron tales efectos: la excreción fecal del calcio no incrementó en los animales que consumieron los aceites usados en frituras, pero tampoco, salvo en las que comieron el oliva frito, se observó incremento de la masa fecal, como puede observarse en las siguientes tablas:

**PESO HECES EXPERIMENTO I**

GRUPOS	Peso heces (g)
Oliva crudo	6.94±0.32
Oliva frito (48F)	7.90±0.26*
Oliva frito (69F)	7.70±0.40
Girasol crudo	7.49±0.28
Girasol frito (48F)	7.24±0.25

Valores medios de 10 animales ± error estándar

\* Diferente respecto al grupo Oliva crudo (p<0.05)

**PESO HECES EXPERIMENTO II**

GRUPOS	Peso heces (g)
Oliva crudo	6.93±0.27
Palma crudo	8.89±0.33
Palma frito	8.24±0.47

Valores medios de 10 animales ± error estándar

No aparecieron diferencias significativas

La digestibilidad de la grasa en animal entero no se controló en nuestros ensayos, pero no debió existir peor utilización porque los pesos de las ratas tras 28 días de ingesta no mostraron diferencias y la eficacia alimentaria de las dietas que incluían los aceites crudos y procedentes de fritura fueron similares, como ya se ha comentado. Además, se tienen algunos datos que apuntarían hacia esa estabilidad. Arroyo (1995) estudió *in vitro* la hidrólisis

de los aceites de girasol y palma crudos y procedentes de fritura y no observó diferencias marcadas en la actividad de la lipasa pancreática sobre estos sustratos. Por su parte los trabajos de Varela y col. (1986) manifiestan que el coeficiente de digestibilidad del aceite de oliva, procedente de 10 frituras repetidas de patatas administrado a ratas al 15% en su dieta, pasó de 99% en el crudo a 98% en el de fritura, una diferencia tan escasa que resultó incapaz de alterar la energía digestible total de la dieta. Así, los autores concluyen que en sus condiciones experimentales la fritura tiene muy poco efecto sobre la digestibilidad y que el aceite de oliva aparece como una grasa muy estable.

No obstante, respecto a otro de los aceites utilizados en estos trabajos, la misma oleína de palma, pero procedente de 90 frituras repetidas de patatas, 10 más que el empleado por nosotros, González-Muñoz y col. (1996) realizaron unos ensayos puntuales de absorción de grasas en animales, mediante dosis única de grasa con cánula gástrica y de esa forma sí observaron una cierta reducción en la digestibilidad de la oleína de palma procedente de 90 frituras. Aún así, conviene destacar que la dosis de aceite introducida equivaldría al consumo de una dieta con una concentración grasa superior al 8% empleado en nuestros ensayos, y aunque el nivel lipídico de la dieta no parece ser determinante en la digestibilidad de la grasa (Márquez-Ruiz y col., 1992), otros autores sí lo consideran importante (Tadayyon y Lutwak, 1969). Así que la concentración grasa fue otro factor que hizo distintas las condiciones experimentales de este trabajo respecto al nuestro, y de ahí los resultados. Los valores de digestibilidad que describen González-Muñoz y col. (1996), incluso para la oleína sin usar, fueron realmente bajos, por lo que su extrapolación directa a unos ensayos con alimentación *ad libitum* no sería del todo correcta y sólo habrá de tener un valor orientativo en las posibles diferencias. Además, los autores señalan algo que tal vez pueda contribuir a explicar la estabilidad de la absorción cálcica y, como se comentará después, también la de otros elementos: la digestibilidad de la grasa se correlacionaba negativamente con la presencia en el aceite de dímeros y polímeros de triglicéridos, triglicéridos oxidados, etc.; compuestos todos que no parecen interferir, o al menos no con la misma intensidad, en la utilización del calcio, mientras que, por el contrario, la correlación se hacía positiva con los compuestos de alteración hidrolítica, en concreto con los ácidos grasos libres existentes en el aceite ingerido.

Dicho resultado indicaría que estos compuestos, que con más facilidad pueden formar jabones con los metales, eran bien utilizados, apoyando la idea de Patton y Carey (1977) de que los jabones cálcicos pueden ser una fase normal previa en la digestión y absorción de la grasa. Sin embargo, estas correlaciones establecidas por González-Muñoz y col. (1996), que apoyarían la idónea absorción cálcica en las dietas con los aceites fritos, podrían estar en aparente contradicción con los resultados de Márquez-Ruiz y col. (1993) quienes observaron aumento de ácidos grasos en las heces de los animales que ingirieron los aceites termooxidados, compuestos que podrían encontrarse en forma de jabones, puesto que Bliss y col. (1972) han descrito una muy buena correlación entre los ácidos grasos y los jabones cálcicos contenidos en las heces. Sin embargo, Márquez-Ruiz y col. (1993) parecen relacionar los ácidos grasos fecales con lípidos de procedencia endógena, a lo que habría que añadir los de origen bacteriano (Demarne y col., 1979) o los hidrolizados por varias lipasas bacterianas (Bliss y col., 1970), si bien ciertamente esto, con intensidad más o menos diferente, sería válido también para los animales que tomaron las grasas crudas.

De cuanto antecede podría quedar patente que el consumo de los aceites fritos, a pesar de las alteraciones producidas en la grasa, no modificó significativamente la utilización del calcio en las condiciones de estos ensayos, sin que con ello se quiera descartar de forma tajante la existencia de alguna interferencia grasa-calcio o la formación de algunos compuestos específicos diferentes, para cuya visualización no fueron diseñados. Desde luego, de tener lugar, fueron poco importantes y no se reflejaron globalmente en la excreción fecal de calcio. Sin duda también porque en estos ensayos, que reproducían condiciones de normalidad, los porcentajes de grasa y de calcio en la dieta eran adecuados y, por tanto, la posibilidad de ingerir compuestos que dieran lugar a interferencia más escasa. Si a ello se añade que en la estequiometría de estas reacciones el peso molecular juega a favor del calcio en relación con el ácido graso, se comprende que éste pudiera ser otro factor para contribuir a la falta de efecto. Nótese que se recurre a dietas muy ricas en calcio cuando se busca su efecto terapéutico para reducir el colesterol (Denke, 1993; Pence y Buddingh, 1988) y que, de acuerdo con Carey (1983), en las heces de individuos normales los jabones de cationes divalentes suponen sólo un 10% de los lípidos fecales.

Por tanto, puede decirse que la alteración que los aceites de oliva, girasol u oleína de palma sufren cuando se usan en frituras repetidas de patatas, incluso aunque se utilicen hasta el límite que la Legislación actual permite, no suponen ningún deterioro para la biodisponibilidad del calcio cuando se consumen como fuente grasa de la dieta en proporciones adecuadas.

### **5.1.3. UTILIZACIÓN DEL FÓSFORO**

#### **5.1.3.1. Influencia del tipo de aceite**

##### **5.1.3.1.1. Oliva y girasol**

La utilización nutritiva del fósforo no se vió modificada por el consumo de dietas con aceite de oliva o girasol, y ambos grupos de ratas mostraron valores de absorción y retención del nutriente, absolutos y relativos, similares. De forma que ese pequeñísimo efecto positivo del aceite de girasol, descrito para la absorción del calcio, no modificó en absoluto la del fósforo (tabla 14, pág. 141; fig. 6a, pág.215).

Realmente la bibliografía no abunda en efectos directos positivos del tipo de grasa dietética en la biodisponibilidad del fósforo, sino que, por el contrario, lo presenta como menos sensible que otros minerales al cambio lipídico dietario, siendo más abundantes las observaciones que subrayan ausencia de efecto en la digestibilidad del elemento por la presencia de grasas diferentes: tripalmitina frente a trioleína (Tadayyon y Lutwak, 1969), aceite de oliva comparado con una mezcla de aceite de cambra, de orujo, de gramilla de uva y grasa animal (Navarro y col., 1988), distintos extractos lipídicos lácteos (Tsuchita y Kuwata 1995), aceite de cacahuete o un aceite extraído del árbol *Terminalia bellirica* (Rukmini y Vijayaraghavan, 1984). Así pues, no parece raro que el consumo de dos aceites, oliva y girasol, que resultan muy próximos o iguales en sus modulaciones de la utilización de diversos minerales, actúen de forman similar por lo que a la del fósforo se refiere.

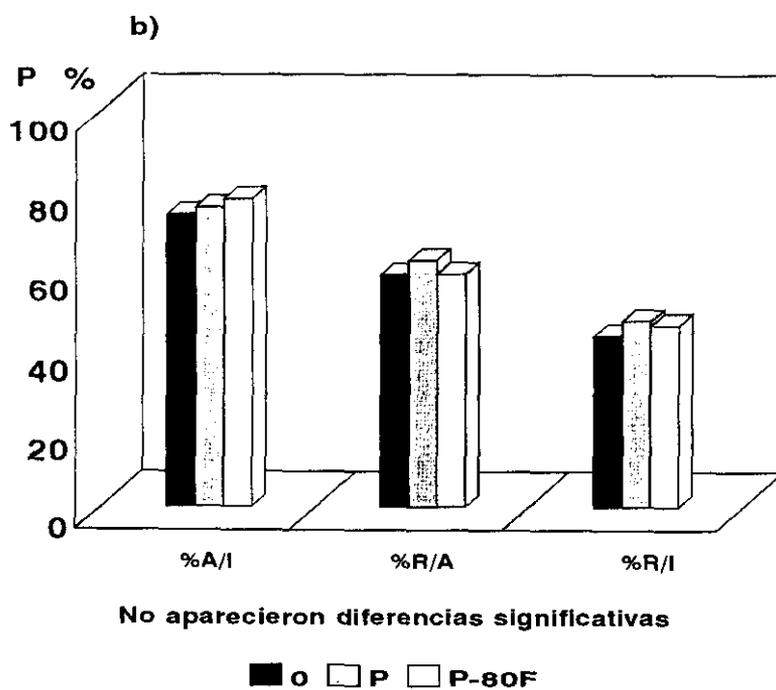
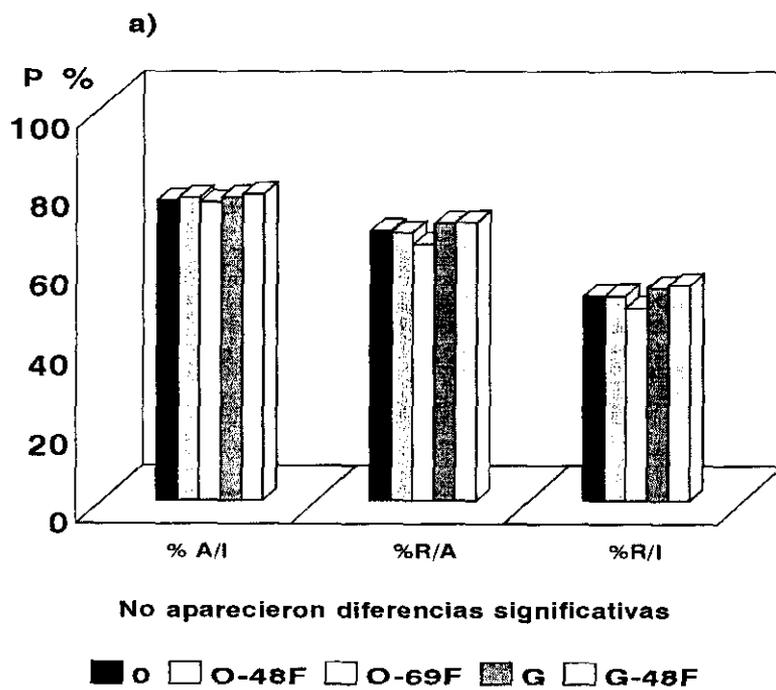


FIGURA 6.- UTILIZACION NUTRITIVA DEL FOSFORO

a) Experimento I O: Oliva, O-48F: Oliva de 48 frituras, O-69F: Oliva de 69 frituras, G: Girasol, G-48F: Girasol de 48 frituras. b) Experimento II O: Oliva, P: Palma crudo, P-80F: Palma de 80 frituras.

La estabilidad descrita condujo a que al final del ensayo los contenidos y concentraciones corporales del elemento no mostraran diferencias entre los grupos (tabla 16, pág. 143), lo que coincide con la estabilidad descrita por Navarro y col. (1988) y Leeson (1983) en el fósforo óseo, utilizando comparativamente diferentes grasas. Por otra parte, el fósforo sérico tampoco ofreció variaciones entre grupos (tabla 17, pág. 144).

#### **5.1.3.1.2. Aceite de oliva y oleína de palma**

Como señalaban hace ya tiempo Laval-Jeantet y Laval Jeantet (1976), la incidencia de la grasa en la utilización del fósforo, más que una actuación precisa sobre el propio elemento, parece estar directa o indirectamente mediatizada por el calcio presente en la dieta o en el lumen intestinal.

Los resultados de los balances de fósforo en los animales alimentados con estos dos aceites, recogidos en la tabla 30 (pág. 157) y en la figura 6b (pág. 215), no mostraron ningún efecto claro del régimen lipídico al que fueron sometidos sobre la utilización del fósforo. Tanto que no se apreciaron diferencias significativas en las excreciones, absorciones y retenciones del elemento, ni en los coeficientes que cuantifican la eficacia de los distintos procesos. No obstante, a nivel digestivo se apuntó una tendencia gradual hacia mayor digestibilidad aparente en las dietas que contenían la oleína de palma que, aunque sólo alcanzó significación estadística al 10% y en el grupo que la consumió frita, la señalamos porque ya se ha descrito en otros trabajos de nuestro grupo (Aguirre, 1996) en los que la digestibilidad aparente del fósforo en dietas con aceite de palma era significativamente superior a las de raciones que contenían aceites de girasol o de oliva crudos.

Además, el posible papel modulador de la grasa en este contexto, tal como se señalaba al principio, podría ser dependiente de su efecto sobre el calcio. Nótese que la excreción fecal de este último (tabla 29, pág. 156), también con un grado de significación parecido y especialmente con la oleína cruda, se incrementaba en los grupos que consumieron el aceite

de palma. Por tanto, y siguiendo los razonamientos de Fakambi y col. (1969) o Newmark y col. (1984) sobre la competencia *in vivo* entre los ácidos grasos y el fósforo para formar compuestos insolubles con el calcio, de forma que ambos se disputarían el catión disponible en la luz intestinal, podría esperarse que la oleína de palma, más rica en ácidos saturados, cuyos jabones cálcicos menos solubles resultarían peor absorbibles (Gacs y Baltrop, 1977) y que, aunque muy debilmente, pareció incrementar la excreción cálcica fecal, haya podido, de forma indirecta, mejorar también muy ligeramente la digestibilidad del fósforo, en la medida en que la eliminación del calcio en las heces, unido a los lípidos menos solubles, haya supuesto la disminución en el intestino de ciertas trabas potenciales a la utilización del fósforo, y de ahí la tendencia a mejorar su eficacia. De hecho, el efecto antirraquitogénico de la incorporación de lípidos a regímenes muy ricos en calcio y pobres en fósforo, fue descrito hace muchos años (Booth, 1942; Navarro y col., 1980) utilizando aceite de colza que, frente al de oliva, producía una disminución muy acentuada de la digestibilidad del calcio y un incremento paralelo muy marcado en la absorción absoluta del fósforo y en su eficacia, sin que ello se tradujera en incrementos significativos de su utilización nutritiva global.

Puede añadirse al respecto que el peso seco total de las heces en las ratas que tomaron la oleína de palma cruda o frita se aproximaba a 8.25 g frente a sólo 6.93 g en las del grupo alimentados con dietas a base de aceite de oliva (pag. 211), y aunque no se descartan otros agentes causantes de tal incremento significativo, sin duda, la fracción lipídica podría estar también implicada.

A pesar de todo lo expuesto no debe olvidarse que en el tiempo del ensayo, cuatro semanas, lo que se empezaba a producir era un posible cambio de escasa importancia, incapaz de modificar la biodisponibilidad del elemento, porque este pequeño exceso en la absorción de fósforo tiende a perderse vía urinaria (Aguirre, 1996) y por eso el balance global y su eficacia no se modificaron. Así, los contenidos corporales del elemento o sus concentraciones en los animales que consumieron cualquiera de las tres dietas resultaron equivalentes (tabla 32, pág. 159).

### **5.1.3.2. Influencia del consumo de aceites fritos**

El consumo de las dietas que contenían los aceites de oliva y girasol fritos, especialmente los procedentes de 48 frituras, tendió a incrementar la ingesta de fósforo, efecto que sólo alcanzó significación estadística en el caso del girasol frito y al nivel del 10%, lo que indudablemente es un reflejo del alimento ingerido en la semana del balance, porque en el caso del grupo alimentado con la oleína de palma, en el que la ingesta en ese tiempo fue idéntica entre los grupos con la grasa cruda o procedente de frituras, no se visualizó ningún cambio en el fósforo ingerido, ni siquiera al nivel de tendencia que se está describiendo (tablas 14 y 30, págs. 141 y 157; figs. 6a y 6b, pág. 215).

Aunque sobre la absorción de fósforo tampoco se observó un efecto claro debido a la fritura, como consecuencia de la ingesta apareció la misma tendencia en los grupos que consumieron los aceites procedentes de frituras, especialmente en el girasol (que resultó significativo al 10%), y que debe relacionarse con el consumo alimentario pero no con efectos secundarios a la ingesta de aceites fritos sobre la digestibilidad del fósforo, que claramente hay que indicar que no se produjeron. Esto parece normal si se tiene en cuenta la escasa sensibilidad del fósforo al tipo de grasa consumida, ya descrita, recordemos que en el calcio, mucho más sensible a la grasa, tampoco se produjeron cambios en su disponibilidad ligados al consumo de los aceites fritos, por lo que era mucho más difícil que se afectara la del fósforo, ya que si la influencia indirecta, vía calcio, no podía existir, sólo quedaba que los compuestos de alteración en las grasas fritas incidieran de alguna forma. Aún careciendo de cualquier información al respecto, parece poco probable que los compuestos de alteración, especialmente los dímeros y polímeros de triglicéridos, los productos de oxidación, etc., señalados como fundamentales en la preferencial alteración termooxidativa de los aceites de girasol y palma, pudieran interferir con el ión fosfato. Tampoco existen datos relativos a los compuestos de alteración hidrolítica, y por eso se señala algo que se observó en la utilización nutritiva del fósforo de los tres grupos alimentados con el aceite de oliva. Hay que indicar, con las reservas propias de su nivel de significación, 10%, que los animales alimentados con el aceite procedente de 69 frituras, presentaban una leve disminución en su %R/I respecto a

los que lo tomaron crudo o procedente de 48 frituras. De aquí podría deducirse que el mayor porcentaje de compuestos polares que contiene el aceite de oliva de 69 frituras, 24.27% frente a 19.02%, fue el responsable de la pequeña influencia negativa. Pero seguramente tal afirmación debería matizarse en función de los compuestos específicos que componen la alteración, porque en el girasol de 48 frituras, también con 24.32% de compuestos polares, este efecto no se produjo y la biodisponibilidad del fósforo fue mejor. En tal sentido puede indicarse que en la fritura repetida de patatas en aceite de oliva tiene especial incidencia la alteración hidrolítica (Dobarganes y col., 1988) por lo que cabría especular sobre un posible efecto de compuestos específicos que se señala con toda reserva, porque de existir fue muy leve e incapaz de alterar en el período del ensayo los contenidos corporales del fósforo, que en ningún caso variaron en los distintos grupos de animales (tablas 16 y 32, págs. 143 y 159).

#### **5.1.4. UTILIZACIÓN DEL MAGNESIO**

##### **5.1.4.1. Influencia del tipo de aceite**

###### **5.1.4.1.1. Oliva y girasol**

El consumo como grasa de la dieta de los aceites de oliva y girasol no modificó en ningún sentido la disponibilidad o biodisponibilidad del magnesio, y en efecto no aparecieron diferencias en las excreciones fecales o urinarias y, por consiguiente, tampoco en sus absorciones o retenciones, ni en la eficacia con la que se realizaron estos procesos (tabla 15, pág. 142; fig. 7a, pág. 220). Hecho que era de esperar puesto que la principal diferencia entre estos dos aceites, la mayor concentración de ácido linoleico en detrimento de la de oleico, existente en el girasol, no parece afectar la retención del magnesio (Van Dokkum y col., 1983). Nosotros mismos en trabajos anteriores, empleando grasas diversas o mezclas de ellas, constatamos que la utilización de este elemento no parecía estar muy afectada por el tipo de grasa consumida (Navarro y col., 1988), lo que coincide con la opinión de Rickets y col., (1985). Además, con estos mismos aceites, oliva, girasol y palma, pero durante un periodo

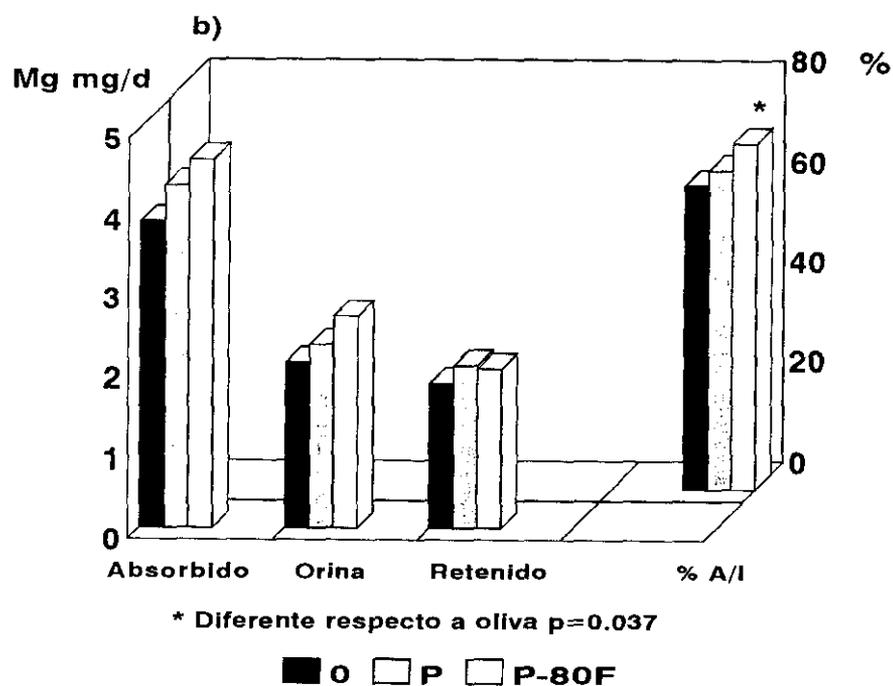
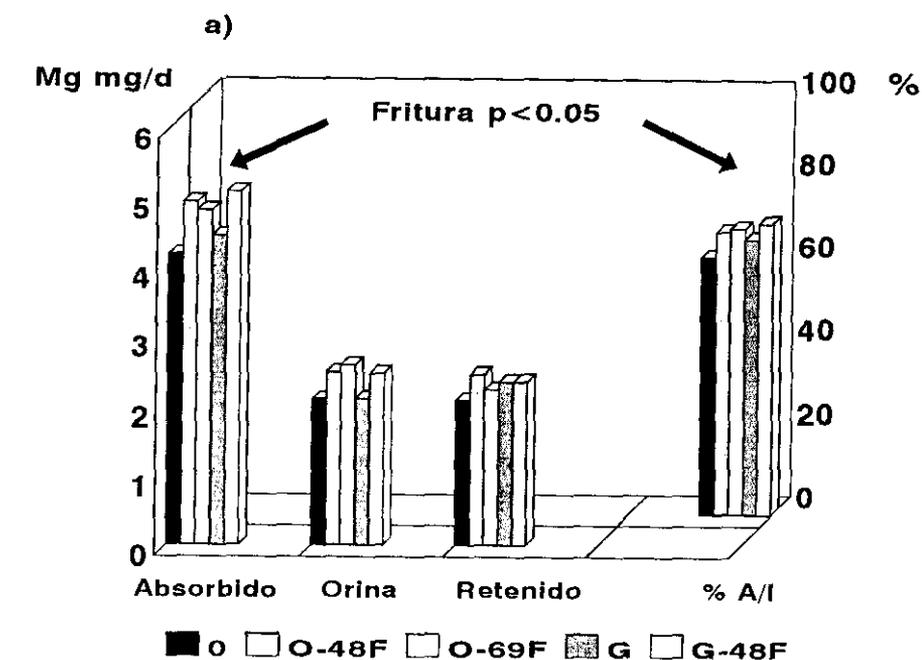


FIGURA 7.- BALANCE Y DIGESTIBILIDAD DEL MAGNESIO

a) Experimento I. O: Oliva, O-48F: Oliva de 48 frituras, O-69F: Oliva de 69 frituras, G: Girasol, G-48F: Girasol de 48 frituras. b) Experimento II. O: Oliva, P: Palma crudo, P-80F: Palma de 80 frituras.

de tiempo más corto, también observamos estabilidad en el balance de magnesio y en su retención corporal, independientemente de que la grasa consumida fuera uno u otro aceite (Aguirre, 1996). De igual manera, en estos ensayos, en que los animales consumieron las dietas durante un período más largo, una vez más no se modificaron los contenidos de magnesio en las carcasas o sus concentraciones corporales (tabla 16 y 17, págs. 143 y 144), así que, en este caso, la mayor edad tampoco fue determinante de distintas influencias.

#### **5.1.4.1.2. Oliva y oleína de palma**

A pesar de lo dicho anteriormente, datos bibliográficos sí señalan efectos negativos de los ácidos grasos saturados de cadena larga sobre la absorción del magnesio (Tadayyon y Lutwak, 1969; Leeson, 1983), por su capacidad para formar jabones insolubles con el catión (Mattson y col., 1979), que no se producen con los ácidos oleico o linoleico porque la solubilidad de los jabones de cationes divalentes formados con estos dos ácidos grasos es de 10 a 20 veces superior (Renaud y col., 1995). En este contexto conviene añadir, además, que en las posibilidades para la formación de tales complejos insolubles el calcio sería preponderante (Mattson y col, 1979, Kaup y col., 1990).

En los ensayos a que se refiere este trabajo no se observaron diferencias en la utilización digestiva o metabólica del magnesio entre las dietas que contenían una grasa más saturada, como la oleína de palma, frente a otra más insaturada, el aceite de oliva (tabla 31, pág. 158, fig. 7b, pág. 220). Las razones para tal ausencia de efecto hay que buscarlas en las aludidas en el caso del calcio. Además, si en el balance de este último nutriente no existieron o fueron insignificantes los efectos del aceite de palma y, como se acaba de comentar, el calcio posee mayor capacidad que el magnesio para formar jabones insolubles, puesto que sus compuestos tienen un punto de fusión muy alto (Small, 1991), resulta del todo congruente que la biodisponibilidad del magnesio no se modificara, y que al final del ensayo en las concentraciones séricas del elemento y en sus contenidos y concentraciones tisulares no

aparecieron variaciones entre los que consumieron uno u otro aceite (tablas 32 y 33, págs. 159 y 160), a diferencia de lo descrito por Lesson (1983) bajo el consumo aislado de los ácidos palmítico o esteárico frente al oleico.

Las pequeñas variaciones que aparecieron a nivel de absorción y digestibilidad del elemento son achacables, más que al distinto tipo de aceite, al proceso de fritura, como se verá a continuación.

#### **5.1.4.2. Influencia del consumo de aceites fritos**

Las repetidas frituras introdujeron un cúmulo de alteraciones en los aceites por las que, tras su consumo, se propiciaron una serie de cambios que favorecieron la digestibilidad del magnesio.

En los tres tipos de aceites, y con independencia de que en el primer ensayo se tratara de aceites procedentes de igual número de frituras, girasol y oliva de 48, o con igual contenido de compuestos polares, oliva de 69 y girasol de 48 frituras, el consumo de las dietas que incluían los aceites fritos, acentuó la cantidad de magnesio absorbido y su digestibilidad (tabla 15, pág. 142; fig. 7a, pág. 220). Este hecho en el caso del aceite de palma (tabla 31, pág. 158; fig. 7b, pág. 220) sólo resultó significativo frente al de oliva crudo, pero al realizar el análisis estadístico conjunto con los tres aceites crudos y fritos hasta alcanzar el mismo porcentaje de compuestos polares, se observó con toda claridad una misma influencia de la fritura en las tres grasas, viéndose, además, con este tratamiento estadístico, que la mayor transferencia de magnesio se relacionaba esencialmente en todos los casos con la disminución significativa que experimentaban las pérdidas fecales del elemento bajo el consumo de las grasas fritas ( $p= 0.0288$ ). Además, en el caso del girasol, y tal vez en el de oliva en alguna medida, a esa mayor absorción podría contribuir también el ligero incremento de su ingesta, significativo sólo al 10% en el girasol. A la vista de los resultados hay que

señalar que se trató de una más eficaz utilización del elemento consecuente a la fritura, que a nivel individual de cada aceite sólo resultó significativa para el girasol.

Es difícil hallar justificación a este hecho en los cambios que sufren los aceites durante el proceso, y en principio no surge una relación directa satisfactoria, puesto que el incremento de compuestos poliméricos, la tendencia hacia mayor saturación, etc., descritas en las grasas fritas, sugerirían ausencia de efecto o, en todo caso, una influencia negativa. Aún así, a la vista de los resultados obtenidos cabe plantear alguna hipótesis para explicarlos:

1) En primer lugar, partiendo de la teoría señalada en el apartado anterior, relativa a la mayor facilidad del calcio para formar compuestos insolubles con determinados ácidos grasos, podría pensarse que, tras la fritura, en los aceites han aparecido unos compuestos de transformación de manera que los más negativos han reaccionado más fácilmente con el calcio, al encontrarlo en el lumen, y por vía indirecta han desaparecido posibles trabas que obstaculizaron la absorción del magnesio, mejorándose, en consecuencia, su absorción. De hecho, la bibliografía señala aumento de ácidos grasos libres, en algunos casos, por efecto de la fritura (Nolen y col., 1967), que en estos ensayos no se ha demostrado de forma fehaciente; y, por otra, interdependencia en la absorción de magnesio con la grasa y el calcio dietético (Kaup y col., 1990). Sin embargo, este supuesto posee escasísimas posibilidades reales de actuación, ya que la absorción cálcica no se vio obstaculizada bajo el consumo de las grasas fritas y ni siquiera la excreción fecal del elemento pareció incrementar en tales circunstancias, por lo que al no existir evidencia de esa acción fundamental que mediatizara la vía indirecta, es difícil mantener que esta última haya podido ocasionar el beneficio en la utilización digestiva del magnesio.

2) Podría pensarse que la fritura ha ocasionado cambios en los aceites, haciendo que sus productos de digestión sean, en sí mismos o a través de su interacción con otros constituyentes dietéticos, más idóneos para permitir la absorción del elemento, bien por mayor solubilidad o por otro mecanismo. Esta hipótesis parece contraponerse en principio con la idea preferencial de la interacción grasa-calcio respecto a grasa-magnesio, ya que en el calcio,

como se ha dicho, no se observó ningún efecto. Sin embargo, hay que tener presente que esta idea se refiere esencialmente a los aspectos negativos de los jabones insolubles que favorecen la eliminación via fecal. Por el contrario, para entenderlo conviene tener en cuenta la teoría de Patton y Carey (1979), y Allen (1982) de que la formación de jabones es un paso previo a la absorción de la grasa, y que la absorción del magnesio se correlaciona positivamente con la absorción de la grasa de forma más sensible que el propio calcio (Tadayyon y Lutwat, 1969). Así, grasas que se absorben bien aumentan la transferencia intestinal del nutriente a medida que se incrementa su concentración en la dieta; siempre, claro está, que no se sobrepasen los límites de adecuación para la ingesta lipídica. Con estos mismos aceites en trabajos anteriores, nuestro grupo comprobó que la digestibilidad del magnesio se incrementaba al comparar dietas deficitarias con otras normograsas, sin que, por el contrario, la elevación lipídica modificara la eficacia en la utilización digestiva del calcio (Aguirre, 1996). Tal vez otro dato en abundancia de la relación grasa-magnesio sea el hecho de que, aunque la cantidad total de magnesio en heces suele ser muy inferior a la de calcio, la fracción del mismo ligada a los lípidos fecales es superior (Kaup y col., 1990). Todos estos son indicios que apuntan la interdependencia del micronutriente con la grasa, que permitirían entrever, aunque se desconozca el mecanismo preciso, cómo los cambios lipídicos, ocasionados en la fritura, pueden haber favorecido la absorción del mineral; y en base a lo expuesto anteriormente otra idea que subyace es que tras la fritura estos aceites no sólo siguen siendo idóneos, sino que se tornan incluso más aptos por lo que a la digestibilidad del magnesio se refiere.

3) Por último, aspectos particulares de la fisiología absorbiva del magnesio podrían proporcionar alguna base adicional para entender los posibles mecanismos de actuación introducidos por las grasas procedentes de fritura. Estudios de perfusión en ratas han demostrado que frecuentemente el magnesio es mejor absorbido en el íleon y colon que en el duodeno (Hardwick y col., 1991), siendo opinión generalizada que gran parte de esa transferencia se realiza en el colon (Meneely y col., 1982), mediante difusión y mecanismos de transporte activo celular (Karbach, 1989).

Por otra parte, Lutz y col. (1991) sugieren que los ácidos grasos de cadena corta, acético, propiónico y butírico, principales aniones presentes en el intestino grueso, estimulan la absorción del magnesio de forma similar a la del potasio, lo que podría ocurrir por un mecanismo de intercambio  $Mg^{++}/H^{+}$ . La acción que se consigue con el conjunto de los tres ácidos grasos, se ocasiona también con el butírico y propiónico de forma aislada, y se favorece con la bajada del pH. Los autores lo explican sobre la base de la absorción mayoritaria de estos ácidos grasos sin disociar en el intestino grueso para lo que necesitan protones (Rechkemmer y col., 1988). Una vez dentro de los enterocitos, los ácidos grasos se disocian inmediatamente a causa del pH intracelular, liberando protones, que son secretados a la luz intestinal probablemente en intercambio con potasio y magnesio, favoreciendo así la entrada en la célula de los citados elementos.

Para que este mecanismo pudiera haber actuado, el consumo de los aceites fritos debería incrementar la producción de estos ácidos grasos volátiles más que las grasas crudas. Se sabe que el tipo de dieta consumida condiciona la flora intestinal, de tal manera que los cambios en algunos componentes dietéticos, entre los que se incluyen los lípidos, pueden dar lugar a modificaciones en la población bacteriana en cuanto a su número y especies se refiere (Bauchart y col., 1985). Además, una variación en la población microbiana puede acarrear distinta relación en la producción de acético/propiónico/butírico (Weisbjerg y col., 1992). Tras la digestión de las grasas calentadas, de acuerdo con los resultados de Márquez-Ruiz y col. (1992 y 1993), se incrementa la cantidad de formas poliméricas, y de diferentes glicéridos alterados que acceden al intestino grueso, apareciendo en mayor proporción que cuando la grasa es consumida cruda, hasta el punto de que dependiendo del tratamiento incluso un 50% de la grasa presente en las heces no está hidrolizada. El metabolismo bacteriano de los lípidos incluye hidrólisis, hidroxilación de dobles enlaces, deshidrogenación etc. (Alford y col., 1964; Bliss y col., 1970). Concretamente Van Soest (1982) considera que el metabolismo microbiano de los triglicéridos en el rumen comienza con su hidrólisis, para a continuación producirse la fermentación del glicerol a ácidos grasos volátiles. Además el exceso de triglicéridos y de ácidos grasos insaturados producen cierta inhibición de las metano-bacterias, para lo cual no se requiere un exceso importante, dada la alta sensibilidad bacteriana a los

lípidos. Este trastorno en la fermentación metánica acarrea un exceso de hidrógeno y favorece la producción de propiónico. De considerar que la actividad microbiana en el colon puede ser similar a la del rumen, llevaría a la idea de que tras el consumo de las dietas con los aceites fritos, el conjunto de las distintas actuaciones mencionadas condujo a una situación de mayor producción de ácidos grasos volátiles, particularmente propiónico, en unas condiciones de pH idóneas para su absorción, con lo que su entrada en las células intestinales se vería favorecida y, consecuentemente, mediante el intercambio  $Mg^{++}/H^+$  mencionado, también la del magnesio, y ello explicaría el incremento de su digestibilidad.

La mayor absorción de magnesio no incrementó de forma significativa su retención corporal, porque siguiendo la regulación normal del elemento (Shills, 1994), parte del exceso se eliminó por orina, aunque esta superior eliminación urinaria sólo alcanzó significación estadística al realizar el análisis conjunto de los tres aceites ( $p=0.033$ ). De ahí que la eficacia con la que el nutriente se utilizó globalmente no mostrara variaciones y que al final del ensayo los animales tuvieran contenidos y concentraciones corporales del mismo orden (tablas 16 y 32, págs. 143 y 159). Si bien el grupo que consumió la oleína de palma frita, mostró respecto a los que la tomaron cruda cierta tendencia a elevar la concentración corporal del magnesio aunque, ya que los valores totales fueron idénticos, las diferencias en la concentración deben relacionarse con el peso corporal.

Por último cabe añadir que el consumo de los aceites fritos tampoco modificó la magnesemia (tablas 17 y 33, págs. 144 y 160), por lo que los cambios descritos se ciñeron al terreno digestivo, haciendo que las grasas fritas mejoraran la disponibilidad del elemento en su seno, pero no llegaron a afectar el balance ni la utilización nutritiva global del elemento.

## **5.1.5. UTILIZACIÓN DEL HIERRO**

### **5.1.5.1. Influencia del tipo de aceite**

#### **5.1.5.1.1. Oliva y girasol**

Los diversos parámetros relacionados con la absorción y retención de hierro no variaron por el tipo de aceite empleado como fuente de grasa dietética (tabla 18, pág. 145; fig. 8a, pág. 228). Los datos de la bibliografía señalan que los ácidos grasos saturados (Rao y col., 1980 y 1983; Van Dokkum y col., 1983; Johnson y col., 1987) y el ácido oleico (Simpson y Peters, 1987a) favorecen la absorción del metal, mientras que los más insaturados podrían dificultarla, aunque en este último caso existe más controversia (Amine y Hegsted, 1975; Rao y col., 1983; Van Dokkum y col., 1983). Ciertamente las características de los aceites de oliva y girasol, el primero rico en ácido oleico (aproximadamente 80%) y el segundo rico en ácido linoleico (aproximadamente 55%), pero con un contenido relativamente alto de ácido oleico (aproximadamente 32%), explican que ambos puedan incidir de una forma muy similar en la utilización nutritiva del hierro, lo que se asemeja a otros resultados en los que tampoco se observaron variaciones en la absorción férrica (Aguirre, 1996), pero sí se obtuvo un aumento del hierro eliminado por orina en los animales que tomaron aceite de girasol respecto a los del aceite de oliva, cambio que no se produjo en estos ensayos. Sin embargo, debido a que la eliminación urinaria de hierro cuantitativamente es muy pequeña, como corresponde a un nutriente cuya homeostasis se produce a nivel de absorción (Morris, 1987; Linder, 1988c), en esos trabajos, no llegó a afectarse la retención diaria del elemento, coincidiendo con los resultados de esta memoria.

Por otro lado, la similitud encontrada en los valores de retención diaria o balance del hierro entre los grupos de ratas que consumieron aceite de oliva o girasol, se correspondió con los resultados de contenido de hierro en las carcasas (tabla 21, pág. 148), que tampoco variaron por el tipo de aceite. Solamente se aprecia significación estadística por tipo en uno de los dos ANOVA realizados, sobre la concentración de hierro en la carcasa. Sin embargo, ya que se produjo un efecto interactivo del tipo de aceite y la fritura (a igualdad de contenido polar), se han de contemplar exclusivamente los grupos oliva crudo y girasol crudo, que

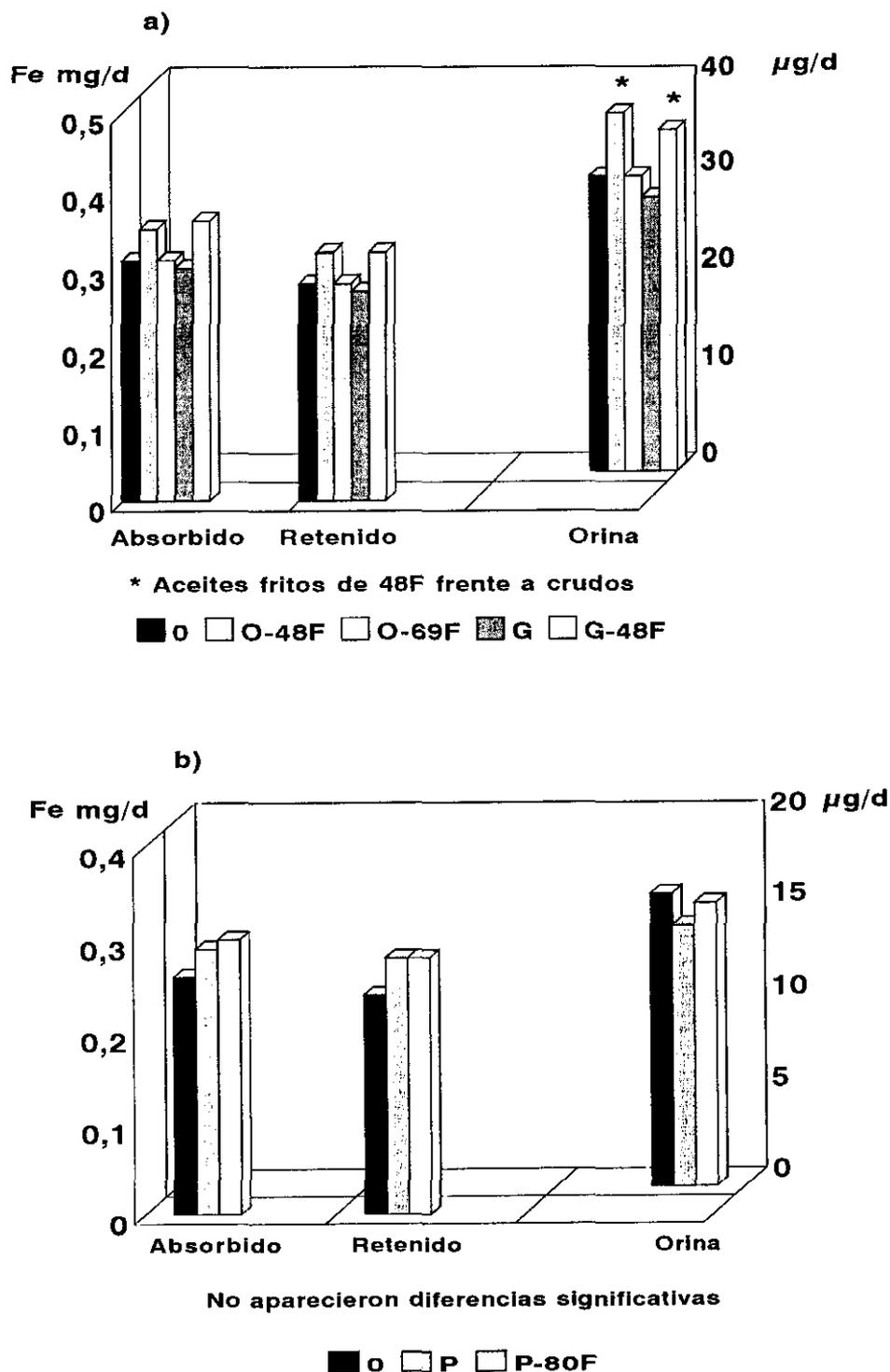


FIGURA 8.- ABSORCIÓN, BALANCE Y ELIMINACIÓN URINARIA DE HIERRO

a) Experimento I. O: Oliva, O-48F: Oliva de 48 frituras, O-69F: Oliva de 69 frituras, G: Girasol, G-48F: Girasol de 48 frituras. b) Experimento II. O: oliva, P: Palma crudo, P-80F: Palma de 80 frituras.

prácticamente mostraron valores idénticos ( $0.023 \pm 0.002$  y  $0.024 \pm 0.002$  mg/g respectivamente).

En consonancia con estos resultados, el contenido de hierro en hígado y su concentración (tabla 22, pág. 149) no se afectaron por el hecho de consumir uno u otro aceite. Estos datos coinciden totalmente con los de Aguirre (1996), y presentan la misma tendencia que los obtenidos por Davis y col. (1990), quienes estudiaron el efecto de la administración de aceite de cártamo enriquecido en ácido oleico o linoleico, y observaron un incremento significativo del tamaño de los hígados, así como una disminución en la concentración hepática de hierro en los animales que ingerían las dietas ricas en ácido oleico. Nuestros resultados están en la misma línea, pero seguramente no llegaron a alcanzar significación estadística, quizás porque en nuestro caso las dietas contenían un 8% de grasa, en lugar del 12% empleado por ellos, siendo también inferior la proporción de ácido linoleico en el aceite de girasol de nuestros ensayos (55% frente a 73%).

El contenido de hierro en bazo y piel tampoco reflejó diferencias dependientes de que los aceites de la dieta fueran oliva o girasol (tabla 22, pág. 149). Sin embargo, los hematíes de las ratas alimentadas con esta última grasa eran más ricos en hierro que los de las ratas que tomaron aceite de oliva (casi un 10% más) (fig. 9a, pág. 230). Salvo el estudio de Aguirre (1996) que no detecta diferencias, prácticamente no hay datos para contrastar este resultado. Algunos ácidos grasos libres facilitan el transporte de hierro al interior de membranas liposómicas, entre ellos se han mostrado efectivos, por orden descendente: linoleico > oleico > linolénico > palmítico (Simpson y Peters, 1987a). En eritrocitos humanos se ha visto *in vitro* que junto con el ácido oleico y el palmítico, también el ácido esteárico puede favorecer la captación de hierro (Qian y Eaton, 1991). Estos datos apoyarían que el aceite de girasol, que junto a esteárico, palmítico y oléico es rico en ácido linoleico, aumente el contenido de hierro del hematíe. No obstante, otros hallazgos indican que un exceso de ácido linoleico en la dieta disminuye el hematocrito, la concentración de hemoglobina en sangre, y la absorción férrica cuando se compara con una grasa más saturada, conduciendo a una anemia clara (Van Dokkum, 1983). A este respecto es preciso indicar que en nuestro estudio no existió un

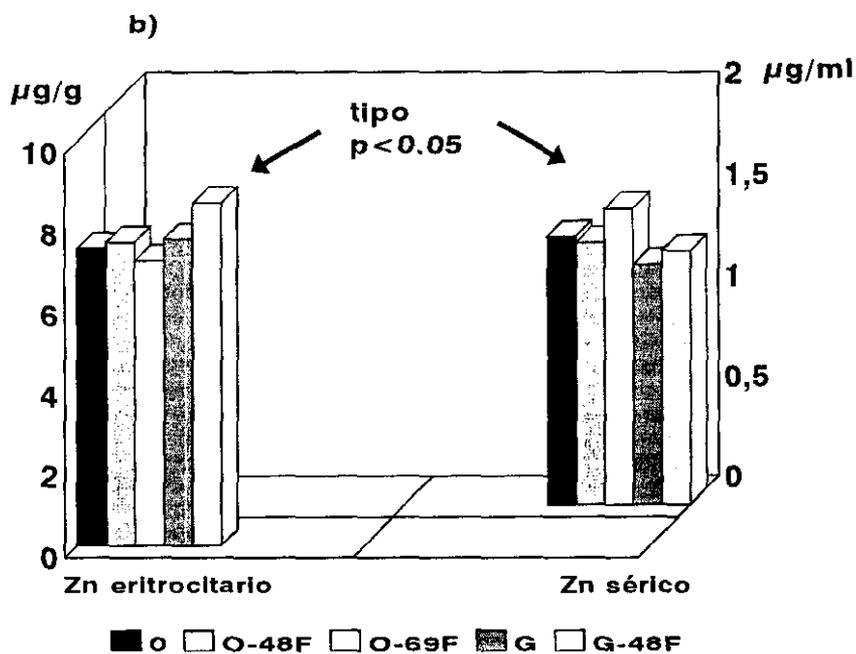
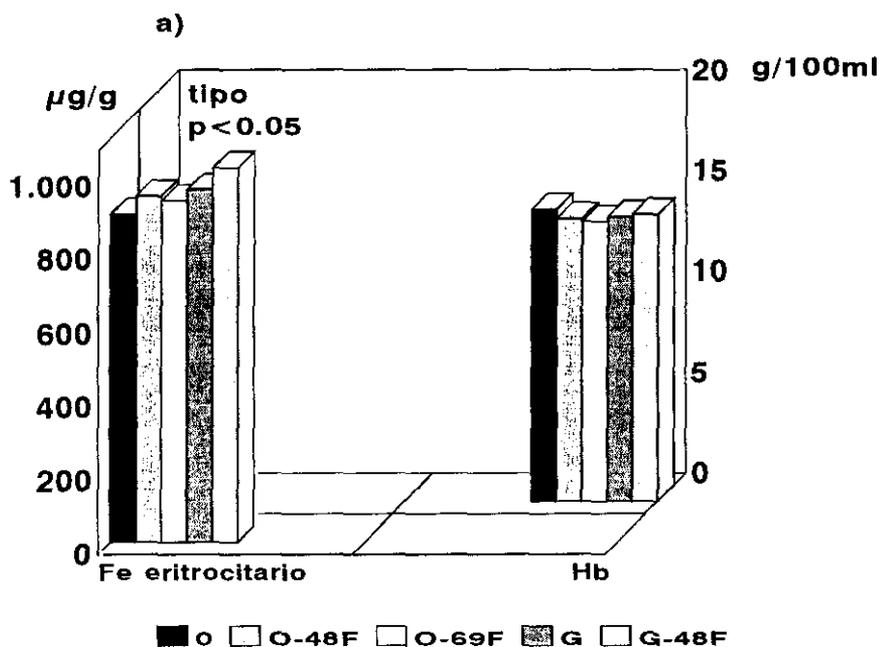


FIGURA 9

a) Hierro eritrocitario y hemoglobina. b) Zinc eritrocitario y sérico.

O: Oliva, O-48F: Oliva de 48 frituras, O-69F: Oliva de 69 frituras, G: Girasol, G-48F: Girasol de 48 frituras.

exceso de linoleico, y por tanto es congruente que tales cambios no se produjeran y que la concentración de hemoglobina (fig. 9a, pág. 230), la capacidad total del transporte de hierro (TIBC) (tabla 25, pág. 152) y, por supuesto, el hierro sérico (tabla 17, pág. 144), que sería un índice menos sensible a los cambios dietéticos (Morris, 1987), fueran del mismo orden en los animales que tomaron uno u otro aceite.

De acuerdo con la estabilidad mencionada en la hemoglobina, y a la espera de futuras comprobaciones, se intuye que este exceso de hierro en los hematíes de las ratas que tomaron aceite de girasol debió estar en forma no hémica, posiblemente como ferritina (Morris, 1987), y quizá no ser metabólicamente activo en gran parte (Qian y Eaton, 1991). Incluso podría especularse, teniendo en cuenta el papel del hierro como prooxidante (Halliwell, 1991), que dicho exceso influyera aumentando diferentes reacciones de oxidación, incluyendo la peroxidación lipídica, como se ha demostrado en membranas de eritrocitos que al incubarlas con hierro y diversos ácidos grasos resultaron especialmente sensibles a la oxidación (Qian y Eaton, 1991). Además, habría que tener en cuenta que los aceites de tipo poliinsaturado, como el de girasol, aumentan la susceptibilidad de los eritrocitos al daño oxidativo (Mills y col., 1995).

#### **5.1.5.1.2. Oliva y oleína de palma**

Todos los resultados relativos a la utilización nutritiva del hierro y su metabolismo reflejan que no existieron diferencias entre el aceite de oliva y el de palma (tabla 34, pág. 161; fig. 8b, pág. 228), pero ¿por qué ambos aceites ejercieron similares efectos sobre el hierro?. Como ya se ha indicado en otros capítulos, es preciso recordar que la oleína de palma tenía un contenido en ácido oleico bastante elevado (44.9% mg/100 mg; Arroyo, 1995), incluso mayor que el de ácido palmítico (38.6%; Arroyo, 1995) y por tanto los efectos beneficiosos de la grasa saturada señalados en la bibliografía sobre la biodisponibilidad del hierro no han podido apreciarse. Aún así, es cierto que la cantidad de oleico en el aceite de oliva casi duplicaba al de la oleína y ésta tenía casi 4 veces más ácido palmítico que el aceite

de oliva (Cuesta y col., 1991; Arroyo, 1995), por lo que en conjunto estos resultados indicarían que tanto el ácido oleico como el palmítico permiten una buena absorción de hierro y posterior utilización en el organismo.

Se ha indicado que la utilización metabólica del hierro (%R/A) mejora con aceite de oliva frente a la oleína de palma y al aceite de girasol, debido a que éstos últimos inducen un incremento de las pérdidas urinarias del metal (Aguirre, 1996), aunque sin repercusión sobre la cantidad neta retenida por el organismo o en órganos concretos, al igual que tampoco observamos en el presente trabajo (tablas 37 y 38, págs. 164 y 165).

Respecto al contenido de hierro en hematíes (tabla 38, pág. 165), que como hemos indicado aumentó en las ratas que tomaron aceite de girasol, su similitud en los grupos oliva y palma estaría de acuerdo con la observación de que los ácidos palmítico, esteárico y oleico ejercen efectos muy parecidos sobre la captación del hierro por membranas eritrocitarias *in vitro* (Qian y Eaton, 1991).

#### **5.1.5.2. Influencia del consumo de aceites fritos**

Como ya se ha comentado para los elementos mayoritarios, la ingesta del hierro tendió a incrementarse al incluir en la dieta aceite de girasol frito respecto al crudo. Por otro lado, tanto en el caso del aceite de oliva, como en el de girasol, la fritura originó cambios que promovieron un aumento en la excreción urinaria del metal (tabla 18, pág. 145; fig. 8a, pág. 228), aunque esto no se produjo cuando se frió con aceite de palma (tabla 34, pág. 161; fig. 8b, pág. 228).

Estudios preliminares de nuestro grupo ya revelaron que el aceite de oliva procedente de 15 frituras de patatas, incluido al 15% en la dieta, originaba una pequeña elevación del hierro urinario tanto en ratas gestantes como en controles (Pérez-Granados, 1990). No obstante, estas pequeñas modificaciones no llegaron a alterar en ningún caso la retención o

balance del elemento y, como es conocido, la utilización nutritiva global fue fiel reflejo de la utilización digestiva, ya que el porcentaje retenido del absorbido fue prácticamente del 90% y sólo un 10% apareció en la orina. Parece, por consiguiente, que las dietas elaboradas con aceites fritos fueron algo mejor aceptadas, lo que determinó una ingesta y absorción de hierro levemente superior, aunque no de forma significativa, eliminándose por orina ese ligero exceso de hierro, de manera que la retención diaria del metal resultó similar en todos los grupos, ya fueran de ratas tratadas con aceites crudos o fritos.

Se sabe que el hierro eliminado por orina puede aumentar con la cantidad ingerida, aunque el riñón no constituya un lugar importante de regulación homeostática del metal (Morris, 1987). Aun así, teniendo en cuenta que el hierro absorbido no se incrementó significativamente y que estos cambios no aparecieron con el aceite de palma frito, tal vez habría que pensar en alguna modificación específica difícil de explicar.

Aún careciendo de datos fiables para relacionarlo, puede aludirse a que en situaciones de síndrome nefrótico o durante tratamientos con determinados agentes quelantes sí se puede producir un incremento considerable de las pérdidas de hierro por orina (Morris, 1987), lo que sugiere que algunos de los compuestos de alteración, o los resultantes de sus reacciones con otros componentes dietéticos hayan podido fijar al elemento y favorecer su eliminación urinaria, tal como sucede con las premelanoidinas y el zinc (Furniss y col., 1986). De hecho, nuestro grupo demostró que la eliminación urinaria de hierro se incrementaba alimentando a ratas con caseína calentada en presencia de aceite frente a los mismos componentes sin tratar (Aspe, 1992). Otra posibilidad es que el consumo de los aceites de oliva y girasol fritos originen en la nefrona cambios de permeabilidad a diferentes especies metálicas, tendentes a aumentar su eliminación. En este sentido, se ha descrito que la peroxidación lipídica altera la permeabilidad de membranas (Sevanian, 1988) y que los radicales libres pueden producir daño renal (Aruoma, 1994).

De todas formas, los cambios en la excreción urinaria fueron de tan escasa cuantía que el hierro de las carcasas de los grupos con mayor eliminación urinaria, al final del

experimento no mostró variaciones, ni tampoco los contenidos tisulares o parámetros hematológicos (tablas 17, 21, 22, 25, 33, 37, 38 y 41, págs. 144, 148, 149, 152, 160, 164, 165 y 168), si bien el grupo oliva 69F, cuya excreción urinaria no difirió de la del oliva crudo, presentó los valores más altos absolutos y relativos de hierro en la carcasa (tabla 21, pág. 148).

### **5.1.6. UTILIZACIÓN DEL ZINC**

#### **5.1.6.1. Influencia del tipo de aceite**

##### **5.1.6.1.1. Oliva y girasol**

La homeostasis del zinc se ejerce fundamentalmente a nivel digestivo, regulando la absorción y la secreción endógena. En las condiciones de estos experimentos no se han detectado cambios significativos en la absorción aparente del metal (tabla 19, pág. 146), debido a la dispersión de los resultados, como ya habían observado otros autores (Aspe, 1992; Aguirre, 1996). Aún así, debe indicarse que algunos animales presentaron valores de excreción fecal tan elevados, que incluso dieron lugar en algunos de ellos a absorciones y retenciones aparentes negativas, posiblemente relacionadas con el empleo de caseína como proteína dietética (National Research Council, 1978; American Institute of Nutrition, 1977), ya que frente a otras, no parece ser la más favorecedora de la absorción del metal (Cunningham-Rundles, y Cunningham-Rundles, 1988; Sadström y Lönnerdal, 1989; Aspe, 1992).

---

Respecto a la ausencia de resultados significativos en la retención diaria de zinc, debidos al consumo de aceite de oliva y de girasol, se ha indicado, al igual que ocurre para el hierro, que en general los ácidos grasos saturados incrementan la absorción del zinc, mientras que los poliinsaturados de cadena larga la disminuyen (Lukaski y col., 1982). En este sentido, no es de extrañar que ambos tipos de aceites puedan ejercer una influencia similar sobre la absorción del metal, como ya se ha comentado en el caso del hierro.

De acuerdo con los resultados del balance, tampoco se encontraron diferencias en los contenidos de zinc en carcasas (tabla 21, pág. 148), hígado, bazo y piel, absolutos y relativos (tabla 23, pág. 150), debidas al tipo de aceite. Sin embargo, aunque en todos los grupos los valores de zinc eritrocitario se hallaron dentro del rango normal (Hambidge y col., 1986; Swinkels y col., 1994), la concentración de zinc en los hematíes de las ratas cuyas dietas contenían aceite de girasol tendió a ser superior respecto a las alimentadas con aceite de oliva (tabla 23, pág. 150; fig. 9b, pág. 230), lo mismo que ocurría para el hierro, aunque en el caso del zinc se observó de forma más marcada. El contenido de zinc en los hematíes representa entre el 75 y el 88% del total sanguíneo, la mayor parte del cual se integra en la anhidrasa carbónica y sólo una pequeña cantidad se encuentra en la membrana (Hambidge y col., 1986; Cousins, 1989). Por tanto, podría especularse que en el caso de los animales que tomaban aceite de girasol, el acúmulo de zinc esté desempeñando un papel relacionado con esta metaloenzima, que cataliza la reacción:

$$\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \longleftrightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$$
, y que se hayan desencadenado mecanismos para incorporar dicho metal al interior del eritrocito. Podría pensarse que existe una relación entre esta función del zinc en la anhidrasa carbónica y el metabolismo de los ácidos grasos poliinsaturados, más abundantes en el aceite de girasol, ya que se ha descrito que estos ácidos grasos en determinadas situaciones se movilizan más fácilmente que los saturados (Segura, 1992) y elevan los niveles séricos de ácidos grasos libres cuando se les compara con los saturados, lo que hipotéticamente podría ocasionar una cierta acidosis metabólica y desplazar el sentido de la reacción catalizada por la anhidrasa carbónica hacia la producción de  $\text{CO}_2$ , que sería eliminado por los pulmones. De ser cierto, ello justificaría la mayor penetración del elemento al interior del eritrocito.

Se podría formular otra hipótesis teniendo en cuenta, por un lado, el papel del zinc en la defensa frente a la oxidación y los radicales libres (Willson, 1989), y por otro las descripciones que relacionan la ingesta de cantidades elevadas de ácido linoleico con una mayor susceptibilidad de los eritrocitos al daño oxidativo (Mills y col., 1995). A través de las uniones del zinc a la superóxido dismutasa (Willson, 1989) el acúmulo de este metal podría proteger las células de dicho daño e incluso del daño oxidativo que pudiera haber inducido

el hierro, que también se encontró elevado en los glóbulos rojos de los animales que tomaron aceite de girasol.

Por último, una tercera hipótesis sería que el mayor acúmulo de zinc en el eritrocito se ha producido simplemente por cambios en la permeabilidad de la membrana eritrocitaria, ligados al tipo de grasa dietética, tal como se describía para el hierro, y sugiere Wapnir y Lee (1990) en la membrana intestinal, refiriéndose específicamente al zinc.

Nuestros resultados reflejan que en las ratas que tomaron aceite de girasol, que presentaron las mayores concentraciones de zinc en hematíes, se produjo simultáneamente un descenso en el zinc sérico (tabla 17, pág. 144; fig. 9b, pág. 230). No es de extrañar, sin embargo, que en otros tejidos, como hígado o bazo, no se hayan detectado modificaciones, ya que constituyen un compartimento de mayor tamaño que el suero y por tanto un aumento o disminución de algunos microgramos de zinc en dichos órganos es más difícil de apreciar y no llega a ser significativo tan fácilmente. Así, como explica Jackson (1989), un aumento del 1% en el contenido hepático de zinc podría deplecionar el zinc plasmático aproximadamente en un 40%, pero si se distribuye homogéneamente aumentaría la concentración de zinc hepático algo menos de 1µg/g, lo cual es difícil detectar con las técnicas analíticas usuales. Por lo que respecta al contenido de zinc en la piel, se sabe que puede mantenerse bastante estable aún cuando el tejido en sí puede mostrar alteraciones en casos de deficiencia del metal (Jackson y col, 1982). No obstante, se apreció un ligero incremento en los animales que tomaron aceite de girasol, aunque las diferencias respecto a los de oliva no fueron significativas (tabla 23, pág. 150).

Por consiguiente, de todo ello podríamos deducir que en las ratas cuya dieta contenía aceite de girasol, independientemente del proceso de fritura, se movilizó zinc desde el plasma a los eritrocitos y quizá a otros órganos como por ejemplo la piel, pero manteniendo en general un estado de zinc adecuado, con valores dentro del rango normal en los distintos órganos.

#### **5.1.6.1.2. Oliva y oleína de palma**

El consumo de aceite de palma no introdujo variaciones sustanciales en la utilización nutritiva del zinc respecto al aceite de oliva (tabla 35, pág. 162). Solamente cabe reseñar un aumento en la eliminación de zinc por heces en los animales que consumieron aceite de palma crudo, aunque no llegó a afectarse significativamente ni la absorción ni la retención diaria del metal, lo que contrasta con el efecto favorecedor de la absorción debido al ácido palmítico, que Wapnir y Lee (1990) detectaron mediante perfusión intestinal en ratas. En consecuencia, el zinc contenido en carcasas (tabla 37, pág. 164) y órganos fue bastante similar en los animales que se alimentaron con uno u otro aceite. Sin embargo, la oleína indujo un cierto descenso de la concentración de zinc en hígado (tabla 39, pág. 166), que se apreció a un nivel de significación estadística del 10%, y que podría relacionarse con la tendencia a dificultar la absorción del nutriente que se ha indicado anteriormente.

Por último, y a diferencia de lo hallado referente al aceite de girasol, el consumo de aceite de palma, cuando se compara con aceite de oliva, no altera la concentración de zinc en hematíes (tabla 39, pág. 166) o suero (tabla 33, pág. 160).

Todo ello parece indicar que los aceites de oliva, girasol y palma actúan de una forma bastante similar sobre la biodisponibilidad de zinc, aunque respecto al aceite de oliva, el de girasol altera la distribución de zinc en eritrocitos y suero, y el de palma tiende a disminuir su absorción y concentración hepática.

#### **5.1.6.2. Influencia del consumo de aceites fritos**

El consumo de aceites fritos tampoco modificó la digestibilidad del zinc, si bien la fritura originó en los aceites de oliva y girasol, pero no en el de palma, cambios que condicionaron en los animales que los ingerían un aumento de la eliminación de zinc por orina, aunque, paradójicamente, y al igual que ocurría con el hierro, pasar de 48 a 69 frituras

en el aceite de oliva no supuso un mayor incremento en dichas pérdidas (tablas 19 y 35, págs. 146 y 162).

Jackson (1989) indicó que las variaciones en el zinc urinario por cambios dietéticos no son de suficiente magnitud como para afectar el balance de zinc o participar en su homeostasia, tal como corresponde a un elemento traza cuya utilización nutritiva, igual que la del hierro, se regula a través de la absorción. No obstante, en situaciones de catabolismo muscular sí puede incrementarse bastante el zinc urinario, pero esta situación catabólica no se produjo en las ratas que tomaron aceites procedentes de fritura, ya que, en todo caso, fueron las que tuvieron un consumo de alimento algo mayor y tendieron a pesar más respecto a las que tomaron aceites crudos, por lo que debería pensarse en un efecto directo o indirecto relacionado con la alteración de los aceites producida durante la fritura de patatas, en la que se originan monómeros, dímeros y polímeros de triglicéridos e incluso triglicéridos oxidados (López-Varela, 1993; Arroyo, 1995) que alterarían directa o indirectamente el metabolismo de zinc, en línea con lo descrito al hablar del hierro.

Cabe pensar, que los efectos de los aceites de oliva y girasol alterados sobre el metabolismo del hierro y del zinc se ejercen por mecanismos similares, aunque sería necesario confirmar esta hipótesis. Se ha descrito que algunos agentes quelantes incrementan el zinc urinario (Hambidge y col., 1986), al igual que se ha observado para el hierro, y además que compuestos extraños al organismo, como los procedentes de la reacción de Maillard típica o los derivados de la reacción de lípidos oxidados con aminoácidos, pueden incrementar la excreción urinaria de zinc en ratas (Furniss y col. 1989; Fairweather-Tait y Symss, 1989). Concretamente Aspe (1992) observó, en las circunstancias descritas, elevadas eliminaciones de zinc y hierro sin que se afectaran las de los restantes minerales, algo parecido a lo que ocurre en estos ensayos.

## **5.1.7. UTILIZACIÓN DEL COBRE**

### **5.1.7.1. Influencia del tipo de aceite**

#### **5.1.7.1.1. Oliva y girasol**

El que los animales consumieran las dietas con uno u otro aceite no afectó la absorción y digestibilidad del cobre (tabla 20, pág. 147). Por tanto, parece que el factor tipo de grasa empleado no modificó la utilización digestiva del elemento, cosa que no es de extrañar, ya que en la misma línea y en otros ensayos se ha descrito que el consumo de oliva y girasol, como fuente grasa de dietas normales, no altera la biodisponibilidad del metal (Aguirre, 1996). Las eliminaciones urinarias de este elemento son aún más pequeñas que las de hierro y zinc, del orden de 5-10  $\mu\text{g}/\text{día}$  (Aguirre, 1996), y en nuestras condiciones experimentales las muestras quedaban por debajo del límite de detección, por lo que los resultados correspondientes a "orina" y "retenido" no se han reflejado en las tablas. Coincidiendo con estos resultados, las cantidades totales de cobre en las carcasas, así como sus concentraciones, no variaron por el tipo de grasa empleada en las dietas experimentales (tabla 16, pág. 143).

El contenido de cobre en hígado y piel se utilizó como un indicador del status de cobre de los animales (Davis y Mertz, 1987; Cousins, 1985). En estos tejidos no se apreciaron diferencias por el consumo de aceite de oliva y de girasol, ni tampoco en el cobre de hematíes (tabla 24, pág. 151) o en sus niveles séricos (tabla 17, pág. 144), a diferencia de las variaciones descritas en el hierro y zinc. En relación a este tema, se sabe que los tres elementos traza, hierro, zinc y cobre, mantienen relaciones mutuas y presentan competencia por los mismos sistemas de transporte (O'Dell, 1985; Solomons, 1986; Storey y Greger, 1987), sin embargo, como puede deducirse de estos resultados, parece que poseen distinta sensibilidad a estos dos aceites.

#### **5.1.7.1.2. Oliva y oleína de palma**

La absorción aparente de cobre no experimentó modificaciones por el consumo de aceite de oliva o palma (tabla 36, pág. 163). Tampoco el cobre de las carcasas reveló ningún cambio por el tipo de aceite administrado a los animales (tabla 37, pág. 164).

Por su parte, el contenido de cobre en los hígados de los tres grupos de animales se mantuvo muy próximo (tabla 40, pág. 167). A este respecto, los únicos datos de que disponemos son los de Lynch y Strain (1990) que describen un incremento de las concentraciones hepáticas de este metal cuando la dieta contiene una grasa saturada. En nuestro caso, las ratas que consumieron aceite de palma crudo presentaron una concentración de cobre en hígado algo superior, respecto a las que tomaban aceite de palma frito, aunque sin diferencias significativas frente al oliva. Tampoco se apreciaron cambios en el resto de los parámetros analizados.

#### **5.1.7.2. Influencia del consumo de aceites fritos**

La absorción y digestibilidad del cobre en las distintas dietas no pareció alterarse cuando estas contenían aceites de fritura (tablas 20 y 36, págs. 147 y 163). Simplemente se observó una ingesta de cobre algo mayor ( $p < 0.10$ , no reflejado en la tabla) en el grupo de animales que tomó aceite de girasol frito frente al crudo, como se ha indicado para los demás elementos, que, sin embargo, no se tradujo en un incremento de su absorción.

Los contenidos corporales de cobre no variaron por efecto de la fritura, de acuerdo con la estabilidad descrita en las absorciones (tablas 21 y 37, págs. 148 y 164). No obstante, las diferencias estadísticas que aparecieron en relación con la fritura y por las que las concentraciones cúpricas eran más pequeñas en los animales que comieron las grasas fritas, deben relacionarse con los valores ligeramente más altos de peso corporal, que no aparecieron con la oleína de palma frita porque esos animales tampoco incrementaron su peso.

En los distintos órganos estudiados y en el suero, tampoco aparecieron diferencias por lo que a la cantidad de cobre se refiere, salvo una tendencia a la disminución en las concentraciones hepáticas del metal en los animales que ingirieron la oleína de palma frita (tablas 33 y 40, págs, 160 y 167).

## **5.2. EXPERIMENTO III (grasa de sardina)**

### **5.2.1. Influencia del consumo de grasa de sardinas crudas o fritas**

#### **5.2.1.1. Ingesta, evolución ponderal y parámetros relacionados**

Durante todo el ensayo la ingesta de las ratas que incluían en su dieta la grasa de las sardinas crudas fue claramente inferior, respecto a las que tomaban el aceite de oliva o la grasa de las sardinas fritas en aceite de oliva (tabla 42, pág. 169). Un efecto depresor similar de la grasa de pescado ha sido descrito comparando aceite de pescado frente a aceite de sésamo (Domínguez y Bosch, 1994), que incluso se exacerbaba al elevar la proporción lipídica de la dieta; aceite de pescado con aceite de maíz (Herman y col., 1991), o este último respecto a aceite de salmón con los que se alimentaban ratones (LeBoeuf y Veldee, 1993).

Algunos autores, para explicar el más escaso consumo alimenticio, aluden a un descenso en la palatabilidad de las dietas que contienen el aceite de pescado, que Chao y Gordon (1983) relacionan con la fácil oxidación de sus lípidos, a causa de la cual las dietas serían menos apetecibles para los animales. Sin embargo, Herman y col. (1991), que aluden también a la menor palatabilidad de estas dietas, descartan que se deba a la autooxidación de los ácidos grasos n-3, ya que mediante análisis comprueban que dicho fenómeno no se ha producido. Nuestros resultados apuntarían en el mismo sentido, porque las grasas del pescado crudo y frito una vez extraídas, como ya se ha indicado en la metodología, se conservaron en atmósfera de nitrógeno a -20°C, y con ellas se prepararon las dietas que contenían suficiente vitamina E y otros antioxidantes, y se mantuvieron en refrigeración separando diariamente las porciones que habían de administrarse a los animales. Además, el grupo que consumió la grasa de sardina frita, en cuyo caso los fenómenos de peroxidación podrían haber tenido

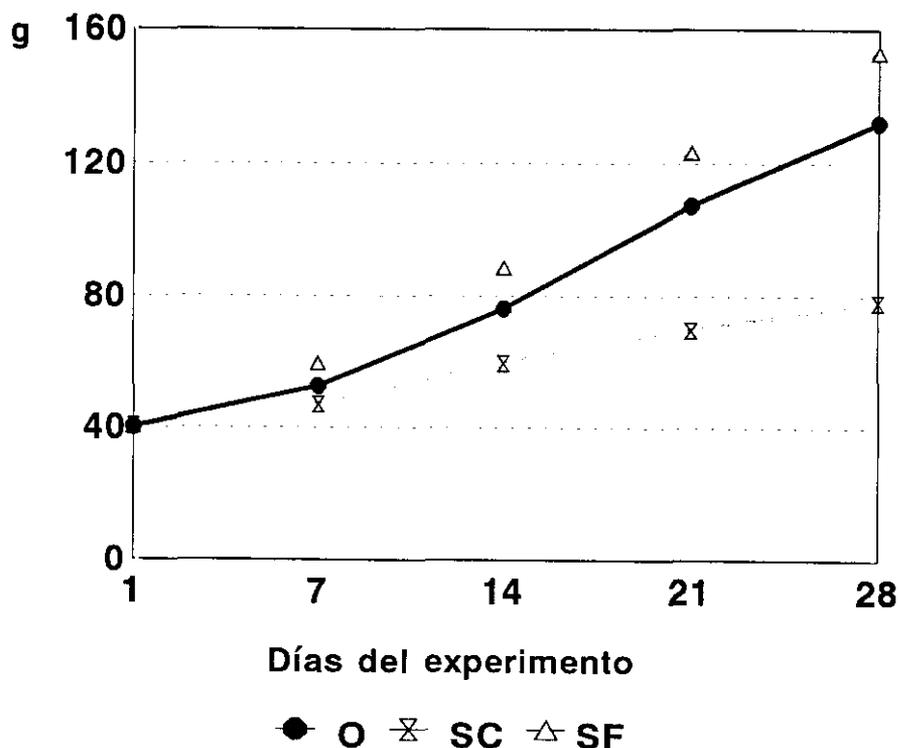
mayor entidad (Sánchez-Muniz y col., 1992), tuvo una ingesta incluso superior a la de los animales que se alimentaron a base de las dietas con aceite de oliva.

En el mismo sentido, el incremento de peso de las ratas que consumieron la grasa de sardina cruda fue inferior al de las que tomaron aceite de oliva o la grasa de las sardinas fritas, alcanzando un peso final próximo a la mitad del de estas últimas (tabla 43, pág. 170; fig. 10, pág. 243). Evoluciones ponderales menos intensas se han asociado al consumo de grasas de pescado (Herman y col., 1991), cuyo deterioro se hacía más evidente al elevar el nivel graso de la dieta (Domínguez y Bosch, 1994); por la ingesta de aceite de salmón en ratones (LeBoeuf y Veldee, 1993) e, incluso, en dietas de pescado entero (Chao y Gordon, 1983). Nuestro grupo no visualizó semejantes deterioros utilizando atún blanco como fuente proteica y parcialmente grasa de la dieta (García-Arias y col., 1993) ni con sardina entera (Aspe, 1992), estabilidad en el crecimiento que también manifiestan los trabajos de Nakajima y col. (1988) en dietas con sardina hervida y seca, respecto a las de caseína. De ahí, que los resultados negativos sobre el peso que se muestran en estos ensayos hayan de imputarse a la grasa de sardina y no al pescado como tal; en principio, por ser el único nutriente procedente del pescado que se utilizó y, además, porque en los trabajos antes aludidos (Aspe, 1992) ni la proteína de sardina, ni incluso la sardina entera afectaron el peso de los animales respecto de los alimentados con el patrón caseína DL-metionina, ni modificaron los coeficientes de eficacia proteica para el crecimiento o el de eficacia alimentaria, lo cual ponía de manifiesto que la proteína de la sardina era tan adecuadamente utilizada como la caseína DL-metionina para permitir el crecimiento de la rata.

El efecto negativo de la grasa de sardina cruda para frenar el crecimiento y/o la ganancia de peso de las ratas, no puede ser atribuido exclusivamente al menor consumo alimentario, ya que la dieta que la contenía se utilizó con una eficacia muy inferior (tabla 44, pág. 171), entre el 46% y el 67% de las que tenían aceite de oliva o grasa de sardinas fritas, según los periodos. Estos resultados coinciden con los menores coeficientes de eficacia alimentaria obtenidos en los trabajos de Domínguez y Bosch (1994) en dietas con aceites de pescado respecto a las que incluían el de sésamo. Por su parte, dichos coeficientes, en los grupos que

contenían como grasa dietética el aceite de oliva y el procedente de la sardina frita, se aproximaron en las tres últimas semanas pero en la primera el coeficiente de eficacia alimentaria de la ración formada con la grasa de la sardina frita superó con creces al del grupo control.

**Figura 10. Evolución ponderal**



Se han propuesto diversos caminos para explicar la menor evolución ponderal que acompaña al consumo de los aceites de pescado. Alguno de ellos indica malabsorción de la grasa, que se manifiesta con esteatorrea (Farkkila y Miettinen, 1990). La idea parte o se relaciona con la reducción de la lipemia postprandial en individuos tras el consumo de dietas

muy ricas en grasas de pescado, descrita ya en 1980 por Harris y Connor, que inducía a pensar en una peor absorción de este tipo de grasas o de la grasa en general bajo su consumo. Para Nestel en 1990 los resultados al respecto no eran del todo concluyentes pues, si bien canulaciones linfáticas en ratas demostraban que concentrados de aceites de pescados eran peor absorbidos que otros aceites, la absorción del ácido eicosapentaenoico libre resultaba tan eficaz como la del oleico (Chen y col., 1985). Además, cuando se emulsificaban bien con ácidos biliares, la absorción en la rata del aceite de pescado se equiparaba con la del aceite de oliva (Harris y Williams, 1988). No obstante, aparecían datos contradictorios, resaltando la importancia del ambiente intestinal para inclinar la absorción en uno u otro sentido (Lawson y Hughes, 1988). Y se aludía también a la posibilidad de una menor efectividad de la lipasa pancreática sobre este tipo de grasas (Bottino y col., 1967). Datos más recientes, obtenidos en cultivos celulares, parecen demostrar que la penetración en la célula intestinal y la síntesis de triglicéridos en ella es similar en presencia de eicosapentaenoico que de oleico, mientras que, sin embargo, se reduce la secreción de triglicéridos desde el enterocito al medio interno (Ranheim y col., 1994). Si esto fuera así, la descamación de las células intestinales acarrearía pérdidas de los lípidos almacenados que contribuirían a incrementar la grasa fecal. En los ensayos que aquí se describen, aunque una clara esteatorrea no fue comprobada, las ratas alimentadas con la grasa de las sardinas crudas tuvieron heces más blandas y un cierto grado de diarrea, lo que ciertamente podía haber contribuido a ocasionar una más pobre absorción de nutrientes con el consiguiente deterioro en el crecimiento y en la evolución ponderal; así que la participación de este mecanismo no puede ser descartada.

El retraso en el crecimiento fetal, causado por el consumo de dietas con aceites de pescado, se ha descrito como reflejo de una ingesta insuficiente de ácidos grasos esenciales (Clarke y col., 1988), lo que daña importantes funciones fisiológicas relacionadas con los ácidos grasos n-6, ligadas a la depleción de estas moléculas en los fosfolípidos de membrana e inhibición de la síntesis de prostanoides (Lokesh y Kinsella, 1985). En esa línea, cultivos celulares han permitido demostrar que las células incorporan cantidades importantes de lípidos exógenos en sus fosfolípidos (Dashti y col., 1990). Así, tras una semana de cultivo en un medio rico en ácido eicosapentaenoico, éste se incorporó a los fosfolípidos en un 24%,

causando una reducción paralela del 50% en la concentración de araquidónico. Igualmente estudios de suplementación con ácidos grasos n-3, a base de aceites de pescado en animales y humanos, ponen de manifiesto aumentos tisulares importantes de estos ácidos grasos, que se relacionarían con los reducidos niveles de ácido araquidónico hallados en muchos de los tejidos analizados (Otten y col., 1993) y, en general, con depleción tisular de n-6 (Clarke y col., 1988), así como con un aumento de la relación n-3/n-6 especialmente en las células más viejas (Mills y col., 1995). Tales cambios podrían modificar las propiedades funcionales de las membranas celulares o alterar el metabolismo celular por disminución de la síntesis de eicosanoides a partir del araquidónico (Leaf y Weber, 1988; Dias y col., 1990).

El peor crecimiento, ocurrido en estos ensayos con la dieta que incluía la grasa de las sardinas crudas, podría depender también del efecto anteriormente señalado, ya que esa dieta proporcionaba 0.23 y 0.50 % de las calorías dietéticas como ácidos linoleico y araquidónico respectivamente. Estos niveles dietéticos de ácidos grasos n-6 están al borde de los requerimientos o son casi insuficientes para lograr el óptimo crecimiento en la rata (Pudelkewicz y col., 1968). Pero, además, parece que dichos requerimientos se incrementan en dietas muy ricas en grasas de pescado, donde la relación n-3/n-6 es alta (Mohrauer y Holman, 1963; Clarke y col., 1988), y esa relación era muy elevada en la dieta empleada: 5.12, frente al valor de 1 señalado por Kinsella (1987) como adecuado para solventar los problemas sanitarios, y mucho más alejado de la proporción idónea para Budowski y Crawford (1985): 5 a 1 de n-6 y n-3 respectivamente. Por tanto, no es arriesgado sospechar que tal exceso de n-3 en estos ensayos pudiera haber incrementado el déficit de n-6 y acarreado las consecuencias negativas descritas, lo que concordaría con el retraso del crecimiento fetal señalado por Clarke y col. (1988) en unas situaciones experimentales parecidas.

Cabe hacer una última especulación relativa al papel que los prostanoïdes desempeñan en el crecimiento. De hecho, se ha visto que el PGE<sub>2</sub> estimula la síntesis de DNA y el crecimiento en cultivos celulares (Burch y col., 1986) y, aunque no se ha demostrado la existencia de un prostanoïde que sea factor de crecimiento, la deficiencia de araquidónico,

inducida por dietas escasas en linoleico o ricas en ácidos grasos n-3, podría ocasionar que no hubiera suficiente araquidónico disponible para fabricar ese hipotético factor de crecimiento.

Para finalizar la enumeración de mecanismos que pueden haber contribuido a la más precaria evolución ponderal de las ratas que tomaban la grasa de la sardina cruda, puede aludirse a que los cambios en los fosfolípidos de membrana, consecuentes a su consumo, podrían causar anomalías estructurales que potencialmente distorsionarían la interacción hormona-receptor o interferirían la transducción de las señales de los factores de crecimiento (Dosen y col., 1985; Tepperman y Tepperman, 1985).

El incremento de peso de las ratas que se alimentaron con la dieta que contenía la grasa de la sardina frita fue aún mayor que el de las que consumieron la del aceite de oliva (tabla 43, pág. 170; fig. 10, pág. 243), lo cual afianzaría, de una parte, la interpretación anterior y, de otra, la esencialidad de los n-3:

Durante la fritura tienen lugar una serie de interacciones entre los componentes del alimento y la grasa del baño, de forma que por lo que al pescado graso se refiere, se concretan esencialmente en salida y descenso de los ácidos grasos más típicos del pescado con paralela penetración de los constituyentes de la grasa en la que se fríe (Gall y col., 1983; Sánchez-Muniz y col., 1992). Así, la grasa de las sardinas fritas en aceite de oliva se enriquece fundamentalmente en oleico y linoleico a la par que se empobrece en eicosapentaenoico, docosahexaenoico y saturados, tal como describen Sánchez-Muniz y col. (1992) y se recoge en la tabla 7 (pág. 105). Por ello, en las ratas que consumieron la grasa de las sardinas fritas, se incrementó el aporte de ácido linoleico y, sobre todo, disminuyó el de n-3 y con ello la relación n-3/n-6, con lo que seguramente las funciones fisiológicas dependientes de los n-6 no se vieron afectadas negativamente.

Además, la presencia de los n-3 en la dieta con grasa de sardina frita, respecto a la del aceite de oliva, debe considerarse como beneficiosa, debido a la esencialidad atribuida a dichos ácidos grasos y a su importante papel en periodos del desarrollo (Yamamoto y col.,

1987; Neuringer y col., 1988; Carlson y Salem, 1991), sobre todo centrado en las funciones fisiológicas del ácido docosahexaenoico (Neuringer y col., 1988; Sanders, 1993; Uauy y col., 1990; Lucas y col., 1992).

Hay que hacer notar que la ingesta de este grupo, que tomaba la grasa de las sardinas fritas mezclada con la del baño de fritura, se incrementó de forma similar a lo apuntado por Clarke y col. (1988) en ratas gestantes que consumían aceite de cártamo en unión con aceite de menhaden respecto al consumo de ambos aceites de forma aislada. Sin duda, la mayor ingesta fue la principal razón para que estos animales incrementaran su peso de forma más acusada, pero no la única, porque especialmente en la primera semana del ensayo, esta dieta fue utilizada con una eficacia incluso superior a la del aceite de oliva, para en semanas posteriores no llegar a diferir significativamente (tabla 44, pág. 171). Esto seguramente podría relacionarse con el importante papel de los ácidos grasos n-3 en las épocas más tempranas del desarrollo, pues aunque los periodos de vulnerabilidad al déficit de estos compuestos no han sido delimitados, ni tampoco se conocen sus necesidades en épocas más avanzadas de la vida, quedan pocas dudas acerca de su importancia durante el desarrollo cerebral, en el que tiene lugar una importante elevación en el órgano de sus contenidos de araquidónico y docosahexaenoico. Hay que considerar al respecto, que en la rata la máxima aceleración del crecimiento se produce postnatalmente; y ambos ácidos grasos se incrementan rápidamente durante el período de más intensa división de las células cerebrales, entre el nacimiento y los primeros días de vida (Kishimoto y col., 1965; Sinnhuber y col., 1972). Por tanto, la presencia de estos ácidos grasos poliinsaturados, unidos a los correspondientes del aceite de oliva que tomaron las ratas alimentadas con la grasa de la sardina frita, podrían haber contribuido, en alguna medida, a favorecer la utilización de la dieta, sobre todo al principio de los experimentos.

El peso hepático de los animales que tomaron la grasa de sardina cruda fue más pequeño al final del experimento, casi la mitad que el de las ratas de los otros dos grupos, entre los cuales, los de la grasa de la sardina frita tendieron a ser mayores que los del grupo de aceite de oliva, pero sus diferencias sólo alcanzaron significación estadística al nivel del 10% (tabla

59, pág. 189). Hígados más pequeños habían sido ya descritos bajo el consumo de diferentes aceites de pescado en ratas y ratones de menor peso (Herman y col., 1991; LeBoeuf y Veldee, 1993). Sin embargo, en nuestro caso no pude decirse que se trate de una disminución totalmente paralela a la más escasa evolución ponderal, ya que el índice hepatosomático en estas ratas fue incluso superior al de las que se alimentaron a base de aceite de oliva y no difirió significativamente del de las que tomaron la grasa de la sardina frita; hecho que tal vez guarde alguna relación con los cambios que el consumo de aceites de pescado introduce en los lípidos hepáticos (Huang y col., 1989).

### EXPERIMENTO III

GRUPOS	Índice hepatosomático (%)
Oliva	3.90±0.14 <sup>a</sup>
Sardina cruda	4.37±0.11 <sup>b</sup>
Sardina frita	4.06±0.14 <sup>ab</sup>
<b>Anova grupo</b>	<b>p=0.0506</b>

Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos.

#### 5.2.1.2. UTILIZACIÓN DEL CALCIO

Del estudio *in vitro* de las dietas parece desprenderse, a grandes rasgos, que la grasa de sardina, respecto al aceite de oliva, favoreció las formas solubles del calcio, dializado y no, en detrimento del precipitado, lo que concuerda con las observaciones de Aguirre (1996), que utilizando aceites de oliva, girasol y palma, observó que los mayores porcentajes de elemento dializado y soluble se mostraban paralelos al grado de insaturación de los aceites. Es, por tanto, congruente que la grasa de sardina, mucho más insaturada, fuera la que ocasionara mayores proporciones solubles del elemento. Sin grandes diferencias entre sardina cruda y

frita, posiblemente fue esta última la que más favoreció la solubilidad (tabla 45, pág. 172; fig. 2a, pág. 173).

Como se señalaba, y se observa en la tabla 7 (pág. 105), tras la fritura la grasa de sardina perdió ácidos grasos poliinsaturados y saturados, se enriqueció en linoleico y, sobre todo, en oleico. Por ello, no es raro que la grasa de las sardinas fritas, aún habiéndose hecho menos poliinsaturada, resulte casi más positiva en lo que a la solubilidad del calcio se refiere, ya que a la par que poliinsaturados, ha perdido saturados, concretamente esteárico y palmítico que, según los trabajos antes citados de Aguirre (1996), eran los que, con diferencia, más incrementaban la precipitación cálcica.

De todas formas los resultados de la digestión *in vitro* no indican más que la capacidad del nutriente para ser utilizado en el seno de una dieta, que en el caso de las dietas que contienen grasas de sardinas sería buena; el que luego en el organismo el calcio utilizable se absorba más o menos, va a depender de las necesidades del individuo y de la regulación homeostática del elemento. Así, las ratas alimentadas con la dieta que incluía la grasa de la sardinas crudas comieron menos, y por eso la ingesta cálcica fue más escasa, ante ello la regulación funcionó y los animales trataron de aprovechar el elemento mejor, para lo que disminuyeron sus pérdidas fecales, de este modo consiguieron que la cantidad absorbida durante el primer período de balance no difiriera de la del grupo control (tabla 46, pág. 174; fig. 11a, pág. 250). Esto fue posible, en primer lugar, porque el calcio en el seno de la dieta gozaba de una disponibilidad adecuada, pero quizás también por otra serie de razones dependientes de los efectos del consumo de la grasa de pescado en el organismo:

Los resultados de Croset y col. (1989) indican que el consumo de aceites de pescado frente al de oliva produce, como ya se vio, una serie de modificaciones en los lípidos estructurales de las membranas y, concretamente, se sabe que la incorporación de docosahexaenoico ( $C_{22:6n-3}$ ) y/o la reducción de araquidónico ( $C_{20:4n-6}$ ) y de linoleico ( $18:2n-6$ ) en los fosfolípidos de la membrana del retículo sarcoplásmico puede afectar la estructura de la bicapa lipídica, haciéndola más permeable al  $Ca^{++}$ . Esto sugiere que los cambios en la

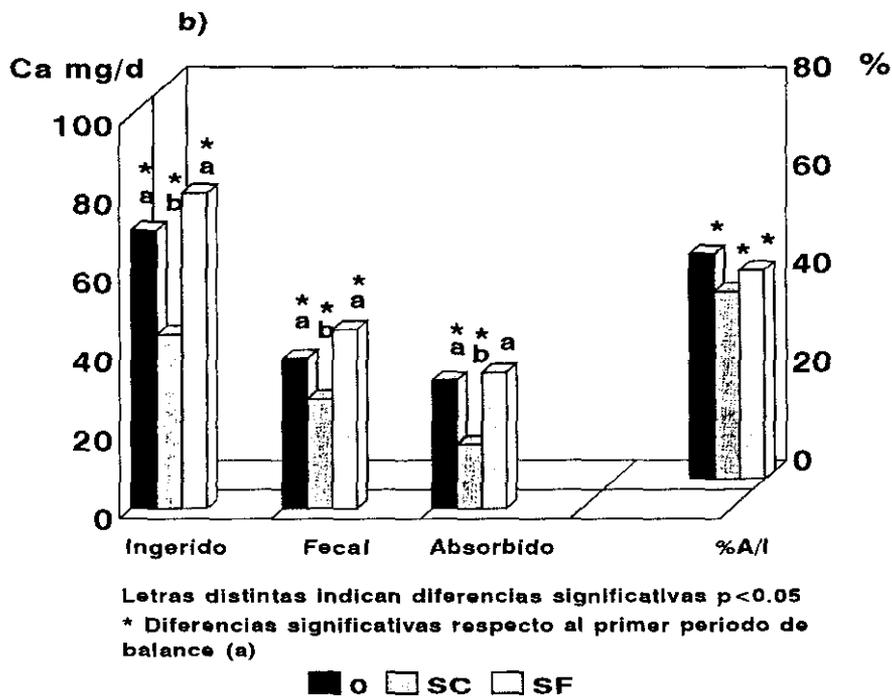
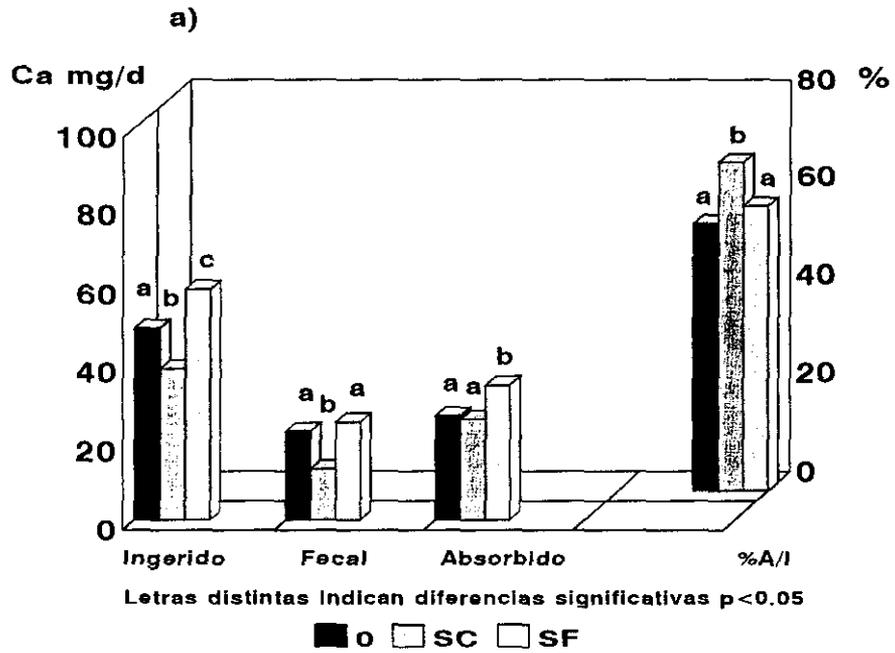


FIGURA 11.- UTILIZACION DIGESTIVA DE CALCIO

a) Primer periodo de balance. b) Segundo periodo de balance.  
 o: oliva, SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

membrana del enterocito, que también se producen (Ranheim y col., 1994), pueden haber favorecido la penetración del calcio.

Sobre todo hay que tener presente que debido al déficit de ingesta, y ya que los animales se encontraban en un estadio de crecimiento acelerado e intensa calcificación de su esqueleto (Miller y col., 1986), la regulación homeostática ha tenido que funcionar. Nótese que la concentración cálcica en el hueso al nacimiento se cifra en aproximadamente 1.90 mg/g (Vaquero y Navarro, 1993) mientras que tras 32-35 días de vida, edad que tienen estas ratas, se acerca a los 8-9 mg/g (Aguirre, 1996). Los animales del grupo sardina cruda, aún sin diferencias significativas, tendieron a disminuir su calcemia (tabla 52; pág. 181) y esto hubo de poner en marcha los mecanismos de regulación apropiados, y desencadenar mayor producción de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , extremo que no fue comprobado. A pesar de ello, en este contexto las características propias de la grasa de la dieta de la sardina pudieron jugar un papel destacado, si se considera la teoría de Rasmussen y col. (1982) sobre la actuación intestinal del  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ : Aparte de los efectos sobre la proteína transportadora del calcio, sus resultados apoyan la hipótesis de que la estructura lipídica de la membrana es determinante en la acción de la hormona D para estimular la captación del calcio por el enterocito. Parece ser que este metabolito de la vitamina D tiene dos efectos simultáneos sobre la estructura lipídica de la membrana del borde en cepillo: estimula el contenido total de fosfatidilcolina en ella y eleva la concentración de ácidos grasos poliinsaturados en dicha fracción, lo que conduce a un incremento relativo de los ácidos grasos poliinsaturados en la membrana del borde en cepillo del enterocito. Esto, de acuerdo con los trabajos de Gilmore y col. (1979a y 1979b), podría incrementar la fluidez de dicha membrana y, así, conducir a un incremento en la entrada de calcio. Resulta plausible pensar que con una grasa tan insaturada como la del pescado, esos mecanismos podrían verse favorecidos.

De hecho los animales de este grupo, a pesar de su baja ingesta, absorbieron una cantidad de calcio similar a la de los controles porque utilizaron el calcio de la dieta con superior eficacia y por ello se elevó significativamente su coeficiente de digestibilidad aparente (tabla 46, pág. 174; fig. 11a, pág. 250). Sin embargo, una vez en el organismo este calcio no pudo

utilizarse en toda su extensión porque el déficit de ácidos grasos esenciales n-6 impidió que el crecimiento se desarrollase en la medida que correspondía al estadio, de ahí que la cantidad absorbida resultara excesiva y por ello los animales aumentaron su eliminación urinaria, deprimiendo, en consecuencia, la eficacia de utilización a nivel metabólico, % R/A (tabla 46; pág. 174; fig. 12a, pág. 253), sin que a nivel óseo se observara ningún defecto de calcificación (tabla 51, pág. 180).

Se sabe que la eficacia de utilización de los nutrientes, incluido el calcio, disminuye con la edad (Kaup y col., 1990), de ahí que los coeficientes % A/I del segundo período de balance resultaran inferiores a los del primero en todos los animales (tabla 46, pág. 174; fig. 11b, pág. 250). En las ratas que comen la grasa de la sardina cruda se ha instaurado ya la situación de déficit y, aunque siguen respondiendo a la menor ingesta, podría parecer que lo hacen con menor intensidad, puesto que la eficacia con la que utilizan el elemento a nivel digestivo es sólo igual a la de los controles e inferior la cantidad del nutriente absorbida. Ello, seguramente, también fue fruto de una regulación en función de las menores necesidades, porque incluso esta cantidad más pequeña de calcio transferida al organismo resulta todavía excesiva y los animales siguen eliminando el exceso por la orina (tabla 46, pág. 174; fig. 12b, pág. 253). Hay que pensar que se trata efectivamente de un exceso, no necesario, porque al final del experimento, si bien la cantidad total de calcio en sus carcasas era más escasa que la de los otros dos grupos, como correspondía a animales más pequeños, las concentraciones del mineral en ellas superaban a las de las otras ratas (tabla 51; pág. 180), por lo que evidentemente no existió ningún signo de déficit en la calcificación ósea, más bien al contrario, pues como después se verá en otros elementos que corporalmente no se concentran en el hueso, tal acúmulo relativo no se produjo. En tal sentido Bolden y col. (1984), señalaban que la adición de menhaden a dietas de pollos en unas circunstancias especiales elevaba las cenizas de la tibia.

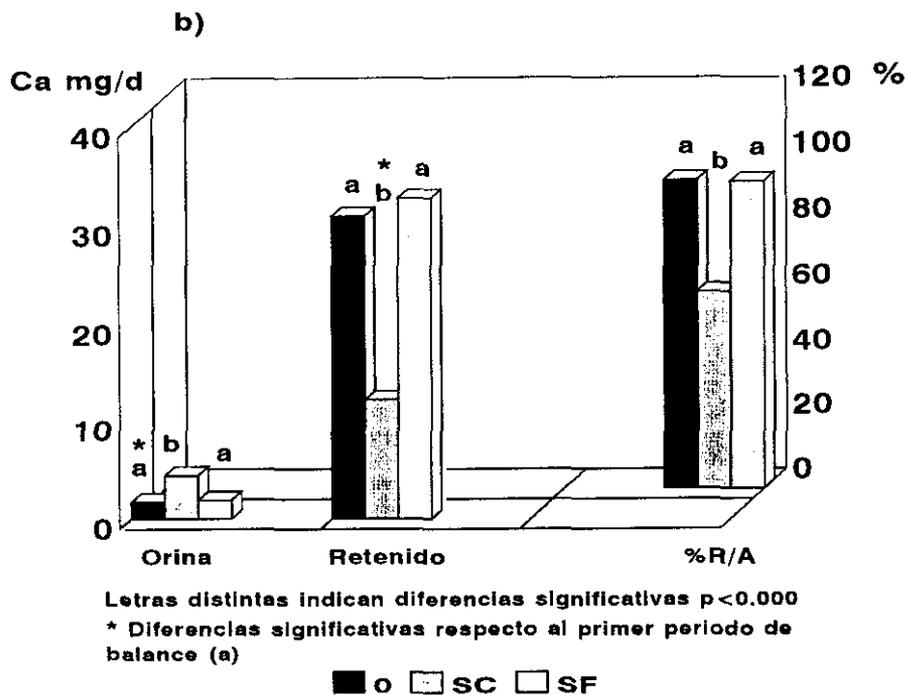
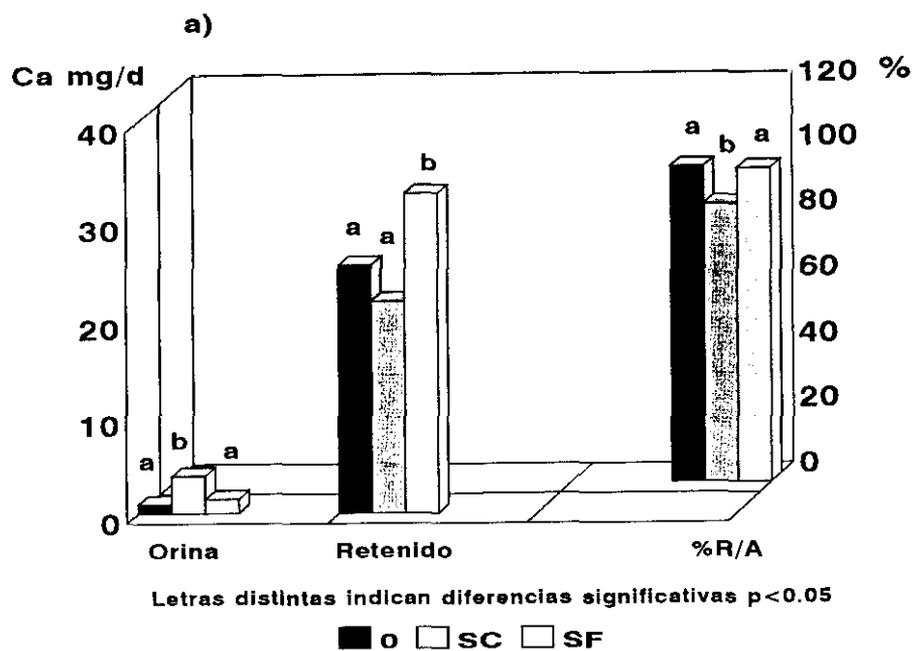


FIGURA 12.- UTILIZACION METABOLICA DE CALCIO  
 a) Primer periodo de balance. b) Segundo periodo de balance.  
 O: oliva, SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

Las ratas alimentadas con la ración que incluía la grasa de las sardinas fritas ingirieron más calcio que las del grupo control y, sin embargo, no variaron en sus excreciones, por lo que éstos animales, sin modificar su eficacia digestiva, incorporaron durante el primer balance una cantidad más elevada del micronutriente al organismo (tabla 46; pág. 174; fig. 11a, pág. 250), que seguramente les sirvió para hacer frente a sus mayores demandas de crecimiento, ya que al final de este período su peso superaba al de los restantes grupos, incluido el control (tabla 43, pág. 170; fig. 10, pág. 243), efecto relacionado, como ya se indicó, con la presencia de los ácidos grasos esenciales n-3, que sólo se patentizó en esa época de intenso crecimiento y acelerada calcificación que se produce al principio, porque ya durante el segundo período de balance las cantidades de calcio absorbido y retenido no difirieron significativamente de las del grupo control. Al final del ensayo tampoco la calcemia ni los valores o concentraciones de calcio corporal se modificaron (tablas 51 y 52, págs. 180 y 181).

En conjunto, de los resultados obtenidos en estos ensayos puede deducirse que el aceite de sardinas crudas, como única fuente grasa de la dieta, si bien no parece deprimir la disponibilidad del calcio en su seno, introduce una serie de modificaciones a nivel metabólico que reducen la biodisponibilidad del elemento para los animales en período de intenso crecimiento. Estos efectos desaparecen o incluso se mejoran cuando la grasa del pescado se consume en mezcla con el aceite de oliva, tal es el caso de la grasa de sardinas fritas.

### **5.2.1.3. UTILIZACIÓN DEL FÓSFORO**

Tras la digestión *in vitro*, el fósforo de las dietas dializó en unos porcentajes del 20-25%, quedó soluble entre 45-50% y precipitó una cantidad cercana al 10% o superior, ya que la porción del elemento que quedó adherida a la membrana de diálisis seguramente debería engrosar el valor del precipitado (tabla 47, pág. 175; fig. 2b, pág. 173). Tal distribución en las formas del fósforo recuerda la descrita por Aguirre (1996) utilizando otras fuentes lipídicas. De forma parecida a lo que se señala en esos trabajos, tampoco en éstos, el tipo de

aceite en la dieta fue determinante en la distribución de las formas del elemento tras la digestión intestinal, si bien en estos ensayos la grasa de la sardina frita resultó ligeramente más favorecedora de la diálisis (tabla 47, pág. 175; fig.2b, pág. 173), aunque el peso de este resultado se devalúa, en cierto modo, al constatar ausencia de variación en las otras fracciones, por lo que de existir alguna influencia fue de escasa importancia. Ya la bibliografía señala que el tipo de grasa dietética (Navarro y col., 1988) o el de triglicéridos (Tadayyon y Lutwak, 1969) frecuentemente no condiciona el fósforo fecal o su absorción.

Al comer menos dieta, en las ratas alimentadas con la grasa de la sardina cruda, la ingesta de fósforo, como la de los restantes nutrientes, también se deprimió; para paliar el déficit mermaron su eliminación fecal, incluso utilizando el elemento de forma más efectiva, y por ello se elevó ligera pero significativamente su coeficiente de digestibilidad aparente (tabla 48, pág. 176; fig. 13a, pág. 256), ya que, como es conocido desde antiguo, la excreción fecal del fósforo guarda un paralelismo con la ingesta (Lutwak y col., 1964) y ante situaciones de escaso consumo, el intestino es capaz de aumentar la eficacia de absorción incluso hasta 80-90% (Bikle y col., 1984). Sin embargo, este aumento de eficacia, al contrario de lo que ocurrió con el calcio, no fue suficiente para paliar la menor ingesta y la cantidad absorbida y retenida, ya en este primer período de balance, resultó inferior a la de los otros grupos (tabla 48, pág. 176; fig. 13a, pág. 256).

Cabe preguntarse si es que un mayor aumento no fue posible o si, por el contrario, resultaba impropio, debido a las menores necesidades de las ratas para ese nivel más bajo de desarrollo, ocasionado por el déficit de ácidos grasos esenciales, ya comentado. Realmente las ratas absorbieron la cantidad de elemento necesaria, pues su eliminación urinaria no difirió de la de los controles y tampoco se modificó la eficacia con la que el nutriente se metabolizó (% R/A) (tabla 48, pág. 176; fig. 14a, pág. 257). Al final del ensayo las carcasas de estas ratas tenían menos fósforo porque eran más pequeñas pero estaban más concentradas; si bien algo menos que de calcio (tabla 51, pág. 180). Seguramente las diferencias observadas respecto del catión puedan deberse al destino algo diferente de ambos en el cuerpo, ya que mientras casi todo el calcio corporal se halla en el hueso, del fósforo, además del 85%

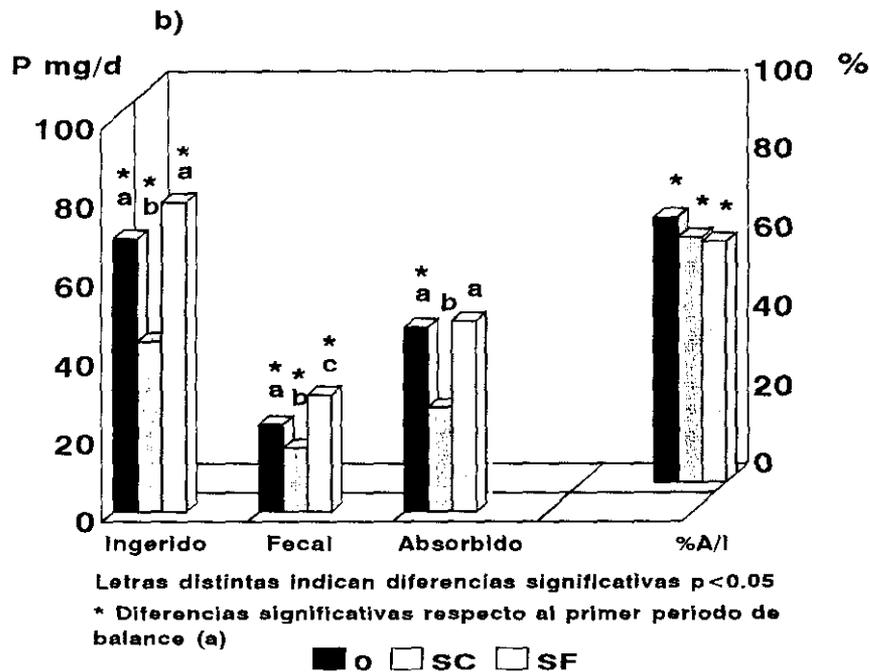
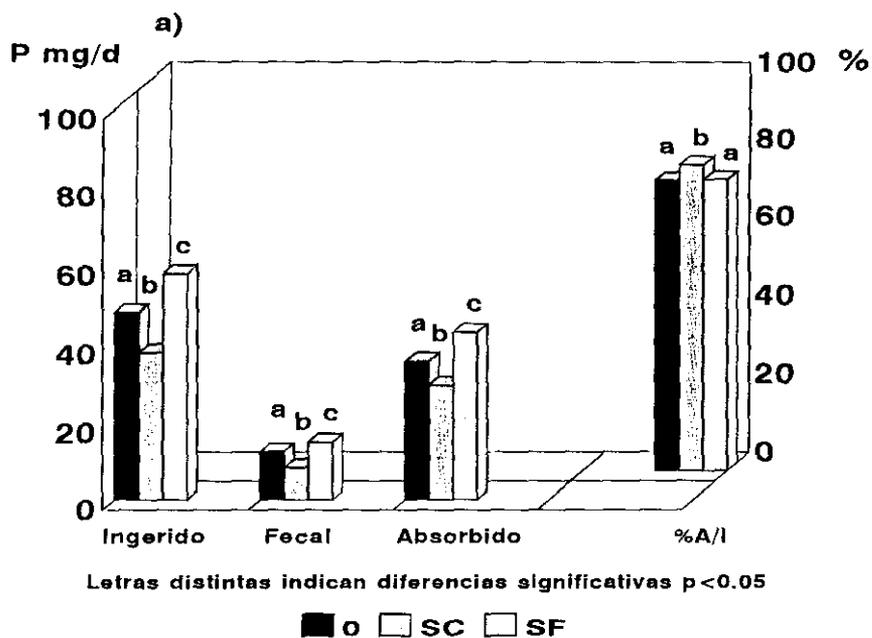


FIGURA 13.- UTILIZACIÓN DIGESTIVA DEL FÓSFORO  
 a) Primer período de balance. b) Segundo período de balance.  
 O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

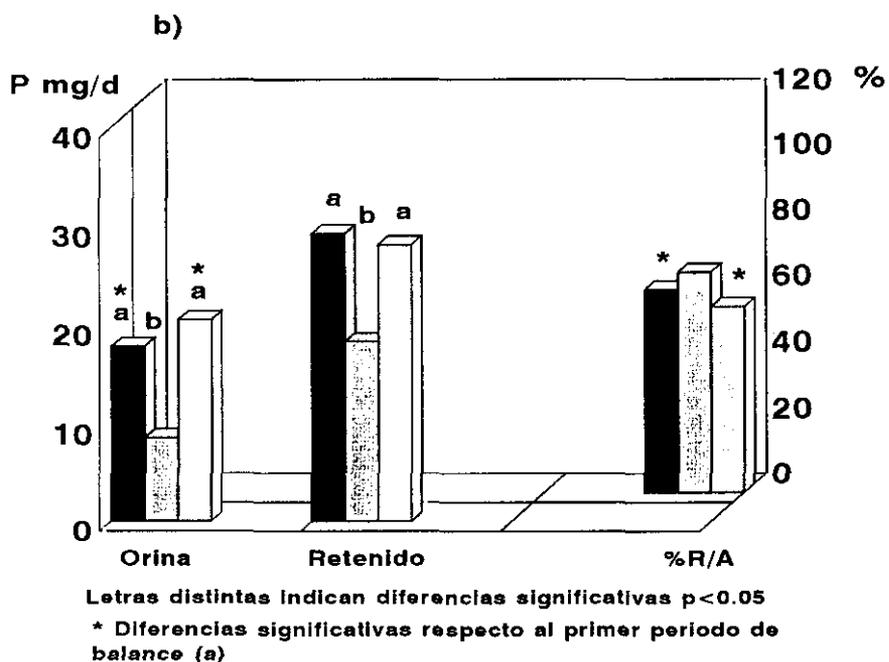
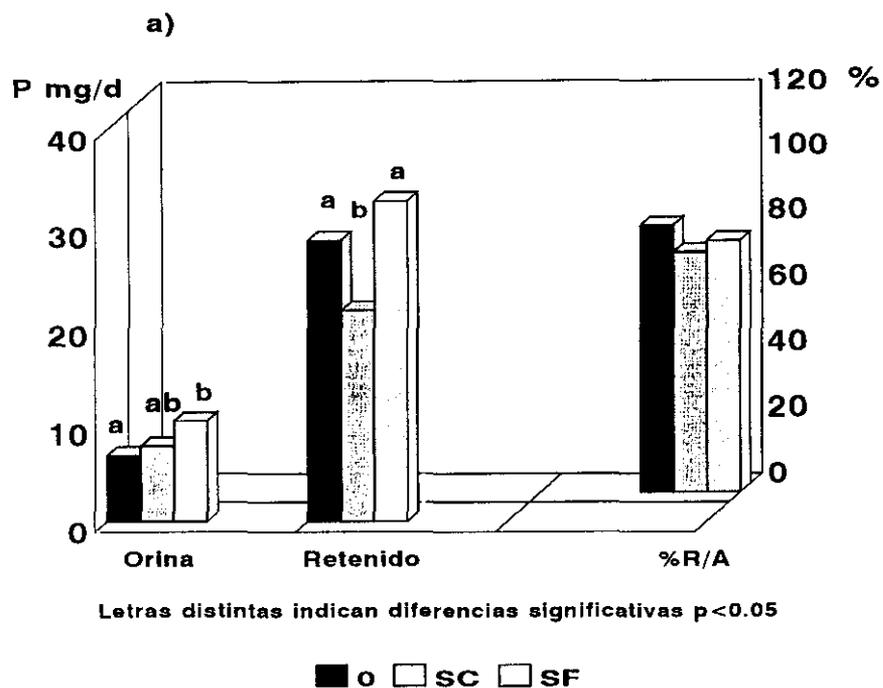


FIGURA 14.- UTILIZACION METABOLICA DE FOSFORO  
 a) Primer período de balance. b) Segundo período de balance  
 O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

constituyente del tejido óseo, un 15% forma parte de otras estructuras, concretamente interesa su participación en otros tejidos, como componente estructural en las membranas de los fosfolípidos, formando parte de fluidos intra y extracelulares. A este respecto puede añadirse que aunque la retención corporal del fósforo corre paralela con la del calcio fundamentalmente, también depende de la del nitrógeno en alguna medida (Harrison, 1976), y desde luego las ratas consumieron menos proteína.

Por supuesto que las ratas de este grupo al final del ensayo, no sólo pesaban casi la mitad que las restantes, sino que también eran visiblemente más pequeñas, aún así, y a la vista de los resultados de los balances en los distintos minerales y de los contenidos y concentraciones de cada uno en la carcasa, parece como que corporalmente se concentran los elementos que mayoritariamente participan en el hueso, lo que podría sugerir un mayor deterioro de otros tejidos.

Durante el segundo período de balance, en el que los animales eran mayores, todos ellos comieron más y eliminaron más fósforo por heces y orina (tabla 48, pág. 176; figura 13b, pág. 256; figura 14b, pág. 257), debido en parte a la disminución que experimenta la eficacia de absorción y de utilización del elemento al avanzar la edad (Anderson y Garner 1996) y a que la eficacia del transporte intestinal del fósforo es inversamente proporcional a su ingesta (Harrison, 1976). Las ratas que consumían la grasa de la sardina cruda no fueron ajenas a estos cambios, pero la elevación de su ingesta fue tan escasa, que incluso se agudizaron sus diferencias en los diversos parámetros con los otros grupos. Además en este período, a diferencia del primero, tampoco mejoró la digestibilidad del fósforo en los animales que tomaron grasa de sardina cruda, y por eso resultaron todavía más pequeñas las cantidades absorbidas y retenidas en comparación con las de los otros grupos, a pesar de que decrecieron su eliminación urinaria para favorecer su acopio (tabla 48, pág. 176; fig. 13b, pág. 256; fig. 14b, pág. 257). Se sabe desde hace tiempo que los animales alimentados con poco fósforo disminuyen mucho su excreción urinaria, mediante incremento de la reabsorción tubular de fosfatos (Anderson y Draper, 1972). Además el  $1,25 \text{ (OH)}_2 \text{ D}_3$ , que sospechábamos posiblemente incrementado, también favorece dicho proceso, pero sin duda, el primer

condicionante de la disminución del nutriente en la orina fue su escasa absorción, dependiente de la pequeña ingesta.

Las ratas que se alimentaron con la grasa de la sardina frita en ambos periodos de balance comieron y eliminaron más fósforo en las heces que las controles (tabla 48, pág. 176; fig. 13a y 13b, pág. 256). Esto igualó las absorciones del elemento, absolutas y relativas, en el segundo periodo de balance, pero en el primero, debido a esa más eficiente absorción en los animales más jóvenes, ya comentada, todavía el fósforo absorbido pareció superar las necesidades y el exceso se eliminó por la orina, que se incrementó significativamente (tabla 48, pág. 176; fig. 14a y 14b, pág. 257). De este modo, la retención del elemento se igualó a la del grupo control, lo mismo que sus contenidos y concentraciones corporales (tabla 51, pág. 180).

#### 5.2.1.4. UTILIZACIÓN DEL MAGNESIO

A través de la depresión de la ingesta se mermó también el magnesio consumido en los animales que tomaron la grasa de la sardina cruda, pero esto, a diferencia de lo que ocurría con el calcio y también con el fósforo, no llevó aparejado un descenso en su eliminación fecal, ya que su contenido en las heces no difirió significativamente del que presentaban los animales del grupo control durante el primer periodo de balance (tabla 50, pág. 179; fig. 15a, pág. 260).

Los resultados de la digestión *in vitro* no patentizaron un efecto digno de mención del tipo de grasa en la dieta como factor determinante de la distribución del magnesio en sus distintas formas, lo que coincide con otros estudios empleando distintos aceites vegetales (Aguirre, 1996); y la similitud se amplía porque los porcentajes de magnesio dializado, no dializado soluble y precipitado, que allí se describen, son en extremo similares a los obtenidos en este trabajo (tabla 49, pág. 177; fig. 3a, pág. 178). Tal vez la única diferencia que se apunte aquí sea que con las dietas que incluyen la grasa de la sardina frita disminuyó la

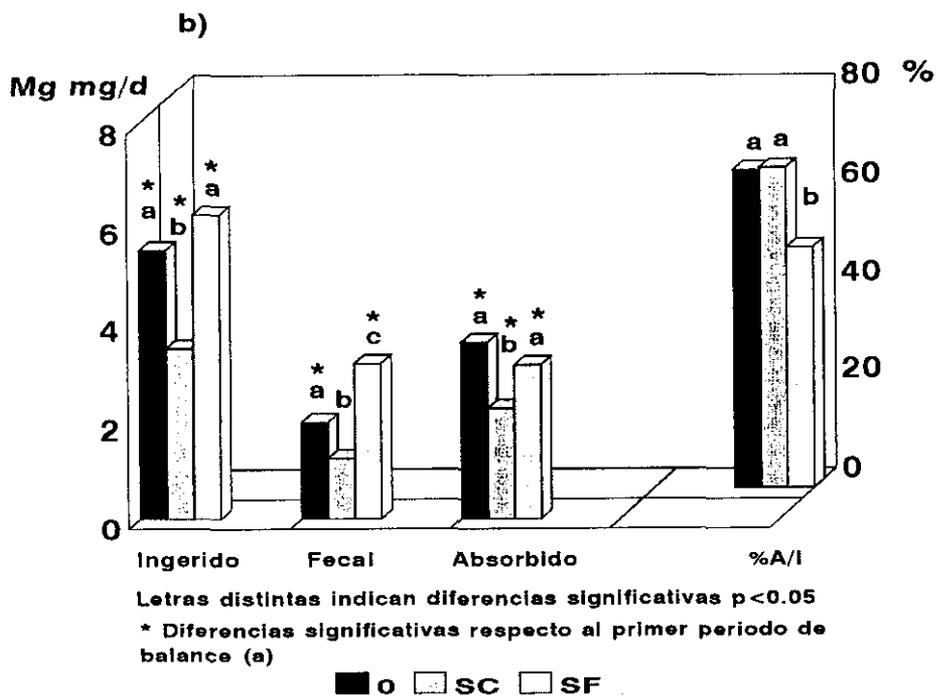
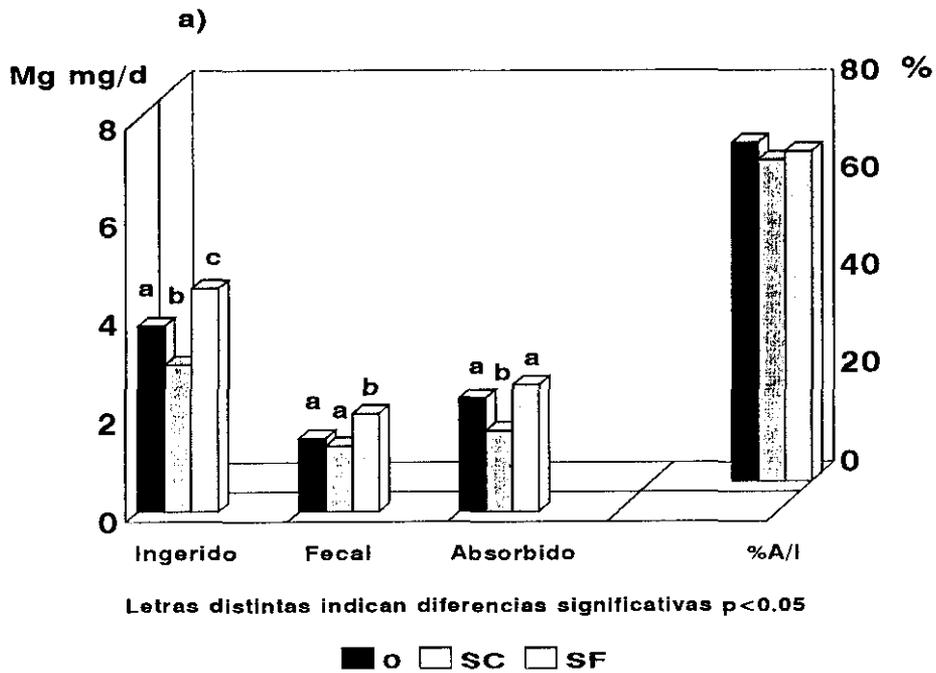


TABLA 15.- UTILIZACION DIGESTIVA DE MAGNESIO

a) Primer periodo de balance. b) Segundo periodo de balance

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita

precipitación del catión, efecto seguramente relacionado con la disminución de ácidos grasos saturados, sustituidos por oleico, que se produce al freír las sardinas. De ahí que la ausencia de mejora de la digestibilidad del magnesio en el grupo alimentado con la dieta que contenía la grasa de la sardina cruda (tabla 50, pág. 179; fig. 15a y 15b, pag. 260) no parece poder relacionarse con fenómenos asociados a las formas físico-químicas del elemento, dependientes de la grasa, si bien no puede descartarse totalmente que *in vivo* se produzcan otros fenómenos; y que, como ya se comentó, estos animales tenían heces más blandas en las que pudo perderse parte de la grasa dietética y, unida a ella, alguna cantidad del micronutriente, pues aunque en circunstancias normales su fracción fecal ligada a heces no es muy alta, sí supera la del calcio (Kaup y col. 1990).

Podría pensarse también en un mecanismo de competencia, ligado al incremento que se produjo en la eficacia de absorción cálcica, como indican Watkins y col. (1992), especialmente cuando la ingesta de magnesio no es muy abundante, debido a la existencia de rutas comunes de transporte paracelular y transcelular (Birch y col. 1991). No obstante, posiblemente el principal determinante sea la situación de depresión de crecimiento y déficit alimentario, tantas veces aludida, que merma el consumo de energía y nutrientes y disminuye la proliferación celular. Así que, a este elemento, importante constituyente celular, repartido por el organismo de forma mucho más generalizada que el calcio, puesto que sólo algo más de la mitad del total corporal se halla en el hueso y el resto repartido por las masas musculares, otras células etc., va a afectarle tanto el menor crecimiento, propiamente dicho, como el escaso desarrollo de masas musculares y esto tal vez hiciera innecesaria una utilización digestiva más eficaz, porque la cantidad retenida, inferior a la de los otros grupos, fue suficiente para sus necesidades corporales (tabla 50, pág. 179; fig. 16a, pág. 262). Las carcasas, más pequeñas, tenían menos magnesio que las de los otros grupos, pero igualaban en concentración a las de las ratas que tomaron la dieta con aceite de oliva, lo que hace pensar que, por lo que a este elemento se refiere, estaban normalmente constituidas (tabla 51, pág. 180). La magnesemia tampoco se modificó, lo que reforzaría la idea de que el metabolismo del elemento no sufrió serias alteraciones (tabla 52, pág. 181).

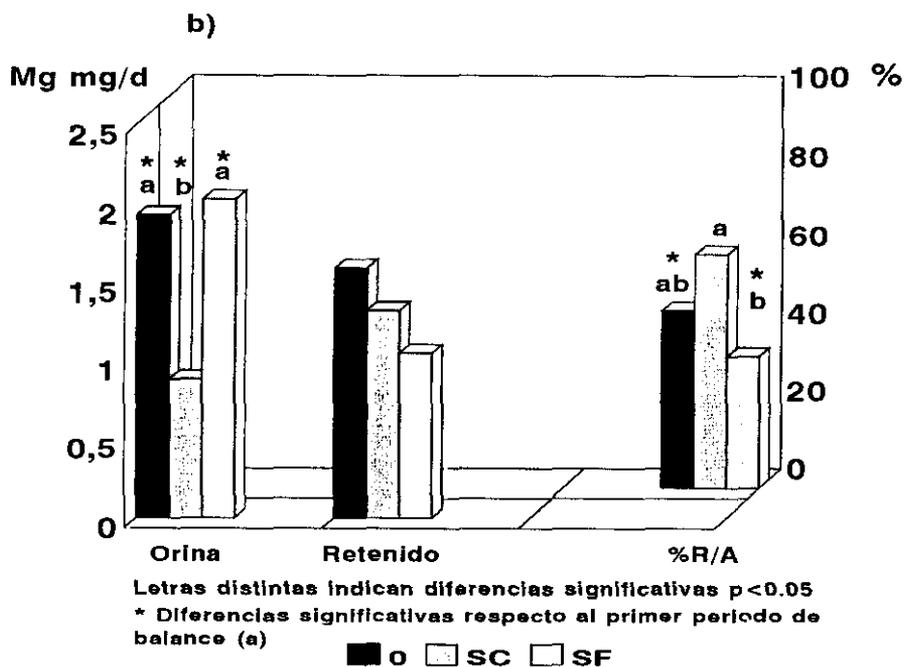
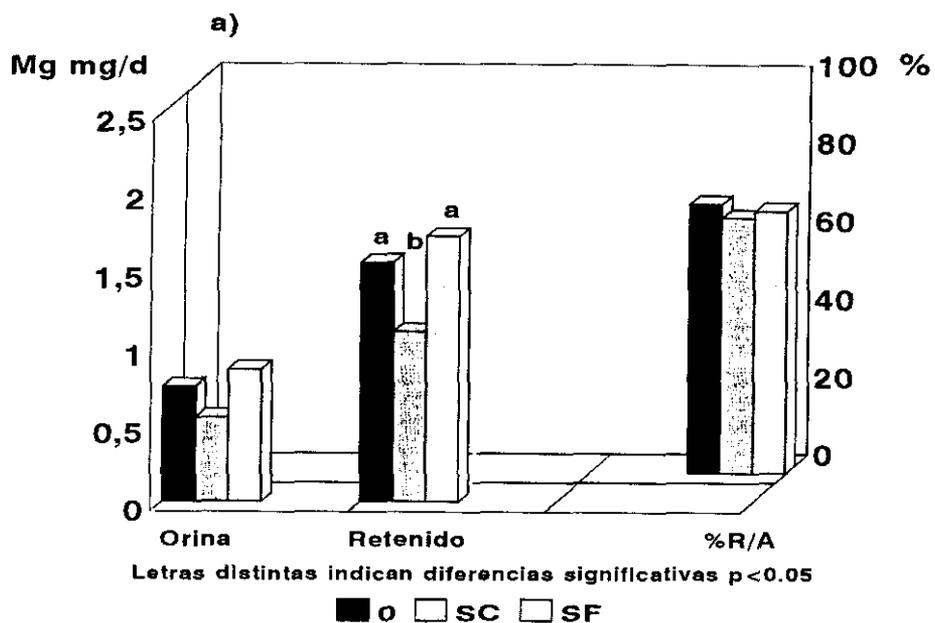


FIGURA 16.- UTILIZACION METABOLICA DE MAGNESIO

a) Primer período de balance. b) Segundo período de balance  
 O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita.

Ahora bien, parece que la baja absorción de magnesio, dependiente de su escasa ingesta, estuvo en el límite de cubrir esas necesidades porque su excreción renal, vía normal de eliminación del elemento para mantener su homeostasis (Shills, 1994), sin diferencias significativas en el primer balance, mostró valores más pequeños que los de los otros grupos (tabla 50, pág. 179; fig. 16a y 16b, pág. 262). Dicho efecto sí se patentizó más claramente en el segundo balance, en el que las diferencias de ingesta de estas ratas con las de los otros grupos fueron todavía más acusadas. En ese período el magnesio eliminado por heces y orina fue más escaso en las ratas alimentadas con la grasa de sardina cruda, con ello no se consiguió alcanzar la absorción de las otras ratas pero las cifras de retención no mostraron diferencias significativas, ni en valor absoluto ni por lo que a su eficacia se refiere, si bien esta última tendió a ser superior, y diferente de las de las que consumieron la grasa de las sardinas fritas (tabla 50, pág. 179; fig. 15b, pág. 260; fig. 16b, pág. 262). Los animales que tomaron esta última grasa comieron más magnesio en el primer balance y eliminaron mayor cantidad en las heces y en la orina sólo durante el segundo período, de forma que los valores de absorción y retención absolutos no variaron respecto de los controles, ni tampoco la eficacia de los procesos durante el primer período, pero en el segundo apareció un descenso de la digestibilidad aparente del nutriente que en principio sorprende (tabla 50, pág. 179; figs. 15a y 15b, pág. 260). No porque se pensara visualizar aquí el efecto positivo descrito en el capítulo correspondiente a los aceites de fritura; esa influencia lógicamente no podía producirse ya que en este caso la grasa de la sardinas fritas se componía del aceite del pescado, acompañado de aceite de oliva del baño pero prácticamente sin alterar, puesto que solamente se empleó en una, dos, o tres frituras, que fueron las tandas en las que se frieron todas las sardinas. No conocemos las causas que hayan podido ocasionar este descenso en la digestibilidad. Sin embargo, se intuye que algo debió ocurrir ya que con similares valores de absorción respecto del grupo control, se apreció una utilización metabólica menos eficaz, haciendo que la concentración corporal del elemento fuera la menor de todos los grupos, pero diferente significativamente sólo con la de la sardina cruda (tabla 51, pág. 180). Los cambios en la utilización metabólica los constatamos, a pesar de carecer de explicación para ello, porque en otros ensayos con dietas con sardinas crudas y fritas observamos una tendencia parecida, aunque sin diferencias significativas: con iguales valores de absorción los animales

que consumieron la sardina frita entera tenían el valor más bajo de % R/I (Aspe, 1992). Bajo el consumo de la dieta con grasa de sardina frita también se originaron efectos negativos en la biodisponibilidad del zinc, como se discutirá posteriormente, que además llegaron a afectar a la absorción y retención absoluta, parámetros que no se modificaron en el caso del magnesio.

#### **5.2.1.5. UTILIZACIÓN DEL HIERRO**

Durante el primer período de balance, los animales que consumieron en su dieta la grasa de la sardina cruda, a pesar de tener la menor ingesta férrica, no disminuyeron su excreción fecal, lo que ocasionó valores de absorción más pequeños, mostrando, a la vez, que el elemento en el seno de esa dieta se utilizaba con menor eficacia; es decir que la grasa de la sardina cruda interfería negativamente la digestibilidad del nutriente (tabla 54, pág. 183; fig. 17a; pag. 265). Por tanto, el descenso en la cantidad total de hierro transferido al organismo fue parcialmente fruto de la menor ingesta, pero también de su deficiente utilización digestiva. A este respecto, conviene recordar que los animales tuvieron un cierto grado de diarrea, como ya se indicó, y ello podría haber ocasionado mayores pérdidas del elemento en las heces.

Además, aunque algunos estudios indican que la interacción entre la cantidad y el grado de saturación de la grasa con el hierro en la dieta es compleja, abundan los resultados que muestran en ratas y en individuos depresiones en la absorción férrica por el consumo de grasas poliinsaturadas vegetales, comparadas con las saturadas (Amine y Hegsted, 1975; Gordon, 1983; Lukaski y col., 1982), por lo que sería lógico que la grasa de pescado, fuertemente insaturada, incidiera de forma más negativa sobre la absorción del nutriente que el aceite de oliva, esencialmente monoinsaturado. De este modo, ambas series de ácidos grasos poliinsaturados, la n-3 y la n-6, podrían considerarse como menos beneficiosas para la absorción del hierro.

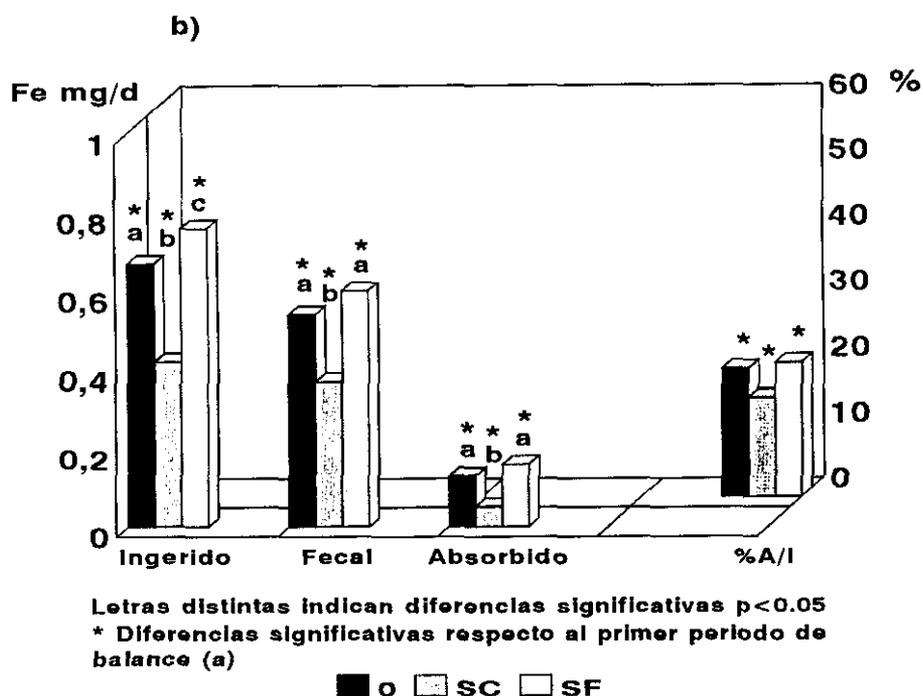
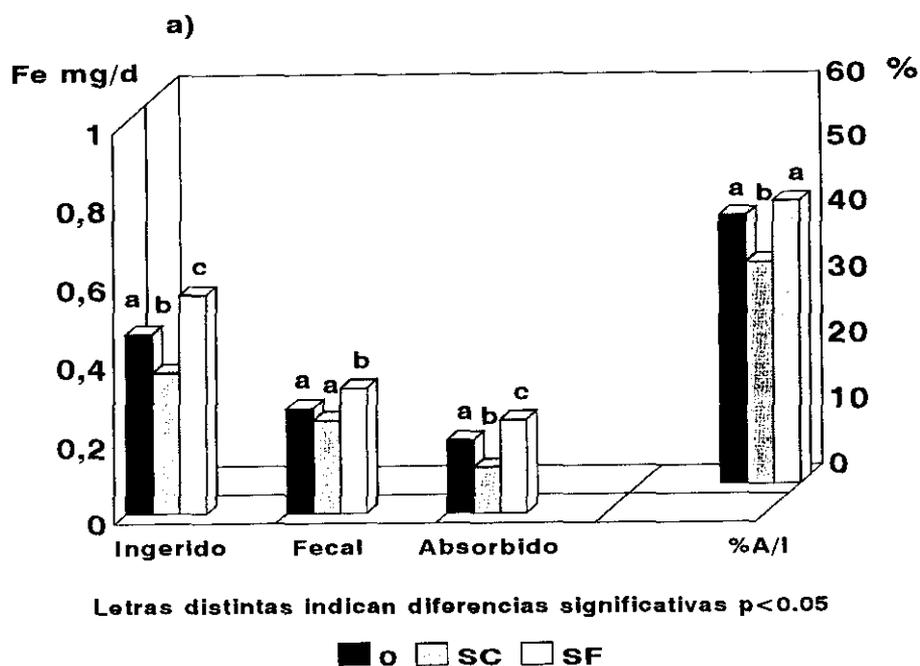


FIGURA 17.- UTILIZACION DIGESTIVA DE HIERRO

a) Primer período de balance. b) Segundo período de balance

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita

Los resultados de la digestión *in vitro*, que se recogen en la tabla 53 (pág. 182) y en la figura 3b (pág. 178), contrastan en principio con lo que acabamos de comentar, ya que en ellos sólo se apreciaron pequeñas diferencias en los porcentajes de hierro dializado, no dializado soluble y precipitado, precisamente a favor de las formas solubles en las dietas con las grasas de las sardinas, mientras que *in vivo* la de la sardina cruda resultaba la más negativa. No obstante, los porcentajes de hierro dializado fueron tan escasos que las pequeñas diferencias resultan en sí mismas insuficientes para contradecir los fenómenos descritos *in vivo*. Además, porque como manifiestan Quian y Eaton (1991), la interacción del hierro en el lumen con los ácidos grasos se produce mediante la formación de complejos solubles con el metal, posiblemente por unión con la función carboxílica, los cuales podrían reforzarse por convergencia de los extremos hidrocarbonados de los ácidos grasos mediante atracción hidrofóbica, dando como resultado un quelato: estos complejos lipídicos podrían afectar la permeabilidad de la membrana de las células intestinales, o bien, atravesarla más fácilmente un quelato de carga neutra, favoreciendo ambas formas la entrada del hierro al enterocito. Parece lógico, que en un sistema *in vitro*, carente de células, todos estos fenómenos no pudieran producirse. Además, en la peor absorción férrica descrita, existió la importante colaboración de un mecanismo indirecto, relacionado con el menor crecimiento, ya comentado.

Por otra parte, la menor absorción del micronutriente, señalada en los ensayos con animales, apoya la hipótesis de Chao y Gordon (1983) al atribuir a la grasa de pescado el descenso en el transporte del elemento observado en dietas a base de productos marinos. A pesar de ello, los mismos autores indican textualmente: "El pescado y el aceite de pescado disminuyen la biodisponibilidad del hierro a partir de proteína de soja". La bibliografía en general y nuestros propios resultados (García-Arias y col., 1994; García-Arias y col., 1991) apartan a la proteína del pescado de cualquier actuación negativa en relación con la utilización del hierro. Muy al contrario, se le atribuye un efecto positivo (Layrisse y col., 1968), y se la incluye, junto con la de la carne de vaca, cordero, cerdo y pollo, como poseedora del llamado "factor carne", estimulante de la digestibilidad del hierro (Bjorn-Rasmussen y Hallberg, 1979). Concretamente, por lo que a la sardina se refiere, en anteriores ensayos se comprobó que la

digestibilidad del hierro mejoraba en dietas que incluían sardina entera, con un contenido de grasa bajo, o su proteína (Aspe, 1992).

El efecto negativo del consumo de aceite de sardina, como única grasa dietética, no se ciñó al terreno digestivo, ya que los animales también incrementaron la eliminación urinaria del elemento, superando la de los otros dos grupos, y ello contribuyó también a mermar su retención corporal en valor absoluto y relativo, % R/A (tabla 54, pág. 183; fig. 18a y 18b; pág. 268) lo que, unido al efecto digestivo, hizo decrecer considerablemente la biodisponibilidad del hierro en el seno de dicha dieta, reflejándose fehacientemente en el significativo descenso que experimentó el % R/I, que afectó el estatus férrico de los animales. Así, el contenido de hierro en la carcasa (resto del animal exanguinado sin los órganos que se describen) (tabla 51, pág. 180) fue inferior al de los otros grupos, si bien aquí, como en el bazo, no puede hablarse de empobrecimiento en hierro, puesto que las concentraciones del elemento en la carcasa o en el bazo (tabla 51, pag. 180; tabla 59, pág. 189; fig. 19a, pág. 269) no variaron significativamente respecto de las de las ratas que tomaron las otras dos dietas, por lo que las cifras más bajas se debieron fundamentalmente a que los animales eran más pequeños.

Sin embargo, la situación férrica de estos animales se vio negativamente alterada por lo que se refiere al hierro funcional y al almacenado. Decrecieron considerablemente las concentraciones de hemoglobina (tabla 62, pág. 192; fig. 19b, pág. 269) y los contenidos de hierro en los eritrocitos en las ratas de este grupo (tabla 59, pág. 189; fig. 19b, pág. 269), aumentando paralelamente los valores de TIBC (tabla 62, pág. 192; fig. 19b, pág. 269), con lo que se evidenciaba la anemia que padecían: la escasa recuperación de hemoglobina en ratas anémicas la asociaban Chao y Gordon (1983) al consumo de aceites de pescado y era descrita como anemia hipocrómica en los trabajos de Domínguez y Bosch (1994). Por su parte, el hierro almacenado se depauperó seriamente; no había sólo menos hierro porque los hígados de las ratas que consumieron la grasa de la sardina cruda fueran más pequeños (tabla 59, pág. 189; fig. 19a, pág. 269) sino también porque la concentración del elemento en el órgano se redujo a la mitad de la del grupo control. Por el contrario, aumentó el contenido de hierro en

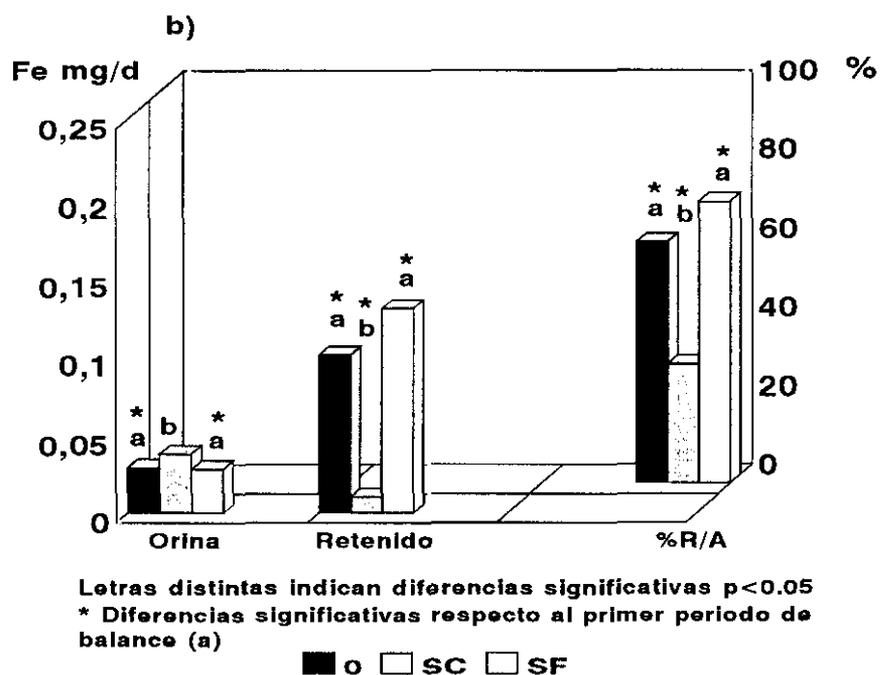
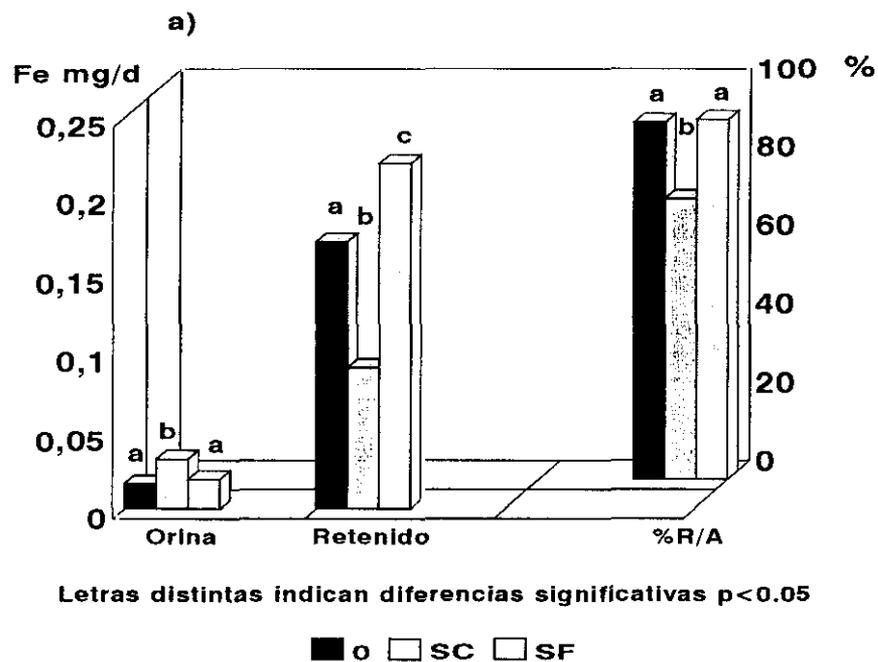


FIGURA 18.- UTILIZACION METABOLICA DE HIERRO

a) Primer período de balance. b) Segundo período de balance

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita

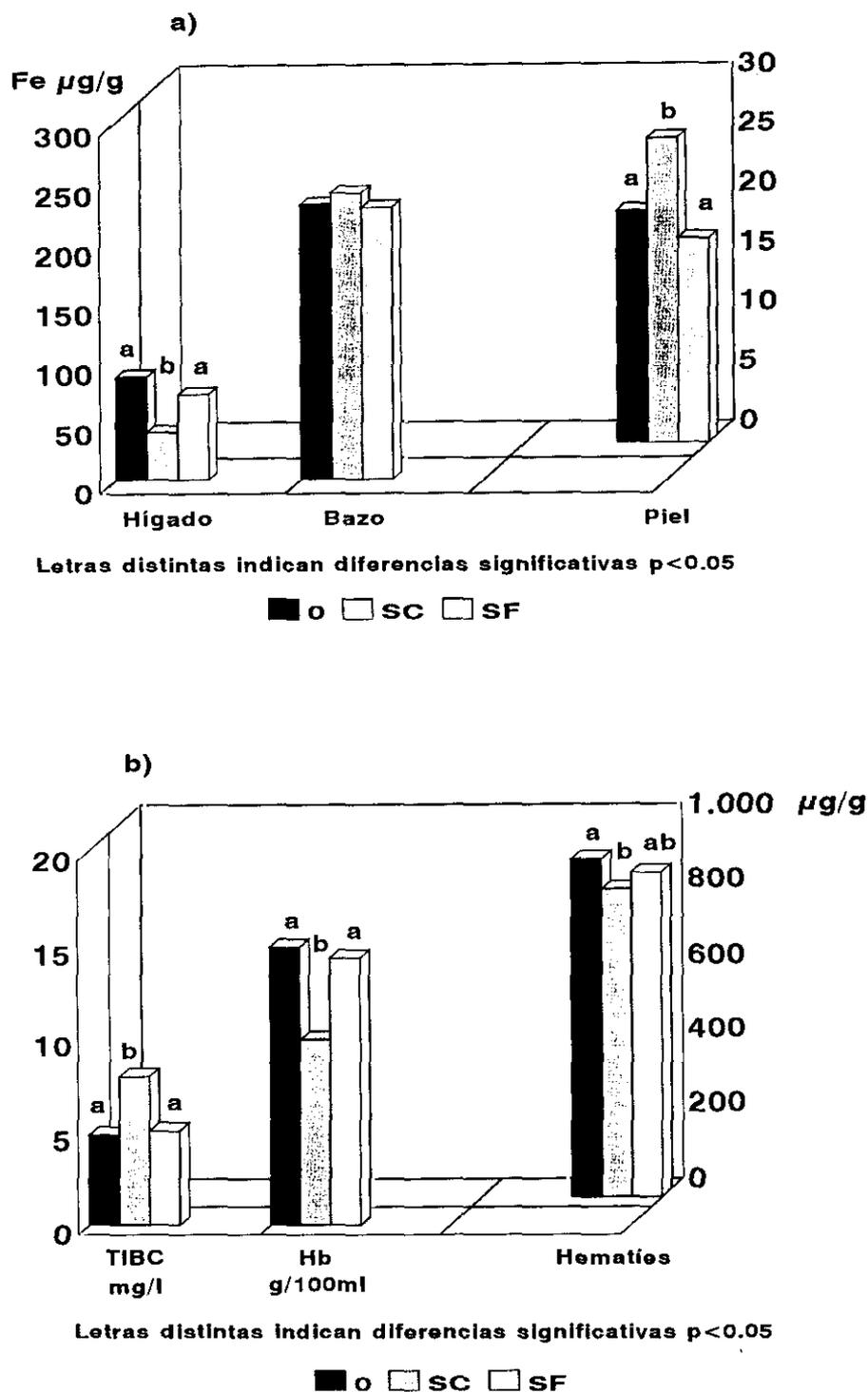


FIGURA 19

a) Concentración de hierro en hígado, bazo y piel.

b) Capacidad total de fijación de hierro (TIBC), hemoglobina y concentración de hierro en hematíes.

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita

la piel (tabla 59, pág. 189, fig. 19a, pág. 268), fenómeno que ha sido descrito en situaciones catabólicas o en periodos en los que el crecimiento por alguna causa se ve deprimido (García-Arias y col., 1994).

Todos estos resultados parecen indicar que los animales de este grupo han absorbido menos hierro y lo han utilizado peor. Para explicarlo, no puede olvidarse que se trata de animales que han comido y crecido menos a causa, seguramente, de una relación n3/n6 inadecuada, por lo que ante un crecimiento tisular inhibido parcialmente se necesitaría menos hierro para las demandas hematopoyéticas de menores masas corporales. Dada la regulación de la absorción del elemento en función de las necesidades y de la situación nutritiva del organismo (Morris, 1987; Lerner y Iancu, 1988), resulta coherente que la digestibilidad del hierro en el primer período de balance fuera inferior a la de los otros grupos, ya que los animales partían con unas reservas adecuadas y comenzaron a tener menores necesidades por su tasa más baja de crecimiento; mientras que en el segundo período, con las reservas deterioradas y ante la situación de anemia, las ratas trataron de utilizar el hierro en esa dieta de forma más eficaz y por eso el % A/I no varió significativamente respecto del de las que tomaron las raciones con aceite de oliva o grasa de sardina frita (tabla 54, pág. 183; fig. 17b, pág. 265). Aún así, el hierro siguió utilizándose mal a nivel metabólico y por ello, como en el primer período, continuó siendo inferior el porcentaje R/A y mayor la cantidad del elemento eliminada en la orina (tabla 54, pág. 183; fig. 18b, pág. 268). Estas observaciones parecen indicar que no es un déficit de hierro el que provoca la anemia, sino que como sugieren Domínguez y Bosch (1994), cabría relacionarla con la depresión general del crecimiento de nuevos tejidos, consecuente al posible déficit de n-6, que afecta también a la eritropoyesis; de hecho los fosfolípidos de la membrana del eritrocito son ricos en ácidos linoleico y araquidónico. Además, se sabe que el consumo de pescado modifica otra línea celular hematopoyética, puesto que trombocitopenia ha sido descrita en numerosos trabajos (Saynor y col., 1984; Houwelingen y col., 1987).

Por el contrario, cuando el imbalance de n-3/n-6 no se produjo y los animales consumieron una grasa menos insaturada, como ocurrió en el grupo de la sardina frita, la

utilización del hierro se mejoró a nivel digestivo y metabólico (tabla 54, pág. 183; figs. 17 a y b, pág. 265; figs. 18 a y b, pág. 268), no diferenciándose del grupo patrón, e incluso la cantidad de hierro absorbida y retenida fue superior. Tampoco existieron diferencias respecto al control en los contenidos y concentraciones tisulares o en los valores de hemoglobina y TIBC y en el hierro sérico, sino que la similitud en el *estatus* férrico fue total entre ambos (tablas 52, pág. 181; tabla 59, pág. 189; tabla 62, pág. 192; figs. 19a y 19b, págs. 269).

De la conjunción de todos estos resultados se deduce que cuando el aceite de sardinas crudas se utiliza como única fuente grasa de la dieta, afecta negativamente la utilización del hierro en ratas en crecimiento, si bien este efecto no tiene lugar cuando se consume mezclada con aceite de oliva, tal como ocurre con la grasa de la sardina frita.

#### 5.2.1.6. UTILIZACIÓN DEL ZINC

Las grasas de sardina cruda o frita parecieron favorecer la disponibilidad *in vitro* de zinc, ya que, respecto al control Oliva, condicionaron una mayor diálisis y menor precipitación del elemento (tabla 55, pág. 184; fig. 4, pág. 185). Cabe pensar, por tanto, que ambas grasas estimulan formas de zinc en el lumen intestinal más aptas para ser absorbidas. No obstante, en las ratas se obtuvieron resultados de absorción de zinc diferentes tras el consumo de las dietas con grasa de sardina cruda y frita. Las ratas alimentadas con la grasa de sardina cruda disminuyeron sus excreciones fecales de zinc, tanto en el primero como en el segundo balance, lo que permitió alcanzar una absorción similar a la del control oliva (tabla 56, pág. 186; figs. 20a y 20b, pág. 272). Es decir, se produjo un ajuste a nivel digestivo, elevando algo la eficacia de absorción, incremento que fue significativo respecto a los otros dos grupos durante el segundo período de balance.

Sin embargo, parte del zinc absorbido por las ratas que tomaron la grasa de pescado cruda no pudo utilizarse, y una cantidad considerable se eliminó en la orina, llegando casi a duplicar el zinc urinario de los otros grupos (tabla 56, pág. 186; fig. 20a y 20b, pág. 272).

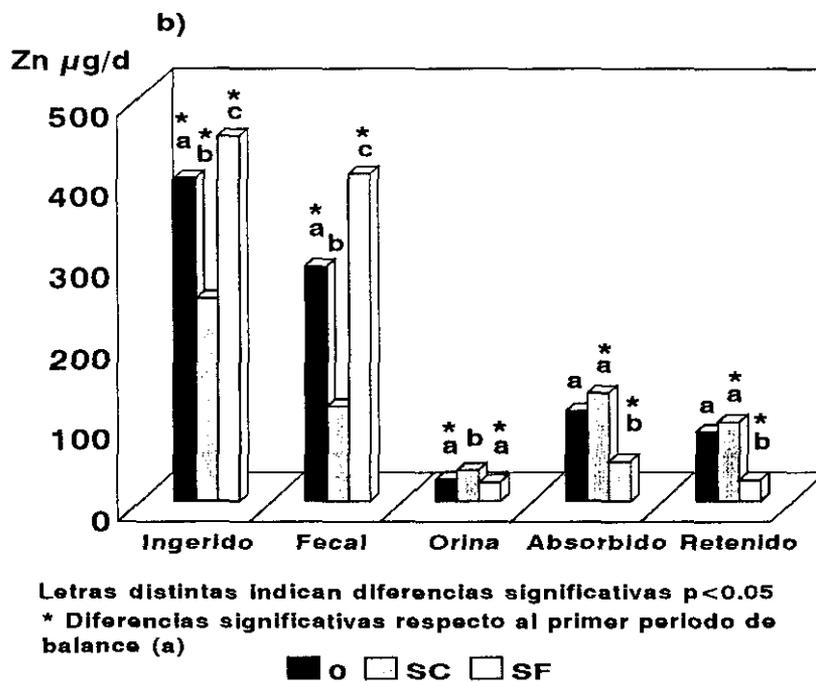
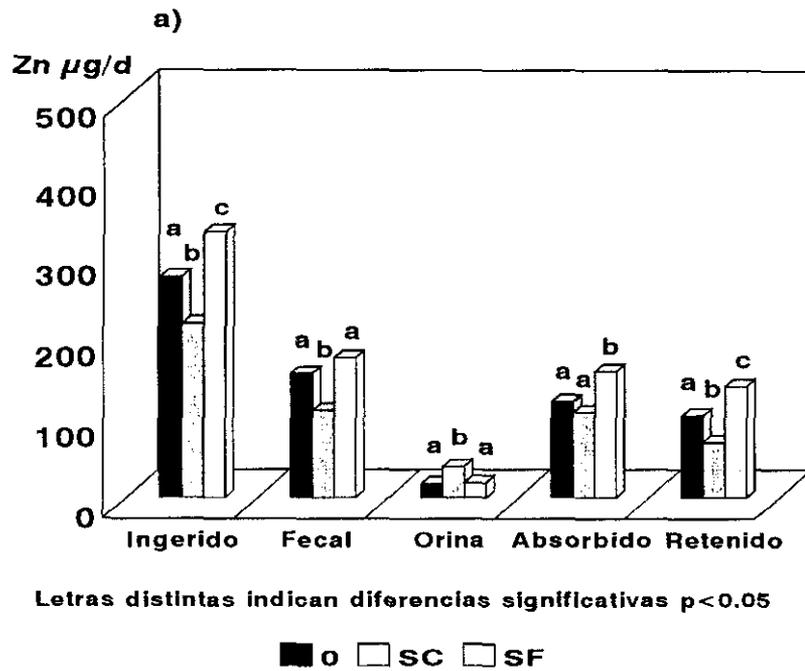


FIGURA 20.- BALANCE DE ZINC

a) Primer período de balance. b) Segundo período de balance  
 O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita

Ello habría que relacionarlo, nuevamente, con la depresión del crecimiento, que supuso una deficiencia en la formación de nuevas estructuras y, por tanto, una imposibilidad de utilizar adecuadamente todo el zinc absorbido. Esta situación se produjo en los dos periodos de balance. Aún así, la retención diaria sólo resultó mermada en el primero, porque en el segundo la elevada eficacia de absorción compensó las pérdidas urinarias del metal, y, de hecho, el contenido de zinc en las carcasas no llegó a ser significativamente inferior al de los otros dos grupos (tabla 58, pág. 188).

Por lo que se refiere a los animales que se alimentaron con la grasa procedente de sardinas fritas, tuvieron la más alta absorción y retención de zinc durante el primer período de balance. Sin embargo, al llegar al segundo, y a diferencia de lo encontrado para otros minerales, se produjo un descenso importante en la absorción, que afectó tanto al balance final como a las eficacias de utilización digestiva, metabólica y global (tabla 56, pág. 186), efectos que más atenuados, también se apuntaban en el magnesio. Esa más precaria utilización del nutriente se reflejó además en la composición de las carcasas, cuyo contenido en zinc fue algo menor en el grupo sardina frita respecto a oliva, pero las diferencias no llegaron al nivel de significación estadística (tabla 58, pág. 188). Resultados similares, aunque no tan acusados, se obtuvieron al alimentar ratas durante un mes con dietas que contenían sardinas enteras fritas en aceite de oliva respecto a las crudas, utilizando condiciones experimentales semejantes a las de estos ensayos (Aspe, 1992). A pesar de ello, es preciso señalar que en el segundo balance la excreción fecal de zinc pareció excesivamente elevada en los animales que tomaron la grasa de sardina frita, por lo que no descartamos una posible contaminación, tan característica en los análisis de este elemento traza, que haya podido amplificar el efecto real del tratamiento dietético (tabla 56, pag. 186; fig. 20 a y 20b, págs. 272).

Los valores de zinc en hígados y bazos experimentaron un paralelismo con los pesos de los órganos correspondientes y del animal, siendo mayores precisamente en el grupo que comió y creció más, sardina frita, y menores en el de sardina cruda (tabla 60, pág. 190; fig. 21a, pág. 274). En cuanto a los valores relativos, la mayor concentración de zinc en los hígados de las ratas que tomaron la grasa frita, respecto a la cruda, recuerda a lo descrito por

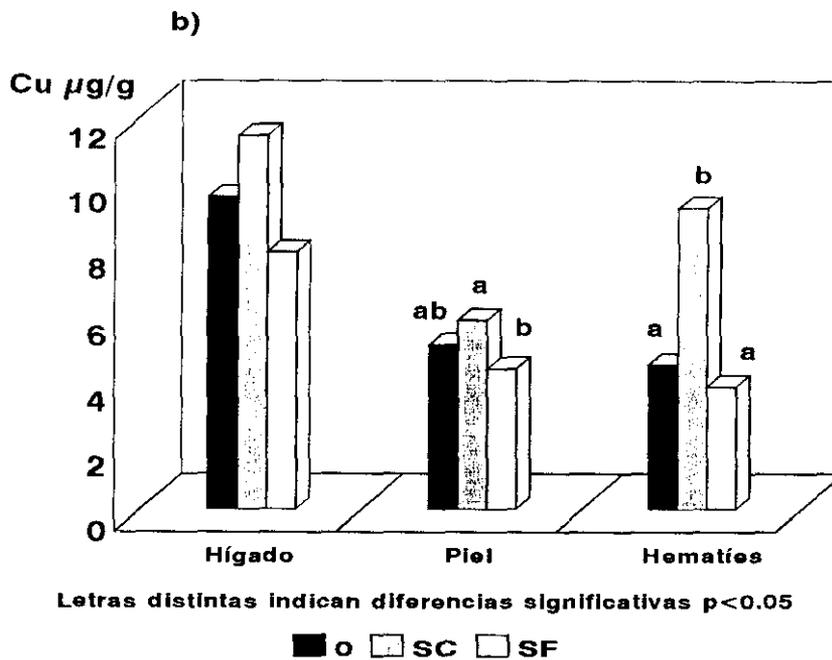
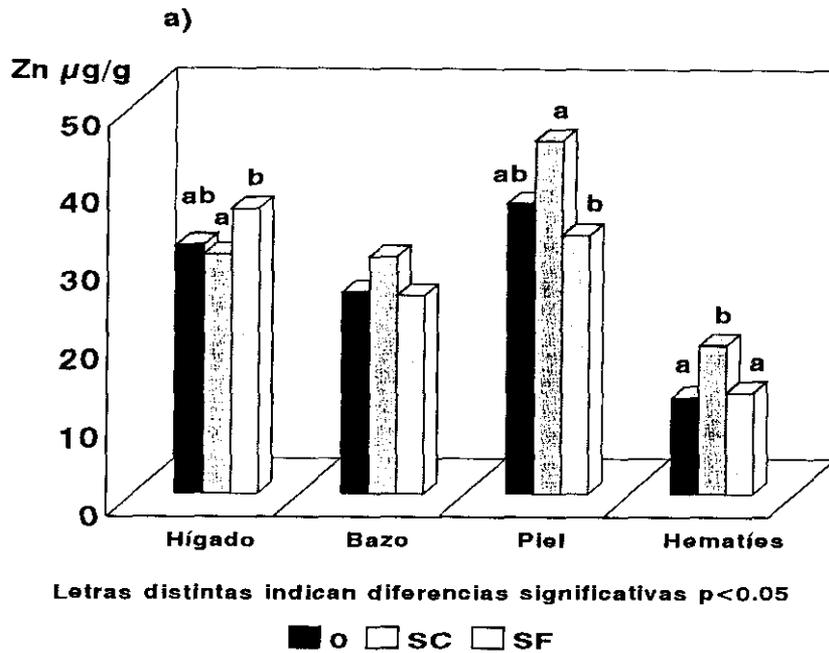


FIGURA 21

a) Concentración de zinc en hígado, bazo, piel y hematíes. b) Concentración de cobre en hígado, piel y hematíes.

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita

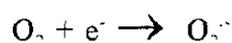
Aspe (1992), si bien en nuestro caso el efecto ha sido más pronunciado, probablemente por haber utilizado exclusivamente la grasa y no el pescado entero.

En la piel destaca la elevada concentración de zinc en el caso de los animales que tomaron grasa de sardina cruda (tabla 60, pág. 190; fig. 21a, pág. 274). Es posible que el zinc absorbido por esas ratas, que eran bastante pequeñas, fuera excesivo para el peso y desarrollo alcanzado, por lo que trataron de retirarlo de la circulación, bien eliminándolo por la orina, en función de las posibilidades limitadas que esta vía ofrece, o almacenándolo en un tejido tan inerte como el pelo, que como indica Jackson (1989) actuaría de almacén de zinc para evitar el daño que pudiera producir su exceso en otros tejidos. En la misma línea, en jóvenes con anorexia nerviosa y situación de delgadez extrema, pudimos observar mayor concentración de zinc en pelo respecto a jóvenes sanas de edad similar (Varela y col., 1992). En suero, hígado y bazo, las concentraciones de zinc fueron similares a las del grupo oliva (tablas 52, pág. 181; tabla 60, pág. 190; fig. 21a, pág. 274).

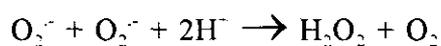
En los eritrocitos, como también se producía en la piel, se apreció un incremento relativo de zinc (tabla 60, pág. 190; fig. 21a, pág. 274). En este sentido, se sabe que la composición de las membranas, entre ellas las eritrocitarias, se enriquecen en ácidos grasos de la familia n-3 cuando la dieta es abundante en grasa de pescado (Mills y col., 1995), con lo que sus características se modifican: se hacen más deformables y se altera su permeabilidad (Walker y Yurdowski, 1967; Weed y col., 1969; Phillips y col., 1970; Zanner y Galey, 1985). Además, se ha descrito que los ácidos grasos de cadena larga n-3, en concreto el ácido eicosapentaenoico  $C_{20:5}$  y docosahexaenoico  $C_{22:6}$ , incrementan la susceptibilidad al daño oxidativo en los tejidos (Mills y col., 1995). Por todo ello, y aunque pueda tratarse simplemente de un acúmulo de zinc en los glóbulos rojos, similar al de la piel, podría especularse también que el transporte del metal al interior de dichas células se incrementa porque es preciso para desempeñar alguna función en ellas. En ambos casos, los cambios en la permeabilidad de la membrana podrían favorecer el tránsito.

El que en estas circunstancias el zinc pueda desempeñar un papel importante en el eritrocito se apoya en los siguientes fenómenos:

La óptima actividad del enzima superóxido dismutasa, que es uno de los enzimas más importantes en los mecanismos de defensa frente al daño oxidativo celular, requiere dos átomos de zinc y dos de cobre, el zinc parece que tiene un papel estructural y el cobre catalítico (Willson, 1989; Sies, 1994). Este enzima se encarga de eliminar los radicales superóxido ( $O_2^{\cdot -}$ ), que se originan al adicionarse un electrón a la molécula de oxígeno:



La reacción catalítica de la superóxido dismutasa es la siguiente:



Según Sies (1994), la formación de radicales superóxido *in vivo*, como la de otros radicales libres, es funcional, pero en parte puede constituir también un accidente, por ejemplo, durante el funcionamiento de la mitocondria, cuando algunos electrones de la cadena respiratoria "escapan" de sus transportadores y se unen directamente al oxígeno, formando radicales superóxido (Halliwell, 1991). Quizá los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga indirectamente condicionen una mayor producción de estos radicales superóxido, ya que, respecto a los de cadena más corta, se metabolizan produciendo mayor cantidad de acetil-CoA o propionil-CoA (según sean de  $n^\circ$  par o impar de átomos de carbono respectivamente), lo que implica una mayor actividad de la cadena respiratoria. Ello incrementaría en alguna medida la probabilidad de liberación errónea de electrones de sus transportadores específicos, lo que aumentaría la producción de radicales superóxido y, como respuesta, estimularía la producción del enzima superóxido dismutasa.

Pero, además, como ya se ha indicado, los ácidos grasos de cadena larga n-3 condicionan mayor vulnerabilidad de las células a la oxidación, por lo que sería lógico que, a la par, los mecanismos de defensa, en los que el zinc juega un papel destacado (Willson, 1989), se hayan puesto en marcha, incluyendo el aumento de la superóxido dismutasa, lo que acarrearía el consiguiente incremento de los metales asociados zinc y cobre. En nuestros ensayos la actividad del enzima no se determinó pero, junto al incremento del zinc eritrocitario, también se observó que el cobre se encontraba en concentraciones elevadas en los hematíes de las ratas alimentadas con la grasa de sardina cruda, como se comentará a continuación.

#### 5.2.1.7. UTILIZACIÓN DEL COBRE

Los animales que consumieron la grasa de sardina cruda, incrementaron la eficacia de absorción del elemento durante el primer período de balance, lo que llegó a compensar la inferior ingesta, y así las diferencias en el cobre absorbido no fueron significativas respecto al lote control (tabla 57, pág. 187; fig. 22a, pág. 278). En el segundo período, en el que como ya se ha indicado para otros minerales, la capacidad de ajuste digestivo es menor, dada la ingesta cúprica tan baja, no fue posible alcanzar el nivel de absorción de los otros dos grupos, situación que recuerda a lo que acontecía en el calcio y en el fósforo (tabla 57, pág. 187; fig. 22b, pág. 278).

Por otro lado, en las ratas alimentadas con la dieta que contenía la grasa de la sardina frita la mayor ingesta alimentaria, superior a la de los restantes animales, condicionó una mayor absorción de cobre durante el primer período de estudio (tabla 57, pág. 187; fig. 22a, pag. 278). Ello pareció consecuencia sólo de la superior ingesta porque la eficacia digestiva se mostró similar a la de los animales alimentados con la dieta con aceite de oliva. Sin embargo, en el segundo período de balance se observó un comportamiento algo diferente, porque siendo la ingesta similar a la de las ratas que se alimentaron con oliva, la excreción

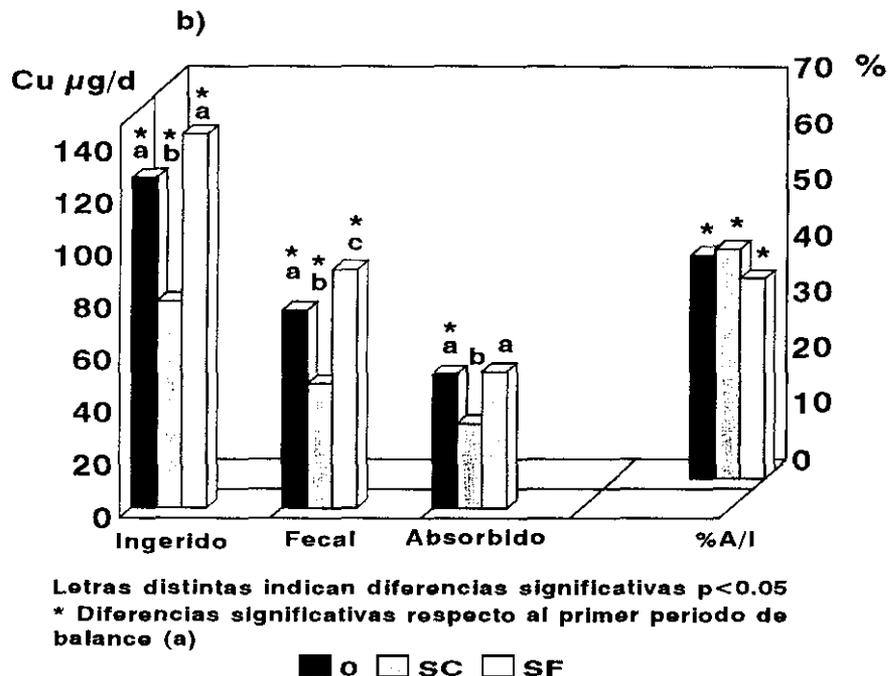
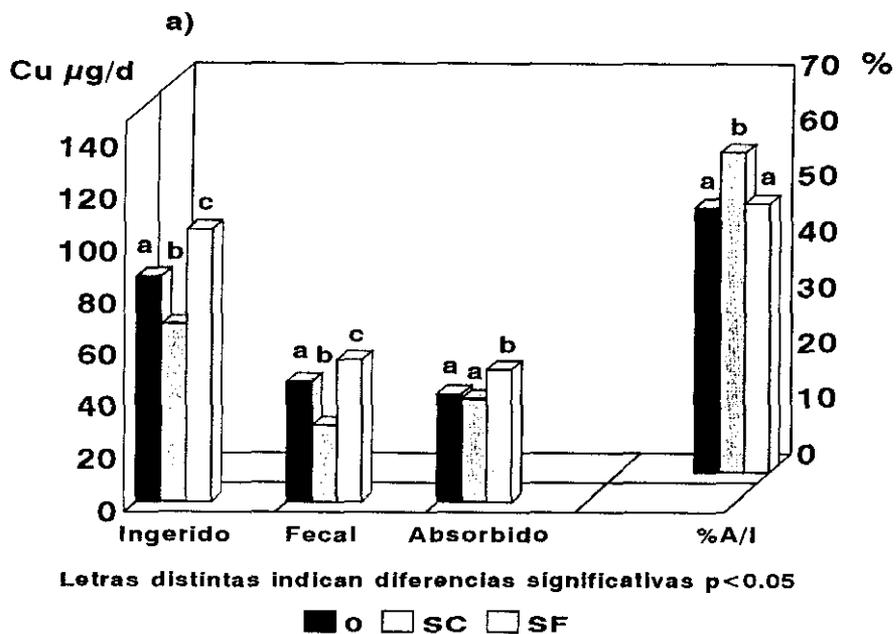


TABLA 22.- UTILIZACION DIGESTIVA DE COBRE

a) Primer periodo de balance. b) Segundo periodo de balance

O: oliva; SC: grasa de sardina cruda; SF: grasa de sardina frita

fecal de cobre aumentó y, en consecuencia, las absorciones de ambos grupos quedaron al mismo nivel.

Como señala la bibliografía, la eliminación urinaria de cobre suele ser muy escasa (Davis y Mertz, 1987), de ahí que en nuestras condiciones experimentales no pudiera determinarse, tal como se comentó en la primera parte de esta memoria. No obstante, la retención corporal debió ser paralela a la absorción, como se desprende de los resultados de cobre en carcasa que reflejan una semejanza entre los animales que se alimentaron con aceite de oliva y con la grasa del pescado frito y un menor contenido en los que consumieron la grasa de sardina cruda (tabla 58, pág. 188). Sin embargo, las concentraciones de cobre en las carcasas de estos últimos fueron más altas, debido probablemente a la alteración del crecimiento que experimentaron, coincidiendo también con lo que se decía al respecto para el calcio y el fósforo. Además, pareció que el cobre del hígado de estos animales tendió a conservarse, porque se apreció un cierto incremento de su concentración respecto a los otros dos grupos, diferencia que no se ha reflejado en la tabla 61 (pág. 191) por quedar al nivel de significación del 10%.

La distribución del cobre en los distintos tejidos analizados pareció afectarse bajo el régimen que contenía grasa de sardina cruda de una forma similar a la del zinc: por un lado, la concentración de cobre en la piel tendió a aumentar, no varió significativamente la hepática y, a la vez, se elevó su contenido en hematíes (tabla 61, pág. 191, fig. 21b, pág. 274). Pensamos que esta relación entre los efectos de la grasa de pescado sobre el zinc y el cobre debe atribuirse a mecanismos similares. En este sentido, el 60% del cobre del eritrocito se encuentra catalizando la superóxido dismutasa que, como se ha indicado, contiene también zinc y es un enzima crucial en la defensa frente al daño oxidativo. Si la mayor presencia de cobre en el eritrocito de las ratas alimentadas con grasa de pescado crudo está asociada a la superóxido dismutasa, podría pensarse en un mecanismo de defensa producido por el consumo excesivo de ácidos grasos poliinsaturados procedentes de pescado.



## ***Resumen y Conclusiones***

---



Se estudió la influencia del consumo de grasas con distinto grado de saturación: monoinsaturada (aceite de oliva), poliinsaturada de origen vegetal (aceite de girasol), saturada de origen vegetal (oleína de palma) y poliinsaturada de origen animal (grasa de sardina), tanto crudas como fritas, sobre la biodisponibilidad de los minerales calcio, fósforo, magnesio, hierro, zinc y cobre. Para ello se emplearon aceite de oliva, girasol u oleína de palma, crudos o procedentes de frituras repetidas de patatas sin reposición de aceite hasta llegar al límite del 25% de compuestos polares que permite la legislación. Dicho nivel se alcanzó después de 69 frituras con aceite de oliva, 48 con aceite de girasol y 80 con oleína de palma. Los tres aceites crudos, los aceites de oliva procedentes de 48 y 69 frituras, el aceite de girasol de 48 frituras y la oleína de palma de 80 frituras se utilizaron, como única fuente grasa, al 8% en la preparación de dietas que se administraron a ratas en crecimiento durante 28 días. Durante los ensayos se controlaron semanalmente ingesta, peso, eliminaciones fecal y urinaria de los minerales anteriormente citados, así como los balances e índices de utilización digestiva, metabólica y nutritiva global. Al final de los experimentos se sacrificaron los animales para obtener muestras de sangre, hígado, bazo, piel y la carcasa restante.

Asimismo, se elaboraron dietas con grasa de sardinas crudas y grasa de sardinas fritas en aceite de oliva en las que se practicaron estudios de digestibilidad *in vitro* de los minerales calcio, fósforo, magnesio, hierro y zinc. Con dichas dietas se alimentaron a las ratas en las mismas condiciones experimentales que en el caso de los aceites, controlándose los parámetros antes citados.

De todo ello se concluye que:

### ***Influencia del consumo de aceites crudos o fritos***

**Primera.-** La inclusión en la dieta en proporción adecuada de aceite de oliva, procedente de 48 frituras repetidas de patatas sin renovación, con un índice de compuestos polares del 19%, o de aceite de oliva, girasol u oleína de palma, crudos o procedentes de 69, 48 y 80 frituras respectivamente, hasta alcanzar un

porcentaje de compuestos polares próximo al límite que la legislación permite (25%), no modifica la ingesta de los animales, su evolución ponderal ni la eficacia alimentaria de las dietas; lo que demuestra que los aceites fritos permiten utilizar el alimento con un rendimiento similar al de los crudos. Sin embargo, bajo su consumo el peso hepático tiende a incrementarse, visualizándose de forma más marcada en el índice hepatosomático de los animales alimentados con la oleína de palma frita.

**Segunda.-** La utilización nutritiva de fósforo y magnesio no se modifica por el *tipo* de aceite consumido, oliva, girasol u oleína de palma, si bien el aceite más insaturado, el girasol, favorece ligeramente la digestibilidad del calcio, aunque sin llegar a modificar la composición corporal del elemento.

Las alteraciones que estos aceites sufren durante el proceso de *fritura*, incluso aunque se utilicen hasta el límite del 25%, son insuficientes para modificar la idónea biodisponibilidad del calcio y del fósforo, mientras que su consumo supone un factor favorecedor de la digestibilidad, que incrementa la absorción del magnesio.

**Tercera.-** Aunque los distintos aceites estudiados no modifican la utilización nutritiva de los elementos hierro, zinc o cobre, introducen algunas variaciones en su distribución tisular, incrementándose, por el consumo de girasol, la concentración de hierro y zinc en los eritrocitos, hecho que tal vez podría relacionarse con cambios en la permeabilidad de la membrana y fenómenos asociados al daño oxidativo.

Por la *fritura* de los aceites tampoco se altera el balance global de estos micronutrientes. No obstante, su inclusión en la dieta, eleva las pérdidas urinarias de hierro y zinc en los animales, pero las modificaciones son de tan escasa cuantía que no repercuten en sus concentraciones tisulares.

**Conclusión general.-** El consumo de dietas con aceite de oliva, girasol u oleína de palma al 8% modula de forma similar la ingesta y la evolución ponderal de los animales, por lo que el grado de saturación de los aceites, en este caso, no cambia la utilización del alimento.

De igual modo, el *tipo* de aceite no es un factor fundamental en los balances de los minerales calcio, fósforo, magnesio, hierro, zinc y cobre; si bien el aceite de girasol, frente a los menos insaturados, estimula ligeramente la digestibilidad del calcio y la penetración de hierro y zinc en los eritrocitos.

Los cambios que el proceso de *fritura* introduce en los aceites ensayados, cuando se emplean en frituras repetidas de patatas hasta el límite de alteración que la legislación permite y se incluyen en la dieta en proporciones adecuadas, no son capaces de modificar el consumo alimentario, la evolución ponderal, ni de forma global la biodisponibilidad de los minerales, a pesar de que bajo su consumo la absorción del magnesio se favorezca, o se incremente la eliminación urinaria de hierro y zinc. Por tanto, puede decirse que los aceites fritos son tan aptos como los crudos para permitir la idónea utilización de los minerales de la dieta y la constitución corporal, incluso en períodos de intenso crecimiento.

#### ***Influencia del consumo de grasa de sardinas crudas o fritas***

**Primera.-** La utilización de grasa de sardina cruda como única fuente lipídica de la dieta de ratas jóvenes produce una disminución de su ingesta y crecimiento, llegando a ocasionar, tras un mes de consumo, una pérdida de peso del 40% respecto de las controles, lo que se produce a causa de la inferior ingesta pero también por la más ineficaz utilización del alimento, seguramente relacionada con el imbalance de ácidos grasos n3/n6 que presentaba la dieta.

- Segunda.-** Los ensayos de digestibilidad *in vitro* de minerales manifiestan que la presencia en la dieta de grasa de sardinas crudas o fritas, respecto a la del aceite de oliva, no implica influencias negativas para la disponibilidad de los minerales estudiados e incluso favorecería el desarrollo de las formas solubles de calcio, hierro y zinc en detrimento de los precipitados.
- Tercera.-** El consumo de grasa de sardina cruda no parece incidir de forma directa sobre la biodisponibilidad del calcio; de hecho no deprime su digestibilidad, parámetro que en los animales más jóvenes tiende a incrementarse. Sin embargo, la ingesta de esta grasa introduce tales cambios a nivel metabólico que de modo indirecto reduce la utilización del nutriente. No obstante, por tratarse de animales de menor peso, la inferior utilización y retención no supone ningún deterioro en la calcificación del esqueleto. Estos efectos desaparecen, o incluso se mejoran, cuando la grasa del pescado se consume en mezcla con aceite de oliva, tal es el caso de la grasa de sardinas fritas.
- Cuarta.-** La modulación que la grasa de sardina cruda ejerce sobre la utilización del fósforo es similar a la del calcio a nivel digestivo, ya que aumenta la digestibilidad en las ratas jóvenes. Pero en este elemento no se produce una más ineficaz metabolización. De ahí que con mayor motivo, la concentración de fósforo corporal tampoco sufra ningún menoscabo. Por su parte, la grasa de la sardina frita no difiere del aceite de oliva por lo que a la biodisponibilidad del fósforo se refiere.
- Quinta.-** Sobre la utilización del magnesio la grasa de la sardina no ejerce ningún efecto directo; las menores incorporaciones del elemento con la dieta que contiene la grasa de la sardina cruda son sólo fruto de la menor ingesta. Así, en ambos casos se mantienen las concentraciones corporales de magnesio.

**Sexta.-** El metabolismo del hierro se ofrece especialmente sensible al consumo de la grasa de sardina cruda, y su presencia en la dieta deprime la digestibilidad y eficacia de utilización del elemento a nivel metabólico. Esa más precaria utilización afecta negativamente al hierro funcional y al almacenado, apareciendo cambios en parámetros específicos que denotan la instauración de una situación de anemia.

La mezcla de la grasa de sardina con aceite de oliva, tras la fritura, hace desaparecer la influencia negativa en el metabolismo férrico.

**Séptima.-** El consumo de grasa de sardina cruda introduce cambios en la digestibilidad del zinc que tienden ligeramente a favorecerla pero, dado el menor crecimiento de los animales, el elemento no tiene un destino metabólico claro y se incrementan las pérdidas urinarias. A la par, se producen una serie de cambios en las concentraciones tisulares que pueden relacionarse con fenómenos de daño oxidativo y pérdida de masa corporal.

**Octava.-** Ante el déficit de ingesta cúprica, asociado al consumo de dietas con grasa de sardina cruda, pero no con la frita, los animales tratan de absorber el cobre de forma más efectiva, ello hace que su concentración corporal total se incremente, así como la de tejidos específicos, lo que en parte podría relacionarse con el incremento de zinc que también se produce en dichos tejidos, y con el posible papel de ambos en la defensa frente al daño oxidativo.

**Conclusión general.-** El imbalance de ácidos grasos n3/n6 que supone la inclusión de grasa de sardina cruda como única fuente lipídica de la dieta, merma la ingesta de alimento, el crecimiento y la evolución ponderal de los animales, lo cual implica un aporte más escaso de todos los minerales al organismo. Este es el primer y más importante mecanismo por el que la grasa de sardina cruda disminuye la utilización nutritiva de todos ellos y hace que sus contenidos

corporales absolutos sean más pequeños. En los minerales mayoritarios no parece existir ningún efecto negativo adicional. No obstante, el metabolismo de los elementos traza sufre algunas alteraciones específicas: la digestibilidad y la eficacia metabólica del hierro se deprimen, mientras que la acumulación de zinc y cobre en los eritrocitos parece indicar la participación de ambos en la defensa frente al posible daño oxidativo, inducido por el consumo excesivo de grasa de sardina.

Cuando, tras la fritura, la grasa de pescado se mezcla con aceite de oliva, se mejora la relación n3/n6, desaparecen todos los efectos negativos descritos, los animales que la consumen crecen y se desarrollan igual o incluso algo más que los controles y la biodisponibilidad de prácticamente todos los minerales estudiados resulta normal.

## ***Bibliografía***

---



- AGNEW, J.E. Y HOLDSWORTH, C.D. (1971). "The effect of fat on calcium absorption from a mixed meal in normal subjects, patients with malabsorptive disease, and patients with a partial gastrectomy". *Gut*, 12, 973-977.
- AGUIRRE, M. (1996). "Utilización de minerales en dietas hipograsas y en preparados dietéticos empleados en regímenes de adelgazamiento". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- AKESSON, B., JOHANSSON, B.M., ENG, M., SVENSSON, M., OCKERMAN, P.A. (1981). "Content of trans-octadecenoic acid in vegetarian and normal diets in Sweden, analysed by the duplicate portion technique". *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 2517-2520.
- ALBANESE, A.A., EDELSON, A.H., WOODHULL, M.L., LORENZE, E.J., WEIN, E.H., ORTO, L.A. (1973). "Effect of a calcium supplement on serum cholesterol, calcium, phosphorus and bone density of "normal, healthy" elderly females". *Nutr. Rep. Int.*, 8 119-130.
- ALFIN-SLATER, R.B., AFTERGOOD, L., MELNICK, D. (1973). *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 50, p. 479. Citado por Linder, M.C. eds. (1988a). "Nutrición y metabolismo de las grasas". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Eunsa, S.A. Ediciones Universidad de Navarra. Pamplona. Cap. 3. pp. 61-79
- ALFIN-SLATER, R.B. Y AFTERGOOD, L. (1980). En Alfin-Slater, R.B., Krichevsky, D. eds: *Human Nutrition, a Comprehensive treatise*, vol. 3A. New York: Plenum, p.117. Citado por: Linder, M.C. eds. (1988a). "Nutrición y metabolismo de las grasas". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Eunsa, S.A. Ediciones Universidad de Navarra. Pamplona. Cap. 3. pp. 61-79
- ALFORD, J.A., PIERCE, D.A., SUGGS, F.G. (1964). "Activity of microbial lipases on natural fats and synthetic triglycerides". *J. Lipid Res.*, 5, 390-394.
- ALFORD, B.B., BLANKENSHIP, A.C., HAGEN, R.D. (1990). "The effects of variations in carbohydrate, protein and fat content of the diet upon weight loss, blood values, and nutrient intake of adult obese women". *J. Am. Diet Assoc.*, 90, 534-540.
- ALHARBI, M.M. Y ALKAHTANI, H.A. (1993). "Chemical and biological evaluation of discarded frying palm oil from commercial restaurants". *Food Chemistry*, 48, 4, 395-401.
- ALIAGA, I.L., BARRIONUEVO, M., CAMPOS, M.S., COVES, F., LISBONA, F. (1991). "Influence of intestinal resection and type of diet on digestive utilization and metabolism of magnesium in rats". *Int. J. Vit. Nutr. Res.*, 61, 61-66.
- ALLEN, L.H. (1982). "Calcium bioavailability and absorption: a review". *Am J. Clin. Nutr.*, 35, 783-808.

- AMANO, T. (1963a). "Absorption of fatty acid-iron from the intestine. I Absorption of iron after a single oral administration of fatty acid-iron". *Acta Med. Okayama*, 17, 139-146.
- AMANO, T. (1963b). "Absorption of fatty acid-iron from the intestine. II Absorption of iron after repeated oral administration of fatty acid-iron and intravenous injection of colloidal fatty acid-iron" *Acta Med. Okayama*, 17, 147-152.
- AMERICAN INSTITUTE OF NUTRITION (1977). "Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies". *J. Nutr.*, 107, 1340-1348.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION (1986). Position statement. Dietary guidelines for healthy American adults. A statement for physicians and health professionals by the nutrition community, American Heart Association. *Circulation*, 74, 1465A-8A.
- AMINE, E.K. Y HEGSTED, D.M. (1975). "Effect of dietary carbohydrates and fats on inorganic iron absorption". *J. Agr. Food. Chem.*, 23, 204-208.
- AMINE, E.K., DESILETS, E.J., HEGSTED, D.M. (1976). "Effect of dietary fats on lipogenesis in iron deficiency anemic chicks and rats". *J. Nutr.*, 106, 405-411.
- ANDERSON, G.H. Y DRAPER, H.H. (1972). "Effect of dietary phosphate on calcium metabolism in intact and parathyroidectomized adult rats". *J. Nutr.*, 102, 1123-1127.
- ANDERSON, B.M., GIBSON, R.S., SABRY, J.H. (1981). "The iron and zinc status of long-term vegetarians women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 1042-1048.
- ANDERSON, J.J.B. Y GARNER, S.C. (1996). "Calcium and phosphorus in health and disease". CRC Press. Boca Raton, New York, London, Tokyo.
- ANDREW, G., CHAN, G., SCHIFF, D. (1976). "Lipid metabolism in the neonate". *J. Pediatr.*, 88, 273.
- A.O.A.C. (1975). "Official Methods of Analysis". 12<sup>th</sup> ed. Horwitz, ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- A.O.A.C. (1980). "Official Methods of Analysis". 13<sup>th</sup> ed. Horwitz, ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- A.O.A.C. (1984). "Official Methods of Analysis". 14<sup>th</sup> ed. Horwitz, ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- ARRIGO, L. Y TISCORNIA, E. (1985). "Everything's running smoothly... like oil". *Ristorazione-Collettiva*, 10 (5), 44-50.

- ARROYO, R. (1995). "Comportamiento de aceite de girasol y oleína de palma en frituras de patatas. Estudio "in vitro" de la actividad hidrolítica de la lipasa pancreática porcina sobre sustratos termooxidados". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- ARROYO, R., CUESTA, C., SÁNCHEZ-MONTERO, J.M., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. (1995). "High performance size chromatography of palm olein used for frying". *Fat Sci. Technol.*, 97, 292-296.
- ARUOMA, O.I. (1994). "Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants". *Fd. Chem. Tox.*, 32, 7, 671-683.
- ASPE, T. (1992). "Influencia del tratamiento térmico de la proteína dietética sobre la biodisponibilidad de algunos minerales". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- ASTORG, P.O. Y CLUZAN, R. (1976). *Ann. Nutr. Alim.*, 30, 581-602. Citado por: Navarro, M.P., Andújar, M.M., Bocanegra, N., Cuesta, C. (1980). "El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata". *Grasas y Aceites*, 31, 2, 105-110.
- ATTEH, J.O. Y LEESON, S. (1983). "Effects of dietary fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chickens". *Poult. Sci.*, 62 (12), 2412-2419.
- AUGUSTINE, M.A., HENG, L.K., NOR AINI, I. (1988). "Evaluation of potato crisps fried in marked samples of palm olein, corn oil and soya oil". *Pertanika (Malasia)*, vol. 11, 3, 393-398.
- AWAD, A.B. Y ZEPP, E.A. (1979). "Alteration of rat adipose tissue lipolytic response to norepinephrine by dietary fatty acid manipulation". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 86, 138-144.
- AWAD, A.B. Y CHATTOPADHYAY, J.P. (1986). "Effect of dietary saturated fatty acids on hormone-sensitive lipolysis in rat adipocytes". *J. Nutr.*, 116, 1088-1094.
- AWAD, A.B., BERNARDIS, L.L., FINK, C.S. (1990). "Failure to demonstrate an effect of dietary fatty acid composition and parameters of lipid metabolism in mature rats". *J. Nutr.*, 120, 1277-1282.
- BANG, H.O., DYERBERG, J., HJORNE, N. (1976). "The composition of food consumed by Greenland Eskimos". *Acta Med. Scand.*, 200, 69-73.
- BANG, H.O., DYERBERG, J., SINCLAIR, H.M. (1980). "The composition of Eskimo food in north western Greenland". *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 2657-2661.

## *Bibliografía*

---

- BASSETT, S.H., KEUTMANN, E.H., HYDE, Z.H., VAN ALSTINE, H.E., RUSS, E. (1939). "Metabolism in idiopathic steatorrhea. I. The influence of dietary and other factors on lipid and mineral balance". *J. Clin. Invest.*, 18, 101. Citado por Speckmann, E.W., Brink, M.F. (1967). "Relationships between fat and mineral metabolism. A Review". *Journal of the American Dietetic Association*, 51, 517-522.
- BASU, K.P. Y NATH, H.P. (1946). *Indian J. Med. Res.*, 34, 27-30. Citado por Kies, C. (1985). "Effect of dietary fat and fiber on calcium bioavailability". En: "Nutritional bioavailability of calcium". American Chemical Society, Kies, ed., ACS Symposium Series, 275, pp. 175-187.
- BAUCHART, D., DOREAU, M., LEGAY-CARMIER, F. (1985). "Utilisation digestive des lipides et consequences de leur introduction sur la digestion du ruminant". *Bull. Tech.*, 61, 65-77.
- BEAMONTE, A. (1988). "Estabilidad del triptófano durante los procesos térmicos culinarios de preparación de un pescado graso (sardina pilchardus). Influencia del almacenamiento al estado congelado". Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- BEAMONTE, A. Y CASTRILLÓN, A.M. (1989). "Variaciones en el contenido de triptófano en sardina (pilchardus) originadas por los procesos térmicos culinarios. Papel de la grasa". *Grasas y Aceites*, vol. 40 (3), 194-198.
- BEHLING, A.R., KAUP, S.M., GREGER, J.L. (1990). "Changes in intestinal function of rats initiated with DMH and fed varying levels of butterfat, calcium and magnesium". *Nutr. Cancer*, 13, 189-199.
- BERGER, K.G. (1983). "Production of palm oil from fruit". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60, 158A-162A.
- BERNER, L.A., MILLER, D.D., VAN CAMPEN, D. (1985). "Availability to rats of iron in ferric hydroxide polymers". *J. Nutr.*, 115, 1042-1049.
- BETTGER, W.J., REEVES, P.G., SAVAGE, J.E., O'DELL, B.L. (1980). "Interaction of zinc and essential fatty acids in the rat". *J. Nutr.*, 110, 50-58.
- BETTGER, W.J. Y O'DELL, B.L. (1981). "A critical physiological role of zinc in the structure and function of biomembranes". *Life Sci.*, 28, 1425-1436.
- BHATTACHARYYA, A.K., THERA, C., ANDERSON, J.T., GRANDE, F., KEYS, A. (1969). "Dietary calcium and fat: effect on serum lipids and fecal excretion of cholesterol and its degradation products in man". *Am. J. Clin. Nutr.*, 22, 1161-1174.
- BIERENBAUM, M.L., FLEISCHMAN, A.I., RAICHELSON, R.I. (1972). "Long term human studies on the lipid effects of oral calcium". *Lipids*, 7, 202-206.

- BIKLE, D.D., MUNSON, S., CHAFOULEAS, J. (1984). "Calmodulin may mediate 1,25-dihydroxyvitamin D-stimulated intestinal calcium transport". *FEBS Lett.*, 174, 30.
- BILLEK, G. (1980). "Heated oil-chemistry and nutritional aspects. En: "Lipids and lipoproteins". Proceeding of a Scientific Symposium of the International Federation of Margarine Associations. Fondou, M. ed. Brussels, May, 17-18, 1979. *Nutr. Metab.*, 24 (suppl. 1). pp. 200-210.
- BILLEK, G. (1985). "Heated fats in diet". En: "The role of fats in human nutrition". Padley, F.B., Podmore, J., Eds. (in collaboration with Brun, J.P., Burt, R., Nicols, B.W.); Ellis Horwood, Chichester, England, pp. 163-172.
- BIRCH, N.J., DAVIE, R.J., PHILLIPS, J.D. (1991). "Magnesium absorption in the gastrointestinal tract". En: "Magnesium: A relevant ion". Lasserre, B. y Darlach eds. John Libbey. Chapter 13, pp. 125-129.
- BJORN-RASMUSSEN, E. Y HALLBERG, L. (1979). "Effect of animal proteins in the absorption of food iron in man ". *Nutr. Metab.*, 23, 192-202.
- BLISS, C.M. Y SMALL, D.M. (1970). "A comparison of ileal and fecal lipid in pancreatic steatorrhea". *Gastroenterology*, 58, 928 (Abstr.).
- BLISS, C.M., SMALL, D.M., DONALDSON, R.M. (1972). "The excretion of calcium and magnesium fatty acid soaps in steatorrhea". *Gastroenterology*, 62, 724 (Abstr.).
- BLUMENTHAL, M.M. (1991). "A new look at the chemistry and physics of deep-fat frying". *Food Technology*, 45, 2, 68-71.
- BOATELLA, J., CODONY, R., RAFECAS, M. (1991). "Contribución de los alimentos al consumo de lípidos en España". *Rev. Real Acad. Farm. Barcelona*, 11, 91-100.
- BOATELLA, J., RAFECAS, M., CODONY, R. (1993). "Isomeric trans fatty acids in the Spanish diet and their relationships with changes in fat intake patterns". *Eur.J. Clin. Nutr.*, 47, supl. 1, S62-S65.
- BODY, D.R. (1988). "The lipid composition of adipose tissue". *Prog. Lip. Res.*, 27, 39-60.
- BOECKNER, L. Y KIES, C. (1986). "Zinc nutrition status and growth of middleclass American adolescent children". *Nutr. Rep. Int.*, 34, 305-314.
- BOLDEN, S.L., JENSEN, L.S., TAKAHASHI, K. (1984). "Responses in calcium and phosphorus metabolism and hepatic lipid deposition among estrogenized chicks fed various dietary ingredients". *J. Nutr.*, 114, 591-597.

## *Bibliografía*

---

- BOOTH, R.G., HENRY, K.M., KON, S.M. (1942). *Bioch. J.*, 36, 445. Citado por: Tadayyon, B. y Lutwak, L. (1969). "Interrelation of triglycerides with calcium, magnesium and phosphorus in the rat". *J. Nutr.*, 97, 246-254.
- BOOTH, C.C., BABOURIS, M.B., HANNA, S., MACINTYRE, I. (1963). "Incidence of hypomagnesaemia in intestinal malabsorption". *Br. Med. J.*, 2, 141-143.
- BOTTINO, N.R., VANDENBURG, G.A., REISER, R. (1967). "Resistance of certain long chain polyunsaturated fatty acids of marine oils to pancreatic lipase hydrolysis". *Lipids*, 2, 489-493.
- BOWERING, J., SÁNCHEZ, A.M., IRWIN, M.I. (1976). "A conspectus of research on iron requirements of man". *J. Nutr.*, 106, 985-1074.
- BOWERING, J., MASCH, G.A., LEWIS, A.R. (1977). "Enhancement of iron absorption in iron depleted rats by increasing dietary fat". *J. Nutr.*, 107, 1687-1693.
- BOYD, L.O. (1984). "Bioavailability of trace elements". *Nutr. Rev.*, 42, 301-308.
- BOYD, O.F., CRUM, C.L., LYMAN, J.F. (1932). "The absorption of calcium soaps and the relation of dietary fat to calcium utilization in the white rat". *J. Biol. Chem.*, 95, 29-41.
- BOZZOLO, G., RAYNAUD, P., MONCOULON, R. (1973). "Influences des lipids alimentaires sur les metabolismes cuprique et martial chez le rat de laboratoire". *Ann. Zootech.*, 22, 463-484.
- BREMNER, I. (1978). "Cadmium toxicity. Nutritional influences and the role of metallothionein". *World Rev. Nutr. Diet.*, vol. 32, pp. 165-197.
- BRISE, H. Y HALLBERG, L. (1962). "Absorbability of different iron compounds". *Acta Med. Scand.*, Supp. 376, 171, 23-37.
- BRISE, H. Y HALLBERG, L. (1981). "A method for comparative studies in iron absorption in man using two radioiron isotopes". *Am. J. Clin. Nutr.*, 36, 7-22.
- BRITISH NUTRITION FOUNDATION (1987). "Trans fatty acids". London: The Reports of the British Nutrition Foundation.
- BROCKERHOFF, H., HOYLE, R.J., HUANG, P.C. (1967). "Incorporation of fatty acids of marine origin into triglycerides and phospholipids of mammals". *Biochim. Biophys. Acta*, 144, 541-548.
- BRODAN, V., KUHN, E., MAJEK, J., BRODANOVA, M., KORDAC, V., VALEK, J. (1968). "The influence of concomitant absorption of basic nutrients on iron absorption in man using two radioiron isotopes". *Am. J. Clin. Nutr.*, 36, 7-22.

- BRUNE, M., ROSSANDER, L., HALLBERG, L. (1989). "Iron absorption: no intestinal adaptation to a high-phytate diet". *Am. J. Clin. Nutr.*, 49, 542-545.
- BUDOWSKI, P. Y CRAWFORD, M.A. (1985). "Alpha-linoleic acid as a regulator of the metabolism of arachidonic acid: dietary implications of the ratio, n-6, n-3 fatty acids". *Proceedings of the Nutrition Society*, 44, 221-229.
- BURCH, R.M., LUINI, A., AXELROD, J. (1986). "Phospholipase A 2 and phospholipase C are activated by distinct GTP-binding proteins in response to  $\alpha_1$ -adrenergic stimulation in FRTL5 thyroid cells". *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 83, 7201-7295.
- CABRERA FORNEIRO, L. Y MOREIRAS TUNI, O. (1990). "Calidad nutricional de la ingesta de la grasa de la población española". *Rev. Clin. Esp.*, 186, 400-404.
- CALVERLEY, C.E. Y KENNEDY, C. (1949). "The effect of fat on calcium and phosphorus metabolism in normal growing rats under a dietary regime". *J. Nutr.*, 38, 165-175.
- CAREY, M.C. (1983). "Lipid digestion and absorption". *Ann. Rev. Physiol.*, 45, 651-677.
- CARLSON, S.E. Y SALEM, N. (1991). "Essentiality of w-3 fatty acids in growth and development of infants". En: "Health effects of w-3 polyunsaturated fatty acids in seafood". Simopoulos, A.P., Kifer, R.R., Martin, R.E. y Barlow, S.N. eds. *World Review of Nutrition and Dietetics*, 66, pp. 74-86.
- CAUSERET, J. (1982). "Chauffage des corps gras et risques de toxicité". *Cah. Nutr. Diet.*, 17, 19-33.
- CAUSERET, J., POTTEAU, B., GRANDGIRARD, A. (1978). "Contribution a l'etude des effets physiopathologiques de l'ingestion d'huiles chauffées chez le rat". *Ann. Nutr. Alim.*, 50, 483-497.
- CIVANTOS, L., CONTRERAS, R., GRANA, R. (1992). "Obtención del aceite de oliva virgen". Editorial Agrícola Española, S.A.
- CLARK, W.L. Y SERBIA, G.W. (1991). "Safety aspects of frying fats and oils". *Food Technology*, 45, 2, 84-89.
- CLARKE, S.D., BENJAMIN, L., BELL, L., PHINNEY, S.D. (1988). "Fetal growth and fetal lung phospholipid content in rats fed safflower oil, menhaden oil or hydrogenated coconut oil". *Am. J. Clin. Nutr.*, 47, 828-835.
- COOKE, R.J., CARLSON, S.E., WERKMAN, S.H., PEEPLES, J.M. (1991). "Growth of premature infants in year one: effect of marine oil supplementation of formula". *FASEB J.*, 5, A1072 (abs.).

## *Bibliografía*

---

- CORNELIUS, J.A. (1983). "Production of oil palm fruit and its products". London: Tropical Products Institute.
- COTRELL, R.C. (1991). "Introduction: nutritional aspects of palm oil". *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 989S-1009S.
- COUSINS, R.J. (1985). "Absorption, transport and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin". *Physiol. Rev.*, 65, 238-309.
- COUSINS, R.J. (1989). "Systemic transport of zinc". En: "Zinc in human biology". Mills, C.F. ed. Chap. 5, pp. 79-93.
- CRAMPTON, E.W., COMMON, R.H., FARMER, F.A., WELLS, A.F., CRAWFORD, D. (1953). "Studies to determine the nature of the damage to the nutritive value of some vegetable oil from heat treatment III. The segregation of toxic and nontoxic material from the esters of heat-polymerized linseed oil by distillation and by urea adduct formation". *J. Nutr.*, 49, 333-346.
- CROSET, M., BLACK, J.M., SWANSON, J.E., KINSELLA, J.E. (1989). "Effects of dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on phospholipid composition and calcium transport in mouse cardiac sarcoplasmic reticulum". *Lipids*, 24, 4, 278-285.
- CSERMELY, P., SANDOR, P., RADICS, L., SOMOGYI, J. (1989). "Zinc forms complexes with higher kinetic stability than calcium, 5-F-BAPTA as a good exemple". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 165, 838.
- CUESTA, C., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., RODRIGUEZ, A. Y VARELA, G. (1987). "Effect on lipoproteinemia in rats fed diets containing either olive oil or a solid vegetable fat". *Nutr. Rep. Int*, 36, 483-489.
- CUESTA, C., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. (1991). "Tecnología de la fritura. Alteraciones de las grasas utilizadas en frituras debidas al proceso, tipo de grasa culinaria y alimento". *Alimentación, equipos y tecnología*, 4, 101-108.
- CUESTA, C., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., HERNÁNDEZ, I., LÓPEZ-VARELA, S. (1991). "Modificaciones de un aceite de oliva durante las frituras sucesivas de patatas. Correlaciones entre distintos índices analíticos y de evaluación global de la degradación". *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.*, 31, 4, 523-531.
- CUESTA, C., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., GARRIDO-POLONIO, M.C., LÓPEZ-VARELA, S., ARROYO, R. (1993a). "Thermoxidative and hydrolytic changes in sunflower oil used in fryings with a fast turnover of fresh oil". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, (11), 1069-1073.

- CUESTA, C., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., LÓPEZ-VARELA, S., GARRIDO-POLONIO, M.C., GARCÍA-DIZ, L. (1993b). "Alteración termoxidativa en un aceite de girasol utilizado en 75 frituras de patatas. Efectos de su inclusión en dietas sobre crecimiento e ingesta en ratas". *Grasas y Aceites*, 44, 4-5, 263-269.
- CUNNANE, S.C. (1982). "Maternal essential fatty acids supplementation enhances zinc absorption in neonatal rats: relevance to the defect in zinc absorption in acrodermatitis enteropathica". *Pediatr. Res.*, 16, 599-605.
- CUNNANE, S.C. Y MC ADOO, K.R. (1987). "Iron intake influences essential fatty acid and lipid composition of rat plasma and erythrocytes". *J. Nutr.*, 117, 1514-1519.
- CUNNINGHAM-RUNDLES, S. Y CUNNINGHAM-RUNDLES, W.F. (1988). "Zinc modulation of immune response". En: "Contemporary issues in clinical nutrition". Chandra, R.K. ed. *Nutrition and Immunology*. Alan R. Liss. Inc., Chap. 10, pp. 197-214.
- CHANDA, R. (1949). "The comparative nutritive value of butter and hydrogenated fat". *Brit. J. Nutr.*, 3. Citado por Speckmann, E.W., Brink, M.F. (1967). "Relationships between fat and mineral metabolism. A Review". *Journal of the American Dietetic Association*, 51, 517-522.
- CHAO, L.S. Y GORDON, D.T. (1983). "Influence of fish on the bioavailability of plant iron in the anemic rat". *J. Nutr.*, 113, 1643-1652.
- CHEN, I.S., SUBRAMANIAM, S., CASSIDY, M.M., SHEPPARD, A.J., VAHOUNY, G.V. (1985). "Intestinal absorption and lipoprotein transport of (w-3) eicosapentaenoic acid". *J. Nutr.*, 115, 219-225.
- CHENG, A.L.S., MOREHOUSE, M.G., DEUEI, H.J. JR. (1949). "The effect of the level of dietary calcium and magnesium on the digestibility of fatty acids, simple triglycerides and some natural and hydrogenated fats". *J. Nutr.*, 37, 237. Citado por: Speckmann, E.W. y Brink, M.F. (1967). "Relationships between fat and mineral metabolism. A review". *Journal of the American dietetic Association*, 51, 517-522.
- DASHTI, N., SMITH, E.A., ALAUPOVIC, P. (1990). *J. Lipid Res.*, 33, 9-19. Citado por: Ranheim, T., Gedde-Dahl, A., Rustan, A.C., Drevon, C.A. (1994). "Effect of chronic incubation of CaCo-2 cells with eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) and oleic acid (18:1 n-9) on triacylglycerol production". *Biochem. J.*, 303, 155-161.
- DAVIS, C.D., DENISE, M.N., GREGER, J.L. (1990). "Manganese, iron and lipid interactions in rats". *J. Nutr.*, 120, 507-513.
- DAVIS, G.K. Y MERTZ, W. (1987). "Copper". En: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Fifth ed., vol. 1. Ed. Walter Mertz. Academic Press Inc. Cap. 10, pp. 301-364.

## *Bibliografía*

---

- DEFFENSE, E. (1985). "Fractionation of palm oil". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 62, 376-385.
- DEMARNE, Y., SACQUET, E., FLANCY, J., GARNIER, H., FRANCOIS, A.C. (1971). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 11, 729-731. Citado por Navarro, M.P., Andújar, M.M., Bocanegra, N., Cuesta, C. (1980). "El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata". *Grasas y Aceites*, 31, 2, 105-110.
- DEMARNE, Y., SACQUET, E., LECOURTIER, M.J., FLANZY, J. (1979). "Comparative study of endogenous fecal fatty acids in germ-free and conventional rats". *Am. J. Clin. Nutr.*, 32, 2027-2032.
- DENKE, M.A., FOX, M.M., SCHULTE, M.C. (1993). "Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men". *J. Nutr.*, 123, 1047-1053.
- DIAS, V.C., FITZSIMMONS, B.F., PARSONS, H.G. (1990). *FASEB J.*, 4, A797. Citado por: Ranheim, T., Gedde-Dahl, A., Rustan, A.C., Drevon, C.A. (1994). "Effect of chronic incubation of CaCo-2 cells with eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) and oleic acid (18:1 n-9) on triacylglycerol production". *Biochem. J.*, 303, 155-161.
- DIB, A. Y CARREU, J.P. (1987). "Effects of gamma-linolenic acid supplementation on pregnant rat fed a zinc-deficient diet". *Ann. Nutr. Metab.*, 31, 312-319.
- DIERSEN-SCHADE, D.A., RICHARD, M.J., JACOBSON, N.L. (1984). "Effects of dietary calcium and fat on cholesterol in tissues and feces of young goats<sup>1-3</sup>". *J. Nutr.*, 114, 2292-2300.
- DOBARGANES, M.C., RIOS, J.J., PÉREZ-CAMINO, M.C. (1986). "Relaciones entre la composición de aceites vegetales y los componentes volátiles producidos durante su termoxidación". *Grasas y Aceites*, 37, 2, 61-68.
- DOBARGANES, M.C., PÉREZ-CAMINO, M.C., MÁRQUEZ-RUIZ, G. (1988). "High performance size exclusion chromatography of polar compounds in heated and non-heated fats". *Fat. Sci. Technol.*, 8, 308-311.
- DOMÍNGUEZ, Z. Y BOSCH, V. (1994). "Dietary fish oil affects food intake, growth and hematologic values of weanling rats". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 44, 2, 92-97.
- DOSON, M.V., ALLEN, R.E., HOSSNER, K.L. (1985). "Ovine somatomedin, multiplication-stimulating activity, and insulin promote skeletal muscle satellite cell proliferation in vitro". *Endocrinology*, 117, 2357-2363.

- DOUGHERTY, R.M. Y IACONO, J.M. (1979). "Effects of dietary calcium on blood and tissue lipids, tissue phospholipid, calcium and magnesium levels in rabbits fed diets containing beef tallow". *J. Nutr.*, 109, 1934-1945.
- DRAPER, A., LEWIS, J., MALHOTRA, N., WHEELER, T.H.L. (1993). "The energy and nutrient intakes of different types of vegetarian: a case for supplements?". *Brit. J. Nutr.*, 69, 3-19.
- DRENICK, E.J. (1961). "The influence of ingestion of calcium and other soap-forming substances on fecal fat". *Gerontology*, 41, 242-244.
- DREWNOWSKI, A. (1988). "Fat and Food acceptance: sensory, hedonic and attitudinal aspects. En: Solms, J., Booth D.A., Pangborn R.N., et al., eds. *Food acceptance and Nutrition*. New York: Academic Press, pp. 189-204.
- DREWNOWSKI, A. (1990). "The new fat replacements: a strategy for reducing fat consumption". *Posgrad Med*, 87 (6), 111-121.
- DREWNOWSKI, A., BRUNZELL, J.D., SANDE, K., IVERIUS, P.H., GREENWOOD, M.R.C. (1985). "Sweet tooth reconsidered: taste responsiveness in human obesity". *Physiol. Behav.*, 35, 617-622.
- DYERBEG, J., BANG, H.O., HJORNE, N. (1975). "Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos". *Am. J. Clin. Nutr.*, 28, 958-966.
- DYERBERG, J., BANG, H.O. (1978). "Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis". *Lancet*, II, 117-119.
- EDIONWE, A.O. Y KIES, C. (1993). "Palm oil and soybean oil as fry fats: sensory acceptability of a deep-fat fried Nigerian snack food". *Plant Foods for human Nutrition*, 44, 105-110.
- EGWIM, P.O. Y KUMMEROW, F.A. (1972). *J. Nutr.*, 102, 783. Citado por Linder, M.C. eds. (1988a). "Nutrición y metabolismo de las grasas". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Ed. Linder, M.C. Editorial Eunsa, Pamplona. Cap. 3. pp. 61-79.
- EL-SHATTORY, Y. Y TAHA, F.S. (1980). "Estudios sobre las características físico-químicas y la composición en ácidos grasos del aceite de oliva". *Grasas y Aceites*, 31, 1, 23-26.
- EMKEN, E.A. (1984). "Nutrition and biochemistry of trans and positional fatty acids isomers in hydrogenated oils". *Annu. Rev. Nutr.*, 4, 339-376.

- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. (1987). *Nutr. Res.*, 7, 319-325. Citado por Bender, A.E. (1989). En: "Nutrient availability: Chemical and biological aspects". pp. 3-9. Ed. Southgate, D., Johnson, I., Fenwick, G.R. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge, England.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. Y CAPREZ, A. (1982). "A comparison between the effect of added sodium phytate and endogenous phytate in bran and oats on zinc absorption". *Proc. Nutr. Soc.*, 41, 132A.
- FAIRWEATHER-TAIT, S.J. Y SYMSS, L.L. (1989). "The effects of Maillard reactions products on zinc bioavailability". En: "Nutrient availability: chemical and biological aspects". Southgate, D., Johnson, I., Fenwick, G.R. eds. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge, England, pp. 229-231.
- FAKAMBI, L., FLANZY, J., FRANCOIS, A.C. (1969). "Compétition in vivo entre acides gras et phosphore pour la formation de composés insolubles de calcium". *R. Acad. Sc. Paris* 269 (D), 2233-2235.
- FAO (1990). Food balance sheets, from the computer presentation "Food and Health Indicators", Nutrition Programme, WHO Regional Office for Europe.
- FARKKILA, M. Y MIETTINEN, T.A. (1990). "Lipid metabolism in bile acid malabsorption". *Ann. Med.*, 22, 5-13.
- FEDELLI, E. (1988). "The behaviour of olive oil cooking and frying". En: *Frying of Food. Principles, Changes, New Approaches*. Varela, G., Bender, A.E., Morton, I.A. eds. Ellis Horwood, Chichester, pp. 52-81.
- FERRANDO, R. (1987). "From analysis to reality: Bioavailability in nutrition and toxicology. A misunderstood concept". En: *World Review of Nutrition and Dietetics*, vol. 53, pp. 28-68.
- FERRO-LUZZI, A. Y STRAZZULLO, P. (1984). "Changing in the Mediterranean diet: effects in blood lipids". *Am. J. Clin. Nutr.*, 48, 1027-1037.
- FERRO-LUZZI, A. Y SETTE, S. (1989). "The mediterranean diet: an attempt to define its present and past composition". *Eur. J. Clin. Nutr.*, 43, suppl. 2, 13-29.
- FIDANZA, F. (1991). "The mediterranean Italian diet: keys to contemporary thinking". *Proc. Nutr. Soc.*, 50, 519-526.
- FIELD, C.J., ANGEL, A., CLANDININ, M.T. (1985). "Relationship of diet to the fatty acid composition of human adipose tissue structural and stored lipids". *Am. J. Clin. Nutr.*, 42, 1206-1220.

- FIELDS, M. (1988). "Experimental studies of copper absorption". *Front. Gastrointest. Res.*, vol. 14, pp. 111-116.
- FIGUEROA, B. (1984). "Grasas dietarias en frituras repetidas". Tesina de licenciatura. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- FIRESTONE, D. (1963). "The determination of polymers in fats and oils". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 40, 247-255.
- FLANAGAN, P.R. Y VALBERG, L.S. (1988). "The intestinal interaction of zinc and iron in humans: Does it occur with food?". En: *Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease*. Ananda S. Prasad Ed. Alan R. Liss. Inc., pp. 501-507.
- FLYNN, A. Y BRENNAN, M.M. (1991). "Ontogeny of iron and zinc absorption in the rat". *Trace Elements in Man and Animals, TEMA 7*. B. Momcilovic ed. Institute for Medical Research and Occupational Health University of Zagreb. pp. 19.10-19.11.
- FRANKEL, E.N. (1985). "Flavour Chemistry of fats and oils". Min, D.B. y Smouse, T.H. eds. *Am. Oil Chemists' Soc.*, 1-37.
- FRANKEL, E.N., SMITH, L.M., HAMBLIN, C.L., CREVELIN, R.K., CLIFFORD, A.J. (1984). "Occurrence of cyclic fatty acid monomers in frying oil used for fast foods". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 87-90.
- FREELAND-GRAVES, J.H., BODZY, P.W., EPPRIGHT, M.L. (1980). "Zinc status of vegetarians". *J. Am. Diet. Assoc.*, 77, 655-661.
- FRITSCH, C.W. (1981). "Measurements of frying fat deterioration: A brief review". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 58, 272-274.
- FURNISS, D.E., HURRELL, R.F., FINOT, P.A. (1986). "Modification of urinary zinc excretion in the rat associated with the feeding of Maillard reaction products". *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 59, S7, 188-191.
- FURNISS, D.E., VUICHOU, J., FINOT, P.A., HURRELL, R.F. (1989). "The effect of Maillard reaction products on zinc metabolism in the rat". *Br. J. Nutr.*, 62, 3, 739-749.
- GACS, G. Y BARLTROP, D. (1977). "Significance of Ca-soap formation for calcium absorption in the rat". *Gut*, 18, 64-68.
- GALL, K.L., OTWELL, W.S., KOBURGER, J.A., APPLIEDORF, H. (1983). "Effects of four cooking modes on the proximate, mineral and fatty acid composition of fish fillets". *J. Food Sci.*, 48, 1068-1074.

- GARCÍA-ARIAS, M.T., CASTRILLÓN, A.M., NAVARRO, M.P. (1991). "Dietary iron bioavailability of diets containig raw and procesed white tuna". En: "Trace Elements in Man and Animals". TEMA 7. B. Momcilovic ed. Institute for Medical Research and Ocupational Health University of Zagreb. pp. 25.24-25.25.
- GARCÍA-ARIAS, M.T., CASTRILLÓN, A.M., NAVARRO, M.P. (1993). "Bioavailability of zinc in rats fed tuna as a protein source in the diet". "Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease, 7, 29-36.
- GARCÍA-ARIAS, M.T., CASTRILLÓN, A.M., NAVARRO, M.P. (1994). "Influence of consumption of either casein or tuna in raw cooked or canned form on utilization of the iron content in the diet of weanling rats". Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, 33, 51-60.
- GEORGE, G. Y SEN, D.P. (1985). "Salt mixture and "in vivo" digestibility of groundnut oil in rats". Fette Seifen Anstrichmittel, 87, 5, 194-196.
- GERE, A., SEBEDIO, J.L., GRANDGIRARD, A. (1985). "Studies on some Hungarian fats and oils obtained from commercial frying processes". Fette Seifen Anstrichm., 81, 359-362.
- GILMORE, R., COHN, N., GLASER, M. (1979a). "Fluidity of LM cell membranes with modified lipid compositions as determined with 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene". Biochemistry, 18, 1042-1049.
- GILMORE, R., COHN, N., GLASER, M. (1979b). "Rotational relaxation times of 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene in phospholipids isolated from LM cell membranes. Effect of phospholipid polar head-group and fatty acid composition". Biochemistry, 18, 1050-1056.
- GILLOOLY, M., ROTHWELL, T.H., TORRANCE, J.D., MC PHAIL, A.P., DERMAN, D.P., BEZWODA, W.R., MILLS, W., CHARLTON, R.W., MAYET, F. (1983). Br. J. Nutr., 49, 331. Citado por Lønnerdal, Bø. (1989). En: "Nutrient availability: Chemical and Biological aspects". pp. 131-139. Ed. Southgate, D., Johnson, I., Fenwick, G.R. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge. England.
- GIVENS, M.H. (1917). "Studies in calcium and magnesium metabolism 3. The effect of fat and fatty acid derivatives". Journal of Biological Chemistry, 31, 441-444.
- GONZÁLEZ-MUÑOZ, M.J., TULASNE, C., ARROYO, R., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. (1996). "Digestibility and absorption coefficients of palm olein. Relationships with thermal oxidation induced by potato frying". Fett Lipid, 98, 3, 104-108.
- GOODNIGHT, S.H. JR., HARRIS, W.S., CONNO, W.E., ILLINGSWORTH, R.D. (1982). "Polyunsaturated fatty acids, hyperlipidemia and thrombosis". Arteriosclerosis, 2, 87-113.

- GORDON, D.T. (1983). "Iron absorption by the anemic rat as influenced by beef tallow, corn oil, salmon oil, vitamin E and butylated hydroxy toluene". American Oil Chemists' Society 74th Ann. Meeting, May 1983, Chicago, IL. J.Am. Oil. Chem. Soc. (abs.), 60, 739-740.
- GOTTENBOS, J.J. Y VLES, R.O. (1983). "The nutritive value of palm oil". PORIM Occasional Paper, 8, 5-11.
- GRANDE, F. (1989). "Grasas". En: "Problemas de la Nutrición en las Sociedades Desarrolladas". Saenz de Buruaga, J., González de Galdeano, L. y Goiriena de Gandarias, J.J. (Eds.) d. Salvat, Barcelona.
- GRANDGIRARD, A. (1980). "Recherches récentes sur les effets physiologiques de différents types de composés dans les corps gras chauffés". Ann. Nutr. Aliment., 34, 377-388.
- GRANDGIRARD, A., SEBEDIO, J.L., FLEURY, J. (1984). "Geometrical isomerization of linolenic acid during heat treatment of vegetable oils". J. Am. Oil Chem. Soc., 61, 1563-1568.
- GROB, J. (1990). "Fryer design and maintenance: Institutional fryers". Presented at Extension Short Course. Deep fat frying of foods: Science and Practice. Univ. of California, Davis, Mayo, 16-18.
- GRUNDY, S.M. (1987). "Monounsaturated fatty acids, plasma cholesterol, and coronary heart disease". Am. J. Clin. Nutr., 45, 1168-1175.
- GUILLAUMIN, R. (1988). "Kinetics of the penetration in food". En: Frying of Food. Principles, Changes, New Approaches. Varela, G., Bender, A.E., Morton, I.A. eds. Ellis Horwood, Chichester, pp. 82-90.
- GURR, M.I. (1986). "The role of fats in food and nutrition". Barking, U.K: Elsevier.
- GUTIÉRREZ GONZÁLEZ-QUIJANO, R. Y DOBARGANES, M.C. (1988). "Analytical procedures for the evaluation of used frying fats". En: Frying of Food. Principles, Changes, New Approaches. Varela, G., Bender, A.E., Morton, I.A. eds. Ellis Horwood, Chichester, pp. 151-154.
- HAGEMAN, G., HERMAN, R., HOOR, F., KEINJANS, J. (1990). "Mutagenicity of deep-frying fat, and evaluation of urine mutagenicity after consumption of fried potatoes". Food & Chemical Toxicology, 28, 2, 75-80.
- HALLBERG, L. (1981). Ann. Rev. Nutr., 1, 123. Citado por Lönnerdal, Bo. (1989). En: "Nutrient availability: Chemical and Biological aspects". pp. 131-139. Ed. Southgate, D., Johnson, I., Fenwick, G.R. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge. England.

- HALLBERG, L. Y ROSSANDER, L. (1984). "Improvement of iron nutrition in developing countries: comparison of adding meat, soy protein, ascorbic acid, citric acid and ferrous sulphate on iron absorption from a simple Latin American-type meal". *Am. J. Clin. Nutr.*, 39, 577-583.
- HALLBERG, L., BRUNE, M., ROSSANDER, L. (1989). "Iron absorption in man: ascorbic acid and dose-dependent inhibition by phytate". *Am. J. Clin. Nutr.*, 49, 140-144.
- HALLIWELL, B. (1991). "The biological toxicity of free radicals and other reactive species". En: "Free radicals and food additives". Aruoma, O.I, Halliwell, B. eds., Taylor & Francis Ltd. Cap. 3, pp. 37-57.
- HAMBIDGE, K.M., CASEY, C.E., KREBS, N.F. (1986). "Zinc". En: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Fifth ed., vol. 2. Ed. Walter Mertz. Academic Press Inc. Cap. 1, pp. 1-137.
- HAMILTON, R.J. (1989). "The chemistry of rancidity in foods". En: *Rancidity in Foods 2ª* Ed. Allen, J.C, Hamilton, R.J. eds. Elsevier Applied Science. Londres. Citado por: Monferrer, A. y Villalta, J. (1993b). "La fritura desde un punto de vista práctico (II)". *Alimentación, Equipos y Tecnología*, Mayo, 85-90.
- HAMOSH, M. (1981). "Physiological role of milk lipases". En: Lebenthal E., ed. *Textbook of gastroenterology and nutrition in infancy*. New York. Raven Press. pp. 473-482.
- HANNA, S., HARRISON, M.T., MACINTYRE, I., FRASER, R. (1960). "The syndrome of magnesium deficiency in man". *Lancet*, ii, 172-175.
- HARDWICK, L.L., JONES, M.R., BRAUTBAR, N., LEE, D.B.N. (1991). "Magnesium absorption: mechanisms and the influence of vitamin D, calcium and phosphate". *J. Nutr.*, 121, 13-23.
- HARKINS, R.W., HAGERMAN, L.M., SARETT, H.P. (1965). "Absorption of dietary fat by the rat in cholestyramine-induced steatorrhea. *J. Nutr.* 87, 85. Citado por Speckmann, E.W., Brink, M.F. (1967). "Relationships between fat and mineral metabolism. A Review". *Journal of the American Dietetic Association*, 51, 517-522.
- HARRIS, W.S. Y CONNOR, W.E. (1980). *Trans. Assoc. Am. Physicians*, 93, 148-155. Citado por: Ranheim, T., Gedde-Dahl, A., Rustan, A.C., Drevon, C.A. (1994). "Effect of chronic incubation of CaCo-2 cells with eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) and oleic acid (18:1 n-9) on triacylglycerol production". *Biochem. J.*, 303, 155-161.
- HARRIS, W.S. Y WILLIAMS, G.G. (1988). "Emulsification enhances the absorption of fish oil in humans". *Arteriosclerosis*, 8:854a (Abstr.)

- HARRISON, H.E. (1976). "Phosphorus". En: "Present Knowledge in Nutrition". Nutrition Reviews, 4ª Ed. The Nutrition Foundation, Inc. Washington, Chap. 24, pp. 241-246.
- HEALTH AND WELFARE CANADA (1980). Nutrition recommendations for Canadians. Ottawa: Canadian Government Publishing Centre.
- HEANEY, R.P. Y SKILLMAN, T.G. (1964). "Secretion and excretion of calcium by the human gastrointestinal tract". J. Lab. Clin. Med., 64, 29-41.
- HECKER, H., MELCHER, F.W., DITTMAR, K. (1979). "Zum Täglichen Verzehr transisomere Fettsäuren. Eine Kalkulation unter Zurgrundelegung der Zusammensetzung handelsüblicher Fette und verschiedener menschlicher Depotfette". Fette Seife Anstrichm., 6, 217-226.
- HEGSTED, D.M. (1964). "Calcium, phosphorus and magnesium". En: Modern Nutrition in Health and Disease. Wohl, M.G., and Goodhart, R.S., eds. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger. Citado por Speckmann, E.W., Brink, M.F. (1967). "Relationships between fat and mineral metabolism. A Review". Journal of the American Dietetic Association, 51, 517-522.
- HEGSTED, D.M. Y LINKSWILER, H.M. (1981). J. Nutr., 111, 244. Citado por Linder, M.C. (1988). En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Cap. 6. "Nutrición y metabolismo de los elementos mayoritarios". Ed. Linder, M.C. Editorial Eunsa, Pamplona, pp.169-188.
- HELMAN, A.D. Y DARNTON-HILL, G. (1987). "Vitamin and iron status in new vegetarians". Am. J. Clin. Nutr., 45, 785-789.
- HELSING, E. (1993). "Trends in fat consumption in Europe and their influence on the Mediterranean diet". Eur. J. Clin. Nutr., 47, suppl. 1, S4-S12.
- HERBERT, V. (1987). "Recommended dietary intakes of folate, vitamin B<sub>12</sub> and iron in humans". Am. J. Clin. Nutr., 45, 661-668.
- HERMAN, S., SEDIAOETAMA, A.D., KARYADI, D., BEYNEN, A.C. (1991). "Influence of background composition of the diet on the lipemic effect of fish oil vs. corn oil in rats". J. Nutr., 121, 622-630.
- HEROLD, P.M. Y KINSELLA, J.E. (1986). "Fish oil consumption and decreased risk of cardiovascular disease: A comparison of findings from animal and human feeding trials". Am. J. Clin. Nutr., 43, 566-598.
- HILL, C.H. (1988). "Interactions among trace elements". En: Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease. Ananda S. Prasad Ed. Alan R. Liss. Inc., pp.491-500.

## *Bibliografía*

---

- HIROOKA, M., IKEDA, S., KUBOTA, N. (1968). "Effect of dietary fat (soybean oil) on intestinal absorption in rats". *Tohoku J. Exp. Med.*, 95, 243-252.
- HOMAN, R.T. (1981). En Beers, R.F. Jr, Bassett, E.G., eds: *Nutritional factors: Modulating effects on metabolic processes*. New York: Raven, p. 523. Citado por: Linder, M.C. (1988a). "Nutrición y metabolismo de las grasas". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Linder, M.C. ed. Editorial Eunsa, Pamplona. Cap. 3, pp. 61-79.
- HOUWELINGEN, R.V., NORDOY, A., BEEK, E. v.D., HOUTSMULLER, U., METZ, M.D., HORNSTRA, G. (1987). "Effect of a moderate fish intake on blood pressure, bleeding time, hematology, and clinical chemistry in healthy males". *Am. J. Clin. Nutr.*, 46, 424-436.
- HSIEH, A. Y PERKINS, E.G. (1976). "Nutrition and metabolic studies of methyl esters of dimeric fatty acids in the rat". *Lipids*, 11, 763-768.
- HSIEH, A. Y PERKINS, E.G. (1977). "Nutritional and metabolic studies of methyl esters of dimeric fatty acids in the rat". *Rev. Fr. Corps. Gras.*, 24, 19-25.
- HUANG, Y.S., NASSAR, B.A., HORROBIN, D.F. (1986). "Changes of plasma lipids and long chain n-3 and n-6 fatty acids in plasma, liver, heart and kidney phospholipids of rats fed variable levels of fish oil with or without cholesterol supplementation". *Biochemica et Biophysica Acta*, 879, 22-27.
- HUANG, Y.S., HORROBIN, D.F., NASSAR, B.A., ELLIS, K.R. (1989). "A time course study on differential depletion of n-6 and repletion of n-3 and n-9 long chain polyunsaturated fatty acids in liver, heart and kidney glycerophospholipids from rats fed saturated fats or fish oil". *Nutrition Reports International*, 39, 1275-1287.
- HUNT, J.N. Y KNOX, M.T. (1968). "A relation between the chain length of fatty acids and the slowing of gastric emptying". *J. Physiol., Lond.* 194, 327-330.
- HUNTER, J.E. Y APPLEWHITE, T.H. (1986). "Isomeric fatty acids in the US diet: levels and health perspectives". *Am. J. Clin. Nutr.*, 44, 707-717.
- INGOLD, K.V. (1962). "Metal catalysis". En: *Lipids and their oxidation*. Schultz, H.V., Day, E.A., Sinnhaber, R.O., eds., pp. 93-121. AVI Publishing Co., Westport, C.T.
- INNIS, S.M., DYER, R., QUINLAN, P., DIERSEN-SCHADE, D. (1995). "Palmitic acid is absorbed as sn-2 monopalmitin from milk and formule with rearranged triacylglycerols and results in increased plasma triglyceride sn-2 and cholesteryl ester palmitate in piglets". *J. Nutr.*, 125, 73-81.
- INSULL, W. JR. Y HENDERSON, M.W. (1990). "Results of a randomized feasibility study of a low fat diet". *Arch. Intern. Med.*, 150, 421-427.

- IZAKI, Y., YOSHIKAMA, S., VCHIYAMA, M. (1984). "Effect of ingestion of thermally oxidized frying oil on peroxidative criteria in rats". *Lipids*, 19, 324-331.
- JACKSON, M.J. (1989). "Physiology of zinc: general aspects". En: *Zinc in human biology*". Mills, C.F. ed. Chap. 5, pp. 79-93.
- JACKSON, M.J., JONES, D.A., EDWARDS, R.H.T. (1982). "Tissue zinc levels as an index of body zinc status". *Clin. Physiol.*, 2, 333-343.
- JOHNSON, O.C., PERKINS, E.G., SUGAI, M., KUMMEROW, F.A. (1957). "Studies on the nutritional and physiological effects of thermally oxidized oils". *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 34, 594-597.
- JOHNSON, P.E., LUKASKI, H.C., BOWMAN, T.D. (1987). "Effects of level and saturation of fat and iron level and type in the diet on iron absorption and utilization by the rat". *J. Nutr.*, 117, 501-507
- JONES, P.J.H. Y SCHOELLER, D.A. (1988). "Polyunsaturated: saturated ratio of diet fat influences energy substrate utilization in the human". *Metabolism*, 37, 145-151.
- KAGAWA, M.N., SUZUKI, M., MIYATAKE, T., HAMAMOTO, T., GOTO, K., MOTONAGA, E., IZUMIKAWA, H., HIRATA, H., EBIHARA, A. (1982). "Eicosapolyenoic acids of serum lipids of japanese islanders with low incidence of cardiovascular diseases". *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 28, 441-453.
- KANE, G.G., LOVELACE, F.E., MCCAY, C.M. (1949). "Dietary fat and calcium wastage in old age". *J. Gerontology*, 4, 185-192.
- KAPSOKEFALOU, M. Y MILLER, D.D. (1991). "Effects of meat and selected food components on the valence of nonheme iron during "in vitro" digestion". *J. Food Sci.*, 56, 352-355.
- KAPSOKEFALOU, M. Y MILLER, D.D. (1993). "Lean beef and beef fat interact to enhance nonheme iron absorption in rats". *J. Nutr.*, 123, 1429-1434.
- KARBACH, U. (1989). "Cellular mediated and diffusive magnesium transport across the descending colon of the rat". *Gastroenterology*, 96, 1282-1289.
- KARMAS, E. Y HARRIS, R.S. (1987). "Nutritional evaluation of food processing. 3ª ed. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- KATAN, M.B. Y MENSINK, R.P. (1992). "Isomeric fatty acids and serum lipoproteins". *Nutr. Rev.*, 50, 4, 46-48.

## *Bibliografia*

---

- KAUFMAN, N., KLAVINS, J.V., KINNEY, T.D. (1958). "Excessive iron absorption in rats fed low-protein, high-fat diets". *Lab. Invest.*, 7, 369-376.
- KAUP, S.M., BEHLING, A.R., CHOQUETTE, L., GREGER, J.L. (1990). "Calcium and magnesium utilization in rats: effect of dietary butterfat and calcium and of age". *J. Nutr.*, 20, 266-273.
- KEANE, K.W., JACOBSON, G.A., KRIGER, C.H. (1959). "Biological and chemical studies on commercial frying oils". *J. Nutr.*, 68, 57-74.
- KEHAYOGLOU, A.K., WILLIAMS, H.S., WHIMSTER, W.F., HOLDSWORTH, C.D. (1968). "Calcium absorption in the normal, bileduct ligated, and cirrhotic rat, with observations on the effect of long and medium chain triglycerides". *Gut*, 9, 597-603.
- KEHAYOGLOU, A.K., HADZIYANNIS, S., KOSTAMIS, P., MALAMOS, B. (1973). "The effect of medium-chain triglyceride on <sup>47</sup>calcium absorption in patients with primary biliary cirrhosis". *Gut*, 14, 653-656.
- KENNEDY, M.L. Y LÖNNERDAL, B. (1987). "Maturational differences in zinc uptake by brush border membrane vesicles (BBMV) from rat small intestine". En: Hurley, L.S., Keen, C.L., Lönnnerdal, B., Rucker, R.B. (eds). *Trace element metabolism in man and animals. TEMA 6*. Plenum Press, New York (in press).
- KEYS, A. ED. (1970). "Coronary heart disease in seven countries". *Circulation*, 41, suppl. 1, 1-211.
- KEYS, A., SCARDI, V., BERGAMI, G. (1952). "The trends of serum cholesterol levels with age". *Lancet*, 209-210.
- KEYS, A., FIDANZA, F., SCARDI, V. (1954). "Studies on serum cholesterol and other characteristics on clinically healthy men in Naples". *Arch. Intern. Med.*, 93, 328-335.
- KEYS, A. Y KEYS, M. (1959). "Eat well and stay well". New York: Doubleday & Company.
- KEYS, A., ANDERSON, J.T., GRANDE, F. (1965). "Serum cholesterol response to changes in the diet. III. *Metabolism*, 14, 776-787.
- KIES, C.V. (1985). "Effect of dietary fat and fiber on calcium bioavailability". En: "Nutritional bioavailability of calcium". American Chemical Society, Kies, ed., ACS Symposium Series, 275, pp. 175-187.
- KIES, C.V. (1988). "Mineral utilization of vegetarians: impact of variation in fat intake". *Am. J. Clin. Nutr.*, 48, 884-887.

- KINSELLA, J.E. (ed.). (1987). En: "Seafoods and fish oils in human health and disease". Marcel Dekker; Inc. New York. Preface III-IV, pp. 239-300.
- KINSELLA, J.E., BRUCKNER, G., MAI, J., SHIMP, J. (1981). "Metabolism of trans fatty acids with emphasis of the effects of trans, trans-octadecadienoate on lipid composition, essential fatty acid, and prostaglandins: an overview". *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 2307-2318.
- KINSELLA, J.E., LOKESH, B., STONE, R.A. (1990). "Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms". *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 1-28.
- KISHIMOTO, Y., DAVIES, W.E., RADIN, N.S. (1965). "Developing rat brain: changes in cholesterol, galactolipids, and the individual fatty acids of gangliosides and glycerophosphatides". *J. Lipid Res.*, 6, 532-536.
- KLESGES, R.C., KLESGES, L.M., HADDOCK, C.K., ECK, L.H. (1992). "A longitudinal analysis of the impact of dietary intake and physical activity on weight change in adults". *Am. J. Clin. Nutr.*, 55, 818-822.
- KLEVAY, L.M. (1990). "Ischemic heart disease as copper deficiency". En: "Copper bioavailability and metabolism". Kies C., ed. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 258, 197-208.
- KOOP, C.E. (1988). "The surgeon general's report on nutrition and health". Public Health Service, Publication No. 88-50210. Washington D.C.: U.S. Department of Health and Human Services.
- KRICHEVSKY, D. (1982). *Fed. Proc.*, 41, 2813. Citado por Linder, M.C. (1988a). "Nutrición y metabolismo de las grasas" En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Ed. Linder, M.C. Editorial Eunsa, Pamplona. Cap. 3. pp. 61-79.
- KROMHOUT, D. (1993). "Epidemiological aspects of fish in the diet". *Proceedings of the Nutrition Society*, 52, 437-439.
- KROMHOUT, D., BOSSCHIETER, E.B., COULANDER, C.L.L. (1985). "The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease". *N. Engl. J. Med.*, 312, 1205-1209.
- KROMHOUT, D., KEYS, A., ARAVANIS, C., BUZINA, R., FIDANZA, F., GIAMPAOLI, S., JANSEN, A., MENOTTI, A., NEDELJKOVIC, S., PEKKARINEN, M., SIMIC, B.S., TOSHIMA, H. (1989). "Food consumption patterns in the nineteen sixties in seven countries". *Am. J. Clin. Nutr.*, 49, 889-894.
- KRZYNOWEK, J. (1987). "Effects of handling processing and storage on fish and shellfish". En: "Nutritional Evaluation of Food Processing". Eds. Karmas, E. y Harris, R.S. Van Nostrand Reinhold Company, New York., pp. 245-261.

## *Bibliografía*

---

- KUMMEROW, F.A. (1986). "Dietary effects of trans fatty acids". *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, 6, 123-149.
- LANDS, W.E.M. (1986). En: "Fish and human health". Academic Press: Orlando, FL, pp. 1-170.
- LANG, K. (1973). "Die physiologischen wirkungen erhitzter fette, insbesondere der frittierfette". *Fette Seifen Anstrichmitte*, 75, 73-76.
- LANTEAUME, M.T., RAMEL, P., LECLERC, A.M., RANNAUD, J. (1966). "Influence de la friture et du chauffage sur les effets physiologiques d'une huile très riche en acide linoléique. Huile de pépins de raisin". *Rev. Franc. Corps Gras.*, 13, 603-613.
- LANTEAUME, M.T., RAMEL, P., ACKER, P., LE CLERK, A.M., WIRTH, C. (1968). "Physiological effects on the dog of a heat degraded very unsaturated oil". *Rev. Franc. Corp. Gras.*, 15, 71-79.
- LAVAL-JEANTET, A.M. Y LAVAL-JEANTET, M. (1976). "Interactions entre les lipides et le calcium en nutrition experimental et humaine". *Path. Biol.*, 24, 213-225.
- LAWSON, L.D. Y HUGHES, B.G. (1988). "Human absorption of fish oil as triacylglycerols, free acids or ethyl esters". *FASEB J.*, 2:A852 (Abstr.)
- LAYRISSE, M., MARTÍNEZ-TORRES, C., ROCHE, M. (1968). "Effects of interactions of various foods on iron absorption". *Am. J. Clin. Nutr.*, 21, 1175-1183. Citado por Hurrell, R.F. y col. (1989). "Iron absorption in humans as influenced by bovine milk proteins". *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 49, 546-552.
- LAYRISSE, M. Y MARTÍNEZ-TORRES, C. (1972). "Model for measuring dietary absorption of heme iron: test with a complete meal". *Am. J. Clin. Nutr.*, 25, 401-411.
- LAYRISSE, M., MARTÍNEZ-TORRES, C., COOK, J.D., WALKER, R., FINCH, C.A. (1973). "Iron fortification in food: its measurements by the extrinsic tag method". *Blood*, 41, pp.333.
- LEAF, A. Y WEBER, P.C. (1988). "Cardiovascular effects of n-3 fatty acids". *N. Engl. J. Med.*, 318, 549-557.
- LEBOEUF, R.C. Y VELDEE, M.S. (1993). "Genetically determined body weight loss in mice fed diets containing salmon oil". *J. Nutr.*, 123, 547-558.
- LEESON, S. (1983). "Effects of dietary fatty acids and calcium levels on performance and mineral metabolism of broiler chickens". *Poultry Sci.*, 62, 2412-2419.
- LERNER, A. Y IANCU, T.C. (1988). "Advances in understanding the bioavailability and absorption of iron". *Front. gastrointest. Res.*, 14, Karger, Basel, pp. 117-134.

- LIN, D.S. Y CONNOR, W.E. (1990). "Are the n-3 fatty acids from dietary fish oil deposited in the triglyceride stores of adipose tissue?". *Am. J. Clin. Nutr.*, 51, 535-539.
- LIN, D.S., CONNOR, W.E., SPENLER, C.W. (1993). "Are dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids deposited to the same extent in adipose tissue of rabbits?". *Am. J. Clin. Nutr.*, 58, 174-179.
- LINDER, M.C. (1988a). "Nutrición y metabolismo de las grasas". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Linder, M.C. ed. Editorial Eunsa, Pamplona. Cap. 3. pp.61-79.
- LINDER, M.C. (1988b). "Nutrición y metabolismo de los elementos traza". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Linder, M.C. ed. Editorial Eunsa, Pamplona. Cap. 7. pp. 189-241.
- LINDER, M.C. (1988c). "Nutrición y metabolismo de los elementos mayoritarios". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Linder, M.C. ed. Editorial Eunsa, Pamplona. Cap. 6. pp.169-188.
- LISTON, J., STANSBY, M.E., OLCOTT, H.S. (1963). "Bacteriological and chemical basis for deteriorative changes". En: *Industrial fishery technology*; Reinhold Publishing: New York, pp. 360-361.
- LOKESH, B.R. Y KINSELLA, J.E. (1985). "Lipid composition and prostaglandin synthesis in mouse lung microsomes: alterations following the ingestion of menhaden fish oil". *Lipids*, 20, 842-849.
- LONGENECKER, H.E. (1939). "Disposition and utilization of fatty acids. I. Fat synthesis from high carbohydrate and high protein diets in fasted rats". *J. Biol. Chem.*, 128, 645-658.
- LÓPEZ-ALIAGA, I., BARRIONUEVO, M., CAMPOS, M.S., COVES, F., LISBONA, F. (1991). "Influence of intestinal resection and type of diet on digestive utilization and metabolism of magnesium in rats". *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, 61, 61-66.
- LÓPEZ-VARELA, S. (1993). "Alteraciones de un aceite de girasol usado en fritura. Incidencia de su ingesta sobre parámetros nutricionales y del metabolismo lipoproteico en ratas". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia U.C.M.
- LÓPEZ-VARELA, S., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., CUESTA, C. (1995). "Decreased food efficiency ratio, growth retardation and changes in liver fatty acid composition in rats consuming thermally oxidized and polymerized sunflower oil used for frying". *Fd. Chem. Toxic.*, 33, 3, 181-189.
- LUCAS, A., MORLEY, R., COLE, T.J., LISTER, G., LEESON-PAYNE, C. (1992). "Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born pre-term". *Lancet*, 339, 261-264.

## *Bibliografía*

---

- LUKASKI, H.C., KLEVAY, L.M., BOLONCHUK, W.W., MAHALKO, J.R., MILNE, D.B., JOHNSON, L.K., SANDSTEAD, H.H. (1982). "Influence of dietary lipids on iron, zinc and copper retention in trained athletes". *Federation Proc.*, 41, 275 (abs.).
- LUTWAK, L., LASTER, L., GITELMAN, H.J., FOX, M, WHEDON, G.D. (1964). "Effects on high dietary calcium and phosphorus on calcium, phosphorus, nitrogen and fat metabolism in children". *Am. J. Clin. Nutr.*, 14, 76-82.
- LUTZ, T., WÜRMLI, R., SCHARRER, E. (1991). "Short chain fatty acid stimulate magnesium absorption by the colon". En: "Magnesium: A relevant ion". Lasserre, B. y Darlach eds. John Libbey. Chapter 14, pp. 131-137.
- LYNCH, S.R. Y COOK, J.D. (1982). "Interaction of vitamin C and iron". En: *Micronutrient Interactions: vitamins, minerals and hazardous elements. Annals of the New York Academy of Sciences.* Ed. O.A. Levander; Lorraine Cheng, vol. 335, pp. 32-34.
- LYNCH, S.R., BEARD, J.L., DASSENKO, S.A., COOK, J.D. (1984). "Iron absorption from legumes in humans". *Am. J. Clin. Nutr.*, 36, 1032-1045.
- LYNCH, S.M. Y STRAIN, J.J. (1990). "Dietary saturated or polyunsaturated fat and copper deficiency in the rat". *Biol. Trace Elem. Res.*, 22, 131-139.
- MACFARLANE, N., SWETMEN, A.A., COURSEY, D.G. (1984). "Comparison of traditional and industrial palm oil. *Palm Oil News*, 28, 11-17.
- MAHONEY, A.W., FARMER, B.R., HENDRICKS, D.G. (1980). "Effects of level and source of dietary fat on the bioavailability of iron from turkey meat for the anemic rat". *J. Nutr.*, 110, 1703-1708.
- MANORAMA, R. Y RUKMINI, C. (1991). "Nutritional evaluation of crude palm oil in rats". *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 1031S-1033S.
- MAPA (1991). "Dieta alimentaria española". Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- MÁRQUEZ-RUIZ, G., PÉREZ-CAMINO, M.C., DOBARGANES, M.C. (1990). "Evaluación nutricional de grasas termooxidadas y de fritura". *Grasas y Aceites*, 41, 6, 432-439.
- MÁRQUEZ-RUIZ, G. Y DOBARGANES, M.C. (1992). "Changes in endogenous lipid excretion in rats fed diets containing non-heated and thermally oxidized olive oils". *Scand. J. Gastroenterol.*, 27, 1069-1076.
- MÁRQUEZ-RUIZ, G., PÉREZ-CAMINO, M.C., RUIZ-GUTIÉRREZ, V., DOBARGANES, M.C. (1992). "Absorción de grasas termooxidadas. II Influencia del nivel de alteración y porcentaje de grasa en la dieta". *Grasas y Aceites*, 43, 4, 198-203.

- MÁRQUEZ-RUIZ, G., PÉREZ-CAMINO, M.C., DOBARGANES, M.C. (1993). "Evaluation of hydrolysis and absorption of thermally oxidized olive oil in non-absorbed lipids in the rat". *Ann. Nutr. Metab.*, 37, 121-128.
- MÁRQUEZ-RUIZ, G., TASIOLA-MARGARI, M., DOBARGANES, M.C. (1995). "Quantitation and distribution of altered fatty acids in frying fats". *JAOCS*, 72, 1171-1176.
- MATAIX, F.J. Y MARTÍNEZ-VICTORIA, E. (1988). "El aceite de oliva. Bases para el futuro". Junta de Andalucía. Consejería de Agricultura y Pesca. Ed. Dirección General de Investigación y Extensión Agrarias. Centro de Información y Documentación Agraria. Sevilla.
- MATKOVIC, V., KOSTIAL, K., SIMINOVIC, I., BUZINA, R., BROADAREC, A., NORDIN, B.E.C. (1979). "Bone status and fracture rates in two regions of Yugoslavia". *Am. J. Clin. Nutr.*, 92, 953-963.
- MATTES, R.D. (1993). "Fat preference and adherence to a reduced fat diet". *Am. J. Clin. Nutr.*, 57, 3, 373-81.
- MATTSON, F.H., NOLEN, G.A., WEBB, M.R. (1979). "The absorbability by rats of various triglycerides of stearic and oleic acid and the effect of dietary calcium and magnesium". *J. Nutr.*, 109, 1682-1687.
- MAY, J., SHIMP, J., WEIHRAUCH, I., KINSELLA, J.E. (1975). "Lipids of the fish fillet: Changes following cooking by different methods". *J. Food. Sci.*, 42, 1669-1674.
- MAYCOCK, J.H. (1987). "Extraction of crude palm oil". En: *Palm Oil*. Gunstone, F.D. ed. Chichester: John Wiley & Sons.
- MC CANCE, R.A., WIDDOWSON, E.M., LEHMANN, H. (1942). "The effect of protein intake on the absorption of calcium and magnesium". *Biochem. J.*, 36, 686-691. Citado por Hazel, T. (1985). "Minerals in Foods: Dietary sources, chemical, interactions bioavailability". En: *World Review of Nutrition and Dietetics*, vol. 46, pp. 1-88.
- MC GINNIS, J.M. Y NESTLE, M. (1989). "The Surgeon General's report on nutrition and health: policy implications and implementations strategies". *Am. J. Clin. Nutr.*, 49, 23-28.
- MEAD, J.F. (1980). En: Alfin-Slater R.B., Krichevsky, D. eds: *Human Nutrition, a comprehensive treatise*, vol 3A. New York: Plenum, p.213. Citado por: Linder, M.C. (1988a). "Nutrición y metabolismo de las grasas". En: "Nutrición. Aspectos bioquímicos, metabólicos y clínicos". Linder, M.C. ed. Editorial Eunsa, Pamplona. Cap. 3. pp.61-79.
- MEDINA, R. (1986). "Cambios y posibles interacciones entre las grasas de fritura y el interior del alimento durante el proceso de frituras repetidas de un pescado azul". Tesina de Licenciatura. Facultad de Farmacia. UCM.

- MELA, D.J. (1990). "The basis of dietary fat preferences". *Trends Food Sci. Technol.*, 1, 3, 71-73.
- MELA, D.J. (1991). "Sensory preference for fats: what, who, why?". *Food Quality Pref.*, 2, 95-101.
- MELA, D.J. Y SACCHETTI, D.A. (1991). "Sensory preferences for fats: relationships with diet and body composition". *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 908-915.
- MENEELY, R., LEEPER, L., GHISHAN, F.K. (1982). "Intestinal maturation: *in vivo* magnesium transport". *Pediatr. Res.*, 16, 295-298.
- METCALFE, L.V., SCHMITZ, A.A., PEIKA, J.R. (1966). "Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis". *Analytical Chemistry*, 38, 514-515.
- MEYDANI, S.N. Y DUPONT, J. (1982). "Effect of zinc deficiency on prostaglandin synthesis in different organs of the rat". *J. Nutr.*, 112, 1098-1104.
- MEYDANI, S.N., MEYDANI, M., DUPONT, J. (1983). "Effects of prostaglandin modifiers and zinc deficiency on possibly related functions in rats". *J. Nutr.*, 113, 494-500.
- MILLER, D.D., SCHRICKER, B.R., RASMUSSEN, R.R., VAN CAMPEN, D. (1981). "An *in vitro* method for estimation of iron bioavailability from meals". *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 2248-2256.
- MILLER, S.C., SHUPE, J.G., REDD, E.H., MILLER, M.A., OMURA, T.H. (1986). "Changes in bone mineral and bone formation rates during pregnancy and lactation". *Bone*, 7, 283-287.
- MILLER, W.C., LINDEMAN, A.K., WALLACE, J., NIEDERPRUEM, M. (1990). "Diet composition, energy intake, and exercise in relation to body fat in men and women". *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 426-430.
- MILLS, E.D., MURTHY, M., GALEY, W.R. (1995). "Dietary fatty acids, membrane transport, and oxidative sensitivity in human erythrocytes". *Lipids*, 30, 7, 657-663.
- MINISTERIO DE RELACIONES CON LAS CORTES Y SECRETARÍA DEL GOBIERNO. Orden del 26 de Enero de 1989 (B.O.E. nº 26 de 3 de Enero de 1989). Aceites y Grasas. Normas de calidad para los aceites calentados.
- MITCHELL, W.D., FYFE, T., SMITH, D.A. (1968). "The effect of oral calcium on cholesterol metabolism". *J. Atherosclerosis Res.*, 8, 913-922.
- MOHRHAUER, H. Y HOLMAN, R.T. (1963). "Alteration of the fatty acid composition of brain lipids by varying levels of dietary essential fatty acids". *J. Neurochem.*, 10, 523-530.

- MONFERRER, A. Y VILLALTA, J. (1993a). "La fritura desde un punto de vista práctico (I)". *Alimentación, Equipos y Tecnología*, Abril, 87-90.
- MONFERRER, A. Y VILLALTA, J. (1993b). "La fritura desde un punto de vista práctico (II)". *Alimentación, Equipos y Tecnología*, Mayo, 85-90.
- MOREIRAS-VARELA, O. (1989). "The Mediterranean diet in Spain". *Eur. J. Clin. Nutr.*, 43, supl. 2, 83-87.
- MOREIRAS-VARELA, O., RUIZ-ROSO, B., VARELA, G. (1988). "Effects of frying on the nutritive value of food. En: *Frying of Food. Principles, Changes, New Approaches*. Varela, G., Bender, A.E., Morton, I.A. eds. Ellis Horwood, Chichester, pp. 93-102.
- MORRIS, E.R. (1987). "Iron". En: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. Fifth ed., vol. 1. Ed. Walter Mertz. Academic Press Inc. Cap. 4, pp. 79-142.
- MORRIS, M.C., TAYLOR, J.O., STAMPFER, M.J., ROSNER, B., SACKS, F.M. (1993). "The effect of fish oil on blood pressure in mild hypertensive subjects: a randomized crossover trial". *Am. J. Clin. Nutr.*, 57, 59-64.
- MUIR, W.A., HOPFER, U., KING, A. (1984). "Iron transport across brush-border membranes from normal and iron-deficient mouse upper small intestine". *J. Biol. Chem.*, 259, 4896-4903.
- NAIM, M., MORLEY, R., KARE, H., INGLE, E.D. (1977). "Sensory factors which affect the acceptance of raw and heated defatted soybeans by rat". *J. Nutr.*, 109, 1653-1658.
- NAKAJIMA, S., ENDOH, S., KAKUDA, Y., TSUCHIYA, T., MATSUMOTO, J.J. (1988). "Nutritive values and effects of hiboshi on body composition of rat". *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 54, 1067-1610.
- NATIONAL ADVISORY COMMITTEE ON NUTRITION EDUCATION (1983). *A discussion paper on proposals for nutritional guidelines for health education in Britain*. London: Health Educational Council.
- NATIONAL DAIRY COUNCIL (1966). "Fat and mineral metabolism". *Dairy Counc. Dig.*, 37, 31-34.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1976). "Fat content and composition of animal products". National Academy of Sciences, Washington D.C.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (1978). "Requirements of laboratory animals". 3rd. ed. National Academy of Sciences, Washington D.C.

## *Bibliografía*

---

- NAVARRO, M.P. (1982). "Algunos aspectos de la influencia de ciertos agentes precipitantes, quelantes y solubilizantes sobre la utilización del calcio dietético". *Anales de Bromatología*, XXXIV, 269-275.
- NAVARRO, M.P. Y MURILLO, A. (1976). "Calcium balance in the quail (*Coturnix coturnix japonica*). Influence of sex and diethylstilbestrol". *Poultry Science*, 55, 2201-2209.
- NAVARRO, M.P., ANDÚJAR, M.M., BOCANEGRA, N., CUESTA, C. (1980). "El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata". *Grasas y Aceites*, 31, 2, 105-110.
- NAVARRO, M.P. Y ANDÚJAR, M.M. (1982). "Efectos del lindano, DDT y dieldrin sobre el aprovechamiento nutritivo de la dieta en aves". *Anales de Bromatología*, XXXIV, 277-283.
- NAVARRO, M.P., VAQUERO, M.P., CASTRILLÓN, A.M., VARELA, G. (1985). "La utilización nutritiva de la proteína y de los minerales, modulada por el tipo de grasa dietética". *Grasas y Aceites*, 36, 1, 25-29.
- NAVARRO, M.P., VAQUERO, M.P., CASTRILLÓN, A.M., VARELA, G. (1988). "Several aspects of mineral/protein nutrition in relation to consumption of an oil involved in the toxic syndrome". *Fd. Chem. Toxic.*, 26, 9, 759-765.
- NAVARRO, M.P., DUARTE, T., PÉREZ-GRANADOS, A.M., VAQUERO, M.P. (1990). "Estudio en ratas gestantes del consumo de dietas con aceite de oliva crudo y frito sobre la mineralización de la camada y la evolución en sus almacenes corporales". *Nutrición Hospitalaria*, 5, 3, 153-157.
- NAWAR, W.W. (1984). "Chemical changes in lipids produced by thermal processing". *J. Chem. Ed.*, 61, 299-302.
- NELSON, G.J., KELLEY, D.S., SCHIMDT, P.C., SERRATO, C.M. (1987). "The influence of dietary fat on the lipogenic activity and fatty acid composition of rat white adipose tissue". *Lipids*, 22, 338-344.
- NESTEL, P.J. (1986). "Fish oil attenuates the cholesterol induced rise in lipoprotein cholesterol". *Am. J. Clin. Nutr.*, 43, 752-757.
- NESTEL, P.J. (1990). "Effects of n-3 fatty acids on lipid metabolism". *Ann. Rev. Nutr.*, 10, 149-167.
- NEURINGER, M., ANDERSON, G.J., CONNOR, W.E. (1988). "The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain". *Annual Reviews in Nutrition*, 8, 517-541.
- NEWMARK, H.L., WARGOVICH, M.J., BRUCE, W.R. (1984). "Colon cancer and dietary fat, phosphate and calcium. A hypothesis". *J. Natl. Cancer Inst.*, 72, 1323-1325.

- NICOLAYSEN, R., EEG-LARSEN, N., MALM, O.J. (1953). "Physiology of calcium metabolism". *Physiol. Rev.*, 33, 424-436.
- NOLEN, G.A. (1973). "A feeding study of used partially hydrogenated soybean oil frying fat in dogs". *J. Nutr.*, 103, 1248-1252.
- NOLEN, G.A., ALEXANDER, J.C., ARTMAN, N.R. (1967). "Long-term rat feeding study with used frying fats". *J. Nutr.*, 93, 337-348.
- NOR AINI, I. Y SABARIAH, S. (1993). "Developments in food uses of palm oil: A brief review". *Palmas*, 14, 3, 65-69.
- O'DELL, B.L. (1985). "Bioavailability and interactions among trace elements". *Trace Elements in Nutrition of children*, Chandra, R.K. ed. Nestlé Nutrition, Vevey/Raven Press, New York, pp. 41-62.
- OCDE (1988). "Food consumption statistics 1976-1985". Paris: OCDE.
- OCKNER, R.K., PITTMAN, J.P., YAGER, J.L. (1972). "Differences in the intestinal absorption of saturated and unsaturated long chain fatty acids". *Gastroenterology*, 62, 981-992.
- ONDERKA, H.K. Y KIRKSEY, A. (1975). "Influence of dietary lipids on iron and copper levels of rats administered oral contraceptives". *J. Nutr.*, 105, 1269-1277.
- OTTEN, W., WIRTH, C., IAIZZO, P.A., EICHINGER, H.M. (1993). "A high omega 3 fatty acid diet alters fatty acid composition of heart, liver, kidney, adipose tissue and skeletal muscle in swine". *Ann. Nutr. Metab.*, 37, 134-141.
- OTTER, A.M. (1970). "The dimerization of oleic acid with a Montmorillonite catalyst. I: Important process parameters; some main reactions". *Fette Seifen Anstrichm.*, 72, 667-673.
- OYA, M., MATA, P., ALVAREZ-SALA, D.A., RUBIO, M.J. (1989). "Efecto sobre las lipoproteínas plasmáticas en dietas ricas en aceite de oliva o ricas en aceite de girasol". En: "Dietary fats and cardiovascular disease. A colloquium". Commission of the European Communities, Sevilla. 30 de Mayo, pp. 6-8.
- PACCALIN, J. Y JULLIET, M.T. (1982). "Quelle huile de friture?". *Medecine Generale*, 109-114.
- PAN, D.A. Y STORLIEN, L.H. (1993). "Dietary lipid profile is a determinant of tissue phospholipid fatty acid composition and rate of weight gain in rats". *J. Nutr.*, 123, 512-519.
- PATTON, J.S. Y CAREY, M.C. (1979). "Atching fat digestion". *Science*, 204, 145-148.

## Bibliografía

---

- PENCE, B.C. Y BUDDINGH, F. (1988). "Inhibition of dietary fat-promoted colon carcinogenesis in rats by supplemental calcium or vitamin D<sub>3</sub>". *Carcinogenesis*, 9, (1), 187-190.
- PEPPER, W.F., SLINGER, S.L., MOTZOK, I. (1955). "Effect of animal fat on the calcium and phosphorus requirements of chicks". *Poultry Sci.*, 34, 1216. Citado por Tadayyon, B., Lutwak, L. (1969). "Interrelation of triglycerides with calcium, magnesium and phosphorus in the rat". *J. Nutr.*, 97, 246-254.
- PÉREZ-CAMINO, M.C., MÁRQUEZ-RUIZ, G., SALGADO-RAPOSO, A., DOBARGANES, M.C. (1988). "Alteración de grasas usadas en fritura. III. Correlación entre índices analíticos y métodos de evaluación directa de compuestos de degradación". *Grasas y Aceites*, 39, 2, 72-76.
- PÉREZ-GRANADOS, A.M. (1990). "Consumo de dietas con aceite de oliva crudo o procedente de fritura y utilización nutritiva del hierro en ratas adultas y gestantes". Memoria de Licenciatura. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- PÉREZ-GRANADOS, A.M., VAQUERO, M.P., NAVARRO, M.P. (1991). "Iron bioavailability in pregnant rats consuming a used frying olive oil". En: "Trace Elements in Man and Animals", TEMA 7. B. Momcilovic ed. Institute for Medical Research and Occupational Health University of Zagreb. pp. 25.8-25.9.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, F., ESPINO, A., LÓPEZ-SEGURA, F., RUIZ-GUTIÉRREZ, V., PRADA, J.L., LÓPEZ-MIRANDA, J., JIMÉNEZ-PÉREZ, J. (1995). "Lipoproteins concentrations in normolipidemic males consuming oleic acid-rich diets from two different sources: olive oil and oleic acid-rich sunflower oil". *Am. J. Clin. Nutr.*, 62, 769-775.
- PERKINS, E.G. Y IWAOKA, W.T. (1973). "Purification of cyclic fatty acid esters: a GC-MS study". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 50, 44-49.
- PERMANYER, J.J. Y BOATELLA, J. (1977). "Aceites calentados: modificaciones fisico-químicas de interés bromatológico. Estudio preliminar". *Anales de Bromatología*, 29, 4, 489-496.
- PERMANYER, J.J., BOATELLA, J., DE LA TORRE, M.C. (1985). "Modificaciones químicas de los aceites calentados". *Grasas y Aceites*, 36, 217-222.
- PHETTEPLACE, H.W. Y WALKINS, B.A. (1989). "Effect of various n-3 lipid sources on fatty acid compositions in chicken tissues". *J. Food Compos. Anal.*, 2, 104-117.
- PHILLIPS, G.B., DODGE, J.T., HOWE, C. (1970). "The effect of aging of human cells *in vivo* on their fatty acid composition". *Lipids*, 4, 544-549.

- POKORNY, J. (1980). "Effects of substrates on change of fats and oil during frying". *Rev. Ital. Sost. Gras.*, 57, 222-225.
- POLING, C.E., WARNER, W.D., MONE, P.E., RICE, E.E. (1960). "The nutritional value of fats after use in commercial deep-fat frying". *J. Nutr.*, 72, 109.
- POTTEAU, B., LHUISSIER, M., LECLERC, J., CUSTOT, F., MEZONNET, R., CLUZAN, R. (1970). "Recherches sur la composition et les effets physiologiques de l'huile de soja chauffée et de différentes fractions obtenues à partir de cette huile". *Rev. Fr. Corps Gras.*, 17, 143-153.
- POTTEAU, B. Y GRANDGIRARD, A. (1974). "Effets toxiques d'une intubation unique de différentes fractions préparées à partir d'huiles chauffées chez le jeune rat". *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 14, 855-859.
- POTTEAU, B., LHUISSIER, M., LECLERC, J., CUSTOT, F., MEZONNET, R., CLUZAN, R. (1977). "Reserches recents sur les effects physiopathologiques d'huiles vegetales chauffées". *Bibl. Nutr. Dieta*, 25, 122-133.
- PUDELKEWICZ, C., SEUFERT, J., HOLMAN, R.T. (1968). "Requirements of the female rat for linoleic and linolenic acids". *J. Nutr.*, 94, 138-146.
- QIAN, M. Y EATON, J.W. (1991). "Iron translocation by free fatty acid". *Am. J. Pathol.*, 139, 1425-1434.
- RAFALSKI, H., JABLONSKY, E., SWITONIAK, T. (1978). "Protein utilization in rats receiving a low protein diet with variions limiting aminoacids". *Brit. J. Nutr.*, 39, 13-18.
- RAMEL, P., LANTEAUME, M.T., LE CLERC, A.M., RENNAUD, J., MOREL, L. (1965). "La valeur nutritionnelle de l'huile de pepins de raisin, influence de la friture, effets physiologiques". *Rev. Franc. Corps Gras.*, 12, 517-523.
- RANHEIM, T., GEDDE-DAHL, A., RUSTAN, A.C., DREVON, C.A. (1994). "Effect of chronic incubation of CaCo-2 cells with eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) and oleic acid (18:1 n-9) on triacylglycerol production". *Biochem. J.*, 303, 155-161.
- RAO, G.A., MANIX, M., LARKIN, E.C. (1980). "Reduction of essential fatty acids deficiency in rats fed a low iron fat free diet". *Lipids*, 15, 55-60.
- RAO, G.A., CRANE, R.T., LARKIN, E.C. (1983). "Reduction of hepatic stearoyl-CoA desaturase activity in rats fed iron-deficients diets". *Lipids*, 18, 537-575.
- RASMUSSEN, H., FONTAINE, O., MAX, E.E., GOODMAN, D.P. (1979). "The effect of 1 $\alpha$ -hydroxy vitamin D<sub>3</sub> administration on calcium transport in chick intestine brush border membrane vesicles". *J. Biol. Chem.*, 254, 2993-2999.

- RASMUSSEN, H., MATSUMOTO, T., FONTAINE, O., GOODMAN, D.B.P. (1982). "Role of changes in membrane lipid structure in the action of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>". *Federation Proc.*, 41, 72-77.
- RECHKEMMER, G., RONNAU, K., ENGELHARDT, W. (1988). "Fermentation of polysaccharides and absorption of short chain fatty acids in the mammalian hindgut". *Comp. Biochem. Physiol.*, 90A, 563-568.
- REDDY, M.B., BROWDER, E.J., BATES, G.W. (1988). "Cannulated swine and in vitro approaches to iron bioavailability". En: *Essential and Toxic Trace Elements in Human Health and Disease*. Ananda S. Prasad ed. Alan R. Liss. Inc., pp. 173-185.
- REDDY, S. Y SANDERS, T.A.B. (1990). "Haematological studies on pre-menopausal Indian and Caucasian omnivores". *Brit. J. Nutr.*, 64, 331-338.
- RENAUD, S.D., RUF, C.F., PETITHORY, D. (1995). "The positional distribution of fatty acids in palm oil and lard influences their biological effects in rats". *J. Nutr.*, 125, 229-237.
- RICKETS, C., KIES, C., GARCÍA, P., FOX, H.M. (1985). "Manganese and magnesium utilization of humans as affected by level and kind of dietary fat". *Fed. Proc.*, 44, 1850.
- RICHARDS, J.F. Y CARROLI, K.K. (1959). *Canad. J. Biochem.*, 37, 725-730. Citado por Navarro, M.P., Andújar, M.M., Bocanegra, N., Cuesta, C. (1980). "El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata". *Grasas y Aceites*, 31, 2, 105-110.
- ROCQUELIN, G. Y POTTEAU, B. (1968). *Ann. Nutr. Alim.*, 22, 191-244. Citado por: Navarro, M.P., Andújar, M.M., Bocanegra, N., Cuesta, C. (1980). "El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata". *Grasas y Aceites*, 31, 2, 105-110.
- RODRIGUEZ, A. CUESTA, C., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., VARELA, G. (1984). "Estudio de las alteraciones en grasas producidas por frituras e incidencia de su administración sobre el peso e ingesta". *Grasas y Aceites*, 35, 22-28.
- ROGERS, J.M., LÖNNERDAL, B., HURLEY, L.S., KEEN, C.L. (1987). "Iron and zinc concentrations and Fe<sup>59</sup> retention in developing fetuses of zinc-deficient rats". *J. Nutr.*, 117, 1875-1882.
- ROJO, J.A. Y PERKINS, E.G. (1987). "Cyclic fatty acids monomer formation in frying fats. I. Determination and structural study". *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 64, 3, 414-421.
- ROLLS, B.J. Y SHIDE, D. (1992). "The influence of dietary fat on food intake and body weight". *Nutrition Reviews*, 50, 10, 283-290.

- ROMERO, A., SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., CUESTA, C. (1995). "High-Performance size exclusion chromatographic studies on a high oleic sunflower oil during potato frying". *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 1513-1517.
- ROS, E. (1994). Dieta y enfermedades cardiovasculares. Recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis. IV Simposio Internacional sobre Lípidos y Aterosclerosis. Madrid, Mayo 1994.
- RUIZ-ROSO, B. (1983). "Influencia del sistema (CFR) (Fritura-congelación-recalentamiento) sobre la calidad nutritiva de la proteína de algunos alimentos de origen animal". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- RUKMINI, C. Y VIJAYARAGHAVAN, M. (1984). "Nutritional and toxicological evaluation of mango kernel oil". *JAOCS*, 61, 4, 789-792.
- RUKMINI, C. Y UDAYASEKHARA RAO, P.(1986). "Chemical and nutritional studies on *Terminalia bellirica* Roxb. Kernel and its oil". *JAOCS*, 63, 3, 360-363.
- SABBIONI, E., EDEL, J., GOETZ, L. (1985). *Nutr. Res.*, 1, 32. Citado por van Dokkum, W. En: *Nutrient availability: Chemical and biological aspects*. Ed. Southgate, D., Johnson, I., Fenwick, G.R. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge. England. pp. 89-96.
- SALDANHA, L.G. Y FRYER, B. (1988). "Effect of dietary fat and carbohydrate on weight gain and serum lipids in rats". *Nutr. Rep. Int.*, 37, 6, 1321-1327.
- SALGADO, A., MÁRQUEZ-RUIZ, G., DOBARGANES, M.C. (1992). "Influencia de la cantidad, calidad y tipo de grasa de la dieta sobre la composición y distribución de ácidos grasos del tejido adiposo de ratas". *Grasas y Aceites*, 43, 2, 87-92.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J. (1987). "Prevención con dieta para una vida longeva. Relevancia del consumo de pescado". *Rev. Clin. Esp.*, 180, 43-47.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., MEDINA, R., HIGÓN, E., VIEJO, J.M. (1990). "Aceites de oliva y girasol y manteca de cerdo en frituras repetidas de sardinas. Valoración del rendimiento y grado de alteración". *Grasas y Aceites*, 41, 3, 256-262.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., VIEJO, J.M., MEDINA, R. (1991a). "Consideraciones sobre el consumo de pescado azul y riesgo cardiovascular con especial referencia a la composición en ácidos grasos de las familias n-9, n-6 y n-3". *Nutrición Clínica*, 11, 3, 30-40.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., HIGÓN, E., CAVA, F., VIEJO, J.M. (1991b). "Acceptability of diets containing olive oil fried sardines (*Sardina pilchardus*) in the prevention of dietary hypercholesterolaemia in rats". *J. Sci. Agric.*, 56, 155-165.

## *Bibliografía*

---

- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., VIEJO, J.M., MEDINA, R. (1992). "Deep-frying of sardines in different culinary fats. Changes in the fatty acid composition of sardines and frying fats". *J. Agr. Food Chem.*, 40, 11, 2252-2256.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., CUESTA, C., GARRIDO-POLONIO, C. (1993). "Sunflower oil used for frying: Combination of column gas and high performance size exclusion chromatography for its evaluation". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 235-240.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., CUESTA, C., GARRIDO-POLONIO, M.C. (1994). "Evaluation of a sunflower oil for frying by different analytical indexes and column and gas chromatography". *Z. Ernährungswiss*, 33, 16-23.
- SÁNCHEZ-MUNIZ, F.J., CAVA, F., VIEJO, J.M., BASTIDA, S., HIGÓN, E., MARCOS, A. (1996). "Olive oil-fried sardines in the prevention of dietary hypercholesterolemia in rats. Effects on some serum lipids and cell-damage marker enzymes". *Nutr. Res.*, 16, 111-121.
- SANDERS, T.A.B. (1985). "The importance of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids". En: "The role of fats in human nutrition". Ed. Padley, F.B., Padmore, J., Ellis Hordwood. Chichester. England. pp. 101-116.
- SANDERS, T.A.B. (1993). "Marine oils: metabolic effects and role in human nutrition". *Proceedings of the Nutrition Society*, 52, 457-472.
- SANDERS, T.A.B. Y REDDY, S. (1992). "The influence of a vegetarian diet on the fatty acid composition of human milk and the essential fatty acid status on the infant". *Journal of Pediatrics*, 120, S71-S77.
- SANDSTEAD, H.H. (1985). En: "Trace elements metabolism in man and animals-5". (C.F. Mills, P.A. Aggett, I. Bremner, J.K. Chesters, eds.) CAB Publications, Farnham Royal, U.K. Citado por Hambidge, K.M., Casey, C.E., Krebs, N.F. (1986). En: "Trace elements in human and animal nutrition". Ed. Mertz, W. Academic Press. London. pp. 1-109.
- SANDSTRÖM, B. (1989). "Zinc and dietary fiber". *Scand. J. Gastroenterol.*, 22, 80.
- SAYNOR, R., VEREL, D., GILLOT, T. (1984). "The long term effect of dietary supplementation with fish lipid concentrate on serum lipids, bleeding time, platelets and angina". *Atherosclerosis*, 50, 3-10.
- SCRIMSHAW, N.S. (1990). "Nutrition: Prospects for the 1990". *Ann. Rev. Public Health*, 11, 53-58.
- SEBEDIO, J.L., BONPUNT, A., GRANDGIRARD, A., PREVOST, J. (1990). "Deep fat frying of frozen prefried french fries: Influence of the amount of linolenic acid in the frying medium". *J. Agric. Food Chem.*, 38, 1862-1867.

- SEGURA, R. (1992). "Acidos grasos y rendimiento deportivo". En: Proceedings del I Congreso Mundial de Nutrición Deportiva, Barcelona, 1991, pp. 95-113.
- SERRA-MAJEM, L., RIBAS, L., LLOVERAS, G., SALLERAS, L. (1993). "Changing patterns of fat consumption in Spain". *Eur. J. Clin. Nutr.*, 47, supl. 1, S13-S20.
- SEVANIAN, A. (1988). "Phospholipase A2: a secondary membrane antioxidant". En: "Lipid peroxidation in biological systems". Chap. 6, Sevanian, a. ed. American Oil Chemists' Society, Champaign, I.L., pp. 84-99.
- SHAH, B.G. Y BELONJE, B. (1981). "Bioavailability of zinc in beef with and without plant protein". *Fed. Proc.*, 40, pp.885.
- SHAW, J.C.L. (1976). "Evidence for defective skeletal mineralization in low-birthweight infants: the absorption of calcium and fat". *Pediatrics*, 57, 16-25.
- SHEPPARD, L., KRISTAL, A.R., KUSHI, L.H. (1991). "Weight loss in women participating in a randomized trial of low fat diets". *Am. J. Clin. Nutr.*, 54, 821-828.
- SHILLS, M.E. (1994). "Magnesium". En: "Modern nutrition in health and disease". Shills, M.E., Olson, J.A., Shike, M. eds. 8th ed. Lea & Febinger. Waverly Company. pp. 164-185.
- SIES, H. (1994). "Oxidative stress: from basic research to clinical Medicine". En: Favier, A.E., Neve, J., Faure, P. "Trace Elements and free radicals in oxidative diseases", Champaign, Illinois, AOACs Press, chap. 1, pp. 1-7.
- SIMOPOULOS, A.P. (1991). "Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development". *Am. J. Clin. Nutr.*, 54, 438-463.
- SIMOPOULOS, A.P., KIFER, R.R., MARTIN, R.E. EDS. (1986). "Health effects of polyunsaturated fatty acids in seafoods". Orlando, F.L. Academic Press.
- SIMPSON, R.J. Y PETERS, T.J. (1987a). "Transport of Fe<sup>2+</sup> across lipid bilayers: possible role of free fatty acids". *Biochimica et Biophysica Acta*, 898, 187-195.
- SIMPSON, R.J. Y PETERS, T.J. (1987b). "Iron-binding lipids of rabbit duodenal brush-border membrane". *Biochimica et Biophysica Acta*, 898, 181-186.
- SIMPSON, R.J., MOORE, R., PETERS, T.J. (1988). "Significance of nonesterified fatty acids in iron uptake by intestinal brush-border membrane vesicles". *Biochimica et Biophysica Acta*, 941, 39-47.
- SINCLAIR, R.G. (1935). "The metabolism of the phospholipids. VII. Further evidence of the selection and retention of unsaturated fatty acid by phospholipids of animal tissues". *J. Biol. Chem.*, 111, 275-284.

- SINGER, P., JAEGER, W., WIRTH, M., VOIGT, S., NAUMANN, E., ZIMONTKOWSKI, S., HAJDN, A., GOEDICKE, W. (1983). "Lipid and blood pressure lowering effect of mackerel diet in man". *Atherosclerosis*, 49, 99-108.
- SINNHUBER, R.O., CASTELL, J.D., LEE, D.J. (1972). "Essential fatty acid requirement of rainbow trout". *Salmo gairdneri*. *Fed. Proc.*, 31, 1436-1441.
- SMALL, D.M. (1991). "The effects of glyceride structure on absorption and metabolism". *Ann. Rev. Nutr.*, 11, 413-434.
- SOLOMONS, N.W. (1986). "Competitive interactions of iron and zinc in the diet: consequences for human nutrition". *J. Nutr.*, 116, 927-935.
- SOMMERFELD, M. (1983). "Trans unsaturated fatty acids in natural products and processed foods". *Prog. Lipid Res.*, 22, 221-233.
- SONG, M.K., ADHAM, N.F., AMENT, M.E. (1984). "Metabolism of zinc binding ligands in rat small intestine". *Biol. Trace Element Res.*, 6, 181-187.
- SONG, M.K. Y ADHAM, N.F. (1985). "Relationship between zinc and prostaglandin metabolism in plasma and small intestine of rats". *Am. J. Clin. Nutr.*, 41, 1201-1209.
- SONG, M.K., LITNER, M.R., ADHAM, N.F., KAZMI, G.M., LOTT, F.D. (1985). "Effect of oral administration of arachidonic acid on prostaglandin and zinc metabolism in plasma and small intestine of the rat". *Prostaglandins Leukotrienes Med.*, 17, 159-164.
- SONG, M.K., LEE, D.B.N., ADHAM, N.F. (1988). "Influence of prostaglandins on unidirectional zinc fluxes across the small intestine of the rat". *Br. J. Nutr.*, 59, 417-428.
- SONNTAG, N.O.V. (1982). "Reactions of fats and fatty acids". En: *Bayley's Industrial Oil and Fat Products*, vol. 1. Swern, D. ed., John Willey and Sons, Inc. New York. Citado por: Monferrer, A. y Villalta, J. (1993). "La fritura desde un punto de vista práctico (II). *Alimentación, Equipos y Tecnología*, Mayo, 85-90.
- SORENSEN, E.W. (1965). "Studies on iron absorption. II Experiments with iron-deficient and non-deficient rats". *Acta Med. Scand.*, 178, 385-392.
- SPECKMANN, E.W. Y BRINK, M.F. (1967). "Relationships between fat and mineral metabolism. A Review". *Journal of the American Dietetic Association*, 51, 517-522.
- SPENCER, H. Y KRAMER, L. (1985). "Effects of certain minerals on the bioavailability of Ca in adult males". *ACS Symp.*, Ser. 275 (Nutr. Bioavailability Ca,) pp. 157-164.
- STANSBY, M.E. (1967). "Odors and flavors". En: *Fish oils: Their chemistry, technology, stability, nutritional properties and uses*; AVI Publishing: Westport, C.T., pp. 171-180.

- STEENBOCK, H. Y BUNKFELDT, R. (1951). "The effect of a vitaminy D free fat on the absorption and retention of phosphorus". *Arch. Biochem.*, 32, 309. Citado por Tadayyon, B., Lutwak, L. (1969). "Interrelation of triglycerides with calcium, magnesium and phosphorus in the rat". *J. Nutr.*, 97, 246-254.
- STEGGERDA, F.R. Y MITCHELL, H.H. (1951). "The calcium balance of adult human subjects on high and low fat (butter) diets". *J. Nutr.*, 45, 201-211.
- STEPHEN, A.M. Y WALD, N.J. (1990). "Trends in individual consumption of dietary fat in the United States, 1920-1984". *Am. J. Clin. Nutr.*, 52, 457-69.
- STEVENSON, S.G., VAISEY-GENSER, M., ESKIN, N.A.M. (1984). "Quality control in deep fat frying". *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 61, 1102-1108.
- STOREY, M.L. Y GREGER, J.L. (1987). "Iron, zinc and copper interactions: chronic versus acute responses of rats". *J. Nutr.*, 117, 1434-1442.
- STRAIN, G., HERSHCOPF, R.J., ZUMOFF, B. (1992). "Food intake of very obese persons: quantitative and qualitative aspects". *J. Am. Diet Assoc.*, 92, 199-203.
- SWEDISH NATIONAL BOARD OF HEALTH AND WELFARE, SWEDISH NATIONAL FOOD ADMINISTRATION, EXPERT GROUP ON FOOD HABITS (1990). "Cholesterol and coronary heart disease". *Vår Föda*, 42 (9-10), 597-603.
- SWINKELS, J.W.G.M., KORNEGAY, E.T., VERSTEGEN, M.W.A. (1994). "Biology of zinc and biological value of dietary complexes and chelates". *Nutrition Research Reviews*, 7, 129-149.
- TADAYYON, B. Y LUTWAK, L. (1969). "Interrelation of triglycerides with calcium, magnesium and phosphorus in the rat". *J. Nutr.*, 97, 246-254.
- TANTIBHEDHYANGKUL, P. Y HASHIM, S.A. (1978). "Medium-chain triglyceride feeding in premature infants: effects on calcium and magnesium absorption". *Pediatrics*, 61, 537-545.
- TELFER, S.V. (1922). "Studies on calcium and phosphorus metabolism. I. The excretion of calcium and phosphorus". *Quart. J. Med.*, 16, 45. Citado por Tadayyon, B., Lutwak, L. (1969). "Interrelation of triglycerides with calcium, magnesium and phosphorus in the rat". *J. Nutr.*, 97, 246-254.
- TEPPERMAN, H.M. Y TEPPERMAN, J. (1985). "Membranes and the response to insulin". *Proc. Nutr. Soc.*, 44, 211-220.
- THOMAS, L.H., JONES, P.R., WINTER, J.A., SMITH, H. (1981). "Hydrogenated oil and fats: the presence of chemically-modified fatty acid in human adipose tissue". *Am. J. Clin. Nutr.*, 34, 877-886.

## Bibliografija

---

- TOVE, S.B. Y SMITH, F.H. (1960). "Changes in fatty acid composition of the depot fat of mice induced by feeding oleate and linoleate". J. Nutr., 71, 264-272.
- TRAITLER, H. Y DIEFFENBACHER, A. (1985). "Palm oil and palm kernel oil in food products". J. Am. Oil Chem. Soc., 62, 417-421.
- TREMBLAY, A., LAVALLE, N., ALMERAS, N., ALLARD, L., DESPRES, J., BOUCHARD, C. (1991). "Nutritional determinants of the increase in energy intake associated with a high-fat diet". Am. J. Clin. Nutr., 53, 1134-1137.
- TRICHOPOULOU, A. (1989). "Nutrition policy in Greece". Eur. J. Clin. Nutr., 43, suppl. 2, 79-82.
- TSUCHITA, H. Y KUWATA, T. (1995). "Trace lipid from whey-mineral complex enhances calcium availability in young ovariectomized rats". British Journal of Nutrition, 73, 299-309.
- UAUY, R.D., BIRCH, D.G., BIRCH, E.E., TYSON, J.E., HOFFMAN, D.R. (1990). "Effect of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very low birth weight neonates". Pediatric Research, 28, 485-492.
- VAN CAMPEN, D.R. (1973). "Enhancement of iron absorption from ligated segments of rat intestine by histidine, cysteine and lysine: effects of removing ionizing groups and stereoisomerism". J. Nutr., 103, 139-142.
- VAN SOEST, P.J. (1982). "Nutritional ecology of the ruminant. Ruminant metabolism, nutritional strategies, the cellulolytic fermentation and the chemistry of forages and plant fibers". O & B Books.
- VAN DOKKUM, W. (1989). "The significance of speciation for predicting mineral bioavailability". En: "Nutrient availability: Chemical and biological aspects". Ed. Southgate, D., Johnson, I., Fenwick, G.R. Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Cambridge, England. pp. 89-96.
- VAN DOKKUM, W., CLOUGHLEY, F.A., HUSHOLF, K.F., OOSTERVEN, L. (1983). "Effect of variations in fat and linoleic acid intake on the calcium, magnesium and iron balance in young men". Ann. Nutr. Metab., 27, 361-369.
- VAQUERO, M.P., VAN DEN HAMER, C.J.A., SCHAAFSMA, G. (1991). "In vitro and in vivo methods for the determination of iron bioavailability from breakfast meals". Trace Elements in Man and Animals, TEMA 7. B. Momcilovic ed. Institute for Medical Research and Occupational Health University of Zagreb. pp. 25.8-25.9.

- VAQUERO, M.P., VAN DOKKUM, W., BOS, K.D, WOLTERS, M.G.E, SCHAAFSMA, G., LUTEN, J.B. (1992). "In vitro availability of calcium, magnesium, iron copper and zinc from white or brown bread separately or in combination with other foods". *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 32, 1, 47-58.
- VAQUERO, M.P. Y NAVARRO, M.P. (1993). "Influence of moderate food restriction on calcium metabolism in pregnant rats". *Reprod. Nutr. Dev.*, 33, 209-221.
- VAQUERO, M.P., VELDHUIZEN, M., VAN DOKKUM, W., VAN DEN HAMER, C.J.A., SCHAAFSMA, G. (1994). "Copper bioavailability from breakfasts containing tea. Influence of the addition of milk". *J. Sci. Food Agric.*, 64, 475-481.
- VARELA, G. (1977). "Les graisses chauffées: contribution à l'étude du processus de la friture des aliments". *Bibl. Nutr. Dieta*, 25, 112-121.
- VARELA, G. (1980). "Nutritional aspects of olive oil in the frying process". En: *Proceedings of the Third International Congress on the Biological value of olive oil*. The Subtropical Plants and Olive Trees Institute of Chania, Crete, pp. 385-402.
- VARELA, G. (1988). "Current facts about the frying of food". En: "Frying of food. Principles, changes, new approaches". Eds: Varela, G., Bender, A.E., Morton, I.D. Ellis Horwood, Chichester. England, pp. 9-25.
- VARELA, G., GARCÍA, D., MOREIRAS, O. (1971). "La nutrición de los españoles. Diagnóstico y recomendaciones". Instituto de Desarrollo Económico. Publicaciones de la Escuela Nacional de Administración Pública. Madrid.
- VARELA, G., MOREIRAS-VARELA, O., RUIZ-ROSO, B. (1983). "Utilización de algunos aceites en frituras repetidas. Cambios en las grasas y análisis sensorial de los alimentos fritos". *Grasas y Aceites*, 34, 101-107.
- VARELA, G., MOREIRAS, O., REQUEJO, A. (1985a). "Estudios sobre Nutrición". 2 vols. Publicaciones del Instituto Nacional de Estadística. Madrid.
- VARELA, G., MOREIRAS, O., REQUEJO, A. (1985b). "La nutrición en España". Publicaciones del Instituto Nacional de Estadística. Madrid.
- VARELA, G., MOREIRAS-VARELA, O., RUIZ-ROSO, B., CONDE, R. (1986). "Influence of repeated frying on the digestive utilisation of various fats". *J. Sci. Food Agric.*, 37, 487-490.
- VARELA, G., BENDER, A.E., MORTON, I.D. EDS. (1988). "Frying of food. Principles, changes, new approaches". Ellis Horwood, Chichester. England, pp. 1-202.

- VARELA, G., MOREIRAS, O., CARBAJAL, A. (1988b). "Evolución del estado nutritivo y de los hábitos alimentarios de la población española". Publ. Fundación Española de la Nutrición. Serie Divulgación nº 9. Madrid.
- VARELA, G., MOREIRAS, O., CARBAJAL, A., CAMPO, M. (1995). "Estudio Nacional de Nutrición y Alimentación, 1991". ENNA-3. Tomo I. Publicaciones del Instituto Nacional de Estadística, Madrid.
- VARELA, P., MARCOS, A., NAVARRO, M.P. (1992). "Zinc status in anorexia nervosa". Ann. Nutr. Metab., 361, 197-202.
- VARELA-GARRIDO, D., LÓPEZ-FRÍAS, M., LLOPIS, J., LÓPEZ-JURADO, M. (1990). "Influence of dietary fat on the lipid composition of perineal adipose tissue in rats". Ann. Nutr. Metab., 34, 327-332.
- VESSBY, B. Y BOBERG, M. (1990). "Supplementation with n-3 fatty acids may impair glucose homeostasis in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus". Journal of Internal Medicine, 228, 165-171.
- VIEJO, J.M. (1992). "Utilización de sardinas fritas en aceite de oliva en el tratamiento de hipercolesterolemia experimental inducida por la dieta". Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. U.C.M.
- VLES, R.O. (1975). En: "The role of fats in human nutrition". Ed. Vergroesen, A.J. Academic Press. London. Citado por: Navarro, M.P., Andújar, M.M., Bocanegra, N., Cuesta, C. (1980). "El aceite de colza en el metabolismo mineral de la rata". Grasas y Aceites, 31, 2, 105-110.
- WADDEL, J. (1973). "The bioavailability of iron sources and their utilization in food enrichment". Life Sciences Research Office, FASEB, Bethesda, M.D. Citado por Johnson, P.E., Lukaski, H.C., Bowman, T.D. (1987). "Effects of level and saturation of fat and iron level and type in the diet on iron absorption and utilization by the rat". J. Nutr., 117, 501-507.
- WALKER, B.L. Y YURKOWSKI, M. (1967). "Effect of cell age on erythrocyte fatty acid composition in rats on different dietary regimes". Biochem. J., 108, 218-224.
- WALKING, A.E. Y WESSELS, H. (1981). "Chromatographic separation of polar and non polar components of frying fats". Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 64, 1329-1330.
- WAPNIR, R.A. Y LEE, S. (1990). "Zinc intestinal absorption: effect of free fatty acids and triglycerides". The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine, 3, 255-265.

- WAPNIR, R.A. Y DEVAS, G. (1995). "Copper deficiency: interaction with high-fat diets in rats". *Am. J. Clin. Nutr.*, 61, 105-110.
- WATKINS, D.W, JAHANGEER, S., FLOOR, M.K., ALABASTER, O. (1992). "Magnesium and calcium absorption in Fischer-344 rats influenced by changes in dietary fibre (wheat bran), fat and calcium". *Magnesium research*, 5, 15-21.
- WEED, R.I., LACELLE, L., MERRILL, E.W. (1969). "Metabolic dependence of red cell deformability". *J. Clin. Invest.*, 48, 795-809.
- WEISBJERG, M.R., BORSTING, C.F., HVELPLUND, T. (1992). "The influence of tallow on rumen metabolism, microbial biomass synthesis and fatty acid composition of bacteria and protozoa". *Acta Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci.*, 42, 138-147.
- WERNER, M. Y LUTWAK, L. (1963). "Dietary (fat and calcium) influences on fat absorption and their kinetic interpretation. *Fed. Proc.*, 22, 553. Citado por: Speckman, E.W. y Brink, M.F. (1967). "Relationships between fat and mineral metabolism. A review". *Journal of the American Dietetic Association*, 51, 517-522.
- WHITE, T.W., GRAINER, R.B., BAKER, F.H., STROUD, J.W. (1958). "Effect of supplemental fat on digestion and the ruminal calcium requirements of sheep". *J. Anim. Sci.*, 17, 797. Citado por Tadayyon, B., Lutwak, L. (1969). "Interrelation of triglycerides with calcium, magnesium and phosphorus in the rat". *J. Nutr.*, 97, 246-254.
- WHITSETT, J. Y TSANG, R.C. (1977). "In vitro effects of fatty acids on serum-ionized calcium". *The Journal of Pediatrics*, 91, 2, 233-236.
- WHO STUDY GROUP (1990). "Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases". *Technical Report Series*, 678. WHO, Geneva, Switzerland.
- WIDDOWSON, E.M. (1965). "Absorption and excretion of fat, nitrogen and minerals from "filled" milks by babies one week old". *Lancet*, 3, 1099-1105.
- WIEN, E.M. Y VAN CAMPEN, D.R. (1991). "Ferric iron absorption in rats: relationship to iron status, endogenous sulfhydryl and other redox components in the intestinal lumen". *J. Nutr.*, 121, 825-831.
- WILSON, R., DOELL, B.H., GROGER, W., HOPE, J., GELLATLY, J.B.M. (1970). "The physiology of liver enlargement". En: "Metabolic aspects of food safety", Roe, F.J.C. ed., Academic Press, New York, pp. 363-418.
- WILLIAMS, M.L., ROSE, C., MORROW III, G., SLOAN, S., BARNES, L. (1970). "Calcium and fat absorption in the neonatal period". *Am. J. Clin. Nutr.*, 23, 1322-1330.

- WILLSON, R.L. (1989). "Zinc and iron in free radical pathology and cellular control". En: "Zinc in human biology". Mills, C.F. ed., Springer-Verlag, Cap. 10, pp. 147-172.
- WOLLENBERG, P. Y RUMMEL, W. (1987). "Dependence of intestinal iron absorption on the valency state of iron". Arch. Pharmacol., 336, 578-582.
- WOO, W., GIBBS, D.L., HOOPER, P.L., GARY, P.J. (1981). "Zinc and lipid metabolism". Am. J. Clin. Nutr., 34, 120 (letter).
- YACOWITZ, H. (1962). "Effect of dietary calcium upon lipid metabolism". Fed. Proc., 21, 258.
- YACOWITZ, H., FLEISCHMAN, A.I., BIERENBAUM, M.L. (1965). "Effects of oral calcium upon serum lipids in man". Br. Med. J., 1, 1352-1354.
- YACOWITZ, H., FLEISCHMAN, A.I., AMSDEN, R.T., BIERENBAUM, M.L. (1967). "Effects of dietary calcium upon lipid metabolism in rats fed saturated or unsaturated fat". J. Nutr., 92, 389-392.
- YACOWITZ, H., FLEISCHMAN, A.I., BIERENBAUM, M.L., KRITCHEVSKY, D. (1971). "Calcium and lipid metabolism: effects of increased dietary calcium on atherosclerosis in rabbits". Trans. NY Acad. Sci., 33, 344-350.
- YADRICK, M.K., KENNEY, M.A., WINTERFELDT, E.A. (1989). "Iron, copper and zinc status: response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females". Am. J. Clin. Nutr., 49, 145-150.
- YAMAMOTO, N., SAITOH, M., MORIUCHI, A., NOMURA, M., OKUYAMA, H. (1987). "Effect of dietary  $\alpha$ -linolenate/linoleate balance on brain lipid compositions and learning ability of rats". Journal of Lipid Research, 28, 144-151.
- YOUNG, R.J. Y GARRET, R.L. (1963). "Effect of oleic and linoleic acids on the absorption of saturated fatty acids in the chick". J. Nutr. 81, 321-329.
- ZANNER, M.A. Y GALEY, W.R. (1985). "Aged human erythrocytes exhibit increased anion exchange". Biochim. Biophys. Acta, 818, 310-315.
- ZEVENBERGEN, J.L. (1987). "Biological effects of trans fatty acids". En: Fat production and consumption. Galli y Fedeli, eds. New York: NATO/Plenum Press.
- ZEVENBERGEN, J.L. (1993). "The use of fats and oils by the food industry". European Journal of Clinical Nutrition, 47, supl. 1, S57-S61.
- ZIEMLANSKI, S. (1977). "Pathophysiological effects of long-chain fatty acids". Bibliotheca Nutritio et Dieta, 25, 134-137.